



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA

TITULACIÓN DE BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO

Evaluación del polimorfismo R230C del gen *ABCA1* en personas diabéticas y no diabéticas de Loja – Ecuador

TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

AUTOR: Samaniego Palacios, Rooselveth Andrés

DIRECTORA: Arévalo Jaramillo, Ana Paulina, Mg.

LOJA-ECUADOR

2013

CERTIFICACIÓN

Magister.

Ana Paulina Arévalo Jaramillo

DIRECTORA DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

CERTIFICA:

Que el presente trabajo, denominado: “Evaluación del polimorfismo R230C del gen *ABCA1* en personas diabéticas y no diabéticas de Loja – Ecuador” realizado por el profesional en formación: Samaniego Palacios Rooselveth Andrés; cumple con los requisitos establecidos en las normas generales para la Graduación en la Universidad Técnica Particular de Loja, tanto en el aspecto de forma como de contenido, por lo cual me permito autorizar su presentación para los fines pertinentes.

Loja, 16 de septiembre del 2013

f).....

Mg. Arévalo Jaramillo Ana Paulina

Director del Trabajo de fin de titulación

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo Samaniego Palacios Roosevelt Andrés de claro ser autor del presente trabajo y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 67 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”

f.....

Samaniego Palacios Roosevelt Andrés

1104861255

DEDICATORIA

Dedico este proyecto de tesis a mi Madre Magdalena por ser una mujer luchadora ya que gracias a su gran esfuerzo y amor se me ha permitido culminar mis estudios. Gracias por tu amor incondicional y por estar siempre apoyándome en todos mis proyectos tanto estudiantiles como de la vida diaria.

A mi hermana Mariana, por estar siempre a mi lado, por ser un apoyo incondicional, por darme sus consejos y guiarme. Gracias por estar conmigo cuando más lo necesite y por comprenderme siempre.

A mi padre José Luis, por su apoyo, por estar pendiente de todo lo que sucede en mi vida y por estar siempre dispuesto ayudarme cuando lo necesito.

A mis queridas hermanas y hermanos: Karina, Gabriela, Guillermo y Homero, por alegrarme cada día de mi existencia, por ser un apoyo y estar conmigo en los momentos más difícil, gracias por su apoyo y amor.

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar a Dios por darme el don de la vida y por permitirme gozar de este maravilloso mundo, por darme la sabiduría y por haberme permitido llegar hasta este punto.

A mis padres y hermanos que gracias a su esfuerzo he podido culminar mis estudios y obtener mi profesión.

De manera especial le agradezco a la Mg. Ana Paulina Arévalo por guiarme en el desarrollo de mi tesis, por darme las enseñanzas necesarias para lograr culminar el presente trabajo de una manera satisfactoria.

Quiero agradecer también a mis compañeros de carrera por hacer más agradable mi vida universitaria y por compartir momentos inolvidables.

Finalmente agradezco a la Universidad Técnica Particular de Loja, por permitirme cursar mis estudios con una educación de calidad, a todos quienes forman el Centro de Biología Celular y Molecular y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARATULA.....	i
CERTIFICAIÓN.....	ii
DECLARACION DE AUTORÍA Y CESION DE DERECHOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
CAPÍTULO I.....	5
1. ASPECTOS GENERALES SOBRE DIABETES Y EL POLIMORFISMO R230C	
DEL GEN <i>ABCA1</i>.....	5
1.1 Diabetes.....	6
1.1.1 Clasificación de la diabetes.....	6
1.1.1.1 Diabetes tipo 1.....	7
1.1.1.2 Diabetes tipo 2.....	7
1.1.1.3 Diabetes mellitus gestacional.....	8
1.1.1.4 Otros tipos de diabetes.....	9
1.1.2 Criterio de diagnóstico de los diferentes tipos de diabetes.....	11
1.1.3 Factores de riesgo de la diabetes tipo 2.....	12
1.1.3.1 Factores demográficos.....	12
1.1.3.1.1 Sexo.....	12
1.1.3.1.2 Edad.....	13
1.1.3.1.3 Etnia.....	13
1.1.3.2 Estilo de vida.....	13
1.1.3.2.1 Obesidad.....	13
1.1.3.2.2 Inactividad física.....	14
1.1.3.2.3 Dieta.....	14
1.1.3.2.4 Urbanización.....	14
1.1.3.3 Alteraciones metabólicas.....	15

1.1.3.3.1	Alteraciones de la glucosa (Prediabetes).....	15
1.1.3.3.2	Resistencia a la acción de la insulina.....	15
1.1.3.3.3	Embarazo.....	15
1.1.3.4	Factores genéticos.....	16
1.1.3.4.1	Marcadores genéticos.....	16
1.1.3.4.2	Historia familiar.....	16
1.2	Superfamilia ABC (ATP- binding cassette).....	16
1.2.1	Subfamilias ABC.....	17
1.2.2	Transportador ABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1).....	18
1.2.2.1	Estructura de ABCA1.....	19
1.2.2.2	Función de la proteína ABCA1.....	19
1.2.2.3	Mecanismo de transporte de lípidos.....	20
1.3	Gen <i>ABCA1</i>	21
1.3.1	Asociación del gen <i>ABCA1</i> con diabetes tipo 2.....	22
1.4	Polimorfismo R230C del gen <i>ABCA1</i>	23
1.4.1	Prevalencia del polimorfismo R230C en diferentes poblaciones.....	24
1.5	Población mestiza del Ecuador.....	25
CAPÍTULO II.....		26
2.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	26
2.1	Población.....	27
2.2	Parámetros Bioquímicos y Antropométricos.....	27
2.3	Análisis genético.....	28
2.3.1	Extracción de ADN.....	28
2.3.2	Amplificación y secuenciación del exón 7 del gen <i>ABCA1</i>	28
2.4	Análisis estadístico.....	28
CAPÍTULO III.....		29
3.	RESULTADOS.....	29
3.1	Características Bioquímicas y Antropométricas de los grupos analizados.....	30
3.2	Frecuencias alélicas y genotípicas.....	31
3.3	Frecuencias de haplotipos y análisis de asociación con diabetes tipo 2.....	32

3.4	Asociación del polimorfismo R230C con diabetes tipo 2.....	32
3.5	Discusión y análisis de resultados.....	33
CONCLUSIONES.....		37
RECOMENDACIONES.....		38
BIBLIOGRAFÍA.....		39

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Otros tipos específicos de diabetes mellitus.....	9
Tabla 2. Criterios para el diagnóstico de la diabetes.....	12
Tabla 3. Frecuencias alélicas de R230C en diferentes poblaciones.....	24
Tabla 4. Parámetros bioquímicos y antropométricos de individuos diabéticos y no diabéticos.....	30
Tabla 5. Frecuencias genotípicas de R230C en pacientes con diabetes tipo 2 y pacientes no diabéticos.....	31
Tabla 6. Frecuencias genotípicas de R219K en pacientes con diabetes tipo 2 y pacientes no diabéticos.....	32
Tabla 7. Haplotipos frecuentes y análisis de asociación con diabetes tipo 2.....	32
Tabla 8. Asociación del polimorfismo R230C con diabetes tipo 2.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de los transportadores ABC.....	17
Figura 2. Estructura de la proteína ABCA1.....	19
Figura 3. Mecanismo de transporte de lípidos.....	21
Figura 4. Distribución del polimorfismo R230C en diferentes poblaciones.....	25

RESUMEN

El polimorfismo R230C del gen *ABCA1* se ha asociado significativamente con niveles bajos de HDL-C, obesidad, diabetes tipo 2 y síndrome metabólico; esta variante genética es aparentemente exclusiva de poblaciones indígenas de América o que desciendan de ellas. El objetivo del presente trabajo fue el estudio de polimorfismo R230C en población mestiza ecuatoriana y valora su asociación con la diabetes tipo 2, para esto se diseñó un estudio de casos y controles. Se amplificó y secuenció el exón 7 del gen *ABCA1* para así determinar la presencia de la variante. Se encontró una frecuencia del alelo 230C de 0.1 para la población general, siendo similar a la reportada en otras poblaciones de América. El análisis de asociación mostró un OR de 1.73 (IC = 1.05-2.86), $p = 0.03$ en el modelo dominante, lo que sugiere una posible relación entre el polimorfismo y la diabetes tipo 2 en el grupo de estudio.

PALABRAS CLAVES: Diabetes tipo 2, ATP-binding cassette transporter A1 (*ABCA1*), polimorfismo R230C.

ABSTRACT

The polymorphism R230C of ABCA1 gene has been associated with low HDL, obesity, type 2 diabetes and metabolic syndrome; this genetic variant is apparently exclusive to Amerindian and Amerindian-derived population. The objective of this research was study R230C polymorphism in Ecuadorian mestizo population and their association with type 2 diabetes, for this, we designed a case-control study. Was amplified and sequenced the exon 7 of ABCA1 gene in order to determine the presence of the variant. We found a 230C allele frequency of 0.1 for the general population, similar to that reported in other populations in America. The association analysis showed an OR of 1.73 (CI = 1.05 to 2.86), $p = 0.03$ in the dominant model, suggesting a possible relationship between the polymorphism and type 2 diabetes for the study group.

KEYWORDS: ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1); polymorphism R230C; type 2 diabetes.

INTRODUCCIÓN

La diabetes es un grupo de trastornos metabólicos caracterizados por la hiperglucemia crónica, dando como resultado perturbaciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, grasas y proteínas que resultan de defectos en la secreción de insulina, su acción, o ambas (ADA, 2013). Esta patología se asocia con daño a largo plazo en diversos órganos, especialmente ojos, riñones, nervios, corazón, vasos sanguíneos y cerebro (González, 2005) (ADA, 2013). Según la Federación Internacional de Diabetes (FID) calcula que para el año 2030 existirá una prevalencia global de diabetes correspondiente al 7.8%. Para el mismo año, se estima un incremento del 65.1% de la diabetes especialmente en la región de América Central del Sur (ADA, 2013).

El incremento acelerado y prevalencia de la diabetes en especial la de tipo 2 en la población ha convertido a esta enfermedad en un reto para el sistema de salud, el cual intenta comprender la base genética de la enfermedad, siendo esta la estrategia para el descubrimiento de un tratamiento prometedor. En los estudios de la base genética de la diabetes de tipo 2 han sido involucrados un grupo de genes de susceptibilidad entre los que se encuentra el gen *ABCA1* que codifica una proteína de membrana dependiente de ATP que participa en el transporte de colesterol, fosfolípidos y la formación de HDL. Variaciones en este gen se han asociado con niveles bajos de HDL causando la susceptibilidad de desarrollar enfermedades metabólicas, hipertensión, obesidad y diabetes tipo 2 (Tusié, 2007) (Hao et al. 2007).

Una variación que se ha asociado con la diabetes de tipo 2 es el polimorfismo R230C, estudios realizados en poblaciones amerindias mostraron una alta frecuencia de este polimorfismo, lo que sugiere que R230C es exclusiva de poblaciones amerindias o que desciendan de ellas (Acuña et al. 2010), ya que este polimorfismo no se ha encontrado en las poblaciones africanas, europeas, chinas o del sur de Asia (Canizales, 2008) (Tusié, 2008).

Este polimorfismo se ha estudiado en los mestizos e indígenas de México, mostrando una frecuencia de 0.183 y 0.377, respectivamente, también muestran una asociación con los niveles bajos de HDL-colesterol, apolipoproteína AI, diabetes tipo 2 y obesidad (Villareal, 2007 y 2008). Se observó el polimorfismo también en población indígena ecuatoriana con frecuencia alélica de 0.16 asociada con niveles bajos de HDL (Espinoza, 2010).

Con este estudio se pretende contribuir a la sociedad con una investigación sobre la asociación del polimorfismo R230C del gen *ABCA1* con la diabetes tipo 2 y de esta manera sumar información sobre el componente genético de esta patología a la ya existente, lo que representa una estrategia para el manejo y prevención de esta enfermedad. Al realizar el análisis mediante un estudio de caso – control se observó una posible asociación del polimorfismo R230C con diabetes tipo 2.

CAPÍTULO I

1. ASPECTOS GENERALES SOBRE DIABETES Y EL POLIMORFISMO R230C DEL GEN *ABCA1*

1.1 Diabetes

La palabra diabetes deriva del griego diabeinen “pasar a través” o “salir con fuerza”; mientras que mellitus deriva del latín y significa “dulce como la miel” (Greespan, 1998). La Organización Mundial de la Salud (OMS) junto con la Asociación Americana de Diabetes (ADA) han sido las entidades que se han encargado de definir a la diabetes como una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce suficiente insulina o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. La insulina es una hormona que regula la glucosa en la sangre. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia (aumento de glucosa en la sangre). La hiperglucemia crónica de la diabetes se asocia con daños a largo plazo, disfunción e insuficiencia de varios órganos, especialmente ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos.

En el mundo existen 347 millones de personas con diabetes, de los cuales más del 80% de las muertes por esta enfermedad se registran en países de ingresos bajos y medios, denotándose una mayor prevalencia en países en vías en desarrollo; se estima que las muertes por diabetes en el mundo se multipliquen por dos entre los años 2005 y 2030 (OMS).

De acuerdo con un reporte emitido en el año 2012 por la Federación Internacional de Diabetes (FID), reporta que en América Central y del Sur 1 de cada 11 adultos en esta región padecen de diabetes, siendo Brasil (13.4%) seguido por México (10.6%) los países con más prevalencia. En el caso de nuestro país en el mismo reporte se señalan 563.84 mil casos de diabetes en población entre las edades de 20 a 79 años mostrando una prevalencia de 6.89%.

1.1.1 Clasificación de la diabetes.

Luego de que varias entidades emitieran diferentes criterios de clasificación de la diabetes se vio necesario efectuar una nueva revisión de estos criterios siendo la OMS junto con el ADA las entidades encargadas de esta revisión, formulando nuevos criterios para el diagnóstico y clasificación de la diabetes basándose fundamentalmente en su etiología y características fisiopatológicas, eliminando los antiguos y confusos términos de diabetes insulínica y no insulínica para conservar únicamente diabetes tipo 1, tipo 2 (Conget, 2002). Esto, debido a que con frecuencia las personas con diabetes tipo 2 llegan a requerir insulina en

alguna etapa de su vida y, por otro lado, algunos individuos con diabetes tipo 1 pueden progresar lentamente o tener períodos largos de remisión sin requerir la terapia insulínica (ALAD, 2002).

1.1.1.1 Diabetes tipo 1.

La diabetes de tipo 1 (DT1) se caracteriza por una producción deficiente de insulina y requiere la administración diaria de esta hormona (OMS).

En la diabetes tipo 1 las células beta se destruyen, lo que conduce a la deficiencia absoluta de insulina. Sus primeras manifestaciones clínicas suelen ocurrir alrededor de la pubertad, cuando ya la función se ha perdido en alto grado y la insulino terapia es necesaria para que el paciente sobreviva.

Sin embargo, existe una forma de presentación de lenta progresión que inicialmente puede no requerir insulina y tiende a manifestarse en etapas tempranas de la vida adulta. A este grupo pertenecen aquellos casos denominados por algunos como diabetes autoinmune latente del adulto o LADA. Recientemente se ha reportado una forma de diabetes tipo 1 que requiere insulina en forma transitoria y no está mediada por autoinmunidad.

La etiología de la destrucción de las células beta es generalmente autoinmune pero existen casos de diabetes tipo 1 de origen idiopático, donde la medición de los anticuerpos conocidos da resultados negativos. Por lo tanto, cuando es posible medir anticuerpos tales como anti-GAD65, anticélulas de islotes (ICA), antitirosina fosfatasa (IA-2) y antiinsulina; su detección permite subdividir la diabetes tipo 1 en autoinmune e idiopática (ALAD, 2002).

1.1.1.2 Diabetes tipo 2.

La diabetes tipo 2 (DT2) representa el 90-95% de las personas con diabetes, abarca las personas que tienen resistencia a la insulina y a los que tienen deficiencia relativa de insulina (no absoluta) al menos en un principio, con frecuencia a lo largo de su vida, estas personas no necesitan tratamiento con insulina para sobrevivir (ADA, 2013).

En este tipo de diabetes el cuerpo es capaz de producir insulina pero, o bien no es suficiente o el cuerpo no responde a sus efectos, lo que lleva a un aumento del valor de la glucosa en la

sangre (FID). Aunque este tipo de diabetes se presenta principalmente en el adulto, su frecuencia está aumentada en niños y adolescentes obesos. Desde el punto de vista fisiopatológico, la diabetes tipo 2 se puede subdividir en: Predominantemente insulinoresistente con deficiencia relativa de insulina y Predominantemente con un defecto secretor de la insulina con o sin resistencia a la insulina (ALAD, 2002).

Esta forma de diabetes con frecuencia no se diagnostica a tiempo debido a que la hiperglucemia se desarrolla gradualmente y en etapas más tempranas a menudo no es lo suficientemente grave como para que el paciente observe cualquiera de los síntomas clásicos de la diabetes (poliuria, polidipsia, polifagia, pérdida de peso inexplicable, aumento de fatiga, irritabilidad y visión borrosa). Probablemente hay muchas causas diferentes de esta forma de diabetes y aunque no se conocen las causas específicas, la destrucción autoinmune de las células β no se produce. La mayoría de los pacientes con este tipo de diabetes son obesos, y la obesidad en sí provoca un cierto grado de resistencia a la insulina (ADA, 2013).

Aunque todavía no se conocen las razones para el desarrollo de diabetes tipo 2, hay varios factores de riesgo importantes. Estos incluyen: obesidad, mala alimentación, la inactividad física, aumento de la edad, antecedentes familiares de diabetes, etnicidad, mala nutrición durante el embarazo que afecta el desarrollo del niño (IDF, 2013).

A menudo se asocia con una fuerte predisposición genética, más de lo que es la diabetes autoinmune de tipo 1, sin embargo, la genética de esta forma de diabetes es compleja y no completamente definida.

1.1.1.3 Diabetes mellitus gestacional.

La diabetes mellitus gestacional (DMG) es un estado hiperglucémico que aparece o se detecta por primera vez durante el embarazo. Sus síntomas son similares a los de la diabetes de tipo 2, pero suele diagnosticarse mediante las pruebas prenatales, más que porque el paciente refiera síntomas (OMS).

En las mujeres que desarrollan diabetes durante el embarazo, que normalmente ocurre al final del mismo, se debe a que el cuerpo no es capaz de hacer y usar suficiente insulina necesaria

para el embarazo.

Como la diabetes gestacional normalmente se desarrolla más tarde en el embarazo, el bebé ya está bien formado, pero sigue creciendo. El riesgo para el bebé es por lo tanto inferior a aquellos cuyas madres que padecen diabetes tipo 1 o tipo 2 antes del embarazo. Sin embargo, las mujeres con DMG todavía tienen que controlar los niveles de glucosa en la sangre para reducir al mínimo los riesgos para el bebé.

La diabetes gestacional en mujeres normalmente desaparece después del parto. Sin embargo, las mujeres que han tenido diabetes gestacional tienen un mayor riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 más adelante en la vida. Los bebés que nacen de madres con diabetes gestacional también tienen un mayor riesgo de obesidad y diabetes tipo 2 en la edad adulta (FID, 2013).

1.1.1.4 Otros tipos de diabetes.

La forma de presentación de estos tipos de diabetes variará enormemente dependiendo de la causa subyacente. De manera global se caracteriza, en comparación con la DT1 y la DT2, por suponer, en su conjunto, menos del 10% de casos diabetes. Individualmente, algunas formas son en extremo raras (Conget, 2013).

Tabla 1.Otros tipos específicos de diabetes mellitus.

a. Defectos genéticos en las células β :

Se caracterizan con frecuencia por la aparición de hiperglucemia a una edad temprana (generalmente antes de los 25 años). Conocida como diabetes de aparición en la madurez de los jóvenes (MODY).

1. Cromosoma 12, HNF-1 α (MODY 3)
2. Cromosoma 7, glucocinasa (MODY 2)
3. Cromosoma 20, HNF-4 α (MODY 1)
4. ADN mitocondrial
5. Otros

b. Defectos genéticos en la acción de la insulina:

Existen causas poco comunes de la diabetes que resultan de anormalidades determinadas genéticamente de acción de la insulina.

1. Resistencia a la insulina tipo A
2. Leprechaunismo
3. Síndrome de Rabson – Mendenhall
4. Diabetes lipoatrófica
5. Otros

c. Enfermedades del páncreas exocrino.

Cualquier proceso que daña el páncreas puede causar diabetes, entre estas enfermedades adquiridas se incluyen:

1. Pancreatitis
2. Trauma/pancreatectomía
3. Neoplasia del páncreas
4. Fibrosis quística
5. Hemocromatosis
6. Pancreatopatía fibrocalculosa
7. Otras

d. Endocrinopatías.

Varias hormonas antagonizan la acción de la insulina así como pueden inhibir su secreción, las cantidades excesivas de ciertas hormonas también pueden causar diabetes.

1. Acromegalia
2. Síndrome de Cushing
3. Glucagonoma
4. Feocromocitoma
5. Hipertiroidismo
6. Somatostatina
7. Aldosterona
8. Otros

e. Inducida por fármacos o químicos:

Muchos fármacos pueden alterar la secreción de insulina. Estos fármacos no pueden causar la diabetes por sí mismos, pero pueden precipitar la diabetes en individuos con resistencia a la insulina.

1. Vacor
2. Pentamidina
3. Ácido nicotínico
4. Glucocorticoides
5. Hormonas tiroideas
6. Diazóxido
7. Tiazidas
8. Otros

f. Infecciones:

Ciertos virus han sido asociados con la destrucción de las células β .

1. Rubeola congénita
2. Citomegalovirus
3. Otras

g. Formas infrecuentes de diabetes mediadas inmunitariamente:

1. Síndrome del hombre rígido (Stiff-mansyndrome)
2. Anticuerpos contra el receptor de la insulina

h. Otros síndromes genéticos asociados ocasionalmente a diabetes:

Muchos síndromes genéticos están acompañados por un aumento de la incidencia de la diabetes, estos incluyen:

1. Síndrome de Down
 2. Síndrome de Klinefelter
 3. Síndrome de Turner
 4. Síndrome de Wolfram
 5. Ataxia de Friedreich
 6. Corea de Huntington
 7. Distrofia miotónica
 8. Otros
-

Fuente: Tomado de la Asociación Americana de Diabetes, 2013

1.1.2 Criterios de diagnóstico de los diferentes tipos de diabetes.

El diagnóstico de la diabetes se ha basado en criterios de glucosa, ya sea Glucosa Plasmática en Ayunas (GPA) o Test de tolerancia Oral a la Glucosa (TTOG) de 75g. La Tabla 2 muestra los criterios de diagnóstico para los diferentes tipos de diabetes según la Asociación Americana de Diabetes en su informe emitido en junio del año 2013.

Tabla 2. Criterios para el diagnóstico de la diabetes.

DIABETES TIPO 1 Y 2	
HbA1c %	≥ 6.5%
Glucosa plasmática en ayunas	≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/l)
Glucosa postpandrial (2h)	≥ 200 mg/dl (11.1 mmol/l)
DIABETES MELLITUS GESTACIONAL	
Realizar un TTOG con 75g, con mediciones de glucosa en ayunas, de 1 hora y 2 horas, a las 24-28 semanas de gestación en mujeres no diagnosticadas previamente con diabetes. El diagnóstico de DMG se da cuando se supera alguno de los siguientes valores:	
Glucosa en ayunas	≥ 92 mg/dl (5.1 mmol/l)
1 hora	≥ 180 mg/dl (10.0 mmol/l)
2 Horas	≥ 153mg/dl (8.5 mmol/l)
PREDIABETES	
Glucosa plasmática en ayunas	100 mg/dl (5.6 mmol/l) a 125 mg/dl (6.9 mmol/l)
Glucosa postpandrial (2h) con 75 g de TTGO	140 mg/dl (7.8 mmol/l) a 199 mg/dl (11.0 mmol/l)
HbA1c %	5.7 - 6.4%

Fuente: Tomado de la Asociación Americana de Diabetes, 2013

1.1.3 Factores de riesgo de la diabetes tipo 2.

Se conoce como factores de riesgo para desarrollar diabetes tipo 2 a antecedentes familiares (herencia genética), edad (≥45 años), la etnia, tabaquismo, obesidad, inactividad física, mujeres con hijos macrosómicos al nacer(>4 kg) y/o con antecedentes de diabetes gestacional, mujeres con ovario poliquístico, personas con hipertensión arterial (≥140/90), con dislipidemias (HDL ≤35 mg/dl, triglicéridos ≥200 mg/dl) y pacientes con cardiopatía isquémica, insuficiencia vascular cerebral o insuficiencia arterial de miembros inferiores, nivel socioeconómico y el estilo de vida (Gutiérrez, 2010) (ADA, 2013).

1.1.3.1 Factores Demográficos.

1.1.3.1.1 Sexo.

A pesar de las inconsistencias en los estudios, los datos nacionales indican que la frecuencia de los pacientes diagnosticados con diabetes tipo 2 después de los 20 años de edad es similar

entre mujeres y hombres de raza blanca no hispanos, (4.5 % y 5.2% respectivamente), pero es mucho mayor en las mujeres mexicoamericanas (10.9%), que en los hombres mexicoamericanos (7.7%) (MSD, 2012).

1.1.3.1.2 Edad.

La prevalencia de la diabetes tipo 2 aumenta significativamente con la edad, alcanzando el 10-15% en mayores de 65 años y el 20% en mayores de 75 años, y está en relación con la disminución progresiva de la sensibilidad a la insulina (Abad et al. 2010).

1.1.3.1.3 Etnia.

Históricamente se ha descrito prevalencia alta (entre 20 y 50 %) de DT2 en los micronesios (Nauru), en los Indios Pima y Chippewa (EUA), en los primeros pobladores de Maní, así como en los afrocaribeños de Inglaterra. Mientras que se han registrado bajas prevalencias (entre 0 y 3 %) en las comunidades tradicionales de Malí, en la población rural de Fuji, en Tanzania, en Tunisia y en una comunidad indígena sin mestizaje en el Norte de México.

Esto hace reflexionar que si existen variaciones entre las poblaciones en cuanto a la frecuencia de la diabetes mellitus (Ramírez et al. 2013).

En otro estudio realizado por Nurses Health Study (n 78.419 pacientes) concluye, tras 20 años de seguimiento, que el riesgo de desarrollar diabetes era menor en caucásicos que en el resto de etnias estudiadas (raza negra, asiáticos e hispanos) (Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco, 2008).

1.1.3.2 Estilo de vida.

1.1.3.2.1 Obesidad.

El riesgo relativo de DT2 aumenta cuando el índice de masa corporal (IMC) aumenta por encima de 23, y se encontró que existe una asociación más fuerte en grupos de gente joven en un estudio realizado en la región de Asia-Pacífico. El aumento de peso en la adultez temprana está relacionado con un mayor riesgo y aparición temprana de diabetes tipo 2 que el aumento de peso entre 40 y 55 años de edad. El riesgo de diabetes aumenta de forma lineal con el IMC, la prevalencia de diabetes aumentó del 2% en aquellos con un IMC de 25 a 29.9 kg/m², y el 8% en aquellos con un IMC de 30 a 34.9 kg/m², y finalmente a 13 % en aquellos con un IMC

superior a 35 kg/m² (Yaturu, 2011).

1.1.3.2.2 Inactividad física.

El ejercicio juega un papel importante en la prevención y control de la resistencia a la insulina, prediabetes, diabetes gestacional, diabetes tipo 2 y las complicaciones de salud relacionadas con la diabetes. Tanto el ejercicio aeróbico y de resistencia mejoran la acción de la insulina, ayudando en la regulación de los niveles de glucosa en sangre, lípidos, presión arterial, mortalidad y calidad de vida (Colberg et al. 2010). Por lo tanto según recomienda la Asociación Americana de Diabetes (ADA, 2013), la actividad física de moderada a regular y la alimentación adecuada previenen el desarrollo de DT2.

1.1.3.2.3 Dieta.

De un estudio de cohorte de 20 años de duración, tras realizar un ajuste multivariante (edad, IMC, etnia), se concluye que una dieta sana (alta en fibra y grasa poli insaturada y baja en ácidos grasos trans y azúcares) tiene mayor impacto en el riesgo de diabetes en algunas etnias (raza negra, asiáticos e hispanos) que en la raza blanca (RR 0.54 (IC 95%: 0.39-0.73) vs. RR 0.77 (0.72-0.84)).

En otro estudio realizado en 42.000 profesionales sanitarios varones, una dieta con un alto consumo de carne roja, carne procesada, productos lácteos grasos, dulces y postres se asoció con un incremento del riesgo de diabetes independientemente del IMC, la actividad física, la edad o la historia familiar [RR 1.6 (IC 95%: 1.3-1.9)]. El riesgo era mayor [RR 11.2 (IC 95%: 8.07-15.6)] si además los pacientes eran obesos (IMC >30 kg/m²). Por otro lado, los varones que consumían una dieta con alto consumo de vegetales, fruta, pescado y aves tenían una reducción del riesgo que rozaba la significación estadística [RR 0.8 (IC 95%: 0.7-1.0)]. Estos resultados son similares en las mujeres (Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco, 2008).

1.1.3.2.4 Urbanización.

Ciertos cambios en el estilo de vida en grupo de población susceptible, pueden incrementar el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2. La urbanización es generalmente relacionada a grandes cambios en el estilo de vida, como son la alimentación, la actividad física, así como un incremento en la obesidad, la cual puede incrementar el riesgo de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2.

El consumo de alimentos con alto contenido de energía como son las grasas y los carbohidratos simples sustituyen a los alimentos tradicionales como las leguminosas y los vegetales. Menor actividad física es otro elemento de las áreas urbanas y aunado al mayor consumo de alimentos de escaso valor nutricional trae como consecuencia obesidad y una mayor susceptibilidad a diabetes tipo 2 (MSD, 2012).

1.1.3.3 Alteraciones metabólicas.

1.1.3.3.1 Alteración de la glucosa (Prediabetes).

La prediabetes es una condición que se desarrolla antes de la diabetes tipo 2. Los niveles de glucosa en la sangre son más altos de lo normal pero no son tan altos como para llamarse diabetes. Varios estudios han reportado que una modesta disminución del número de calorías y grasas, aumentar la actividad física y al bajar el peso se puede dar marcha atrás a la prediabetes y, por tal razón, retrasar o prevenir la diabetes tipo 2 (ADA, 2013) (FID,2013).

1.1.3.3.2 Resistencia a la acción de la insulina.

La resistencia insulínica es la disminución de la capacidad de la insulina endógena y exógena para ejercer sus acciones biológicas en los tejidos diana (hígado, tejido graso y músculo) en concentraciones que son eficaces en sujetos no diabéticos. Esta resistencia es un hecho constante en la DT2, ya que puede estar presente durante años antes del inicio de la enfermedad y también predecir el inicio de la misma. La resistencia insulínica es fundamental para el desarrollo de la DT2, pero sin el fracaso de la secreción de insulina por las células no habrá diabetes establecida (Abad et al. 2010).

1.1.3.3.3 Embarazo.

Las mujeres que presentaron diabetes gestacional y que normaliza su glucosa después del embarazo tiene un riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 de aproximadamente 5 a 10% cada año, en otras palabras 5 a 10 pacientes que tuvieron diabetes gestacional, después del parto cada año presentarán diabetes (MSD, 2013). Confirmando estos datos en otro estudio se ha documentado que 61% de mujeres con diabetes gestacional padecen intolerancia a la glucosa o diabetes mellitus tipo 2 una década después del parto (Xilotl, Aguirre & Tusie – Luna, 2009).

1.1.3.4 Factores Genéticos.

1.1.3.4.1 Marcadores Genéticos.

En la diabetes participan diversos genes y sus productos por lo cual se considera poli-genética, se sugirieron que los genes/proteínas que se expresan y regulan el funcionamiento de las células pancreáticas pueden ser genes candidatos para desarrollar la diabetes. Estos genes pueden ser utilizados como marcadores para el diagnóstico temprano de ésta (Chávez et al. 2011). Entre los genes relacionados a diabetes se encuentra el gen *ABCA1*. En estudios recientes se empezó a entender mediante la generación de un modelo animal con la desactivación selectiva de *ABCA1* en la célula β pancreática su susceptibilidad para desarrollar diabetes tipo2 (Tusié, 2007).

1.1.3.4.2 Historia Familiar.

La herencia genética de la DT2 no es de tipo mendeliana, lo que se observa es que el riesgo de desarrollarla se incrementa cuando existe historia familiar de DT2, lo cual interacciona con otros factores de riesgo como estilos de vida no saludables. Así, lo hijos de madres diagnosticadas con DT2 tiene un riesgo de desarrollarla de 2.5 a 3.5 más alto que los hijos de madres no diabéticas. Mientras que los hijos con padres con DT2 su riesgo es de 1.4 a 3.5 veces más que aquellos cuyos padres no tienen la enfermedad. Cuando ambos padres presentan la enfermedad el riesgo se incrementa hasta seis veces más que en los hijos de padres sin DT2. (Gutiérrez, 2010)

1.2 Superfamilia ABC (ATP-binding cassette)

Los transportadores ABC son una gran superfamilia de proteínas de membrana con diversas funciones. Estas convierten la energía generada por la hidrólisis de ATP en un movimiento transmembrana de sustratos ya sea en el citoplasma (importación) o fuera del citoplasma (exportación) (Locher, 2009). Incluyen varias proteínas transportadoras diferentes halladas en organismos que van desde las bacterias hasta los seres humanos. Cada proteína ABC es específica de un único sustrato o grupo de sustratos emparentados, que pueden ser iones, azúcares, aminoácidos, fosfolípidos, péptidos, polisacáridos o incluso proteínas. Todas las proteínas transportadoras ABC comparten una organización estructural que consiste en cuatro dominios “centrales”: dos dominios transmembrana, que forman el corredor a través del cual las moléculas transportadas cruzan la membrana, y dos dominios citosólicos fijadores de ATP

(Lodish et al. 2006) (Higgins, 2001).

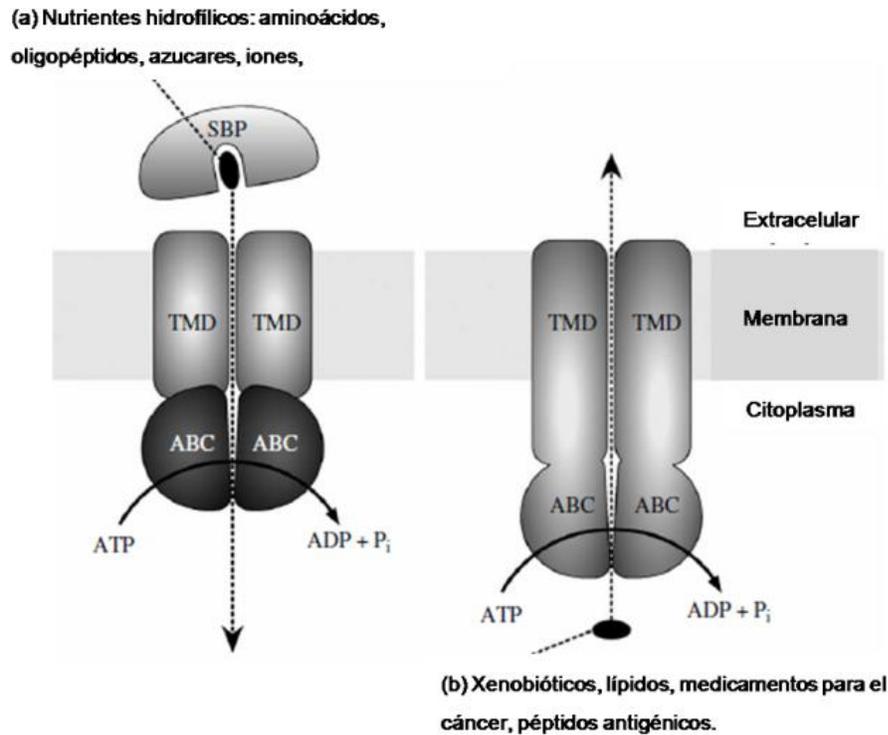


Figura 1. Estructura de los transportadores ABC. (a) Importador ABC. (b) Exportador ABC. Dominios transmembrana (TMD), Dominios citosólicos fijadores de ATP (ABC). Tomado de Locher, 2009

1.2.1 Subfamilias ABC.

Hay 48 transportadores ABC conocidos presentes en los seres humanos, los que se clasifican de la siguiente manera: ABC-A, ABC-B, ABC-B, ABC-D y ABC-G, existes transportadores como ABC-E y ABC-F que aparentemente no están involucrados en el transporte si no que son únicamente dominios de unión a ATP (Stieger & Biber, 2002).

Mutaciones en 24 de los 48 transportadores ABC en humanos han sido vinculados con enfermedades, y 12 de estos han sido asociados con enfermedades relacionadas ha anomalías en el transporte de lípidos y su homeostasis (Tarling et al. 2013). Entre las

enfermedades genéticas que se han asociado esta la Fibrosis Quística, enfermedad de Tangier, colestasis obstructiva, y resistencia a fármacos contra el cáncer (Higgins, 2001).

La subfamilia ABCA conforma 12 transportadores que van desde ABCA1 a ABCA13, la existencia de ABCA11 se deslinda de este grupo ya que inicialmente se dio una asignación errónea a un pseudogen. Estructuralmente estos transportadores son los de mayor tamaño que van desde 1541 – 5058 aminoácidos de tamaño (Kaminski et al. 2006). A estos transportadores se los dividen en dos grupos. El primer grupo (ABCA1-A4, A7, A12, A13) incluyen siete genes que se correlacionan con seis cromosomas diferentes; el segundo grupo (ABCA5-A6, A8-A10) que está organizado de cabeza a cola en el cromosoma 17q24. Se ha propuesto que los transportadores ABCA en su mayoría están involucrados en el flujo colesterol y fosfolípidos a través de la membrana plasmática, entre otras funciones (Dean et al. 2001).

1.2.2 Transportador ABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1).

ABCA1 es una proteína integral de membrana de 2261 aminoácidos, es miembro de la superfamilia de transportadores que usa el ATP como una fuente de energía para transportar lípidos y otros metabolitos a través de las membranas (Liu et al, 2012). Es altamente expresado en el hígado y en los macrófagos; es el más caracterizado de los otros tres transportadores de lípidos ABC. Numerosos estudios de cultivo de células, deficiencias de HDL en humanos y en modelos animales han demostrado que ABCA1 es uno de los principales determinantes de los niveles plasmáticos de HDL y un arteroprotector potente (Oramet al. 2005). Un estudio reciente estableció un nuevo rol de ABCA1, como un transportador de colesterol celular, ejerce su función en la homeostasis del colesterol de las células beta y la secreción de insulina (Kruit et al. 2010).

1.2.2.1 Estructura de ABCA1.

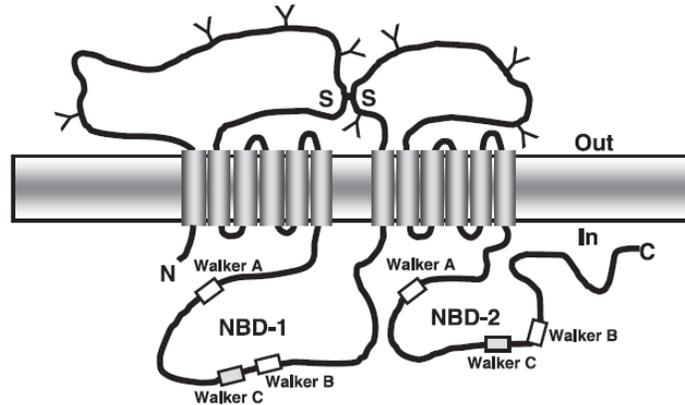


Figura 2. Estructura de la proteína ABCA1. Fuente: Tomado de Oram & Heinecke, 2005

La proteína ABCA1 está formada por 2 mitades con estructura similar; cada mitad tiene un dominio transmembranal con seis hélices y un dominio de unión a nucleótidos (NBD), que contiene 2 regiones peptídicas Walker A y Walker B, además de una región Walker C que es propia de las proteínas ABC. Se predice que el extremo amino terminal de la proteína ABCA1 está orientado hacia el citosol y dos asas extracelulares grandes, altamente glicosiladas, unidas entre sí por uno o más enlaces entre residuos de cisteína (Oramet al. 2005) (Locher, 2009).

1.2.2.2 Función de la proteína ABCA1.

ABCA1 se encuentra expresando en muchos lugares, pero sus funciones fisiológicas dependen de la célula y del tipo de tejido. Por ejemplo, ABCA1 se expresa en hepatocitos, enterocitos, y adipocitos donde se involucra en la generación de lipoproteínas de alta densidad (HDL), mientras que en los macrófagos ABCA1 es el encargado del transporte inverso del colesterol (Tarling et al. 2013).

Otros estudios sobre deficiencias de HDL en humanos, ratones transgénicos, y cultivo de células han demostrado que ABCA1 es el principal exportador de colesterol celular y fosfolípidos y aceptor de apolipoproteínas, esta actividad es esencial para la formación de las partículas de HDL in vivo. Hay pruebas de que ABCA1 también juega un papel en la supresión

de la producción de citocinas inflamatorias por los macrófagos a través de múltiples mecanismos (Liu et al. 2012). Como las células no hepáticas son incapaces de degradar el colesterol, ABCA1 también juega un papel crítico en la regulación del colesterol intracelular.

En estudios recientes se sugiere que los niveles intracelulares de colesterol pueden influenciar en la función de las células beta pancreáticas, como lo demuestra el estudio realizado por Brunham et al. (2007) en el que se utilizaron ratones con inactivación selectiva de ABCA1, en este trabajo se manifestó que ABCA1 juega un papel crítico en la homeostasis del colesterol y la secreción de insulina en las células β pancreáticas, donde la ausencia de este dio lugar a acumulación de colesterol celular y una marcada reducción en la secreción de insulina in vivo y un deterioro progresivo de la tolerancia a la glucosa. Otro trabajo que confirma esta función importante de ABCA1 es el de Kruit et al. (2010) en donde se concluye que el flujo de colesterol de los islotes de las células beta pancreáticas a través de ABCA1 es crucial para la regulación del colesterol in vivo, sugiriendo que los niveles de colesterol elevados puede contribuir a la disfunción de las células beta en la diabetes tipo 2.

1.2.2.3 Mecanismo de transporte de lípidos.

Dos modelos se han propuesto para dar cuenta de la capacidad de ABCA1 para apuntar a dominios de lípidos. El primer modelo sugiere que ABCA1 genera dominios de lípidos en la membrana plasmática para su posterior eliminación por apolipoproteínas que se unen a ABCA1 en la superficie celular. Un segundo modelo sugiere que ABCA1 y la apolipoproteína se encuentran contenidas en vesículas de endocitosis, las cuales interactúan con los depósitos intracelulares de lípidos, donde ABCA1 lleva los lípidos hacia Apo-A1 para ser eliminados de la célula mediante exocitosis. Hay evidencia de que ambos mecanismos pueden operar en la misma célula (Oram & Vaughan, 2006).

Un modelo sugerido según Oram & Heinecke (2005) predice que el canal transmembrana de ABCA1 esta inicialmente abierto en su parte interna. Los lípidos en la parte interna de la membrana son transportados en el canal por un proceso que es facilitado por sitios de unión a fosfolípidos de alta afinidad. Este reconocimiento de fosfolípidos induce la unión de ATP a los NBDs, lo cual promueve su dimerización y así cierra el canal (Figura 3, paso A). Las interacciones de la cabeza polar de los fosfolípidos con aminoácidos cargados en el canal voltean los lípidos atrapados hacia la parte externa. La hidrólisis de ATP por los NBDs forma un

intermediario unido a ADP que cambia la conformación de los dominios transmembrana, abriendo el canal hacia la cara externa (Figura 3, paso B). A causa de una disminución de la afinidad a fosfolípidos, los dominios lipídicos son extraídos del canal sobre la superficie celular, quedando disponibles para ser removido por las apolipoproteínas de partículas nacientes de HDL (Figura 3, paso C). Las estructuras del canal de ABCA1 se revierten a su conformación inicial después de que el ADP se disocia del NBD (Figura 3, paso D). Para la eliminación de los lípidos primero las apolipoproteínas se unen a ABCA1 y luego solubilizan los lípidos transportados desde el interior al exterior de la célula por la proteína ABCA1.

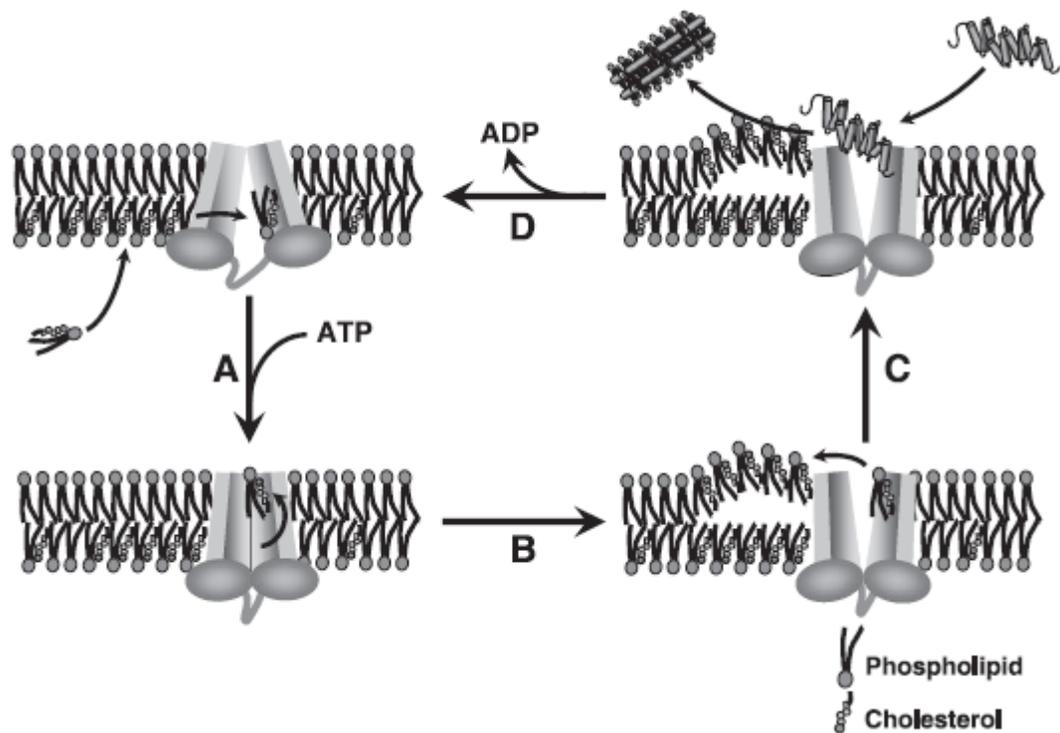


Figura 3. Mecanismo de transporte de lípidos.
Fuente: Tomado de Oram & Heinecke, 2005

1.3 Gen *ABCA1*

El gen *ABCA1*, codifica para una proteína de membrana que facilita el flujo de colesterol y fosfolípidos. Las mutaciones en este gen conducen a la deficiencia de la lipoproteína de alta densidad (HDL) familiar y a la enfermedad de Tangier. *ABCA1* está localizado en el locus

9q31.1, tiene 146581 pb y está organizado en 50 exones que codifican para una proteína de 2261 aminoácidos (Santamarina et al. 2000).

El mantenimiento de la homeostasis del colesterol es vital para la supervivencia de los organismos. Muchos genes bajo complejas vías regulatorias contribuyen a la preservación de este equilibrio, uno de estos genes es *ABCA1*, por lo tanto mutaciones en este gen han provocado la disminución de la capacidad de flujo de salida del colesterol, y la acumulación de lípidos en varios tejidos (Singaraja et al 2005).

1.3.1 Asociación del gen *ABCA1* con diabetes tipo 2.

El papel crítico de la disfunción de las células β en la patogénesis de la diabetes tipo 2 es bien conocido, pero las razones de la disfunción de estas células β no se conocen. Los datos de varias fuentes indican que los niveles de colesterol intracelular pueden influir en la función de las células beta (Kruit et al. 2010). En este punto es donde *ABCA1* ejerce su asociación con diabetes tipo 2 ya que en varios estudios se ha demostrado que un cese de su función provoca la toxicidad de las células pancreáticas conllevando a una mala secreción de insulina.

El gen del transportador de colesterol *ABCA1* se identificó por primera vez relacionado con la DT2 en la población japonesa mediante un estudio de asociación masivo donde se analizaron 120 genes que podrían estar relacionados con la DT2. En población mexicana se encontró una asociación de una variante particular de este gen (R230C), vinculada con concentraciones bajas de la lipoproteína de alta densidad (HDL) y, de manera independiente con la obesidad y la diabetes tipo 2 (Tusié, 2007).

En un estudio realizado por Kruit et al. (2010), se señala que las mutaciones de pérdida de la función de *ABCA1* producen disfunción en las células beta pancreáticas, siendo crucial el flujo de colesterol en las células de los islotes a través de *ABCA1*, para mantener una homeostasis celular in vivo.

Un estudio reciente de Patel et al. (2011) asocio a la reducción de la expresión de *ABCA1* con diabetes tipo 2, en este estudio se demuestra una relación entre la glucemia, la expresión de *ABCA1*, el contenido de la proteína *ABCA1* y la eliminación del colesterol de las células en los

seres humanos. Sugiriéndose que la diabetes tipo 2 está asociada con la eliminación alterada del colesterol celular por efectos sobre la expresión de *ABCA1*.

Caso contrario a lo que se ha mencionado anteriormente, se ha demostrado la existencia de un polimorfismo de *ABCA1* - R219K (rs2230806), que se asocia con una disminución de la severidad de la aterosclerosis, del riesgo de problemas coronarios, disminución de triglicéridos, y un incremento de los niveles de HDL-C, disminuyendo la probabilidad de desarrollar enfermedades sistémicas como la diabetes tipo 2 (Clee et al. 2001).

El polimorfismo R219K se da por el cambio de una guanina (G) por una adenina (A) en la posición 969 del transcrito que da resultado el cambio de una arginina (R) por una lisina (K) en la posición 219 de la proteína (Li et al. 2012). Se ha demostrado mediante un estudio realizado en 804 pacientes holandeses con enfermedad coronaria, que los pacientes portadores del alelo K del polimorfismo R219K habían reducido la gravedad de la aterosclerosis y presentaron menos eventos coronarios, en el mismo estudio también se vinculo al alelo K con una disminución de los triglicéridos y una tendencia al aumento de HDL (Evans & Beil 2003).

1.4 Polimorfismo R230C del gen *ABCA1*

El polimorfismo R230C (rs9282541) se da por el cambio de una citosina por una timina en la posición 1001 del transcrito, lo que origina un cambio de una arginina (R) por una cisteína (C) en la posición 230 de la proteína (Villarreal, 2007). Este cambio pertenece a una variación de secuencia que involucra la sustitución de un solo nucleótido en términos más cortos denominado SNP (polimorfismo de un solo nucleótido).

Existen varios estudios sobre el rol que cumple este polimorfismo en la DT2. En un estudio realizado por Aguilar et al. (2012) se demuestra que la presencia de la variante R230C produjo una secreción anormal de insulina relacionada con la acumulación de colesterol en las células beta. También se demostró que este polimorfismo en población mexicana es más común en personas con DT2 especialmente las que presentan un desarrollo temprano de la enfermedad (diagnóstico antes de los 40 años), en este estudio de caso-control se observó una alta frecuencia del alelo de riesgo en pacientes con diabetes tipo 2 (Villareal et al. 2008).

Este polimorfismo también ha sido asociado con obesidad como lo demuestra el estudio

realizado por Villarreal et al. (2007), en el que se analizó a R230C en 429 mestizos mexicanos, mostrando una asociación de la variante con IMC más que con la disminución de los niveles de HDL, sugiriéndose que la función de ABCA1 en la fisiopatología de la obesidad es independiente de su papel en la regulación del HDL y los niveles de apoA-1.

1.4.1 Prevalencia del polimorfismo R230C en diferentes poblaciones.

Este polimorfismo se identificó por primera vez en individuos Oji-Crees y en mestizos mexicanos, encontrándose con más frecuencia en diferentes grupos indígenas americanos, cabe recalcar que no se le encontró en otros grupos étnicos de otros continentes como lo es en asiáticos, poblaciones africana, europea. Esta ausencia sugiere que el alelo 230C es exclusivo de poblaciones indígenas de América latina o que desciendan de ella (Acuña et al. 2010).

Como se observa en la Tabla 3 obtenida de la base de datos sobre SNPs de NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) se confirma lo antes mencionado, ya que no se observa la presencia del alelo de riesgo (T) en las poblaciones antes citadas.

Población	Alelo	
	C (R)	T (C)
Afroamericanos	0.985	0.015
Caucásicos	1.000	0
Africana	0.979	0.021
Hispana	0.957	0.043
Pacífico	1.000	0
Norte Americana	0.999	0.001
Ascendencia europea	0.997	0.003
Europea	1.000	0
Asiática	1.000	0
Asiática	1.000	0
Africana-Sur del Sahara	1.000	0

Fuente: Tomado de la base de datos de NCBI

El polimorfismo se ha presentado en diferentes poblaciones como lo es en el caso de población mestiza mexicana, al igual que en diferentes poblaciones de origen amerindio como Yonomami provenientes del sur de Venezuela y norte de Brasil, Xikrin, Mura y Xavante de Brasil,

Mapuche de Chile y Argentina, Lengua de Paraguay, Kayapo del sur del Río Amazonas (Brasil), entre otras (Kidd, 2012). En Ecuador este polimorfismo se estudio en población indígena de Loja, en la comunidad Saraguro observándose la presencia del polimorfismo asociada a la disminución de los niveles de HDL. (Espinoza, 2010)

En la imagen que se presenta a continuación se observa la distribución alélica (T) de la variante R230C alrededor del mundo. (Figura 4)



Figura 4. Distribución del polimorfismo R230C en diferentes poblaciones.
Fuente: Tomado de La Base de datos de Alelos (ALFRED) –Universidad de Yale- USA

1.5 Población mestiza de Ecuador

La población mestiza se dio por el encuentro biológico y cultural de etnias diferentes (indígenas y europeos), en el que estas se mezclan, dando como nacimiento a nuevas etnias y nuevos fenotipos. Según datos del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos en Ecuador existe un 71.9% de población mestiza según el último censo realizado en el año 2010. En este mismo se demuestra que la provincia de Loja tiene un predominio de población mestiza (92.8%), seguida de la población indígena (3.1%). Para este censo cada persona se auto identificó según sus tradiciones y costumbres, no se realizó ninguna distinción étnica por genética.

CAPÍTULO II

2. DISEÑO METODOLÓGICO

2.1 Población

En el presente trabajo se diseñó un modelo de caso – control, para así evaluar el polimorfismo y su asociación con diabetes tipo 2. Cada grupo estuvo conformado de la siguiente manera:

El grupo de casos o de diabéticos fue conformado por 263 individuos mestizos-ecuatorianos no relacionados entre sí, entre las edades de 35 a 92 años. El criterio de inclusión para estos individuos fue: ser diagnosticado con diabetes tipo 2, no ser familiar en primer grado con otro participante del estudio, y ser nacido en Loja-Ecuador.

El grupo de controles o no diabéticos incluyó 256 individuos que fueron seleccionados con el siguiente criterio: no ser diagnosticados con diabetes tipo 2, no tener familiares en primer grado diagnosticados con diabetes tipo 2 y ser mayor de 45 años.

Ambos grupos de personas fueron pacientes del Centro de Atención Ambulatoria “Hospital del Día” - Central Loja. Solamente los individuos nacidos en Loja-Ecuador que se auto identificaron como mestizos, y cuyos padres y abuelos sean nacidos de Loja se incluyeron en el estudio. Todos los participantes firmaron un consentimiento informado antes de su participación en el estudio.

2.2 Parámetros Bioquímicos y Antropométricos

Todas las pruebas bioquímicas se realizaron a partir de muestras de sangre en ayunas de 8 a 12 horas, para su análisis se utilizó el equipo Cobas C111 siguiendo las instrucciones descritas por el protocolo del mismo. Se evaluó la glucosa, el colesterol, lipoproteína de alta densidad (HDL), lipoproteína de baja densidad (LDL), triglicéridos y hemoglobina glicosilada (HbA1c). Todas las mediciones se realizaron en “Laboratorio Clínico del Hospital de la Universidad Técnica Particular de Loja”

Los datos antropométricos fueron tomados de los registros médicos de cada paciente, del Centro de Atención Ambulatoria “Hospital del Día” - Central Loja.

2.3 Análisis genético

2.3.1 Extracción de ADN.

El ADN genómico se extrajo a partir de leucocitos de sangre periférica utilizando el kit comercial “Wizard® Genomic DNA Purification Kit”.

2.3.2 Amplificación y secuenciación del exón 7 del gen *ABCA1*.

El exón 7 del gen *ABCA1* fue amplificado por PCR en las siguientes condiciones: Taq polimerasa 5U/ul, Taq Buffer, dNTP y Primers (forward y reverse) con las siguientes secuencias:

F: 5'-GACCCAGCTTCCAATCTTCATAA-3' y R: 5'-TTCCGAAAGCATTAGTGCTTGA-3'. La desnaturalización inicial a 96 ° C durante 7 minutos, 37 ciclos que consistieron en desnaturalización a 95 ° C durante 30 segundos, anillamiento a 60 ° C durante 30 segundos, extensión a 72 ° C durante 30 segundos y la extensión final a 72 ° C por 10 minutos.

Los productos de PCR fueron analizados por electroforesis en gel de agarosa al 2%, para posteriormente ser purificados utilizando el kit comercial “Wizard SV del and PCR Clean-Up System”, para ser finalmente secuenciados en la compañía Macrogen. Las secuencias se analizaron utilizando los programas Codon Code Aligner y Bioedit.

2.4 Análisis Estadístico

Se analizó media y desviación estándar de los parámetros clínicos y antropométricos para así determinar las diferencias entre los grupos, usando la prueba de U de Mann-Whitney.

También se determinó las frecuencias genotípicas como alélicas y el equilibrio de Hardy Weinberg. La asociación entre el polimorfismo y la diabetes tipo 2 se analizaron por regresión logística ajustando los datos por sexo, edad e IMC, utilizando el modelo dominante. Los análisis se realizaron usando el programa SPSS versión 15.0 para Windows (Se consideró una diferencia significativa si $p < 0,05$).

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS

3.1 Características Bioquímicas y Antropométricas de los grupos analizados

La Tabla 4 muestra las características bioquímicas y antropométricas de los grupos analizados. De los diabéticos se analizaron 101 hombres y 162 mujeres; de los individuos no diabéticos fueron analizados 113 hombres y 143 mujeres.

Hubo una diferencia significativa de glucosa y los niveles de HbA1c entre los diabéticos y no diabéticos, una situación que sería de esperar ya que la diabetes se caracteriza por la hiperglucemia. Existió también una diferencia significativa en el índice de masa corporal entre ambos grupos, siendo más elevado en los diabéticos (mayor a 25 kg/m²), además de hallarse diferencia en presión arterial sistólica, diastólica y triglicéridos.

TABLA 4

Parámetros Bioquímicos y antropométricos de individuos diabéticos y no diabéticos.

	Pacientes Diabéticos	No-Diabéticos grupo control	<i>p-value</i>
n	263	256	-
Hombres (%)	38.4	44.1	-
Edad (años)	63.60 ± 11.01	63.28 ± 9.92	0.977
IMC (kg/m ²)	29.45 ± 4.60	26.76 ± 4.32	<0.001
PAS (mm Hg)	133.43 ± 20.88	119.13 ± 13.78	<0.001
PAD (mm Hg)	76.43 ± 10.10	73.64 ± 9.81	0.001
Glucosa en ayunas (mg/dL)	150.32 ± 56.80	89.69 ± 8.85	<0.001
Colesterol(mg/dL)	211.20 ± 45.23	204.47 ± 48.23	0.046
HDL (mg/dL)	47.13 ± 14.07	47.95 ± 14.44	0.449
LDL (mg/dL)	125.59 ± 44.02	122.17 ± 47.62	0.321
Triglicéridos (mg/dL)	195.55 ± 111.70	173.02 ± 72.16	0.043
HbA1c % (mmol/mol)	7.49 (58) ± 1.59 (9.86)	4.98 (31) ± 0.63 (3.91)	<0.001

Los datos son medias ± SD a menos que se indique lo contrario. IMC: Índice de masa corporal, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, HDL: lipoproteína de alta densidad, LDL: lipoproteína de baja densidad, HbA1c: hemoglobina glicosilada.

3.2 Frecuencias alélicas y genotípicas

Debido a la existencia de otro polimorfismo (R219K) en el exón siete se vio conveniente su respectivo análisis.

Las frecuencias genotípicas para la población general fueron: para el polimorfismo R230C 0.82; 0.15 y 0.13 para los genotipos CC, CT y TT respectivamente. Para el polimorfismo R219K se observó 0.41, 0.44 y 0.15 para los genotipos GG, GA y AA respectivamente.

Referente a las frecuencias alélicas presentes en toda la población se observó lo siguiente: El polimorfismo R230C presentó frecuencias de 0.9 y 0.1 para C y T respectivamente. Por otro lado R219K presentó 0.63 y 0.37 para los alelos G y A respectivamente.

Fueron genotipados un total de 508 individuos, los resultados de las frecuencias genotípicas tanto de diabéticos como no diabéticos se presentan en la Tabla 5 para el polimorfismo R230C y en la Tabla 6 para R219K.

En el análisis del equilibrio de Hardy Weinberg indica que el polimorfismo R219K se encontró en equilibrio, mientras que el polimorfismo R230C no presentó equilibrio ($p = 0.001$) en el grupo control (no diabéticos).

TABLA 5
Frecuencias genotípicas de R230C en pacientes con diabetes tipo 2 y pacientes no diabéticos

		Pacientes con Diabetes tipo 2	Pacientes No Diabéticos	<i>p</i> - <i>value</i>
Genotipo	C/C	0.85	0.8	NS
	C/T	0.14	0.16	NS
	T/T	0.01	0.04	NS

NS= no significativa

TABLA 6

Frecuencias genotípicas de R219K en pacientes con diabetes tipo 2 y pacientes no diabéticos

Genotipo		Pacientes con	Pacientes	<i>p</i> - <i>value</i>
		Diabetes tipo 2	No Diabéticos	
	G/G	0.39	0.43	NS
	G/A	0.44	0.45	NS
	A/A	0.16	0.13	NS

NS= no significativo

3.3 Frecuencia de haplotipos y análisis de asociación con diabetes tipo 2

La Tabla 7 muestra los haplotipos presentes en la población con una frecuencia superior al 5%, siendo el más frecuente G - C para R219K y R230C respectivamente. También se observa la asociación de haplotipo G - T con la diabetes tipo 2, este haplotipo incluye el alelo silvestre para el polimorfismo R219K y el alterno para el R230C.

TABLA 7

Haplotipos frecuentes y su asociación con diabetes tipo 2.

Polimorfismo		OR (95% CI)	<i>p</i> - <i>value</i>
R219K	R230C		
G	C	1	-
A	C	NS	NS
G	T	1.77 (1.11-2.83)	0.017

NS= no significativo.

3.4 Asociación del polimorfismo R230C con diabetes tipo 2

En este análisis se observó una posible asociación del polimorfismo R230C con diabetes tipo 2 mediante un modelo dominante, el que presentó un OR de 1.73 (CI = 1.05-2.86) y valor de $p = 0.038$. (Tabla 8).

TABLA 8

Asociación del polimorfismo con diabetes tipo 2

Genotipo	OR (95% CI)	<i>p-value</i>
C/C	1	0.038
C/T - T/T	1.73 (1.05-2.86)	

P values and ORs fueron calculados por regresión logística usando el modelo dominante ajustando los datos por sexo, edad e IMC.

El polimorfismo R219K del gen *ABCA1* también fue analizado pero no se encontró ninguna relación significativa con los parámetros bioquímicos y clínicos, por tal razón no se muestra resultados de asociación.

3.5 Discusión y análisis de Resultados

La diabetes es un grupo de trastornos metabólicos crónicos caracterizados por hiperglucemia, producto de disturbios en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas; que resulta de defectos en la secreción de insulina, en su acción o ambas. (González E. 2005, ADA 2010). En Ecuador esta patología tiene una prevalencia del 6.89%, y según datos del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos y del Ministerio de Salud Pública la diabetes en el año 2011 se colocó como la tercera causa de muerte en Ecuador.

La diabetes es una enfermedad poli-génica en la que, la alteración de múltiples genes aumenta la susceptibilidad de desarrollarla. Se han identificado varios polimorfismos asociados a esta, uno de ellos es el polimorfismo R230C del gen *ABCA1* que ha sido reportado como un factor de riesgo importante para la disminución de los niveles de HDL (Tusié, 2008), la enfermedad aterosclerótica, especialmente la enfermedad coronaria prematura, como también se ha asociado con la diabetes mellitus tipo 2, obesidad y síndrome metabólico (Villareal, 2008).

En este estudio, las diferencias entre los grupos analizados en cuanto a la glucosa, triglicéridos e IMC se pueden explicar considerando las características propias de la enfermedad. La

presencia de hiperglucemia y la hemoglobina glicosilada superior al 6.5 % es característica de la diabetes, sobre todo en aquellos pacientes no controlados. Los niveles de triglicéridos elevados sobre todo en pacientes diabéticos se convierten en un factor agravante de la enfermedad. En relación al IMC, como ya es de conocimiento, la diabetes está altamente relacionada con un IMC superior a 25 Kg/m² (Yaturu, 2011) que por acumulación de grasa produce resistencia a la insulina. En definitiva el contenido elevado de lípidos y la presencia de obesidad conllevan a un daño de las células beta pancreática provocando una disminución de la secreción de la insulina y por ende al desarrollo de diabetes tipo 2 (Bernal, 2008).

De acuerdo con los resultados obtenidos en el presente trabajo, la frecuencia del alelo T del polimorfismo R230C en la población mestiza es de 0.1. Similar al observado en personas de la comunidad indígena Saraguro del Ecuador (0.16) (Espinoza, 2010), y a la población mestiza mexicana de 0.109 (Villareal et al. 2008) (Villareal, 2007). Este alelo T se ha presentado mayoritariamente en poblaciones indígenas de América con una frecuencia media de 0.12 (rango de 0 – 0.31) tal como lo ha reportado Acuña et al (2010). Nuestra población se encuentra dentro de este rango, pudiendo atribuirse esto a que la población mestiza comparte información genética con nuestros antepasados indígenas.

El polimorfismo R219K se muestra con una frecuencia de 0.37 para el alelo A, siendo estos datos similares a los observados en población mexicana con 0.327 (Villareal et al. 2008) e indígena de la comunidad Saraguro (0.42). Este polimorfismo según un estudio de Ma et al. (2011) se encuentra con una alta prevalencia en poblaciones asiáticas (0.40). Otro estudio que muestra datos similares es el realizado por Li et al. (2012) donde se reporta la prevalencia alta del polimorfismo en 12 provincias de China. La similitud de la frecuencia del polimorfismo R219K entre nuestra población y las asiáticas se puede explicar considerando la hipótesis del origen asiático de los primeros habitantes de América.

El polimorfismo R219K ha sido asociado con un aumento de los niveles de HDL (Clee et al. 2001), como lo confirma un estudio de meta análisis, donde se evaluaron 6597 casos y 15369 controles, observándose que el alelo 219K está significativamente asociado a un aumento en los niveles de colesterol HDL y a una reducción del riesgo de desarrollar enfermedad coronaria (Ma et al. 2011). La variabilidad en los resultados de asociación entre este polimorfismo y los niveles de HDL es alta, por ejemplo en un estudio realizado en pacientes con sobrepeso se

observó una asociación del polimorfismo con la disminución en los niveles de HDL aparentemente por el elevado contenido de grasa intracelular (Kitjaroenthan et al. 2007).

Otro estudio vinculo al polimorfismo con disminución de triglicéridos sin mostrar efecto sobre las concentraciones de HDL (Evans et al 2003), e inclusive como lo demuestra el estudio realizado por Kolovou et al. (2012) no se encontró ninguna relación del polimorfismo con niveles de lípidos. En este estudio al igual que los reportados anteriormente no se encontró ninguna asociación de R219K con los niveles de HDL. La inconsecuencia en las asociaciones se podría explicar por la influencia tanto de factores genéticos como ambientales en las concentraciones de lípidos.

La demostración de un fuerte componente genético en la patogénesis de la diabetes tipo 2, proporcionada por varios estudios epidemiológicos muestran un marcada diferencia de la prevalencia de la diabetes tipo 2 a través de las poblaciones, donde la variación étnica representa una fuerte evidencia de la base genética de esta enfermedad. (Guja et al. 2012) (Ramírez et al. 2013).

En este estudio el polimorfismo R230C mostró una asociación con diabetes tipo 2 observándose un OR de 1.73 (1.05-2.86), $p = 0.038$. Este mismo efecto se informó en un estudio realizado en la población mexicana, donde el polimorfismo presenta la misma asociación con un OR de 2.097 y $p = 7.6 \times 10^{-6}$ (Villareal, 2008). En este estudio no se encontró asociación entre la variante R230C y los niveles de HDL que comúnmente se reportan disminuidos (Villareal et al. 2007). Una posible explicación de esto, como según Diamon et al. (2005) prescribe que la asociación de ABCA1 con diabetes tipo 2 es independientemente de los niveles séricos de HDL. Siendo necesario el desarrollo de análisis funcionales con el fin de explicar la función de la variante en la fisiopatología de la diabetes tipo 2.

La asociación de R230C con diabetes tipo 2 se explicaría considerando lo siguiente: que es posible que los polimorfismos presentes en las asas extracelulares en este transportador afecten la interacción con Apo-A1 y por consiguiente la salida de colesterol de las células (Singaraja et al. 2003) y que a nivel de las células beta pancreáticas esta alteración produce lipotoxicidad afectando la secreción de insulina (Brunham et al. 2007) (Bernal, 2008). Por lo tanto las consecuencias funcionales de esta variante sobre las células beta y sobre los adipocitos podrían conducir a un mayor riesgo de diabetes tipo 2 (Hao et al. 2007).

En conclusión los resultados muestran una posible asociación del polimorfismo R230C del gen *ABCA1* con diabetes tipo 2, considerándose que el grupo control no presentó equilibrio de Hardy Weinberg para el polimorfismo este efecto debería validarse en estudios posteriores. Siendo la diabetes una enfermedad compleja y con alta frecuencia en nuestra población, este estudio aporta con información al conocimiento de su base genética ayudando a su comprensión y siendo una herramienta para prevenirla.

CONCLUSIONES

- La frecuencia del polimorfismo R230C para la población general fue de 0.1 siendo similar a otras poblaciones de origen amerindio.
- La frecuencia del polimorfismo R219K para la población general fue de 0.37 similar a poblaciones asiáticas.
- Los resultados obtenidos sugieren una posible asociación entre el polimorfismo R230C del gen *ABCA1* con diabetes tipo 2 en la población analizada.
- En los grupos estudiados no hubo asociación entre el polimorfismo R230C y R219K con los niveles de HDL.

RECOMENDACIONES

- Debido a que los individuos no diabéticos analizados en el polimorfismo R230C no presentaron equilibrio de Hardy Weinberg, se recomienda agrandar el número de participantes en el estudio para validar los resultados.
- Para estudios posteriores se sigue utilizando técnicas de genotipado masivo, para así facilitar la identificación de los genotipos.
- Se recomienda también para estudios futuros incluir datos sobre niveles de insulina, ya que como se mencionó previamente este polimorfismo está relacionado con el daño de las células beta pancreáticas afectando a la secreción de esta.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuña-Alonzo, V., Flores-Dorantes, T., Kruit, J., Villareal-Molina, T., Arellano-Campos, O., Hunemeier, T., Moreno-Estrada, A., Ortíz-López, M., Villamil, H., León, P., Villacobos, M., Jacobo, L., Ramírez, S., Sikora, M., Zhang, L., Pape, T., Granados, M. (2010). A functional ABCA1 gene variant is associated with low HDL-cholesterol levels and shows evidence of positive selection in Native Americans. *Human Molecular Genetics*, 19(14). doi:10.1093/hmg/ddq173
- Abad – Pérez, D., Bureo, J.C., Calabuig, J.R, Corbatón, A., González, I., Escribano, J., García, J., Gómez, R., González, E., González, R., Hinojosa, M.C., Michán A., Sánchez, D., Sánchez, M., Sánchez, A., Serrano, M. (2010). Protocolos de diabetes mellitus tipo 2. *Sociedad*, ISBN: 978-84-692-6661-8.
- American Diabetes Association. (2013). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, volume 36, supplement 1.
- Asociación Latinoamericana de Diabetes. (2002). Guías ALAD para el diagnóstico y manejo de la diabetes mellitus tipo 2 con medicina basada en evidencia. *Rev Asoc Latinoam Diab*, Supl. 1, Ed. Extraordinaria.
- Brunham, L., Kruit, J., Pape, T., Timmins, J., Reuwer A., VasANJI, Z., Marsh, B., Rodrigues, B., Jhonson, J., Parks, J., Verchere, C., Hayden, M.R. (2007). β -cell ABCA1 influences insulin secretion, glucose homeostasis and response to thiazolidinedione treatment. *Nature Medicine*, 13(3). doi:10.1038/nm1546
- Bernal, J. (2008). Análisis Molecular de la Disfunción de la Célula β Pancreática en la Progresión de la Diabetes Tipo 2. Su Aplicación a Nuevos Blancos Terapéuticos. *Sociedad Argentina de Diabetes*, volume 1.
- Chávez, J.M., Esquevel, T., Flores, I., Zugasti, A., Galicia, G., Cepeda, A. (2011). *Marcadores moleculares para el diagnóstico temprano de la diabetes mellitus*. (Informe técnico I). República Oriente: Facultad de Medicina-Universidad Autónoma de Coahuila.
- Canizales-Quinteros, S. (2008). *Identificación de un nuevo gen para la obesidad y la diabetes tipo 2 en la población mexicana*. (Tesis inédita doctoral). Instituto Politécnico Nacional-México.
- Conget, I. (2013). Diagnóstico, clasificación y patogenia de la diabetes mellitus. *RevEspCardiol*, 55(5):528-35.

- Colberg, S.R., Sigal, R.J., Fernhall, B., Regensteiner, J.G., Blissmer, B.J., Rubin, R.R., Chasan-Taber, L., Albright, A.L., Braun, B. (2010). Exercise and type 2 diabetes: The American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement. *Diabetes Care*, 33(12), e147-67.
- Clee, S.M., Zwinderman, A.H., Engert, J.C., Zwarts, K.Y., Molhuizen, H., Roomp, K., Jukema, J.W., Wijland, M., Dam, M., *et al.* (2001). Common genetic variation in *ABCA1* is associated with altered lipoprotein levels and a modified risk for coronary artery disease. *Circulation*, 103:r13-r20.
- Dean, M., Hamon, Y., Chimini, G. (2001). The Human ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter Superfamily. *Journal of Lipid Research*, Volume 42.
- Daimon, M., Kido, T., Baba, M., Oizumi, T., Jimbu, Y., Kameda, W., Yamaguchi, H., Ohnuma, H., Tominaga, M., Muramatsu, M., Kato, T. (2005). Association of the *ABCA1* gene polymorphisms with type 2 DM in a Japanese population. *Biochem and Biophys Res Com*, 329:205–210.
- Evans, D., Beil, F.U. (2003). The association of the R219K polymorphism in the ATP-binding cassette transporter 1 (*ABCA1*) gene with coronary heart disease and hyperlipidaemia. *J Mol Med*, 81:264–270. Doi: 10.1007/s00109-003-0426-y
- Espinoza-Tituanía, L. (2010). *Evaluación de la variante R230C del gen ABCA1 en personas de la etnia Saraguro-Ecuador.* (Tesis inédita de pre grado). Departamento de Ciencias de la Salud. Universidad Técnica Particular, Loja-Ecuador.
- Federación Internacional de Diabetes. (2013). Atlas de Diabetes. IDF. Recuperado de <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/what-is-diabetes>
- González, E., Calleja, I., Laclaustra M., Casasnovas. J. (2005). Síndrome metabólico y diabetes mellitus. *RevEspCardiolSupl.* 5:30D-7D.
- Greenspan, F.S. (1998). Hormonas pancreáticas y diabetes sacarina. *Endocrinología básica*, Manual Moderno Ed, México DF, 1998, 231-389pp.
- Gutierrez Valverde, J. (2010). *Riesgo de desarrollar diabetes tipo 2: Interacción gen - medio ambiente.* (Tesis inédita de doctorado). Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
- Guja, C., GaganiuC, P., Ionercu-Tirgoviste, C. (2012). Genetic factors involved in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Proc. Rom. Acad., Series B*, 1, p. 44–61.
- Hao, M., Head, W.S., Gunawardana, S.C., Hasty, A.H., Piston, D.W. (2007). Direct effect of cholesterol on insulin secretion: a novel mechanism for pancreatic beta cell dysfunction.

Diabetes, 56:2328–2338.

- Higgins, C.F. (2001). ABC transporters: physiology, structure and mechanism- an overview. *Res. Microbiol.* 152(2001): 205–210.
- Kaminski, W.E., Piehler, A., Wenzel, J.J. (2006). ABC A-subfamily transporters: Structure, function and disease. *Biochimica e tBiophysica Acta*, 1762 (2006) 510–524. doi:10.1016/j.bbadis.2006.01.011.
- Kitjaroenthom, A., Hananantachai, H., Tungtrongchitr, A., Pooudong, S., Tungtrongchitra, R. (2007). R219K polymorphism of ATP binding cassette transporter A1 related with low HDL in overweight/obese Thai males. *Archives of Medical Research*, 38 (2007) 834-838. doi: 10.1016/j.arcmed.2007.06.010
- Kidd, K.K. (2012). The Allele Frequency Database-ALFRED: Resource of gene frequency data on human populations supported by the U. S. National Science Foundation. Yale University. Recuperado de http://alfred.med.yale.edu/alfred/SiteTable1A_working.asp?siteuid=SI663760C
- Kruit, J.K., Kremer, P.H., Dai, L., Tang, R., Ruddle, P., Hann, W., Brunham, L.R., Verchere, C.B., Hayden, M.R. (2010). Cholesterol efflux via ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1) and cholesterol uptake via the LDL receptor influences cholesterol-induced impairment of beta cell function in mice. *Diabetologia*, 53:1110–1119. doi: 10.1007/s00125-010-1691-2
- Kolovou, V., Marvaki, A., Karakosta, A., Vasilopoulos, G., Kalogiani, A., Mavrogei, S., Degiannis, D., Marvaki, C., Kolovou, G. (2012). Association of gender, ABCA1 gene polymorphisms and lipid profile in Greek young nurses. *Lipids in Health and Disease*, 2012, 11:62
- Li, Y.Y., Zhang, H., Qin, X., Lu, X., Yang, B., Chen, M. (2012). ATP-binding cassette transporter A1 R219K polymorphism and coronary artery disease in Chinese population: a meta-analysis of 5,388 participants. *Mol Biol Rep*, 39:11031–11039. DOI 10.1007/s11033-012-2006-0
- Liu, J., Zhang, Z., Xu, Y., Feng, T., Jiang, W., Li, Z., Hong, B., Xie, Z., Si, S. (2012). IMB2026791, a Xanthone, Stimulates Cholesterol Efflux by Increasing the Binding of Apolipoprotein AI to ATP-Binding Cassette Transporter A1. *Molecules*, 17, 2833-2854. doi:10.3390/molecules17032833.
- Liu, Y., Tang, C. (2012). Regulation of ABCA1 functions by signaling pathway. *Biochimica*

et Biophysica Acta,1821 (2012) 522–529. doi:10.1016/j.bbaliip.2011.08.015

- Locher, K.P. (2009). Structure and mechanism of ATP-binding cassette transporters. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 364, 239–245.
- Lodish, H., Berl A., Matsudaira, P., Kaiser, C., Krieger, M., Scott, M., Lawrence, S., Darnel, J. (2006). Transporte de iones y moléculas pequeñas a través de las membranas celulares. (Ed), *Biología celular y molecular*. Madrid-España: Editorial médica panamericana S.A.
- Llorca, J., Prieto-Salceda, D., Combarros, O., Dierssen-Sotos, T., Berciano, J. (2005). Riesgos competitivos de muerte y equilibrio de Hardy-Weinberg en estudios de casos y controles sobre asociación entre genes y enfermedades. *Gac Sanit*,19(4):321- 4.
- Ma yu, X., Liu, J., Song, Z. (2011). Associations of the ATP-binding cassette transporter A1 R219K polymorphism with HDL-C level and coronary artery disease risk: a meta-analysis. *Atherosclerosis*, 215 (2011) 428–434. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2011.01.008.
- Merk Sharp & Dohme Corp - MSD.(2012). Factores de riesgo de diabetes. MSD. Recuperado de <http://consumidores.msd.com.ec/enfermedades/diabetes/factores-de-riesgo.aspx>
- Oram, J.F., Heinecke, J.W. (2005). ATP-binding cassette transporter A1: a cell cholesterol exporter that protects against cardiovascular disease. *PhysiolRev*, 85: 1343–1372. doi:10.1152/physrev.00005.2005
- Oram, J.F., Vaughan, A.M. (2006). ATP-Binding cassette cholesterol transporters and cardiovascular disease. *Circ Res*, 99:1031-1043.doi:10.1161/01.RES.0000250171.54048.5c
- Organización Mundial de la Salud. (2012). Diabetes. OMS, Nota descriptiva N°312. Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
- Patel, D.C., Albrecht, C., Pavitt, D., Paul, V., Pourreyron, C., Newman, S.P., Godsland, I.F., Valabhji, J., Johnston, D.G. (2011). Type 2 diabetes is associated with reduced ATP-binding cassette transporter A1 gene expression, protein and function. *PLoS ONE*, 6(7): e22142. doi:10.1371/journal.pone.0022142
- Ramírez-García, S., Cabrera, C.E., Huacuja, L., Flores, L.J., Pérez, G., González, J.L., Velázquez, A., Topete, L.R., Rosales, R., Canderio, G., Villa, N. (2013). Implicaciones en la atención primaria en salud de la genética y genómica en la diabetes mellitus tipo 2. *RevMedInstMex Seguro Sco.*,51(3):e6-26.
- Roche, E. (2003). Diabetes tipo 2: gluco-lipo-toxicidad y disfunción de la célula β pancreática. *Ars Pharmaceutica*, 44:4; 313-332.

- Santamarina-Fojo, S., Peterson, K., Knapper, C., Qiu, Y., Freeman, L., Cheng, J.F., *et al.* (2000). Complete genomic sequence of the human ABCA1 gene: Analysis of the human and mouse ATP-binding cassette A promoter. *PNAS*, 97(14), 7987–7992.
- Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. *Guías de práctica clínica en el SNS: Guía de práctica clínica sobre diabetes tipo 2. 2008.* País Vasco: España. Ministerio de Sanidad y Consumo. Recuperado en <http://publicaciones.administraciones.es>
- Singaraja, R.R., Brunham, L.R., Visscher, H., Kastelein, J.J., Hayden, M.R. (2003). Efflux and Artherosclerosis: The clinical and biochemical impact of variations in the ABCA1 gene. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 23:1322-1332. doi: 10.1161/01.ATV.0000078520.89539.77
- Singaraja, R.R., James, E.R., Crim, J., Visscher, H., Chatterjee, A., Hayden, M.R. (2005). Alternate transcripts expressed in response to diet reflect tissue-specific regulation of ABCA1. *Journal of Lipid Research*, 46(2005). Doi: 10.1194/jlr.M500133-JLR200
- Stieger, B., Biber, J. (2002). Structure and function of ABC transporters. *International Society of Nephrology*, volume 1.
- Tarling, E.J., Aguiar, T.Q., Edwards, P.A. (2013). Role of ABC transporters in lipid transport and human disease. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 24(7), 1043-2760. doi: 10.1016/j.tem.2013.01.006
- Tusié-Luna, M. (2007). Marcadores genéticos para el entendimiento de la fisiopatología de las enfermedades. *Salud Pública de México*, 49, 153-154.
- Tusié-Luna, M. (2008). El componente genético de la diabetes tipo 2. Universidad Nacional Autónoma de México. *Mensaje Bioquímico*, Vol. XXXII.
- Villarreal-Molina, M. (2007). *Búsqueda de posibles variantes funcionales del gen ABCA1 en individuos mexicanos con hipo e hipera-lipoproteinemia y su asociación con otros rasgos metabólicos.* (Tesis inédita de doctorado). División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma de Metropolitana-México.
- Villarreal-Molina, M.T., Aguilar-Salinas, C.A., Rodríguez-Cruz, M., Riano, D., Villalobos-Comparan, M., Coral-Vazquez, R., Menjivar, M., Yescas-Gómez, P., Konisberg-Fainstein, M., Romero-Hidalgo, S., Tusié-Luna, M.T., Canizales-Quinteros, S. (2007). The ABCA1 R230C variant affects HDL-cholesterol levels and BMI in the Mexican population: Association with obesity and obesity-related comorbidities. *Diabetes*, 56:1881–1887.
- Villarreal-Molina, M., Flores, M., Arellano, O., Villalobos, M., Rodríguez, M., Miliar, A., Huertas, A., Menjivar, M., Romero, S., Wachter, N., Tusié-Luna, M., Cruz, M., Aguilar-

Salinas, C., Canizales, S. (2008). Association of the ATP-Binding Cassette Transporter A1 R230C Variant With Early-Onset Type 2 Diabetes in a Mexican Population. *Diabetes*, 57, 509-513.

- Xilotl, C.A., Aguirre, F., Tusie –Luna, M.T. (2009). Propuesta para identificar alteraciones genómicas para diabetes gestacional mexicana. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 14(2):83-87
- Yaturu, S. (2011). Obesity and type 2 diabetes. *Journal of Diabetes Mellitus*, 1(4), 79-95. doi:10.4236/jdm.2011.14012