



UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“ASOCIACIÓN GENOTÍPICA Y FENOTÍPICA DEL POLIMORFISMO rs8192675 DEL
TRANSPORTADOR *SLC2A2* CON LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN PACIENTES
CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 DE LA FUNDACIÓN DONUM”**

Trabajo de Titulación previo a la obtención del Título de Bioquímico Farmacéutico

Autores:

Nohela Betzabeth Arévalo Ramírez
Noemí Elizabeth Cadmen Ochoa

Director:

Dr. Fausto Zaruma Torres, PhD

Asesor:

BQF. Maritza Ochoa Castro, Mgt.

CUENCA-ECUADOR

2017



RESUMEN

Este es un estudio no experimental de tipo trasversal en el que participaron 102 individuos. El objetivo fue asociar genotípica y fenotípicamente el polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2* con la hemoglobina glicosilada en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 de la fundación DONUM. Para ello se determinó el valor de hemoglobina glicosilada y la detección del polimorfismo se desarrolló mediante la Técnica de PCR en Tiempo Real.

El análisis estadístico se trabajó con un nivel de confianza de 95% y $p < 0.05$. Se encontró la presencia del polimorfismo en 4 pacientes de la población estudiada y una frecuencia genotípica y alélica de 4% ($n=4$ y $n=8$ respectivamente). El estudio demuestra que no existe relación estadísticamente significativa entre la presencia de la variante genética con los niveles de hemoglobina glicosilada. Para la asociación del polimorfismo con la compensación y descompensación de los pacientes se determinó que no existe asociación significativa entre ambos parámetros, evidenciándose que el polimorfismo no es un factor de riesgo ni de protección.

Palabras Claves: Diabetes Mellitus tipo 2, hemoglobina glicosilada, tratamiento farmacológico, polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2*.



ABSTRACT

The current study encompasses a non-experimental cross-sectional study, involving 102 individuals. The aim of the study was to carry out the genotypically and phenotypically association of the rs8192675 polymorphism of the *SLC2A2* transporter with the Glycosylated Hemoglobin in patients with Type 2 Diabetes Mellitus at DONUM Foundation. The value of glycosylated hemoglobin was determined. Moreover, for the detection of polymorphism, Real Time PCR technique was used.

The statistical analysis was performed with a confidence level of 95% and $p < 0.05$. The presence of the polymorphism was found in four patients of the researched population and a genotypic and allelic frequency of 4% ($n=4$ and $n=8$ respectively). The results claim that there is no statistically significant relationship between the presence of the genetic variant and glycosylated hemoglobin levels. Additionally, in the association of the polymorphism with the compensation and decompensation status of patients, it was determined that there is no significant association between both parameters. Finally, the polymorphism did not prove to be a risky or protection factor.

Key words: Diabetes Mellitus type 2, glycosylated hemoglobin, pharmacological treatment, rs8192675 polymorphism of the *SLC2A2* transporter.



ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	2
ABSTRACT.....	3
ÍNDICE GENERAL	4
LISTA DE TABLAS	7
LISTA DE FIGURAS	8
CLAÚSULAS DE PROPIEDAD INTELECTUAL.....	¡Error! Marcador no definido.
CLAÚSULAS DE PROPIEDAD INTELECTUAL.....	¡Error! Marcador no definido.
DEDICATORIA.....	11
DEDICATORIA.....	14
AGRADECIMIENTO	15
INTRODUCCIÓN.....	16
OBJETIVOS DEL ESTUDIO	17
Objetivo general	18
Objetivos específicos.....	18
MARCO TEÓRICO	19
1.1 Diabetes Mellitus	19
1.2 Prevalencia de la Diabetes Mellitus y Diabetes Mellitus Tipo 2	20
1.3 Diabetes Mellitus Tipo 2.....	21
1.3.1 Definición	21
1.3.2 Transportadores de Glucosa.....	21
1.3.3 Fisiopatología de la Diabetes Mellitus tipo 2.....	24
1.3.4 Diagnóstico de la Diabetes Mellitus Tipo 2	24
1.3.5 Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2	26
1.3.6 Parámetros de control para la Diabetes Mellitus Tipo 2	32
1.3.7 Hemoglobina Glicosilada.....	34
1.4 Factores genéticos asociados al tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2	35
1.5 Genes Solute Carrier	36
1.5.1 Definición	36
1.5.2 Transportador GLUT-2	36



1.6	Polimorfismos	37
1.7	Polimorfismo genético rs8192675	39
1.7.1	Relación del polimorfismo con la Hemoglobina Glicosilada y con el metabolismo de la Metformina	40
MATERIALES Y METODOS		41
2.1	Tipo de estudio	41
2.2	Área de estudio	42
2.3	Muestreo	42
2.4	Determinación de Hemoglobina Glicosilada	43
2.4.1	Fundamento	43
2.5	Extracción de ADN	44
2.5.1	Fundamento	44
2.6	Genotipificación del polimorfismo rs8192675 del transportador <i>SLC2A2</i> mediante la técnica qPCR Real Time	44
2.6.1	Fundamento	44
2.6.2	Estandarización de la técnica de qPCR Real Time	45
2.6.3	Interpretación de los resultados (Anexo 9)	46
2.7	Análisis Estadístico	46
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		47
3.1	Características Generales de la muestra:	47
3.2	Medidas antropométricas y características clínicas de los participantes: ...	48
3.3	Frecuencia genotípica y alélica del polimorfismo rs8192675 del transportador <i>SLC2A2</i> en los pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2 de la fundación DONUM.	49
3.4	Asociación de la presencia o ausencia del polimorfismo rs8192675 de acuerdo con las variables cualitativas	50
3.5	Asociación de los valores de HbA1c con la presencia o ausencia del polimorfismo rs8192675 del transportador <i>SLC2A2</i> en los pacientes con DM2 de la Fundación DONUM.	52
3.6	Relación del polimorfismo rs8192675 del transportador <i>SLC2A2</i> con la respuesta favorable de la enfermedad.....	52
3.7	Análisis de la influencia del <i>SLC2A2</i> (rs8192675) y el riesgo de descompensación de los pacientes.	53
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		57



4.1 Conclusiones	57
4.2 Recomendaciones	57
ABREVIATURAS	58
ANEXOS	69



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de la Diabetes Mellitus.....	19
Tabla 2. Criterios Diagnósticos de la American Diabetes Association.	25
Tabla 3. Objetivos generales del control de la Diabetes Mellitus.....	27
Tabla 4. Metas de control de la DM2.	33
Tabla 5. Criterios de inclusión y exclusión.	41
Tabla 6. Características generales de la muestra.....	47
Tabla 7. Medidas Antropométricas y Características Clínicos de los participantes	48
Tabla 8. Frecuencias Genóticas del Polimorfismo rs8192675 y alelo Wild Type	50
Tabla 9. Frecuencias alélicas del polimorfismo rs8192675 y el alelo Wild Type	50
Tabla 10. Asociación de la presencia o ausencia del polimorfismo rs8192675 de acuerdo con las variables cualitativas.	51
Tabla 11. Asociación de HbA1c con la presencia o ausencia del polimorfismo rs8192675 del transportador SLC2A2.....	52
Tabla 12. Relación del polimorfismo rs8192675 del transportador SLC2A2 con la respuesta favorable de la enfermedad.....	53
Tabla 13. Asociación del SNP rs8192675 con la compensación/descompensación de los pacientes.	54
Tabla 14. Materiales y equipos para la determinación de Hemoglobina Glicosilada.	83
Tabla 15. Materiales y equipos para la extracción de ADN.	86
Tabla 16. Materiales y equipos para el desarrollo de qPCR.....	88



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. El principal transportador de monosacáridos (glucosa, galactosa y manosa) en el intestino delgado el SGLT-1 o Sodium Glucose Trasnporter-1.....	22
Figura 2. Estructura hipotética de los GLUT. G = glicina; R = arginina; Q = glutamina; L = leucina; K = lisina; S = serina; W = triptófano.....	23
Figura 3. Mecanismo propuesto para el ingreso de glucosa a la célula	24
Figura 4. Procedimiento para la determinación de HbA1c.	82
Figura 5. Procedimiento del lisado de células para la extracción de ADN.....	84
Figura 6. Procedimiento del lavado de células para la extracción de ADN.....	85
Figura 7. Procedimiento de la fase elución de ADN	85
Figura 8. Procedimiento para dilución de ADN	87
Figura 9. Procedimiento de qPCR para corrida de las muestras.....	87
Figura 10. Parte del proceso de extracción de ADN	89
Figura 11. Baño María VORTEMP 56 EVC usado en el proceso de extracción de ADN. .	89
Figura 12. Muestras de ADN preparadas para el proceso de qPCR	89
Figura 13. Light Clycler Nano 1.0.7.....	89
Figura 14. Análisis Endpoint de LighCycler Nano.....	89



CLAÚSULAS DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Nohela Betzabeth Arévalo Ramírez, autora de la Tesis "ASOCIACIÓN GENOTÍPICA Y FENOTÍPICA DEL POLIMORFISMO rs8192675 DEL TRANSPORTADOR SLC2A2 CON LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 DE LA FUNDACIÓN DONUM", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 23 de octubre de 2017

Nohela Betzabeth Arévalo Ramírez

C.I: 1104794738



CLAÚSULAS DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Noemi Elizabeth Cadmen Ochoa, autora de la Tesis "ASOCIACIÓN GENOTÍPICA Y FENOTÍPICA DEL POLIMORFISMO rs8192675 DEL TRANSPORTADOR SLC2A2 CON LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 DE LA FUNDACIÓN DONUM", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 23 de octubre de 2017

Noemi Elizabeth Cadmen Ochoa

C.I: 0302092630



CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Nohela Betzabeth Arévalo Ramírez en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "ASOCIACIÓN GENOTÍPICA Y FENOTÍPICA DEL POLIMORFISMO rs8192675 DEL TRANSPORTADOR SLC2A2 CON LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 DE LA FUNDACIÓN DONUM", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 23 de octubre de 2017

Nohela Betzabeth Arévalo Ramírez

C.I: 1104794738



CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Noemi Elizabeth Cadmen Ochoa en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "ASOCIACIÓN GENOTÍPICA Y FENOTÍPICA DEL POLIMORFISMO rs8192675 DEL TRANSPORTADOR SLC2A2 CON LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 DE LA FUNDACIÓN DONUM", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 23 de octubre de 2017

Noemi Elizabeth Cadmen Ochoa

C.I: 0302092630



DEDICATORIA

La ciencia es al hombre como el hombre es a Dios, por ello a tal grandeza celestial le ofrendo hoy este triunfo, con sentimiento de amor y gratitud en virtud de haber dispuesto de tal magnífica manera mis pasos, colocándome en los lugares acertados con la compañía adecuada.

Evidentemente el logro es mío, pero el esfuerzo es de mis padres. Cada uno de mis logros se los entrego, porque estos no son más que el reflejo de su arduo trabajo como edificadores de los cimientos éticos, sociales, humanísticos y de amor puestos en mí, para que el día de hoy destellen los frutos anhelados y llenen de dichas sus almas.

Indudablemente a mis amigos, a aquellos amigos que se convierten en familia y hoy en día lo son, les dedico esta parte de mi legado, pues sin tantos momentos de goce y apoyo no estaría hoy aquí.

En fin, tantas personas que merecen tener parte de este resultado, pues la obra final no es más que la suma de sus actos. A todos les entrego este valioso logro, pero más que ello les comparto las filosofías que me mantuvieron firme en el escenario; la primera de la cual aprendí que estaba loca, que “Ser loco es estar cuerdo”, y la segunda que constituye un reto de vida: No se adapta al sistema, se revoluciona al sistema.

Nohela.



DEDICATORIA

Al Creador que con la perfección de sus tiempos me ha permitido este momento.

A mi familia: Manuel, Marcia y Christian, que constituyen el pilar fundamental de mi superación, el ejemplo y la fortaleza, el apoyo incondicional. Juntos sumamos esfuerzos día tras día para hoy concluir este objetivo.

Agradecida por la dicha de tenerlos. Con cariño:

Noemi



AGRADECIMIENTO

Sin duda el camino para alcanzar esta meta ha sido largo y sinuoso, más hemos tenido la fortuna de no haber hecho este recorrido solas. Durante este proceso hemos tenido el privilegio de contar con seres que han sido alfareros de nuestros propósitos, moldeando cada detalle para hoy haber cumplido este anhelo. Es infinita la gratitud que sentimos hacia el Dr. Fausto Zaruma Torres, PhD y a la Dra. Maritza Ochoa Castro, Mgt, tutor y asesor de tesis respectivamente, quienes fueron la guía y el apoyo constante para culminar este ideal.

Asimismo, el haber tenido la oportunidad de conocer a seres altruistas prestos en todo momento a compartir sus experiencias nos ha llenado de regocijo, por ello es vital perpetuar nuestro agradecimiento a la Dra. Inés Malo, PhD y el Ing. Pablo Arévalo, PhD por toda la valiosa ayuda brindada.

El eterno agradecimiento a tantas manos generosas sin cuya ayuda este estudio no hubiese llegado a su fin: Dr. Alfredo Campoverde, Dra. Sonia Cabrera Crespo, Personal del laboratorio H&M de la Clínica San Martín de la ciudad de Azogues, Dra. Maritza Martínez, Personal de la Fundación DONUM, Personal del laboratorio Monte Sinaí, Universidad Politécnica Salesiana de Cuenca, Universidad Nacional de Loja.

“Las palabras nunca alcanzan cuando lo que hay que decir desborda el alma”



INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas la investigación y control de las enfermedades crónicas ha tomado gran importancia debido a que estas constituyen las primeras causas de morbi-mortalidad, afectando enormemente la calidad de vida de los pacientes y generando un gran gasto para el sistema de salud de un país. (Mercado-Martínez & Hernández-Ibarra, 2007)

Dentro de estas enfermedades una de las más destacadas es la Diabetes Mellitus (DM). La Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) también denominada no insulino dependiente es el tipo más común de diabetes, caracterizándose por niveles elevados de azúcar en la sangre que son consecuencia de la insulino resistencia de grado variable (ADA, 2016; González Tabares et al., 2015).

Actualmente, el tratamiento de la enfermedad se fundamenta en dos esquemas; el primero, un tratamiento no farmacológico que es sustentado en un estilo de vida que abarque regímenes alimenticios, de ejercicio y hábitos cotidianos saludables, el segundo corresponde al tratamiento farmacológico. (Castillo Barcias, 2011)

La meta terapéutica del tratamiento se basa en establecer niveles de hemoglobina glicosilada (HbA1c), entre 6,5% y 7,5%, ya que se ha evidenciado que los niveles basales de HbA1c tienen gran incidencia en las complicaciones clínicas en pacientes con DM2. En consecuencia, se estima que el riesgo cardiovascular aumenta un 18% por cada 1% de incremento en la HbA1c. (Carrera Boada & Martínez Moreno, 2013b)

El tratamiento farmacológico inicial y de elección para esta patología está liderado por el grupo de las biguanidas cuyo representante es la Metformina (MET). La MET actúa a nivel hepático disminuyendo la producción de glucosa, su efecto terapéutico se ve evidenciado mediante la reducción de HbA1c entre el 1 y 1,5%. Cuando las condiciones particulares del paciente no son las adecuadas o cuando el tratamiento con biguanidas no es suficiente, es necesario recurrir a la adición de fármacos diferentes, destacando en general las sulfonilureas y la insulina. (Castro Martínez, Castillo Anaya, Ochoa Aguilar, & Godínez Gutiérrez, 2014; Seguí Díaz, 2015)

Existen individuos que responden eficientemente al tratamiento farmacológico y pueden controlar su enfermedad, pero también existen otros donde no se evidencia la efectividad esperada.



Muchos factores podrían estar influenciando en la mayor o menor respuesta hacia el tratamiento farmacológico, por ejemplo los factores ambientales o los relacionados con el tratamiento no farmacológico que en tal caso podrían ser controlados con la educación y cooperación del paciente. En contraste, están los factores que no se controlan con lo mencionado y están directamente relacionados con la composición genética del individuo. El estudio *Heritability of variation in glycaemic response to metformin: a genome-wide complex trait analysis* reveló que existe un 34% de influencia hereditaria frente al control de la glucosa mediado por la MET. (Zhou et al., 2014)

La variación de la respuesta farmacológica no solo se ha observado en el uso de la MET, un estudio realizado en 32 pacientes con DM2 de Yucatán mostró la influencia de los polimorfismos Gly972Arg, SNP43 y Pro12Ala con el fallo terapéutico asociado a las sulfonilureas. (García Escalante, Suárez Solís, López Ávila, Pinto Escalante, & Laviada Molina, 2009)

Recientemente un estudio desarrollado por Zhou et al. (2016) en la Universidad San Francisco-California descubrió que el polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) rs8192675 del gen *SLC2A2* que codifica para el transportador GLUT-2, modifica la respuesta a la MET, siendo ésta mucho mejor en los pacientes homocigotos para dicho polimorfismo. El estudio describe que los sujetos que poseen este polimorfismo responden mejor al tratamiento porque la variante hace que el paciente simule un estado en el que estuviese recibiendo una cantidad extra de fármaco por día, reflejándose este hecho en la reducción de HbA1c. (Zhou et al., 2016)

En Ecuador, no existen estudios que describan polimorfismos que afecten la respuesta del tratamiento reflejado en los valores de HbA1c. El estudio farmacogenético en estos pacientes dará un giro completo al manejo de la enfermedad pues permite la individualización de los tratamientos, no sólo se verá una mejor respuesta al control de la enfermedad, sino que se tendrá un mejor manejo de las reacciones adversas asociadas al medicamento. Este estudio tiene como finalidad determinar la asociación genotípica y fenotípica del polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2* con la hemoglobina glicosilada en pacientes con DM2 de la Fundación DONUM.

OBJETIVOS DEL ESTUDIO



Objetivo general

- Asociar genotípica y fenotípicamente el polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2* con la hemoglobina glicosilada en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2 de la fundación DONUM.

Objetivos específicos

- Identificar y establecer por PCR REAL TIME (qPCR) la frecuencia genotípica y alélica del polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2* en los pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2 de la fundación DONUM.
- Asociar los valores de hemoglobina glicosilada con la presencia o ausencia del polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2* en los pacientes con DM2 de la Fundación DONUM.
- Relacionar la presencia o ausencia del polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2* con la respuesta favorable de la enfermedad.
- Analizar la influencia del *SLC2A2* (rs8192675) y la probabilidad de descompensación de los pacientes.



MARCO TEÓRICO

1.1 Diabetes Mellitus

La DM considerada actualmente una pandemia, es un trastorno endocrino muy común. Sin embargo, la mitad de la población que la padece no ha sido diagnosticada y por lo tanto no recibe tratamiento, lo que agrava el riesgo de sufrir alteraciones micro y macro vasculares. (Rojas, Molina, & Rodríguez, 2012)

Esta patología es una condición crónica que abarca un conjunto de enfermedades metabólicas de múltiples etiologías cuyo fenotipo es la hiperglucemia, cursando con perturbaciones en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y grasas. Este desorden es el resultado de un defecto en la secreción de los niveles de insulina circulante, resistencia a la acción de la misma o ambas condiciones. La hiperglucemia crónica conlleva a complicaciones como disminución en la función y falla de varios órganos especialmente el riñón, ojos, nervios, corazón y vasos sanguíneos. (Rojas et al., 2012). La clasificación de la diabetes puede hacerse de acuerdo al mecanismo fisiopatológico predominante como se ilustra en la Tabla 1:

Tabla 1. Clasificación de la Diabetes Mellitus.

Tipo de Diabetes	Características
Diabetes Mellitus Tipo 1	Se caracteriza por la destrucción autoinmune de las células β pancreáticas lo que genera un déficit absoluto en la secreción de insulina con tendencia a la cetoacidosis, generalmente los síntomas son presentados en una etapa temprana de la enfermedad.
Diabetes Mellitus Tipo 2	Cursa con insulino resistencia y un defecto progresivo en su secreción, se asocia a obesidad o incremento en la grasa visceral.
Diabetes Mellitus Gestacional	Intolerancia a la glucosa que aparece por primera vez durante la gestación.

Tabla 1. (Continuación)



Otros Tipos específicos de	Son condiciones poco frecuentes:
Diabetes	<ul style="list-style-type: none">• Defectos genéticos de la función de la célula β• Defectos genéticos en la acción de la insulina• Endocrinopatías• Inducida por drogas o químicos

Fuente: (Benzadon, Forti, & Sinay, 2014)

1.2 Prevalencia de la Diabetes Mellitus y Diabetes Mellitus Tipo 2

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en su Primer Informe Mundial sobre la DM reveló que en el 2014 más de 422 millones de personas padecían esta enfermedad, esta cifra ha crecido notablemente en comparación con el año de 1980 en donde la población afectada era de 108 millones, es decir, la prevalencia ha incrementado de un 4.7% a un 8.5% en todos estos años. La Federación Internacional de Diabetes (FID) en la sexta edición Diabetes Atlas (2015) informó que para el año 2030 la población mundial afectada por esta patología alcanzará los 552 millones aproximadamente. (FID, 2015)

En Ecuador, la oficina de Epidemiología de Enfermedades Catastrófica no transmisibles informó que del año 1994 al 2009 los casos de DM2 habían ascendido de 142 por 100.000 habitantes a 1084 casos por 100.000 habitantes. Los actuales informes de la OMS comunicaron que la población ecuatoriana afectada por DM2 es de 563.840 habitantes (6.89%) cuyas edades oscilan entre 20 y 79 años. La enfermedad cobra la vida de 5.492 ecuatorianos anualmente y existe un incremento de 19.000 casos por año. (MSP, OMS, & OPS, 2011; OMS, 2014; OPS & OMS, 2016)

La DM es una de las patologías crónicas que más presupuesto de Salud Pública ocupa, según la FID en la Séptima Edición de ATLAS DE LA DIABETES el gasto mundial para el manejo de la enfermedad en 2015 ha sido de 673.000 millones de dólares y se estima que en 25 años el gasto ascenderá a 802.000 millones de dólares.

En Ecuador, la DM cobra un gasto en salud mayor a 5.000 millones de dólares, cada ecuatoriano ocupa de 500 a 2000 dólares anuales en el manejo de su enfermedad y se



sabe que uno de cada diez ecuatorianos mayores de 50 años ya padece DM. (ADA, 2016; FID, 2015; MSP & INEC, 2013; OPS & OMS, 2016)

Cada hora fallecen aproximadamente 600 personas con diabetes, siendo la mitad de los casos consecuencia de enfermedad cardiovascular. La DM representa el 14.5 % de muertes a nivel mundial y se presume que para el 2030 esta enfermedad se convertirá en la séptima causa de muerte en el mundo, la OMS considera que la glucosa elevada en sangre es la tercera causa de riesgo de muerte precoz. La DM2 representa del 87% al 90% de casos de diabetes a nivel de todo el mundo, siendo los países más afectados por esta enfermedad aquellos de recursos medianos a bajos. (OMS, 2017)

1.3 Diabetes Mellitus Tipo 2

1.3.1 Definición

La DM2 desencadenada por una interacción entre factores medioambientales y genéticos, es una enfermedad endocrino metabólica asociada frecuentemente a la obesidad y sedentarismo, caracterizada por hiperglucemia secundaria a la resistencia de la acción de la insulina en tejidos periféricos, secreción anómala de insulina y aumento de la producción hepática de glucosa. (Cervantes & Presno, 2013)

1.3.2 Transportadores de Glucosa

Los carbohidratos son los macronutrientes que constituyen la mayor poza energética para el organismo, su metabolismo para transformarse en energía se realiza por diferentes rutas metabólicas. La glucosa es el carbohidrato más representativo, su metabolismo da como resultado la producción de Adenosín trifosfato (ATP) molécula energética del organismo. (Sandoval Muñoz, Vargas-Guerrero, Flores-Alvarado, & Gurrola-Díaz, 2016; UCV, 2016)

Para que exista una homeostasis de la glucemia se involucra tres procesos esenciales:

1. Absorción de la glucosa en el intestino delgado
2. Internalización y consumo de la glucosa por los tejidos y
3. Producción hepática de glucosa

Todos estos procesos implican un punto clave: el transporte de la glucosa a través de la membrana celular. Debido a que la glucosa es una molécula polar necesita de otros mecanismos para atravesar la membrana, el primero es la bomba de ATPasa Na^+/K^+ y el

segundo las proteínas transportadoras de Glucosa (2 clases).(Gómez Zorita & Urdampilleta, 2012; UCV, 2016)

La bomba ATPasa de Na^+/K^+ genera un gradiente de concentración química de sodio iónico a través de la salida de tres moléculas de sodio al espacio extracelular paralelamente con la entrada de dos moléculas de potasio al espacio intracelular. El paso siguiente es la entrada de las moléculas de glucosa a través de 2 familias de proteínas facilitadoras:

1. Los Sodium Glucose Linked Transporter (SGLT) se encargan de la absorción de glucosa en el intestino y de su reabsorción en el sistema renal, estas proteínas están codificadas por los genes *Solute Carrier 5A (SLC5A)* que expresan 6 tipos de SGLT (SGLT1-6), los SGLT-1, 2 y 3 están asociadas a la absorción y reabsorción de glucosa, mientras las variantes restantes están involucradas con el transporte de yodo y multivitaminas. Se conoce que el SGLT-1 el principal transportador de monosacáridos en el intestino delgado (Figura 1).

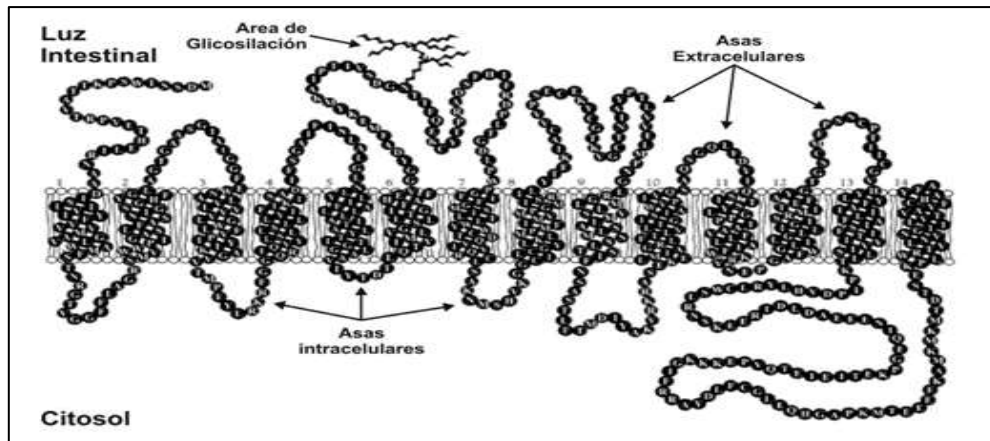


Figura 1. El principal transportador de monosacáridos (glucosa, galactosa y manosa) en el intestino delgado el SGLT-1 o Sodium Glucose Transporter-1. Fuente: (Bermúdez et al., 2007)

2. De modo similar están las Proteínas Facilitadoras del Transporte de Glucosa (GLUT) cuya función es regular el movimiento de carbohidratos entre compartimento intra y extracelular manteniendo una tasa constante para el metabolismo (Figura 2). (Gómez Zorita & Urdampilleta, 2012; UCV, 2016)

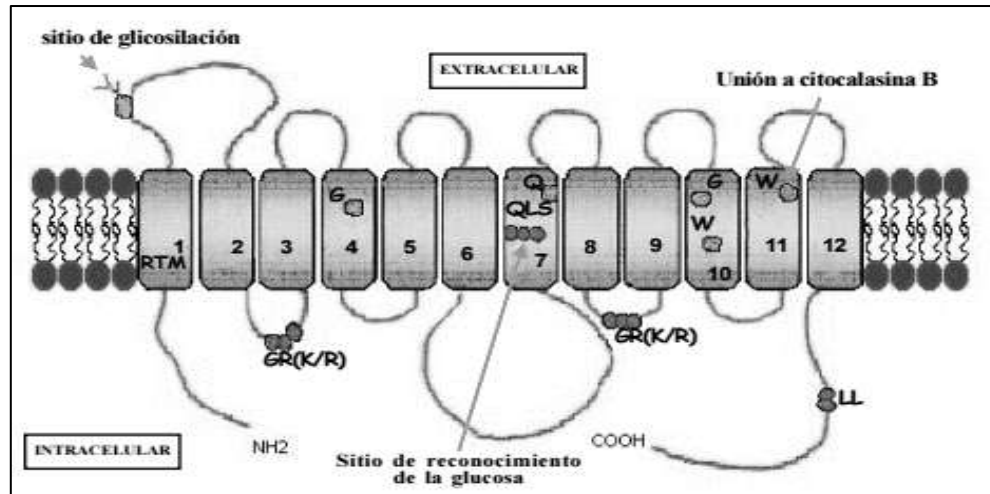


Figura 2. Estructura hipotética de los GLUT. G = glicina; R = arginina; Q = glutamina; L = leucina; K = lisina; S = serina; W = triptófano. *Fuente: (Castrejón, Carbó, & Martínez, 2007)*

Como muestra la Figura 3, estas proteínas median el transporte de la glucosa a través de 4 pasos:

- 1) Unión de la glucosa al transportador en la cara interna de la membrana
- 2) Modificación conformacional del transportador, colocándose la glucosa y su sitio de unión hacia la cara interna de la membrana.
- 3) Liberación de la Glucosa en el citoplasma
- 4) Una vez liberada la glucosa el transportador vuelve a su conformación inicial y direcciona nuevamente el sitio de unión hacia la cara externa de la membrana (Díaz & Burgos, 2002)

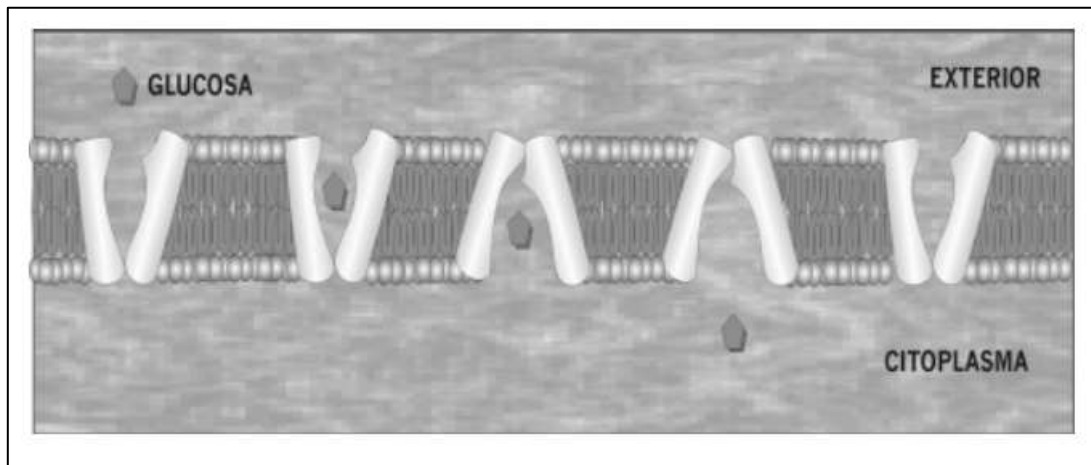


Figura 3. Mecanismo propuesto para el ingreso de glucosa a la célula. *Fuente: (Díaz & Burgos, 2002)*

1.3.3 Fisiopatología de la Diabetes Mellitus tipo 2

Las formas más frecuentes de DM2 son poligénicas, aún no se ha descrito con exactitud la interacción entre los factores medioambientales y genéticos que desencadenan el inicio clínico de la enfermedad; sin embargo, se atribuye el inicio de la DM2 a la incapacidad de las células β del páncreas para adaptarse al incremento en la demanda de insulina. (Cervantes & Presno, 2013)

La fisiopatología incluye la secreción deficiente de insulina debido a la disfunción que puede ser progresiva de las células β de los islotes pancreáticos, resistencia a la insulina en los tejidos periféricos como músculo, hígado y tejido adiposo, y la supresión insuficiente de la producción de glucagón.

Como resultado de estas condiciones, la absorción, almacenamiento y eliminación de la glucosa ingerida y la proveniente de producción (elevada) hepática son inadecuados traduciéndose en hiperglucemia. (Carrera Boada & Martínez Moreno, 2013a; Tebar Massó & Escobar Jiménez, 2009)

1.3.4 Diagnóstico de la Diabetes Mellitus Tipo 2

El diagnóstico de la DM se realiza en función de los niveles de glucemia del individuo. Actualmente tras el análisis por organizaciones expertas en la temática como la *American Diabetes Association (ADA)*, OMS, FID y la *Asociación Europea para el Estudio de la Diabetes (EASD)* los criterios para el diagnóstico de DM se han normalizado (Tabla 2) y



se ha establecido que dicho diagnóstico se basa en que la *“elevación anormal de la glucemia incrementa el riesgo de las complicaciones crónicas características de la enfermedad, especialmente el aumento de riesgo de padecer retinopatía”*. (Aschner M et al., 2016; Mediavilla Bravo, 2014; OMS, 2017; redGDPS, 2016)

Tabla 2. Criterios Diagnósticos de la American Diabetes Association.

Criterios Diagnósticos	
Diabetes	<ol style="list-style-type: none">1. Síntomas y glucemia al azar ≥ 200mg/dL (11,1 mmol/L)2. Glucemia en ayunas ≥ 126mg/dL (7mmol/L)3. Glucemia a las 2 horas de Sobrecarga Oral de Glucosa (SOG) ≥ 200mg/dL (11,1 mmol/L)4. HbA1c $\geq 6.5\%$
Glucemia Basal alterada	Glucemia en ayunas 100-125mg/dL (5.5-6.9 mmol/L)
Intolerancia a la glucosa	Glucemia entre 144-199 mg/dL (7.8-11 mmol/L) a las 2 horas de SOG con 75g de glucosa
Mayor riesgo de Diabetes	HbA1c del 5.7-6.4%

***Es necesario comprobar el diagnóstico con una nueva determinación de glucemia en ayunas. Sobrecarga Oral de Glucosa o HbA1c.**

Fuente:(redGDPS, 2016)

Algunos autores consideran que cuando un paciente presenta síntomas como polidipsia, polifagia, poliuria, pérdida de peso y pérdida de la visión, basta que uno de los parámetros mencionados esté alterado para establecer el diagnóstico de diabético, en contraste existen pacientes asintomáticos en los cuales se requiere un análisis repetido de estos criterios para establecer un diagnóstico verídico. (ALAD, 2013)



Actualmente se han introducido términos o estados como: intolerancia oral a la glucosa, alteración de la glucosa basal y valores elevados de HbA1c. Algunos autores sostienen que estos estados serían correspondientes a la Prediabetes; sin embargo, otros sustentan que deberían ser considerados como pacientes con “Mayor riesgo de DM” pues se ha evidenciado que no todos los pacientes con estas características desarrollan la enfermedad. (ADA, 2012; Arnold Rodríguez, Arnold Domínguez, Alfonso Hernández, Villar Guerra, & González Calero, 2012; Benzadon et al., 2014; OMS, 2017; redGDPS, 2016)

1.3.5 Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2

Aunque la DM2 es aún una enfermedad incurable esta puede ser bien controlada, se han establecido dos tipos de tratamiento que se adaptan a las condiciones de cada paciente. Si bien, ciertos pacientes no requieren de tratamiento farmacológico, el tratamiento no farmacológico es esencial para aquellos que además precisan tratamiento farmacológico. (Reyes Sanamé, Pérez Álvarez, Alfonso Figueredo, Ramírez Estupiñan, & Jiménez Rizo, 2016)

El tratamiento de la DM2 sea farmacológico o no tiene como objeto terapéutico:

- Eliminar y/o atenuar los signos y síntomas relacionados con la hiperglucemia.
- Evitar complicaciones agudas y disminuir o evitar las complicaciones crónicas.
- Procurar que el paciente pueda desarrollar con naturalidad sus actividades físicas, mentales laborales y sociales con la mejor calidad de vida posible. (MSP et al., 2011; Reyes Sanamé et al., 2016)

El monitoreo de la DM se ha venido manejando con el control HbA1c, pues este es el marcador más fidedigno del control y estado de la enfermedad. En general, la meta del tratamiento de la DM2 es obtener valores de HbA1c <7.5%. En un campo más estricto se considera que para personas con periodo corto de enfermedad, esperanza de vida prolongada y ausencia de enfermedad cardiovascular los valores de HbA1c deben restringirse a 6-6.5%. Para aquellos pacientes con episodios frecuentes de hipoglucemia, esperanza de vida disminuida y complicaciones avanzadas se adoptan valores de hasta 8% de HbA1c. Además del monitoreo de la HbA1c y de la glucemia basal el objetivo del control de la enfermedad recae en mantener óptimos ciertos parámetros asociados a las comorbilidades de la patología como se menciona en la Tabla 3. (Cámara Balda & Torres Baile, 2013)

**Tabla 3.** Objetivos generales del control de la Diabetes Mellitus.

Parámetros	Objetivos de Control
HbA1c (%)	< 7,5%
Glucemia capilar plasmática preprandial (mg/dL)	90 – 130
Glucemia capilar plasmática postprandial (mg/dL)	< 180
Triglicéridos (mg/dL)	< 150
Colesterol total (mg/dL)	< 200
HDL colesterol (mg/dL)	>40/50*
LDL colesterol (mg/dL)	< 100
Presión arterial (mmHg)	< 140/90
IMC (Kg/m²)	< 25
Consumo de Tabaco	NO

***40 en hombre y 50 en mujeres.**

Fuente: (Cámara Balda & Torres Baile, 2013)

1.3.5.1 Tratamiento no farmacológico

Con un porcentaje de HbA1c correspondiente al 8% la Red Grupos de Estudio de la Diabetes en Atención Primaria para la Salud (RedGDPS) considera que aún es posible manejar la enfermedad únicamente con terapia no farmacológica, estos valores varían de autor en autor, pero globalmente la prescripción de terapia no farmacológica es adecuada cuando los niveles de HbA1c oscilan entre 7% y 8%. (Alemán Sánchez, 2014; CADIME, 2016; Navarro Pérez, 2012)

El fundamento de esta terapia es la educación y adaptación del paciente a un régimen de vida en el que se incluya alimentación saludable, ejercicio continuo y ausencia de hábitos



que influyen en la exacerbación de la enfermedad como por ejemplo el tabaquismo. (IMSS, 2014; Reyes Sanamé et al., 2016)

1.3.5.1.1 Educación del paciente

El objetivo de la educación integral del paciente diabético, así como del ambiente que lo rodea (familiares y amigos), es emitir conocimientos sobre la enfermedad y la manera de sobrellevarla a través de la adquisición de habilidades y destrezas que ayudará al enfermo a mejorar su calidad de vida y evitar el deterioro de salud. (Aschner M et al., 2016; Gil Velázquez et al., 2013; Reyes Sanamé et al., 2016)

1.3.5.1.2 Nutrición adecuada

La nutrición adecuada en una persona con DM en cualquiera de sus formas tiene por objeto el control de la obesidad y/o lograr un normo peso así como el control de los valores de glucemia. (Cámara Balda & Torres Baile, 2013; Reyes Sanamé et al., 2016)

En general la dieta de un paciente diabético no varía a grosso modo de los pacientes que no padecen esta enfermedad. Se establece que la distribución de macronutrientes en estos pacientes es la siguiente:

1. 50% a 60% del aporte energético en forma de carbohidratos: el tipo y cantidad de carbohidratos determinan el 90% de la respuesta glicémica postprandial. Por esta razón se debe limitar el consumo de carbohidratos de absorción rápida (< 10% del total de calorías) y priorizar el consumo de fibra. (Aschner M et al., 2016; Cámara Balda & Torres Baile, 2013; Durán Agüero, Carrasco Piña, & Araya Pérez, 2012; Gil Velázquez et al., 2013; Reyes Sanamé et al., 2016)
2. 15% en forma de proteínas: se recomienda que el aporte de proteínas provenga primordialmente de fuentes vegetales debido al riesgo de hipercolesterolemia que se representan las fuentes animales. (Bustamante C & Castellón Alcoreza, 2014)
3. Menos del 30% en forma de grasa: es aconsejable disminuir el consumo de grasas saturadas y transaturadas (< 7% de calorías totales) y aumentar el consumo de grasas mono y poliinsaturadas. (Aschner M et al., 2016; Cámara Balda & Torres Baile, 2013; Durán Agüero et al., 2012; Gil Velázquez et al., 2013; Reyes Sanamé et al., 2016)



1.3.5.1.3 Actividad Física

En la recopilación de Márquez y col. (2012) realizada para su estudio *“Exercise in the treatment of type 2 diabetes mellitus”* se habla de la existencia de tres terapias basadas en el tipo de actividad física encaminada al control de la glucemia, estas son el Entrenamiento Aeróbico, Entrenamiento de Fuerza y la combinación de ambas, actualmente se sabe que esta última alternativa muestra mejores resultados en el control de HbA1c. (Aschner M et al., 2016; Cámara Balda & Torres Baile, 2013; Márquez Arabia, Ramón Suárez, & Márquez Tróchez, 2012; Reyes Sanamé et al., 2016; Rodríguez Amador et al., 2015)

1.3.5.1.4 Hábitos saludables

En este marco se destaca la importancia que tiene la ausencia de la ingesta alcohólica y hábito tabáquico en la vida de un paciente diabético. Ambos productos han demostrado influir de manera negativa en el aumento de los riesgos cardiovasculares. (Aschner M et al., 2016; Chisaguano & Ushiña, 2015)

En aquellas personas que frecuentemente consumen tabaco se exagera el riesgo de desarrollar DM, se ha reportado que existe una relación dosis respuesta, en la que las personas que fuman menos cigarrillos diarios presentan menos valores de riesgo asociados a la enfermedad y sus comorbilidades.

Las recomendaciones del consumo de alcohol son en general las mismas para personas diabéticas y sanas; sin embargo, la atención en pacientes diabéticos se presta por el hecho de que el alcohol inhibe la gluconeogénesis, factor que contribuye al desarrollo de hipoglucemias en especial cuando no se ha consumido alimentos. (Durán Agüero et al., 2012)

1.3.5.2 Tratamiento Farmacológico

Si en el lapso de 3 a 6 meses no se ha logrado alcanzar la meta de HbA1c (<7.5%) y reducción de 5% a 7% del peso corporal tras haber prescrito tratamiento no farmacológico, es necesario instaurar terapia farmacológica. Se da inicio a la monoterapia con MET si las condiciones del paciente así lo permiten, si esta alternativa falla es necesario añadir otro medicamento que por lo general suelen ser los fármacos pertenecientes al grupo de las sulfonilureas. Finalmente, tras intentos fallidos con ambos



medicamentos se amerita la administración de insulina.(Aschner M et al., 2016; Osakidetza, 2013; Reyes Sanamé et al., 2016)

A continuación, se menciona de manera resumida los aspectos más importantes de los grupos farmacológicos y fármacos más utilizados en el tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2:

1.3.5.2.1 Biguanidas

Encabezando el grupo está la MET como fármaco de elección, la MET no solo ejerce una acción benéfica sobre el control glicémico, sino que favorece de manera significativa a pacientes con DM2 que además padecen de obesidad por actuar a nivel del metabolismo lipídico y disminuir el riesgo de morbilidades cardiovasculares. (Aschner M et al., 2016; Osakidetza, 2013; Seino et al., 2010)

La acción de la MET como hipoglucemiante se basa en el aumento de la sensibilidad a la insulina de las células hepáticas, además reduce la salida de glucosa de las células hepáticas y mejora la resistencia periférica a la insulina. (Aschner M et al., 2016; Dardano, Penno, Del Prato, & Miccoli, 2014; Marín Peñalver & Del Cañizo Gómez, 2016; Reinehr, 2013)

Este fármaco actúa también a nivel del metabolismo lipídico tras modificar la microbiota del intestino y activar la AMPK intestinal y hepática, este conjunto mantiene la integridad de la barrera intestinal y disminuye la cantidad de lipopolisacáridos circulantes y hepáticos. (Marín Peñalver & Del Cañizo Gómez, 2016)

Una característica que destaca de la MET es la poca frecuencia de episodios hipoglucémicos, no obstante, su principal efecto adverso es la acidosis láctica que puede llegar a producir, motivo por el cual el fármaco está contraindicado en pacientes con filtrado glomerular < 30ml/min. (Dardano et al., 2014; Marín Peñalver & Del Cañizo Gómez, 2016; Osakidetza, 2013)

1.3.5.2.2 Sulfonilureas y Metilglinidas

Actúan a nivel de las células β pancreáticas estimulando la secreción de insulina por medio de la regulación de canales de potasio dependientes de ATP, inducen al cierre de estos canales y despolarización celular por aumento de la concentración de calcio intracitoplasmático y consecuentemente liberación de insulina. (Aschner M et al., 2016;



Dardano et al., 2014; Marín Peñalver & Del Cañizo Gómez, 2016; Osakidetza, 2013; Reinehr, 2013)

Estos fármacos son adaptados al tratamiento diabético cuando la MET está contraindicada (filtrado glomerular < 30ml/min) o cuando la misma no es bien tolerada. La principal desventaja que presentan estos fármacos en especial las sulfonilureas son los shocks hipoglicémicos que pueden llegar a ser severos. (Dardano et al., 2014; Marín Peñalver & Del Cañizo Gómez, 2016; Osakidetza, 2013)

1.3.5.2.3 Insulina

El estudio *Optimal therapy of type 2 diabetes: a controversial challenge* menciona de manera acertada la instauración de terapia insulínica bajo el siguiente enunciado “*start low and go slowly*”, si bien la terapia con insulina podría mejorar notablemente la calidad de vida del paciente y disminuir el porcentaje de eventos hipoglicémicos especialmente nocturnos, existen una serie de consideraciones que debe hacerse como por ejemplo evaluar comorbilidades como la disfunción cognitiva, pérdida de la visión e incluso condiciones del paciente y habilidad para la administración de esta hormona (Dardano et al., 2014; Marín Peñalver & Del Cañizo Gómez, 2016)

En todo caso, se considera que ante evidencias de síntomas y estado clínico inestable, deshidratación, cetosis y niveles elevados de glucemia se proceda a la instauración de insulina en la terapia. (Aschner M et al., 2016)

1.3.5.2.4 Otros fármacos

Actualmente se conoce la existencia de los fármacos incretínicos que ejercen una acción análoga de la incretina incitando la liberación de la insulina. Estos fármacos que por razones prácticas se dividen en Análogos de la GLP-1 y los Inhibidores de la dipeptil peptidasa tipo IV (IDPP-4) aún no han sido aceptados por algunos organismos reguladores y no existe evidencia certera sobre la seguridad y eficacia de los mismos. Otra línea relativamente nueva son los fármacos glucosúricos inhibidores selectivos del transportador sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2), estos reducen la reabsorción de glucosa a nivel de túbulo proximal y aumenta la excreción de glucosa urinaria. Los únicos fármacos de este grupo aprobados por la *European Medicine Agency* (EMA) son la dapagliflozina y canagliflozina que pueden administrarse en pacientes con función renal conservada. (Fernández Balsells & Ricart Engel, 2015; Osakidetza, 2013)



1.3.6 Parámetros de control para la Diabetes Mellitus Tipo 2

La monitorización de la DM2 está fundamentada en la evidencia de la ausencia o control (valores bioquímicos óptimos/estables) de sintomatología clínica y paraclínica que refleje la efectividad y eficacia del tratamiento farmacológico o no farmacológico de la enfermedad. El tratado de la OMS *Diagnóstico y monitorización de la Diabetes Mellitus desde el laboratorio* establece algunos otros marcadores utilizados para el control del tratamiento de la diabetes:

- Glucosa (Sangre, orina)
- Excreción urinaria de albúmina
- Cetonas (orina)
- Creatinina
- Test de tolerancia oral a la glucosa (TTOG)
- Urea
- HbA1c
- Proteinuria
- Fructosamina
- Perfil lipídico en plasma.(Reinauer,Home,Kanagas abapathy, & Heuck, 2010)



Existen además técnicas avanzadas para evaluar y controlar la DM y el metabolismo de la glucosa.

- Autoanticuerpos citoplasmáticos de las células de los islotes (ICA)
- Anticuerpo contra el ácido glutámico descarboxilasa (GADA)
- Autoanticuerpos asociados al insulinoma (IA-2A)
- Autoanticuerpos antiinsulínicos (IAA)
- Insulina
- Péptido C
- Carga de glucosa I.V.
- Pinza (Pinza euglucémica-hiperinsulinémica). (Reinauer et al., 2010)

Las metas control establecidas para la diabetes (Tabla 4) se sustentan básicamente en niveles de glucemia óptimos, aunque es importante también el control de otros parámetros bioquímicos como por ejemplo perfil lipídico considerando que esta enfermedad es multiorgánica y la valoración de otros órganos y sistemas es indispensable para anticipar y prevenir comorbilidades.

Tabla 4. Metas de control de la DM2.

Glucemias	Capilar
Glucemia preprandrial	90-100 mg/dL*
Glucemia postprandrial	<140 mg/dL
HbA1c	6.5-7%**
Perfil Lipídico	
Colesterol Total	< 200 mg/dL
HDL	>40 mg/dL(hombres)>55 mg/dL (mujeres)
LDL	< 100 mg/dL
Triglicéridos	< 150 mg/dL
ICM	18.5 – 24.9
Circunferencia abdominal	Mujeres < 88cm; Hombres < 94 cm



Albúmina en muestra casual de orina

Normal	< 30 mcg
Microalbuminuria	30-229 mcg
Albúmina	≥ 300 mcg

***Según la edad y condiciones clínicas del paciente**

**** Lo ideal es obtener un valor de HbA1c menor a 6.5% siempre y cuando dicho objetivo se alcance evitando al máximo eventos de hipoglucemia. En pacientes de edad avanzada o con enfermedades cardiovasculares o renales complicadas, se recomienda como aceptable un valor máximo de 7%.**

Fuente: (Cevallos, Nasillo, & Santaella, 2012)

Pese al desarrollo de nuevas técnicas y marcadores sofisticados para el monitoreo de la Diabetes Mellitus, la determinación y análisis de la HbA1c no deja de ser el “*Gold Standar*” para evaluar el control y evolución de la enfermedad.

1.3.7 Hemoglobina Glicosilada.

En 2010 se introdujo la HbA1c como un criterio diagnóstico y parámetro de control de la DM. (Lenz, Zarate, Rodríguez, & Ramírez, 2014; Pereira Despaigne, Palay Despaigne, Rodríguez Cascaret, Neyra Barros, & Chia Mena, 2015; redGDPS, 2016)

La hemoglobina es una proteína propia de los eritrocitos, encargada principalmente del transporte de oxígeno a todas las células del organismo, además del almacén y transporte de glucosa. El ser humano tiene dos tipos de hemoglobinas principales; la hemoglobina fetal y la hemoglobina A. Esta última representa el 95% de la hemoglobina total de nuestro organismo, a su vez esta proteína se sub-fracciona en dos tipos; la HbA1 (90%) y la HbA2 (3.5%-5%). La HbA1 corresponde a la hemoglobina glicosilada que a su vez tiene tres fracciones (HbA1a, HbA1b, HbA1c) de las cuales la HbA1c denota importancia por ser la más abundante y estable.

La glicosidación de la hemoglobina se realiza en forma lenta y no enzimática favorecida por la permeabilidad de los eritrocitos, además es un proceso continuo pues hay un incesante nacimiento y destrucción de los eritrocitos, es por ello que se propone que la HbA1c es proporcional a la glucemia y que representa el valor medio de la misma de los últimos 90 a 120 días, correspondientes al tiempo de vida de los eritrocitos. (Angulo, Félix, Hernández, & Martínez, 2014; Bracho-Nava et al., 2015;



Orellana, 2014; Rodríguez Amador et al., 2015; Vargas Contreras, Gómez Moreno, & Conde Mercado, 2014)

1.4 Factores genéticos asociados al tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2

Sin duda la Farmacogenética y Farmacogenómica empiezan a tomar interés y serán la clave para un manejo mejor e individualizado de las enfermedades ya sean estas crónicas o agudas. La DM2 no es precisamente una enfermedad Mendeliana, aunque hoy en día se sabe que hay un sin número de genes involucrados en el desarrollo de la DM2. Se ha comprobado que los polimorfismos en los genes *KCNJ11* (rs5219), *LEPR* (rs11208654), *IGF2BP2* (rs4402960), *VL-DLR* (rs2242103), *KCNQ1* (rs2237892), *RPTOR* (rs12946115), *SLC25A18* (rs1296819) se asocian con la DM2 influyendo directa o indirectamente sobre la sensibilidad o secreción de insulina. (Monreal Robles et al., 2014)

La influencia de factores genéticos en la DM2 se observa fenotípicamente en el desarrollo de la enfermedad y en la respuesta del paciente al control de la misma con los fármacos. Tal es el caso de una variante genética implicada en esta respuesta, se trata de los polimorfismos encontrados en el gen *SLC22A1* que codifica la producción del transportador catiónico 1 (OTC1), el mismo que es encargado de transportar a la MET al interior del hepatocito.

Un estudio realizado en 132 pacientes argentinos que padecían de DM2 en el cual se analizó la frecuencia de 5 polimorfismos del gen *SLC22A1* (R61C, P341L, M420del, G401S y G465R) evidenció que todos influían en una baja respuesta al fármaco, pero que los polimorfismos M420del y G465R tenían una diferencia estadística mucho más significativa, la misma que se veía reflejada en los niveles de HbA1c. (Zhou et al., 2014)

Así mismo en México-Yucatán tras estudiar a un grupo de pacientes diabéticos se evidenció que polimorfismos de los genes *IRS1*, *CAPN10*, *PPARG2*, estaban influyendo de manera negativa en la respuesta farmacológica hacia las sulfonilureas y MET. (García Escalante et al., 2009)

Más recientemente un estudio desarrollado por la Universidad San Francisco de California descubrió que el polimorfismo rs8192675 del transportador *SCL2A2* que codifica para el transportador GLUT-2, modifica la respuesta a la MET, siendo esta respuesta mucho mejor en los pacientes que poseen dos copias del alelo C. El estudio sugiere que los pacientes que poseen las dos copias del alelo C responden mejor al tratamiento porque la variante hace que el paciente simule un estado en el que



estuviese recibiendo 250mg extra de MET por día, que corresponde al 26% de la dosis diaria media, que se traduce en la reducción del 0,15% de HbA1c. (Zhou et al., 2016)

1.5 Genes Solute Carrier

1.5.1 Definición

Existen 55 familias o grupos dentro de la superfamilia de los genes Solute Carrier (*SLC*) que codifican un número aproximado de 362 proteínas, que a su vez comparten un 20% a 25% de homología en cuanto a su secuencia aminoacídica. Las proteínas que codifican estos genes incluyen transportadores pasivos, antitransportadores y simportadores, todos ellos localizados en la membrana celular y membranas de las organelas citoplasmáticas. Estos transportadores poseen múltiples dominios transmembranales a través de los cuales acarrear sustancias como aminoácidos, oligopéptidos, azúcares, cationes y aniones orgánicos e inorgánicos, sales biliares, lípidos, neurotransmisores, etc. (He, Vasiliou, & Nebert, 2015)

El *SLC2A2* es un gen localizado en el cromosoma 3 y encargado de codificar una proteína (GLUT-2) de 522 aminoácidos que es sintetizada principalmente en las células β pancreáticas, hígado, intestino delgado y nefrona proximal y, cuya función principal es el transporte de glucosa a nivel hepático e intestinal. (Bermúdez et al., 2007; Castrejón et al., 2007)

1.5.2 Transportador GLUT-2

GLUT-2 es un transportador de alta capacidad para la glucosa, pero pese a su elevada capacidad del transportar glucosa, su afinidad por la hexosa es menor en comparación con los otros miembros de su familia. También transporta galactosa y fructuosa. (Anglas P. et al., 2012; Bermúdez et al., 2007; Castrejón et al., 2007)

Este transportador ejerce dos funciones fundamentales: la primera junto con la glucoquinasa y *Km* hexoquinasa, media la regulación de la secreción de insulina en las células β pancreáticas a través de la promoción del transporte transmembranal de la glucosa, de esta manera incita el metabolismo intracelular y la secreción de insulina. En segunda instancia, GLUT-2 ha sido propuesto como un detector de glucosa; frente a cambios de la concentración extracelular de glucosa, tiene la habilidad de emitir señales que desencadenan la cascada de regulación del azúcar, independientemente de los niveles intracelulares de energía. (Michau et al., 2013; Ramos López, Ojeda Granados, Román, & Panduro, 2013; Sansbury et al., 2012)

En los enterocitos, el GLUT-2 localizado en vesículas citoplasmáticas se moviliza a la membrana apical cuando las concentraciones de glucosa luminal superan las



concentraciones de glucosa intracitoplasmática. (Anglas P. et al., 2012; Castrejón et al., 2007; Rodríguez Amador et al., 2015)

Debido a sus características permite la entrada de glucosa en las células β pancreáticas

siendo este el primer estímulo para la secreción de insulina. (Segura & Ruilope, 2013)

En el hígado GLUT-2 es el principal transportador de glucosa y ejerce un papel bidireccional, así tenemos que tras la ingesta de alimentos GLUT-2 incorpora rápidamente glucosa al hígado para que este órgano continúe con el metabolismo hasta obtener glucógeno. En condiciones contrarias tras periodos de ayuno (6-8h horas) posterior a la degradación de glucógeno, el mencionado transportador facilita la salida de glucosa desde los hepatocitos hasta la circulación. (Anglas P. et al., 2012; Bermúdez et al., 2007; Castrejón et al., 2007; Eisenberg et al., 2005; Joost & Thorens, 2009; McCulloch et al., 2011)

1.6 Polimorfismos

En 2001 el Proyecto Genoma Humano publicó sus primeros resultados, una secuencia del 90% de los aproximadamente 30 millones de pares de bases presentes en el genoma humano. Pero además de ello, revelaron que la homología entre los genomas de los individuos era de 99.9%. En este punto, resulta interesante cuestionar que con tal grado de semejanza se pueda observar tanta variabilidad fenotípica entre individuos de una misma especie. La Diversidad genética de los individuos es la responsable del fenómeno de la evolución, la misma recae dentro de ese 0.1% de heterogeneidad y está determinada por la presencia de polimorfismos. (Alcoceba-Sánchez, 2010; Ramírez-Bello, Vargas-Alarcón, Tovilla-Zárate, & Fragoso, 2013; Torrades, 2002)

Los polimorfismos son considerados marcadores moleculares y teóricamente se definen como variaciones dentro de la secuencia de ADN que pueden o no desencadenar una reacción biológica. Para que una variante dentro de la secuencia del ADN se considere un polimorfismo y no una mutación, esta debe tener una frecuencia en la población no inferior al 1%, además, de acuerdo con el Equilibrio Hardy Weinberg (EHW) debe haber al menos un 2% de individuos heterocigotos para el polimorfismo de interés. (Alcoceba-Sánchez, 2010; Checa-Caratache, 2007; Hernández-Romano, Martínez-Barnetche, & Valverde-Garduño, 2009; Ramírez-Bello et al., 2013; Torrades, 2002)



La importancia y la aplicabilidad de los polimorfismos en distintas áreas de estudio radican principalmente en el conocimiento de la región de ADN en donde se ha manifestado el polimorfismo. Se han clasificado dos tipos de polimorfismo; los primeros denominados “Polimorfismos génicos” caracterizados por afectar las regiones codificantes del ADN (5% ADN codificante), estos a su vez pueden ser polimorfismos con modificación del fenotipo (generan cambios en la estructura o función de los productos de la región codificante) o sin modificación del fenotipo (causantes de la diversidad intra-especies). Por su lado, aquellos polimorfismos situados en la región no codificante del ADN se los ha denominado “Polimorfismos genéticos”. (Alcoceba-Sánchez, 2010; Checa-Caratache, 2007; Hernández-Romano et al., 2009; Ramírez-Bello et al., 2013; Torrades, 2002)

A su vez los polimorfismos han podido clasificarse de acuerdo con el cambio que se produce o en función del número de alelos que presenta.

En función del cambio que produce:

1. Polimorfismos de secuencia
2. Polimorfismo de longitud

En función del número de alelos que presenta:

1. Polimorfismos bialélicos
2. Polimorfismos multialélicos (Alcoceba-Sánchez, 2010)

Existe particularmente un tipo de polimorfismo que ha tenido una relevancia única en las investigaciones médicas, generalmente suelen ser del tipo bialélico y son los conocidos SNP. El Proyecto Genoma humano en 2001 informó la presencia de aproximada de 10 millones de SNP dentro del genoma humano, atribuyéndoles gran responsabilidad en la diversidad genética y siendo considerados los marcadores moleculares más representativos dentro del genoma humano. (Alcoceba-Sánchez, 2010; Checa-Caratache, 2007; Hernández-Romano et al., 2009; Ramírez-Bello et al., 2013; Torrades, 2002)

Los SNP suelen tener una frecuencia de 1 en 1000 pares de bases, estas variantes toman más relevancia cuando se encuentran en las regiones codificantes de ADN puesto que pueden generar una repercusión biológica de interés. Cuando los SNP afectan la región codificante del ADN debe darse prioridad a identificar si los mismos son sinónimos (el cambio de nucleótido genera el mismo aminoácido) o no sinónimos.



(Alcoceba-Sánchez, 2010; Checa-Caratache, 2007; Hernández-Romano et al., 2009; Ramírez-Bello et al., 2013; Torrades, 2002)

Los SNP no sinónimos o que generan alteraciones en los productos a codificar, debido a su importancia se han clasificado en tres tipos:

1. rSNP: afectan los niveles de expresión génica al afectar los genes promotores de proteínas.
2. srSNP: afectan la estructura y función del ARN y consecuentemente influyen en la funcionalidad de las proteínas.
3. cSNP: pueden ser sinónimos o no sinónimos, típicamente se localizan en los exones. (Checa-Caratache, 2007; Ramírez-Bello et al., 2013)

Tras lo expuesto, es fácil deducir que la aplicabilidad y la mayor o menor importancia que se le dé a los polimorfismos está direccionada en función de la región de ADN en la cual se localicen. Dicho esto, se mencionan de manera general las aplicaciones del estudio de los polimorfismos:

- Diagnóstico pre-sintomático y prenatal de enfermedades
- Susceptibilidad frente a procesos patológicos
- Estudio y diagnóstico de mecanismos moleculares de patologías
- Ecogenómica, Farmacogenética y Farmacogenómica
- Identificación genética de individuos (huella genética)
- Estudios evolutivos
- Elaboración de mapas genéticos (Alcoceba-Sánchez, 2010; Checa-Caratache, 2007; Hernández-Romano et al., 2009; Ramírez-Bello et al., 2013; Torrades, 2002)

1.7 Polimorfismo genético rs8192675

En este caso puntual cuando la secuencia nucleotídica sufre un cambio de una Timina (T) por una Citosina (C) en determinado locus, origina el polimorfismo rs8192675. La presencia del alelo C del polimorfismo *rs8192675*, es decir, una variación en el gen *SLC2A2* que codifica para GLUT-2, interviene en la acción de la MET, de este modo, la variante genética lleva a una menor expresión de GLUT-2, lo que disminuye la capacidad para regular la glucosa en la sangre. La MET reduce la producción de glucosa en el hígado revirtiendo el efecto del polimorfismo. (Zhou et al., 2016)



1.7.1 Relación del polimorfismo con la Hemoglobina Glicosilada y con el metabolismo de la Metformina.

El protocolo de inicio de tratamiento de DM2 se basa en la administración de MET, la misma que requiere de proteínas transportadoras que son genéticamente determinadas por el *SLC2A2*. Por tanto, se ha sugerido la existencia de una estrecha relación entre la presencia del polimorfismo rs8192675 y la reducción de HbA1c inducido por la MET que en términos generales se evidencia en una disminución del 0,15% en el nivel de HbA1c.

El efecto del polimorfismo sobre la acción del fármaco es mayor en pacientes obesos con diabetes versus pacientes no obesos con diabetes, es decir, la presencia de alelo del gen *SLC2A2* equivale a tomar 550mg extra de MET, con una reducción del porcentaje de HbA1c de 0,33% en este tipo de pacientes. (Zhou et al., 2016)



MATERIALES Y METODOS

2.1 Tipo de estudio

Esta investigación corresponde a un estudio de tipo trasversal descriptivo, cuyo universo estuvo conformado por los pacientes diabéticos tipo 2 que son atendidos en la Fundación DONUM y que además cumplen con los criterios de inclusión y exclusión del estudio (Tabla 5). La muestra fue calculada mediante la fórmula de población infinita (Ecuación 1) , considerando que no existen estudios en el país en que se determine este polimorfismo en particular u otros similares, se adoptó una prevalencia del 50% para maximizar el tamaño de la muestra y un nivel de significancia de $\alpha=0,05$ y precisión de 0,1. Se ajustó el tamaño de muestra considerando posibles pérdidas de un 10% (n= 107 pacientes).

Tabla 5. Criterios de inclusión y exclusión.

Criterio de Inclusión	Criterios de exclusión
Pacientes con DM2 mayores de edad que son atendidos en la Fundación DONUM.	Pacientes con DM2 que además padezcan enfermedad renal Pacientes con DM2 que además padezcan anemias crónicas
Pacientes que acepten la participación en el estudio y hayan firmado en Consentimiento Informado.	Pacientes con DM2 que además padezcan hemoglobinopatías Pacientes con DM2 que sean alcohólicos o hayan consumido alcohol previo a la determinación de HbA1c Pacientes con DM2 con déficit de hierro o vitamina B12 Pacientes con DM2 que se encuentren en tratamiento con ácido acetil salicílico en dosis mayor a 4g diarios Pacientes con DM2 que se encuentren en tratamiento con vitamina C



Ecuación 1. Fórmula usada para el cálculo de muestra

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2}$$

Dónde:

n= es el número de individuos de estudio a incluir en la investigación

Z_α² = simboliza el nivel de confianza, así para un nivel de significancia del 95%,
Z_α=1.96

p= proporción esperada obtenida de la bibliografía, caso contrario, se usa el valor de 0.5 que maximiza el tamaño de la muestra.

q= 1-p

d= precisión con la cual se estimará el parámetro.

Para la asociación del polimorfismo e interpretación del estudio se recolectaron de las historias clínicas de los pacientes las variables (edad, sexo, etnia, IMC, HbA1c, tipo de tratamiento farmacológico, estado de compensación o descompensación, tiempo de aparición de la enfermedad) detalladas en el Anexo 1.

2.2 Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la Provincia del Azuay, cantón Cuenca en la locación de la Fundación DONUM. La determinación de la HbA1c tuvo lugar en el Hospital Monte Sinaí de la ciudad de Cuenca, la extracción del ADN de los participantes se realizó en las Instalaciones del Laboratorio de Biología Molecular de la Carrera de Medicina de la Universidad de Cuenca. Mientras que la determinación del polimorfismo en estudio se efectuó mediante la técnica qPCR en los laboratorios de la Facultad de Biotecnología de la Universidad Politécnica Salesiana de la Ciudad de Cuenca.

2.3 Muestreo

El muestreo realizado fue probabilístico de tipo aleatorio simple procediendo de la siguiente manera:

Diariamente en la mañana mientras el departamento de estadística de la fundación realizaba la asignación de los turnos a los pacientes se obtuvo la lista con los nombres de los pacientes diabéticos que asistían a consulta con el diabetólogo de la fundación,



el número aproximado de acuerdo con la información brindada por la fundación es de alrededor de 15 pacientes diabéticos por día.

Simultáneamente, con autorización de la fundación DONUM se procedió a la revisión de las historias clínicas digitales de los individuos que constaban en el listado con el objeto de identificar a los pacientes que cumplieran con los criterios de inclusión y de exclusión.

Una vez identificados los posibles candidatos a participar del estudio, su código de identificación se introdujo en el programa Microsoft Excel y se seleccionaron 5 pacientes al azar, la información y solicitud de participación en el estudio se dio a conocer en el momento en que el paciente era llamado al departamento de enfermería (8am a 11am) de la fundación para la toma de signos vitales previa consulta con el diabetólogo.

Tras la información verbal y escrita ofrecida, se les consultó sobre su disposición para apuntarse en el estudio. Si el paciente aceptaba participar se solicitó sentar su firma en el consentimiento informado (Anexo 2) y se procedió a la toma de muestra de 5 ml de sangre venosa en tubos con EDTA en dicho departamento. En el caso de negativa de alguno de los 5 pacientes seleccionados, se escogió al azar un nuevo participante utilizando la herramienta informática mencionada anteriormente.

Una vez seleccionados los participantes y tomadas las muestras, se procedió a la recolección de datos de las historias clínicas de los pacientes utilizando como herramienta una hoja de recolección de datos (Anexo 3) que fue previamente validada mediante una prueba piloto, donde el 90% (9 de 10 personas) de la población comprendió la terminología y el llenado de las mismas.

Todos los procedimientos fueron llevados a cabo tomando en cuenta los criterios bioéticos de no maleficencia y de beneficencia consignados en la Declaración de Helsinki.

El estudio cuenta con la aprobación del Comité de Biotécnica de la Universidad San Francisco de Quito. (Anexo 4)

2.4 Determinación de Hemoglobina Glicosilada

2.4.1 Fundamento

Para esta determinación se utilizó el test i-chroma™ HbA1c, un método de inmunodetección en sánduche (inmunoensayo por fluorescencia). Se realizó la hemólisis de eritrocitos añadiendo sangre completa a una mezcla de buffer detector y buffer de



hemólisis. El buffer detector contiene un anticuerpo detector marcado con fluorescencia anti-HbA1c que se une al antígeno de HbA1c proveniente de la muestra de sangre.

En el cartucho de la prueba, al cargar la muestra el complejo anticuerpo detector - HbA1c es capturado por el Anti-HbA1c que ha sido inmovilizado en la matriz para formar la reacción en sánduche. La señal de fluorescencia es directamente proporcional a la concentración de HbA1c siendo interpretada dicha señal en un lector para fluoróforos que se amplifica y traduce en la pantalla del lector i-chroma™ en unidades de %(NGSP), mmol/mol(IFCC) y mg/dL (eAG) (Ichroma, 2016). El procedimiento, reactivos y materiales se detallan en el Anexo 5.

2.5 Extracción de ADN

2.5.1 Fundamento

Los Kits de ADN Genomic PureLink® de INVITROGEN™ en la que el ADN se acopla selectivamente a una membrana a base de sílice en presencia de sales caotrópicas, es un método de alta extracción y purificación que consiste en el uso de lisados que van purificando el ADN mediante la centrifugación en columna.

El resultado es un ADN de tamaño de 20-50 kb, adecuado para PCR.

El lisado se prepara, en este caso a partir de sangre, las células son digeridas con proteinasa K a 55°C mediante una formulación optimizada de tampón de digestión que facilita la desnaturalización de proteínas y mejora la actividad de la proteinasa K. Los residuos existentes de ARN se eliminan por digestión con RNAasa.

El lisado se mezcla con etanol al 96% y PureLink® Genomic Binding Buffer que va a permitir una alta unión de ADN a la columna giratoria.

El ADN extraído se adhiere a la membrana de sílice en la columna, las impurezas se eliminan mediante lavados con tampones de lavado.

Finalmente, el ADN genómico se eluye en un tampón de elución de bajo contenido de sal. (Anexo 6).

2.6 Genotipificación del polimorfismo rs8192675 del transportador SLC2A2 mediante la técnica qPCR Real Time

2.6.1 Fundamento

Para esta determinación se usó sondas TaqMan™ de Applied Biosystems™ mediante el equipo Ligth Cycler Nano® de Roche. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real se sienta en los fundamentos de la PCR convencional o denominada endpoint. Se basa en la amplificación y cuantificación de una región de



ADN de interés para lo cual se siguen tres procesos bases que son la desnaturalización del ADN, hibridación y amplificación de la secuencia de interés. Estas tres fases se logran a través de altas temperaturas a tiempos cortos los mismos que se repiten durante varios ciclos.

En la desnaturalización, la doble hélice de las cadenas de ADN son separadas, para esto la temperatura debe ser de 95°C durante 20 a 30 segundos, logrando así obtener el templado. En la etapa de hibridación los primers se alienan en el extremo 3' del templado previamente obtenido, hibridándose con la secuencia complementaria, en este punto la temperatura óptima oscila entre 50-60°C permitiendo la formación del complejo templado-primer. En la etapa de amplificación, la enzima Taq polimerasa cataliza el complejo templado-primers, sintetizando las nuevas cadenas de ADN mediante la agregación de dNTP's complementarios, la temperatura óptima para la reacción es de 72 °C para lograr la funcionalidad de la enzima.

qPCR mediante sondas TaqMan permite cuantificar la secuencia de interés en cada ciclo, es decir se produce una cuantificación de manera exponencial. La cuantificación que se realiza a través de este método es posible gracias a la incorporación de productos fluorescentes que siguen un patrón de "*transferencia de energía de resonancia fluorescente*". El método destinado a este estudio consiste en sondas de hidrólisis (TaqMan) que están marcadas con un fluoróforo reportero y un "Quencher". Ambos se encuentran enganchados hasta que la sonda detecte e hibride su secuencia de interés. Una vez que la sonda ha hibridado su secuencia el Quencher y reportero sufren cambios conformacionales y se enciende la actividad 5' – 3' exonucleasa y la Taq polimerasa puede romper esta unión, lo cual permite que el reportero emita la fluorescencia. (Costa, 2004). Para flanquear la secuencia de interés se utilizó un primer forward (5' → 3') y un reverse (3' → 5'), anclados a la sonda TaqMan.

2.6.2 Estandarización de la técnica de qPCR Real Time

Para la estandarización de la técnica qPCR se procedió a la determinación de la concentración óptima de ADN (1 – 10 ng/ul). Para ello, primero se realizó la determinación de la concentración promedio de ADN total obtenido, la misma fue de 25ng/ul. Posteriormente se realizó 5 diluciones de ADN total correspondiente a concentraciones de 1/5, 1/10, 1/15, 1/20, 1/25 (Anexo 7). Con estas diluciones se determinó que la concentración óptima para desarrollar la técnica correspondía a la dilución 1/10. A continuación, se realizó el desarrollo de la misma técnica de qPCR utilizada para la determinación del polimorfismo en estudio (Anexo 7).



2.6.3 Interpretación de los resultados (Anexo 9)

La interpretación de los resultados se realizó tras la observación del análisis Endpoint de LighCycler Nano cuya característica es emitir dichos resultados a través de una tabla de platos; la misma discrimina las muestras por colores en función del alelo encontrado. Fundamentados en ello se observó que aquellas muestras homocigotas para el alelo Wild Type (T/T) se mostraban en un plato de color verde, los homocigotos C/C se manifestaban en platos de color rojo, finalmente las muestras heterocigotas se exhibían en platos de color amarillo. Adicionalmente se observaba los platos grises que representaban el blanco (Sin ADN) y en caso de haber errores o muestras dudosas el equipo las representaba como platos negros.

2.7 Análisis Estadístico

Los datos se analizaron el programa estadístico SPSS 23 (Statistical Package for the Social Sciences), se establecieron frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas, las pruebas no paramétricas usadas fueron: 1) Kolmogorov-Smirnov (para comprobar la distribución normal de las variables cuantitativas); 2) Prueba de Levene (para determinar la igualdad de varianzas), 3) la comparación de medias se realizó con la prueba de T de Student.

Para determinar la asociación entre variables dicotómicas se usó el Test Exacto de probabilidades de Fisher (recuento esperado menor a 5), el resto de asociaciones entre variables cualitativas se realizó con el test de Chi cuadrado (X^2). Se trabajó con un nivel de confianza del 95% y un valor de $p < 0.05$.

2.8 Determinación de las Frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo rs8192675

Los datos fueron procesados utilizando el programa Bioinformático SNPStats de la Universidad de Cataluña (Disponible online <https://www.snpstats.net/snpstats/preproc.php>). Mediante esta herramienta informática se determinaron las frecuencias genotípicas, alélicas del polimorfismo. A través del programa bioinformático también se realizó la asociación del polimorfismo con la variable categórica del estado de compensación o descompensación.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Características Generales de la muestra:

De los 102 individuos incluidos en el estudio (fueron excluidos 5 pacientes de la muestra inicialmente calculada), el 68,6% (n=70) fueron mujeres y el 31,4% (n=32) corresponde al sexo masculino, el grupo etario que predominó fue la tercera edad 52% (n=53), seguido por personas adultas 45,1% (n=46) y un porcentaje de 2,9 % (n=3) para el grupo de adulto joven, la etnia más frecuente 88,2% (n=90) fue la mestiza y el restante para la etnia indígena. Los participantes fueron provenientes de la región Costa y Sierra del país, predominando con 98% (n=100) la región sierra (Tabla 6).

Tabla 6. Características generales de la muestra

Variable	n (102)	%
Grupo de Edad		
Adulto joven	3	2,9
Adulto	46	45,1
Tercera Edad	53	52,0
Sexo		
Masculino	32	31,4
Femenino	70	68,6
Etnia		
Mestizo	90	88,2
Indígena	12	11,8
Procedencia		
Sierra	100	98,0
Costa	2	2,0



3.2 Medidas antropométricas y características clínicas de los participantes:

La mayoría de individuos 46,1% (n=47) se encontraban dentro de la categoría de sobrepeso dentro de la clasificación de IMC>25, seguido de la categoría obesidad 43,1% (n=44), el porcentaje restante fue para la categoría normo peso.

Para el control de la enfermedad el tratamiento dominante 34,3% (n= 35) correspondía al grupo de las Biguanidas, un porcentaje de 15,7 % (n=16) eran tratados con una combinación de Biguanidas + Sulfonilureas, se reportó un porcentaje igual para el tratamiento con Insulina, el 13,7% (n=14) de la población era tratada con Sulfonilureas, 11,8% (n=12) utilizaba la combinación Biguanida + Insulina y un porcentaje del 8,8 % (n=9) no recibía tratamiento farmacológico.

El valor de HbA1c promedio fue de 9,40% (DE=2,42), el tiempo de padecimiento de enfermedad promedio entre los participantes fue de 10,37 años (DE=8,67), como se ilustra en la Tabla 7:

Tabla 7. Medidas Antropométricas y Características Clínicos de los participantes

Variable	n (102)	%	Promedio ± DE
IMC			
Normopeso	11	10,8	
Sobrepeso	47	46,1	
Obesidad	44	43,1	
Compensación			
Diabético Compensado	30	29,4	
Diabético Descompensado	72	70,6	

**Tabla 7. (Continuación)**

HbA1c			9,34±2,39
En control	30	29,4	
Niveles Aumentados	34	33,3	
Niveles Severamente Aumentados	38	37,3	
Tipo de Tratamiento farmacológico			
Ninguno	9	8,8	
Biguanidas	35	34,3	
Sulfonilureas	14	13,7	
Insulina	16	15,7	
Biguanida + Sulfonilurea	16	15,7	
Biguanida + Insulina	12	11,8	
Tiempo de padecimiento de la enfermedad (años)			10,37±8,67

3.3 Frecuencia genotípica y alélica del polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2* en los pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2 de la fundación DONUM.

A través del programa Bioinformático SNPStats de la Universidad de Cataluña fueron determinadas las frecuencias genotípicas (Tabla 8) y alélicas (Tabla 9) de cada uno de los genotipos.

Tras el procesamiento de los datos de los 102 pacientes diabéticos se determinó que el alelo Wild Type (T/T) es el predominante en la población, encontrándose una frecuencia genotípica del 96% (n=98) y una frecuencia alélica en proporción de 0,96; por su parte el SNP (C/C) en dicha población tuvo una proporción de 4% (n=4) y 0,04 para su frecuencia genotípica y alélica respectivamente. No se observó la presencia de heterocigotos.

**Tabla 8.** Frecuencias Genotípicas del Polimorfismo rs8192675 y alelo Wild Type

Frecuencias Genotípicas n=102		
Genotipo	N	Proporción
T/T	98	0.96
C/C	4	0.04

Tabla 9. Frecuencias alélicas del polimorfismo rs8192675 y el alelo Wild Type

Frecuencias Alélicas n=102		
Alelo	N	Proporción
T	196	0.96
C	8	0.04

3.4 Asociación de la presencia o ausencia del polimorfismo rs8192675 de acuerdo con las variables cualitativas

De acuerdo con la Tabla 10 el alelo polimórfico rs8192675 del transportador *SLC2A2* se distribuyó de forma similar en hombres y mujeres 50% (n=2) para cada caso, sin que exista una relación estadísticamente significativa (p=0,588).

El 100% (n=4) de los casos se presentaron en mestizos y todos provenían de la región Sierra, el 75% (n=3) fue hallado en personas de la tercera edad, el mismo porcentaje se encontró en pacientes con sobrepeso y el 25 % (n=1) corresponde a un paciente con normo peso. Si bien el sobrepeso es la categoría donde prevalece la presencia del polimorfismo, no se halló asociación estadísticamente significativa entre estas variables (p=0,188). Del total de pacientes que poseen la variante genética, el 50% (n=2) se encontraba en tratamiento con Biguanidas, el 25 % (n=1) era tratado con Sulfonilureas y el 25% (n=1) restante era medicado con la combinación de Biguanidas + Insulina, de igual manera no existe una asociación estadísticamente significativa (p=0,703).



Tabla 10. Asociación de la presencia o ausencia del polimorfismo rs8192675 de acuerdo con las variables cualitativas.

Variable	Polimorfismo rs8192675		Total	Valor de p
	Presencia	Ausencia		
	n (%)	n (%)	n=102	
Grupo de Edad				0,631
Adulto joven	0	3	3	
Adulto	1 (25%)	45	46	
Tercera Edad	3 (75%)	50	53	
Sexo				0,588
Masculino	2 (50%)	32	35	
Femenino	2 (50%)	70	72	
Etnia				1,0
Mestizo	4(100%)	86	90	
Indígena	0	12	12	
Procedencia	4 (100%)	96	100	1,0
Sierra	0	2	2	
Costa				
IMC				0,188
Normopeso	1(25%)	10	11	
Sobrepeso	3 (75%)	44	47	
Obesidad	0	44	44	
				0,703



Tipo de Tratamiento

Ninguno	0	9	9
Biguanidas	2 (50%)	33	35
Sulfonilureas	1 (25%)	13	14
Insulina	0	16	16
Biguanida + Sulfonilurea	0	16	16
Biguanida + Insulina	1 (25%)	11	12

3.5 Asociación de los valores de HbA1c con la presencia o ausencia del polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2* en los pacientes con DM2 de la Fundación DONUM.

La media de valor de HbA1c para los casos que presentaron el polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2* fue de $8,70 \pm 1,80$; mientras que la media de los valores de HbA1c para las muestras que no presentan el polimorfismo fue de $9,55 \pm 2,62$; sin embargo, esta diferencia de medias no es estadísticamente significativa ($p=0,520$).

Tabla 11. Asociación de HbA1c con la presencia o ausencia del polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2*

Variable	Polimorfismo rs8192675	Media \pm DE	Valor de p
HbA1c			0,520
	Presencia	$8,70 \pm 1,80$	
	Ausencia	$9,55 \pm 2,62$	

3.6 Relación del polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2* con la respuesta favorable de la enfermedad.

El 50% ($n=2$) de los individuos que presentaron el polimorfismo son pacientes compensados (niveles controlados de HbA1c), el otro 50% ($n=2$) son pacientes descompensados de los cuales el 25% ($n=1$) tiene niveles aumentados de HbA1c y el



restante tiene niveles severamente aumentados de HbA1c (Tabla 12). La relación entre la presencia o ausencia de la variante genética frente a la respuesta favorable a la enfermedad no fue estadísticamente significativa ($p=0,579$).

Tabla 12. Relación del polimorfismo rs8192675 del transportador SLC2A2 con la respuesta favorable de la enfermedad.

Variable	Polimorfismo rs8192675		Total n=102	Valor de p
	Presencia n (%)	Ausencia n (%)		
Compensación				0,579
Diabético Compensado	2 (50%)	28	30	
Diabético no compensado	2 (50%)	70	72	
HbA1c				0,652
En control	2 (50%)	28	30	
Niveles Aumentados	1 (25%)	33	34	
Niveles Severamente Aumentados	1 (25%)	37	38	

3.7 Análisis de la influencia del *SLC2A2* (rs8192675) y el riesgo de descompensación de los pacientes.

La asociación se realizó a través del análisis estadístico de Odds Ratios (OR) con IC 95% y $p<0.05$, los mismos que para el presente caso indicaron que no existe asociación estadísticamente significativa, es decir que el polimorfismo no se manifiesta como factor de riesgo o protección en los pacientes puesto que los valores de OR obtenidos fueron menores a la unidad y se encontraron dentro de sus intervalos de confianza superior e inferior; para el caso de aquellos individuos portadores del alelo silvestre el análisis de OR mostro que no existe asociación, tal como se puede observar en la Tabla 13.



Tabla 13. Asociación del SNP rs8192675 con la compensación/descompensación de los pacientes.

Asociación del SNP rs8192675 con la variable de respuesta				
Compensación/descompensación				
Genotipo	Compensados	Descompensados	OR (CI 95%)	Valor de p
T/T	28 (93.3%)	70 (97.2%)	1.00	0,38
C/C	2 (6.7%)	2 (2.8%)	0.40 (0.05-2.98)	

Según el estudio publicado por Zhout et al. (2016), tras haber analizado el genoma de alrededor de 13.000 personas concluyó que el 49% de la población afroamericana era homocigota para el alelo C del polimorfismo rs8192675 frente a un 9% de la población caucásica, el estudio advierte que la prevalencia del alelo polimórfico difiere considerablemente en poblaciones de diferente etnia, corroborando este comentario están los resultados hallados en esta investigación, donde en una población cerrada conformada por mestizos e indígenas (102 pacientes) únicamente 4 participantes, todos mestizos presentaron la variante genética, siendo todos ellos formas homocigotas, probablemente obedeciendo a características genéticas inherentes de cada etnia.

La bibliografía sustenta que aquellos individuos en cuyo genoma se encuentra el polimorfismo estudiado responden mejor al tratamiento con MET reflejando este hecho en una reducción de la hemoglobina glicosilada, es preciso indicar que en este estudio de los 4 individuos que presentan el polimorfismo dos de ellos eran tratados con MET y sus valores de HbA1c se mantenía en niveles controlados, de los individuos restantes 1 era tratado con la combinación de MET + Insulina y su nivel de HbA1c se encontró elevado, y el ultimo individuo mostró niveles severamente aumentados de HbA1c y era tratado con sulfonilureas, este hallazgo haría pensar que aparentemente existe un mejor control de la enfermedad en aquellos pacientes donde se encontró el polimorfismo; sin embargo, tras el análisis estadístico se mostró que no existe relación estadísticamente significativa entre la presencia del polimorfismo y los niveles de HbA1c, pero es necesario recordar que los niveles de HbA1c dependen de diversos factores, entre otros, a parte del factor genético un papel importante juega la adherencia que el paciente tenga al tratamiento farmacológico así como el tiempo que lleve usándolo por el posible desarrollo de tolerancia al fármaco.



Los polimorfismos hallados en *SLC2A2* están involucrados principalmente con la alteración en el metabolismo de carbohidratos, los autores Al-Haggar (2012) y Pascual (2006) describen los mecanismos de como los polimorfismos de este gen afecta la homeostasis de los carbohidratos, haciendo alusión a que especialmente se ve afectado el metabolismo de la glucosa a nivel hepático y renal.(Al-Haggar, 2012; Pascual, 2006)

Sin embargo, recientes descubrimientos han propuesto que los polimorfismos de gen en mención no solo afectan al metabolismo de carbohidratos, sino que tienen implicancia dentro de los trastornos lipídicos generando tendencia a la obesidad. Así lo afirma Piña Calva et al. (2011) y lo comprueba Le et al. (2013) en su estudio *Impact of Genetic Polymorphisms of SLC2A2, SLC2A5, and KHK on Metabolic Phenotypes in Hypertensive Individuals* en el cual se reveló que el polimorfismo *SLC2A2* rs8192675 se asocia al riesgo de enfermedad cardio vascular por tener influencia sobre la disminución de la concentración lipoproteínas de alta densidad.(Al-Haggar, 2012; Arturo Piña-Calva, Isela Álvarez-González, Madrigal-Bujaidar, & Espinosa, 2011; Le et al., 2013) De los 4 individuos poseedores del alelo polimórfico, 3 de ellos tienen sobrepeso y el restante está dentro del normopeso sin que exista una relación estadísticamente significativa entre estas dos variables.

Si bien las investigaciones no mencionan la distribución del polimorfismo según el sexo, este estudio encontró la presencia de polimorfismo equitativamente en ambos sexos, sin marcar relación estadísticamente significativa, indicando probablemente que la herencia del polimorfismo no está ligada al sexo.

Por otro lado, al ser este polimorfismo un cambio que influye en la acción de la MET sobre el control de la enfermedad ejerciendo un efecto positivo, puede considerarse que al asociar dicho SNP con el estado de compensación y descompensación de los pacientes lo más probable es que aquellos pacientes compensados sean portadores de dos copias del alelo C *ders8192675*, sin embargo, esto no se plasma en los resultados obtenidos mediante el programa bioinformático SNPStas. Los resultados emitidos por el mismo manifiestan que no hay relación significativa del polimorfismo con la compensación de los pacientes y que en aquellos pacientes portadores del alelo Wild Type no existe asociación. Con ello se muestra que tanto el alelo T/T y C/C no manifiestan ser factores de riesgo o protección frente a la variable de estudio.

Si bien los resultados del estudio no muestran una asociación significativa entre variables, esto no deja más que una puerta abierta para la ampliación de estudios del polimorfismo en cuestión e incluso la investigación más profunda de otros polimorfismos asociados a la DM2.



La relevancia que se le ha otorgado a la DM2 dentro de la salud pública por su grado de morbi-mortalidad ha hecho que actualmente sea una de las enfermedades crónicas más estudiadas a nivel de genética y biología molecular. Genéticamente hablando, se ha observado la presencia de SNP que se involucran en diferentes niveles con la DM2, por ejemplo, en la predisposición al desarrollo de la enfermedad, en su exacerbación y claramente en la farmacocinética y farmacodinamia de los fármacos destinados al control de dicha enfermedad.

Así el polimorfismo rs8192675 no es el único que se relaciona con una disminución de HbA1c por el efecto que provoca en la terapia farmacológica, se han descrito además otras variantes genéticas como el polimorfismo 13918 del Citocromo 3A4 (CYT3A4) que fue estudiado por Yoshi et al. (2007) donde muestra que esta modificación juega un papel primordial en el metabolismo de los fármacos destinados al control de la DM dentro de los cuales se encuentra la MET. (Dostalek Miroslav, Court Michael H, Bingfang, & Akhlaghi Fatemeh, 2011; Guzmán Lozano, Reza García, Urtiz Estrada, López Guzmán, & Vertiz Hernández, 2010; Yoshi Yamada et al., 2007)

De la misma manera se ha podido evidenciar que la presencia del polimorfismo rs622342 del OTC1, se ha relacionado con una disminución en la acción hipoglucemiante de la MET. (Beckera Matthijs et al., 2010a, 2010b; Koshy Manju, Sethupathy S, Annamalai P.T., Renju, & K., 2013; Umamaheswaran Gurusamy, Geethakumari Praveen Ramakrishnan, Elango Damodaran Solai, Ashok, & Chandrasekaran, 2014; Xiao Di et al., 2016; Yang et al., 2014; Zhou Kaixin et al., 2009)

Las revisiones elaboradas por Alquilante (2010), exponen resultados atrayentes que adviertan la influencia de polimorfismos relacionados con el tratamiento con sulfonilureas. El mismo autor muestra resultados en que el genotipo T/T de los polimorfismos rs12255372 (G>T) y rs7903146 (C>T) del gen *TCF7L2* manifiestan un resultado fallido frente al control de la HbA1c con respecto a los otros genotipos, además, estos polimorfismos son considerados predictores del aumento del riesgo de padecer DM2. (Alquilante, 2010)

Son múltiples las variantes genéticas que se pueden encontrar dentro de una población y esto es un proceso inherente a la evolución, pues recordemos que la evolución se define como "*Los cambios genéticos a través del tiempo*", por esta misma razón la contribución que haga una variante genética individual en la respuesta al tratamiento y el control de HbA1c es difícil de predecir, en virtud de ello el estudio de estas variantes y su asociación con las diferentes enfermedades es un campo aún con mucho potencial que explotar.



CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

1. El estudio estadístico muestra que no existe una asociación significativa entre la presencia del polimorfismo y valores de hemoglobina glicosilada ($p=0,50$), es decir los individuos que poseen el alelo raro no necesariamente llevan un mejor control de la enfermedad.
2. En la población estudiada (102 participantes) existe una frecuencia genotípica y alélica del 4% ($n=4$ y $n=8$ respectivamente) para el polimorfismo en estudio, encontrándose todos los casos en individuos mestizos que sugiere una marcada diferencia en la prevalencia de acuerdo con cada grupo étnico.
3. En cuanto a la asociación entre el SNP y la compensación y descompensación de los pacientes se establece que no hay asociación significativa entre el polimorfismo y la variable, reflejándose en un valor de p correspondiente a 0,38 y comprobándose que los OR son inferiores a la unidad y se encuentran dentro de sus intervalos de confianza superiores e inferiores. Además, al asociar el alelo Wild Type con el estado de compensación y descompensación de los pacientes se determina que no existe asociación para tal caso, el valor de OR es igual a 1.

4.2 Recomendaciones

- Para emitir una conclusión más contundente se recomienda nuevos estudios en donde se determine el SNP rs8192675 con en una población más amplia e incluso se trabaje con individuos sanos en un estudio de casos y controles.
- Mejores resultados serían obtenidos si se realizara una medición plasmática de los niveles de MET en los individuos que posean el polimorfismo para analizar a fondo la respuesta al fármaco.
- Incluir en el estudio únicamente a pacientes tratados con MET favorecería el estudio de la relación genética que un individuo presente con relación al fármaco.



ABREVIATURAS

- **SLC2A2:** Solute Carrier Family 2 Member 2
- **EDTA:** Ácido Etilendiaminotetraacético
- **ADN:** Ácido Desoxirribonucleico
- **PCR:** Reacción en Cadena de la Polimerasa
- **CADIME:** Centro Andaluz de Documentación e Información de Medicamentos
- **UKPDS:** *United Kingdom Prospective Diabetes Study*
- **ICM:** Índice de Masa Corporal
- **TTOG:** Test de Tolerancia Oral a la Glucosa
- **HDL:** Lipoproteínas de alta densidad
- **LDL:** Lipoproteínas de baja densidad
- **mmol/mol:** Mili mol sobre mol
- **mg/dL:** Miligramo sobre decilitro
- **kb:** Kilobase
- **RNA:** Ácido Ribonucleico
- **ng/ul:** Nanogramo sobre microlitro
- **DE:** Desviación estándar
- **SNP:** Polimorfismo de un solo nucleótido
- **CI:** Intervalos de Confianza
- **OR:** Odds Ratio
- **SE:** Desviación estándar



BIBLIOGRAFÍA

- ADA. (2012). Diagnóstico y clasificación de la diabetes mellitus (I). *Diabetes Care*, 35, 564-571. doi:10.2337/dc12-s064
- ADA. (2016). Diabetes Tipo 2. *American Diabetes Association* Retrieved from <http://www.myendnoteweb.com/EndNoteWeb.html?func=new&>
- Al-Haggar, M. (2012). Fanconi-Bickel syndrome as an example of marked allelic heterogeneity. *Journal of Nephrology*, 3, 63-68. doi:10.5527/wjn.v1.i3.63.
- ALAD. (2013). Guías ALAD sobre el Diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 con Medicina Basada en Evidencia Edición 2013. *Revista de la ALAD*, 16-52.
- Alcoceba-Sánchez, M. (2010). *ESTUDIO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN LA EVOLUCIÓN CLÍNICA DE PACIENTES SOMETIDOS A TRASPLANTE ALOGENICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS*. (Doctoral), Universidad de Salamanca, España. Retrieved from https://gredos.usal.es/jspui/bitstream/10366/76378/1/DME_Alcoceba_Sanchez_M_Estudio_de_polimorfismos.pdf
- Alemán Sánchez, J. (2014). El nuevo algoritmo de la redGDPS para el tratamiento individualizado de la diabetes mellitus tipo 2: abordaje según grado de control glucémico. *Diabetes Práctica*, 7, 4-8.
- Alquilante, C. (2010). Sulfonylurea pharmacogenomics in Type 2 diabetes: the influence of drug target and diabetes risk polymorphisms. *Expert review of cardiovascular therapy* 8, 359-372. doi:10.1586/erc.09.154.
- Anglas P., J., Cueva M., S., Vásquez C., M., Lira M., B., Espinoza B., J., Lucas L., J., & Rodríguez G., J. (2012). IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE TRANSPORTADORES DE GLUCOSA SGLT1 Y GLUT2 Y LA INCRETINA GLP-1 EN INTESTINO DELGADO DE CUYES (*Cavia porcellus*). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 23(4), 7. doi:10.15381/rivep.v23i4.932
- Angulo, E., Félix, M., Félix, A., Hernández, L., & Martínez, G. (2014). Concentraciones de hemoglobina glucosilada A1c en diferentes tratamientos para la diabetes. *Revista de Especialidades Médicas Quirúrgicas*, 19, 17-22.
- Arnold Rodríguez, M., Arnold Domínguez, Y., Alfonso Hernández, Y., Villar Guerra, C., & González Calero, T. M. (2012). Pesquisaje y prevención de la diabetes mellitus tipo 2 en población de riesgo. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 50, 380-391.



- Arturo Piña-Calva, Isela Álvarez-González, Madrigal-Bujaidar, E., & Espinosa, E. (2011). Revisión de los principales genes involucrados en el desarrollo de la obesidad. *REVISTA MEXICANA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS*, 42, 26-38.
- Aschner M, P., Muñoz V, O. M., Girón, D., García, O. M., Fernández-Ávila, D., Casas, L. Á., . . . Gonzáles, T. (2016). Clinical practice guideline for the prevention, early detection, diagnosis, management and follow up of type 2 diabetes mellitus in adults. *Colombia Médica*, 47, 109-130.
- Balding, D. J., Bishop, M., & Cannings, C. (2007). *Hand Book of Statistical Genetics* (B. L. Cataloguing Ed. Tercera ed. Vol. 1).
- Beckera Matthijs, Vissera Loes, Schaikb Ron, Hofmana Albert, Andre, U., & Bruno, S. (2010a). Interaction between polymorphisms in the OCT1 and MATE1 transporter and metformin response. *Pharmacogenetics and Genomics*, 20, 38-44. doi:10.1097/FPC.0b013e328333bb11
- Beckera Matthijs, Vissera Loes, Schaikb Ron, Hofmana Albert, Andre, U., & Bruno, S. (2010b). Interaction between polymorphisms in the OCT1 and MATE1 transporter and metformin response. *Pharmacogenetics and Genomics*, 20, 38-44. doi:10.1097/FPC.0b013e328333bb11
- Benzadon, M., Forti, L., & Sinay, I. (2014). Actualización del diagnóstico de la Diabetes. *Revista de Medicina de Buenos Aires*, 74, 64-68.
- Bermúdez, V., Bermúdez, F., Arraiz, N., Leal, E., Linares, S., Mengual, E., . . . Martins, G. (2007). Biología molecular de los transportadores de glucosa: clasificación, estructura y distribución. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 26, 76-86.
- Bracho-Nava, M., StepeNka-Alvarez, V., Sindas-VillaSMil, M., RivaS de CASAL, Y., Bozo de GoNzález, M., & Duran-Mojica, A. (2015). HEMOGLOBINA GLICOSILADA O HEMOGLOBINA GLICADA, ¿CUÁL DE LAS DOS? *Saber*, 27, 521-529.
- Bustamante C, G., & Castellón Alcoreza, D. G. (2014). Nutrición en Diabetes Mellitus. *Revista de Actualización Clínica Investiga*, 42, 2208-2212.
- CADIME. (2016). Algoritmo de tratamiento de la diabetes mellitus 2 (DM2). *Centro Andaluz de Documentación e Información de Medicamentos* Retrieved from http://www.cadime.es/docs/algoritmos/CADIME_ALGORITMO_2016_TTO_DM_2.pdf



- Carrera Boada, C. A., & Martínez Moreno, J. M. (2013a). Pathophysiology of diabetes mellitus type 2: beyond the duo "insulin resistance-secretion deficit". *Nutrición Hospitalaria*, 28, 78-87.
- Carrera Boada, C. A., & Martínez Moreno, J. M. (2013b). Pathophysiology of diabetes mellitus type 2: beyond the duo "insulin resistance-secretion deficit". *Nutrición Hospitalaria*, 28, 78-87.
- Castillo Barcias, J. (2011). Fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). *Revista de la Asociación Colombiana de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo.*, 12-17.
- Castrejón, V., Carbo, R., & Martínez, M. (2007). Mecanismos moleculares que intervienen en el transporte de la glucosa. *Revista de Educación Bioquímica*, 26, 49-57.
- Castro Martínez, M. G., Castillo Anaya, V., Ochoa Aguilar, A., & Godínez Gutiérrez, S. A. (2014). La metformina y sus aplicaciones actuales en la clínica. *Revista de Medicina Interna de México*, 30, 562-574.
- Cervantes, R., & Presno, J. (2013). Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células β pancreática. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 26, 98-106.
- Cevallos, J. L., Nasillo, A., & Santaella, N. (2012). EVALUACIÓN, SEGUIMIENTO Y METAS DE CONTROL DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2. AUTOMONITOREO DE LA GLUCEMIA CAPILAR. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 10, 41-46.
- Checa-Caratache, M. A. (2007). Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias ISMAEL COSÍO VILLEGAS*, 20, 213-221.
- Chisaguano, E., & Ushiña, R. (2015). *ESTILOS DE VIDA EN LOS PACIENTES CON DIABETES TIPO II QUE ASISTEN AL CLUB DE DIABÉTICOS DEL CENTRO DE SALUD DE LATACUNGA*. (Grado de Licenciado en Enfermería), Universidad Central del Ecuador, Quito. Retrieved from <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/5312/1/T-UC-0006-040.pdf>
- Costa, J. (2004). Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 22, 299-305. doi:10.1016/S0213-005X(04)73092-X
- Cámara Balda, A., & Torres Baile, J. L. (2013). PROTOCOLO DE DIABETES MELLITUS DEL AREA DE SALUD DE LA RIOJA. *Sociedad Riojana de*



Hipertensión Arterial y Riesgo Vascular. Retrieved from http://www.cadime.es/docs/algoritmos/CADIME_ALGORITMO_2016_TTO_DM_2.pdfhttp://www.srhta-rv.org/uploads/contenido_subapartado/13_11_protocolo_contenido_subapartado.pdf

Dardano, A., Penno, G., Del Prato, S., & Miccoli, R. (2014). Optimal therapy of type 2 diabetes: a controversial challenge. *AGING*, 6. doi:10.18632/aging.100646

Dostalek Miroslav, Court Michael H, Bingfang, Y., & Akhlaghi Fatemeh. (2011). Significantly reduced cytochrome P450 3A4 expression and activity in liver from humans with diabetes mellitus. *British Journal of Pharmacology*, 163, 937-947. doi:10.1111/j.1476-5381.2011.01270.x

Durán Agüero, S., Carrasco Piña, E., & Araya Pérez, M. (2012). Alimentación y diabetes. *Nutrición Hospitalaria*, 27, 1031-1036.

Díaz, D., & Burgos, L. (2002). ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular? *Revista de la Facultad de Medicina Universidad de Antioquia*, 15, 179-189.

Eisenberg, M., Maker, A., Siezak, L., Nathan, J., Sritharan, K., Jena, B., . . . Andersen, D. (2005). Insulin Receptor (IR) and Glucose Transporter 2 (GLUT2) Proteins Form a Complex on the Rat Hepatocyte Membrane. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 15, 51-58. doi:10.1159/000083638

Fernández Balsells, M., & Ricart Engel, W. (2015). NUEVOS TRATAMIENTOS FARMACOLÓGICOS PARA LA DIABETES MELLITUS TIPO 2: Los agentes incretínicos y los agentes glucosúricos. *Butlletí groc*, 26, 1-9.

FID. (2015). Atlas de la DIABETES de la FID. In (7 ed., pp. 22-63).

Freire de Macêdo, S., Moura de Araújo, M. F., Bandeira Marinho, N. P., Soares Lima, A. C., Freire de Freitas, R. W., & Coelho Damasceno, M. M. (2010). Factores de riesgo para diabetes mellitus tipo 2 en niños. *Revista Latino-Americana de Enfermagem*, 18.

García Escalante, M. G., Suárez Solís, V. M., López Ávila, M. T. d. J., Pinto Escalante, D. d. C., & Laviada Molina, H. (2009). Efecto de los polimorfismos Gly972Arg del gen IRS1, SNP43 del gen CAPN10 y Pro12Ala del gen PPAR2 sobre la falla secundaria a sulfonilureas y metformina en pacientes con diabetes tipo 2 de Yucatán, México. *Revista de Investigación Clínica*, 50, 65-76.

Gil Velázquez, L. E., Sil Acosta, M., Domínguez Sánchez, J. E. R., Torres Arreola, L. d. P., & Medina Chávez, J. H. (2013). Guía de práctica clínica Diagnóstico y



tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Médica Instituto Mexicano de Seguridad Social*, 51.

- González Tabares, R., Aldama Leonard, I. Y., Fernández Martínez, L., Ponce Baños, I., Rivero Hernández, M. d. C., & Jorin Castillo, N. (2015). Hemoglobina glucosilada para el diagnóstico de diabetes mellitus en exámenes médicos preventivos. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 44, 50-62.
- Guzmán Lozano, E., Reza García, O., Urtiz Estrada, N., López Guzmán, O., & Vertiz Hernández, A. (2010). Polimorfismos genéticos asociados a la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41, 7-17.
- Gómez Zorita, S., & Urdampilleta, A. (2012). El GLUT4: efectos de la actividad física y aspectos nutricionales en los mecanismos de captación de glucosa y sus aplicaciones en la diabetes tipo 2. *Avances en Diabetología*, 28, 19-26. doi:10.1016/j.avdiab.2012.02.003
- He, L., Vasiliou, K., & Nebert, D. (2015). Analysis and update of the human solute carrier (SLC) gene superfamily. *Human Genomics*, 3, 195-205. doi:10.1186/1479-7364-3-2-195
- Hernández-Romano, J., Martínez-Barnetche, J., & Valverde-Garduño, V. (2009). Polimorfismos reguladores y su participación en la patogenia de enfermedades complejas en la era posgenómica. *Salud Pública de México*, 51, s455-s462.
- Ichroma. (2016). Determinacion de HbA1c Ichroma. In.
- IMSS. (2014). Tratamiento de la DIABETES MELLITUS TIPO 2 en el primer nivel de Atención. *Instituto Mexicano de Seguro Social*. Retrieved from <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/718GER.pdf>
- Joost, H.-G., & Thorens, B. (2009). The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members. *Molecular Membrane Biology*, 18(247-256). doi:10.1080/09687680110090456
- Koshy Manju , Sethupathy S , Annamalai P.T., Renju, V. C., & K., S. (2013). ASSOCIATION OF OCT1 GENE POLYMORPHISM WITH GLYCEMIC STATUS AND SERUM METFORMIN LEVELS IN TYPE II DIABETES MELLITUS PATIENTS. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH*, 41, 1940-1945. doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.4(5).1940-45
- Le, M., Lobmeyer, M., Campbell, M., Cheng, J., Wang, Z., Turner, S., . . . Johnson, J. (2013). Impact of Genetic Polymorphisms of *SLC2A2*, *SLC2A5*, and *KHK* on



- Metabolic Phenotypes in Hypertensive Individuals. *PLOS ONE*, 8. doi:10.1371/journal.pone.0052062
- Lenz, R., Zarate, A., Rodríguez, J., & Ramírez, J. (2014). Niveles de hemoglobina glicosilada y diferencia en el gasto en salud de pacientes diabéticos: un estudio econométrico. *Revista médica de Chile*, 142, 841-849.
- 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. *Gaceta Sanitaria*, 19, 321-324.
- Llorente Columbié, Y., Miguel-Soca, P. E., Rivas Vázquez, D., & Borrego Chi, Y. (2016). Factores de riesgo asociados con la aparición de diabetes mellitus tipo 2 en personas adultas. *Revista Cubana de Endocrinología*, 27, 0-0.
- Marín Peñalver, J. J., & Del Cañizo Gómez, F. J. (2016). Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 7, 354-395. doi:10.4239/wjd.v7.i17.354
- McCulloch, L. J., van de Bunt, M., Braun, M., Frayn, K. N., Clark, A., & Gloyn, A. L. (2011). GLUT2 (SLC2A2) is not the principal glucose transporter in human pancreatic beta cells: implications for understanding genetic association signals at this locus. *Molecular Genetics and Metabolism* 104, 648-653. doi:10.1016/j.ymgme.2011.08.026
- Mediavilla Bravo, J. J. (2014). Guías en el manejo de la diabetes mellitus tipo 2. *SEMERGEN - Medicina de Familia*, 40, 11-18. doi:10.1016/s1138-3593(14)74392-8
- Mercado-Martínez, F. J., & Hernández-Ibarra, E. (2007). Las enfermedades crónicas desde la mirada de los enfermos y los profesionales de la salud: un estudio cualitativo en México. *Cadernos de Saúde Pública*, 23, 2178-2186.
- Michau, A., Guillemain, G., Grosfeld, A., Vuillaumier-Barrot, S., Grand, T., Keck, M., . . . Le Gall, M. (2013). Mutations in SLC2A2 gene reveal hGLUT2 function in pancreatic beta cell development. *The Journal of biological chemistry*, 288, 31080-30192. doi:10.1074/jbc.M113.469189
- Monreal Robles, R., Gallardo Blanco, H., Lavallo González, F., Cerda Flores, R., Carrillo Molina, P., Martínez Covazos, M., . . . Villareal Pérez, J. (2014). Polimorfismos asociados a diabetes mellitus tipo 2 de inicio temprano en el noreste del país. *Revista de Medicina Interna de México*, 30.
- MSP, & INEC. (2013). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. In.



- MSP, OMS, & OPS. (2011). PROTOCOLOS TERAPÉUTICOS NACIONALES In (pp. 52-53). Ecuador.
- Márquez Arabia, J., Ramón Suárez, G., & Márquez Tróchez, J. (2012). El ejercicio en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo*, 49, 203-2012.
- Navarro Pérez, J. (2012). Diabetes mellitus tipo 2. Algoritmo terapéutico. In S. V. d. m. F. y. Comunitaria (Ed.).
- Octavio Aguilar, P., & Ramos-Frías, J. (2014). Aplicación de la genética de poblaciones en el ámbito de la medicina. *Revista Biomédica*, 34, 171-179. doi:<https://doi.org/10.7705/biomedica.v34i2.1540>
- OMS. (2014). INFORME SOBRE LA SITUACIÓN MUNDIAL de las enfermedades no transmisibles 2014. *Organización Mundial de la Salud*, 1-16.
- OMS. (2017). Diabetes. *Organización Mundial de la Salud* Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
- OPS, & OMS. (2016). La diabetes, un problema prioritario de salud pública en el Ecuador y la región de las Américas. *Organización Panamericana de la Salud*. Retrieved from http://www.paho.org/ecu/index.php?option=com_content&view=article&id=1400:la-diabetes-un-problema-prioritario-de-salud-publica-en-el-ecuador-y-la-region-de-las-americas&Itemid=360
- Orellana, R. (2014). La hemoglobina glicosilada. *Revista de Investigación Scientia*, 3, 3-9.
- Osakidetza, E. (2013). Tratamiento farmacológico de la hiperglucemia en la diabetes tipo 2. *INFAC*, 21, 60-67.
- Pascual, J. (2006). Síndromes Hereditarios del Transporte de Glucosa. *Revista Medicina Clínica*, 127, 709-714. doi:10.1157/13095099
- Pereira Despaigne, O. L., Palay Despaigne, M. S., Rodríguez Cascaret, A., Neyra Barros, R. M., & Chia Mena, M. d. I. A. (2015). Hemoglobina glucosilada en pacientes con diabetes mellitus. *MEDISAN*, 19, 555-561.
- Ramos López, O., Ojeda Granados, C., Román, S., & Panduro, A. (2013). Influencia genética en las preferencias alimentarias. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 21, 74-83.
- Ramírez-Bello, J., Vargas-Alarcón, G., Tovilla-Zárate, C., & Fragoso, J. (2013). Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas. *Gaceta Médica de México*, 149, 220-228



- redGDPS. (2016). Guía de actualización en diabetes mellitus tipo 2. *Fundación redGDPS* Retrieved from http://redgdps.org/gestor/upload/GUIA2016/Guia_Actualizacion_2016.pdf
- Reinauer, H., Home, P. D., Kanagasabapathy, A., & Heuck, C. (2010). Diagnóstico y Monitorización de la Diabetes Mellitus desde el Laboratorio. *OMS*, 22-50.
- Reinehr, T. (2013). Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *World Journal Diabetes*, 15, 270-281. doi:doi: 10.4239/wjd.v4.i6.270.
- Reyes Sanamé, F. A., Pérez Álvarez, M. L., Alfonso Figueredo, E., Ramírez Estupiñan, M., & Jiménez Rizo, Y. (2016). Tratamiento actual de la diabetes mellitus tipo 2. *Correo Científico Médico*, 20, 98-121.
- Rodríguez Amador, L., Sosa Pérez, J. o. C., Buchaca Faxas, E. F., Fernández Valdés, F., Bermúdez Rojas, S. A., & Mora, I. (2015). Niveles de hemoglobina glucosilada y su correlación con las glucemias de ayuno y postprandial en un grupo de pacientes diabéticos. *Acta Médica de Cuba*, 16.
- Rojas, E., Molina, R., & Rodríguez, C. (2012). Definición, clasificación y diagnóstico de la diabetes mellitus. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 10, 7-12.
- Sandoval Muñiz, R. d. J., Vargas-Guerrero, B., Flores-Alvarado, L. J., & Gurrola-Díaz, C. M. (2016). Glucotransportadores (GLUT): Aspectos clínicos, moleculares y genéticos *Gaceta Médica de México*, 152, 547-557.
- Sansbury, F. H., Flanagan, S. E., Houghton, J. A. L., Shuixian Shen, F. L., Al-Senani, A. M. S., Habeb, A. M., . . . Hattersley, A. T. (2012). SLC2A2 mutations can cause neonatal diabetes, suggesting GLUT2 may have a role in human insulin secretion. *Diabetología*, 55(9), 2381–2385. doi:10.1007/s00125-012-2595-0
- Segura, J., & Ruilope, L. M. (2013). Contribución del riñón en la homeostasis de la glucosa. *Medicina Clínica*, 141, 26-30. doi:10.1016/s0025-7753(13)70060-5
- Seguí Díaz, M. (2015). Actualización 2015 del algoritmo ADA/EASD de tratamiento de la hiperglucemia. *Diabetes Care*, 38, 140-149.
- Seino, Y., Nanjo², K., Tajima³, N., Kadowaki, T., Kashiwagi, A., Araki, E., . . . Ueki, K. (2010). Report of the Committee on the Classification and Diagnostic Criteria of Diabetes Mellitus. *Journal Of Diabetes Investigation*, 19, 212-228. doi:10.1111/j.2040-1124.2010.00074.x, 2010
- Soriguer, F., & Morcillo, S. (2007). ¿Qué hacer cuando en los estudios de epidemiología biomolecular la distribución genotípica no se ajusta al equilibrio



- de Hardy-Weinberg? *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 54, 169-173. doi:10.1016/S1575-0922(07)71425-0
- Tebar Massó, F., & Escobar Jiménez, F. (2009). *La Diabetes en la Práctica Clínica* (Panamericana Ed.).
- Torrades, S. (2002). Diversidad del genoma humano: los polimorfismos. *OFFARM*, 21, 122-126.
- UCV. (2016). Mecanismo de Transporte de la Glucosa. In U. C. d. Caracas (Ed.).
- Umamaheswaran Gurusamy, Geethakumari Praveen Ramakrishnan, Elango Damodaran Solai, Ashok, K. D., & Chandrasekaran, A. (2014). Influence of SLC22A1 rs622342 genetic polymorphism on metformin response in South Indian type 2 diabetes mellitus patients. *International Journal Of Clinical and Experiment Medicine*, 4, 511-517. doi:10.1007/s10238-014-0322-5
- Vargas Contreras, E. A., Gómez Moreno, J. H., & Conde Mercado, J. o. M. (2014). Medición de la hemoglobina glucosilada capilar como tamizaje en diabetes mellitus tipo 2. *Medicina Interna de México*, 30, 538-545.
- Xiao Di , Guo Yu , Li Xi, Yin Ji-Ye , Zheng Wei , Qiu Xin-Wen, . . . Liu Zhao-Qian (2016). The Impacts of SLC22A1 rs594709 and SLC47A1 rs2289669 Polymorphisms on Metformin Therapeutic Efficacy in Chinese Type 2 Diabetes Patients. *International Journal Of Endocrinology*, 2016, 1-7. doi:10.1155/2016/4350712
- Xu, J., Turner, A., Little, J., Bleecker, E. R., & Meyers, D. A. (2002). Positive results in association studies are associated with departure from Hardy-Weinberg equilibrium: hint for genotyping error? *Human Genetics*, 111, 573–574. doi:10.1007/s00439-002-0819-y
- Yang, P., Nicolás, J. C., Galván, C. A., Vélez, P., Da Ronco, L., Díaz, G. T., . . . Soria, N. W. (2014). Efectividad de la metformina en pacientes con diabetes tipo II según variantes en el gen SLC22A1. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 48, 229-235.
- Yoshi Yamada , Hitoshi Matsu , Sachiro Watanabe , Kimihiko Kato , Kazuhiro Yajima , Takeshi Hibino, . . . Nozawa, Y. (2007). Association of a polymorphism of CYP3A4 with type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Molecular Medicine*, 20, 703-707. doi:10.3892/ijmm.20.5.703
- Zhou Kaixin, Donnelly Louise, Kimber Charlotte, Donnan Peter, Doney Alex, Leese Graham, . . . Ewan, P. (2009). Reduced-Function SLC22A1 Polymorphisms Encoding Organic Cation Transporter 1 and Glycemic



Response to Metformin: A GoDARTS Study. *Diabetes Journal*, 58, 1434-1439.
doi:10.2337/db08-0896

Zhou , K., Donnelly , L., Yang, J., Li, M., Deshmukh, H., Van Zuydam, N., . . .
Pearson, E. R. (2014). Heritability of variation in glycaemic response to
metformin: a genome-wide complex trait analysis. *The Lancet Diabetes and
Endocrinology* 2, 481-487. doi:10.1016/S2213-8587(14)70050-6

Zhou, K., Wah Yee, S., Seiser, E. L., Van Leeuwen, N., Tavendale, R., Bennett, A. J., .
. . . Pearson, E. R. (2016). Variation in the glucose transporter gene SLC2A2 is
associated with glycemic response to metformin. *Nature Genetics*, 49, 1055-
1059. doi:10.1038/ng.3632

**ANEXOS****ANEXO 1. Variables del estudio.**

VARIABLE	DEFINICION	DIMENSION	TIPO	CATEGORIA
Hemoglobina Glicosilada	Resultado estimado de la concentración de glucosa en el eritrocito de 120 días anteriores a la toma de la muestra, será tomado de las historias clínicas del paciente proporcionado por la fundación DONUM.	Porcentaje (%)	Cualitativa (Nominal) Cuantitativa (Continua)	En control: 6,5% - 7,5% Niveles aumentados: 8-10% Niveles severamente aumentados: 11-14%
Glucosa basal	Concentración de glucosa en sangre en el día de análisis, será tomado de las historias clínicas del paciente proporcionadas por la fundación DONUM. .	mg/dL	Cualitativa (Nominal)	En control: 135 – 170 md/dL Niveles aumentados: 171 – 275 md/dL Niveles severamente aumentados: 276 – 415 md/dL
Índice de masa corporal	Relación entre el peso en Kg y la estatura en m ² .	Kg/m ²	Cualitativa (Nominal)	Normo peso IMC entre 18,5-24,9 Sobrepeso: 25-29,9 Obesidad ≥30
Etnia	Etnia con la cual el individuo se identifica, será tomada de las historias clínicas del paciente proporcionadas por la fundación DONUM.	Etnia	Cualitativa (nominal)	Blanco Afro descendiente Mestizo Montubio Indígena Otros
Procedencia	Lugar desde donde acude el individuo para ser atendido.	Región del país Cantón	Cualitativa (nominal)	Costa Sierra Oriente



		Provincia		Región Insular
Diabético compensado/descompensado	Diabético compensado valor de HbA1c entre 6.5% y 7,5% Diabético descompensado valores de HbA1c >7,5%	HbA1c (%)	Cualitativa (Dicotómica)	Compensado Descompensado
Tratamiento antidiabéticos con	Terapia farmacológica antidiabética que ha sido prescrita por un médico para el control de la glucemia del paciente, se tomara de la historia clínica del paciente proporcionada o por la fundación DONUM.	Fármacos antidiabéticos	Cualitativa (nominal)	Metformina Sulfonilureas Insulina
Tiempo de aparición de la enfermedad	Tiempo que ha transcurrido desde que la enfermedad fue detectada hasta la fecha donde se tomen los presentes datos, será tomado de las historias clínicas del paciente proporcionadas por la fundación DONUM.	Tiempo	Cuantitativa (continua)	Meses Años

ANEXO 2. Consentimiento Informado.





Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos

**Universidad San Francisco de Quito
El Comité de Revisión Institucional de la USFQ
The Institutional Review Board of the USFQ**

Formulario Consentimiento Informado

Título de la investigación: ASOCIACIÓN GENOTÍPICA Y FENOTÍPICA DEL POLIMORFISMO rs8192675 DEL TRANSPORTADOR SLC2A2 CON LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 DE LA FUNDACION DONUM.

Organización del investigador: Universidad de Cuenca

Nombre del investigador principal: Nohela Betzabeth Arévalo Ramírez
Noemí Elizabeth Cadmen Ochoa

Datos de localización del investigador principal:

Nohela Betzabeth Arévalo Ramírez

Tlf: 099465973

e-mail: nohela_arevalo@outlook.es

Noemí Elizabeth Cadmen Ochoa

Tlf: 0984369684

e-mail: noemi.cadmen2610@ucuenca.ec

Co-investigadores: Dr. Fausto Leonardo Zaruma Torres, PhD.

BQF. Maritza Raphaella Ochoa Castro, Mgt



DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Introducción

En este formulario se le indica el propósito de esta investigación. Usted puede hacer todas las preguntas que desee para entender claramente, aceptar o rechazar su participación y despejar sus dudas. Antes de indicar su decisión usted puede tomarse el tiempo que considere necesario para consultar con su familia y/o amigos si desea participar o no.

Nosotras Nohela Arévalo y Noemí Cadmen, egresadas de la Carrera de Bioquímica y Farmacia de la Universidad de Cuenca tenemos interés en el estudio e identificación de una modificación en el ADN (polimorfismo rs8192675) que influye en la respuesta que un paciente con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) muestra hacia el tratamiento farmacológico para esta enfermedad, reflejándose el control de los valores de azúcar en los niveles de hemoglobina glicosilada. Consideramos importante su participación porque usted es un paciente mayor de edad con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 que se atiende en la Fundación DONUM y actualmente se encuentran medicado con antidiabéticos orales (Biguanidas y/o sulfonilureas) y/o insulina, o sigue un tratamiento no farmacológico y además cumple los siguientes criterios:

- Paciente con DM2 que no padece Enfermedad Renal
- Paciente con DM2 que no padece Anemias crónicas
- Paciente con DM2 que no padece Hemoglobinopatías
- Paciente con DM2 no alcohólico o no ha consumido alcohol previo a la determinación de HbA1c
- Paciente con DM2 que no adolece de déficit de hierro o vitamina B12
- Paciente con DM2 que no se encuentra en tratamiento con ácido acetil salicílico en dosis mayor a 4g diarios
- Paciente con DM2 que no se encuentra en tratamiento con vitamina C



Propósito del estudio

La Diabetes Mellitus Tipo 2 es una enfermedad crónica que afecta la calidad de vida de las personas que la padecen, en este sentido, lograr un control de la enfermedad es primordial para evitar complicaciones.

Clínicamente este control se refleja en los valores de hemoglobina glicosilada y se logra mediante el cumplimiento del tratamiento sea farmacológico o no dependiendo de la condición de cada paciente; sin embargo la respuesta que los pacientes muestran hacia el tratamiento farmacológico puede estar condicionada por varios factores entre ellos los de tipo genético, de ahí que el propósito de nuestra investigación en la que se pretenden participen 107 pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2 que acuden a esta fundación, es determinar mediante la extracción de ADN de una muestra de sangre si existe la presencia de modificaciones o cambios genéticos, específicamente el polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2*. Para asociar este hallazgo con los valores de hemoglobina glicosilada y establecer si la presencia o ausencia de este polimorfismo influye o no en el control de la enfermedad.

Descripción de los procedimientos

En este momento, los investigadores le tomarán una muestra de sangre venosa de su brazo, en horas de la tarde se procederá a realizar la prueba de hemoglobina glicosilada cuyo resultado será entregado de forma personal el día de mañana. La muestra de sangre tomada a su persona servirá además para la determinación del mencionado polimorfismo para lo cual utilizaremos las técnicas de laboratorio correspondientes.

Se realizará además la revisión de su historia clínica con el objetivo de recopilar de manera estricta y confidencial la siguiente información:

- Valores de Glucosa basal
- Índice de masa corporal
- Edad
- Sexo
- Etnia
- Procedencia
- Diabético compensado/descompensado



- Tratamiento con antidiabéticos
- Tiempo de aparición de la enfermedad

Además, en caso de no estar registrado algún dato necesario en su historia clínica, realizaremos la consulta de dicha información a usted en el presente día mientras se realiza la recolección de la muestra.

El desarrollo de la investigación se llevará a cabo en el lapso de 10 meses, el día de hoy se consolidará su colaboración a través del presente documento y se procederá a la toma de muestra de sangre por parte de los investigadores. Como se ha mencionado, el día de mañana se le entregará en sobre cerrado y de manera personal su resultado de hemoglobina glicosilada, si Ud. no puede acudir, al final de la investigación su resultado será incorporado a la Historia Clínica. Por otra parte, el resultado correspondiente a la presencia o ausencia de la variante genética (polimorfismo) en estudio será entregado de forma personal por el médico diabetólogo cuando usted acuda a consulta, pasados los 10 meses que demora el estudio.

Riesgos y beneficios

Riesgos

- **Físicos:** Usted podrá experimentar cierto dolor debido a la punción que se realizará para la extracción de 5 ml de sangre.
- **Psicológicos:** Usted podría experimentar cierto grado de estrés al conocer el resultado de la presencia o ausencia del polimorfismo; sin embargo debe mantenerse tranquilo pues dicho resultado no tiene influencias negativas sobre su salud.

Beneficios

- Se le realizará de forma gratuita el examen de hemoglobina glicosilada que es un parámetro de control de la Diabetes, y que le permitirá a usted y a su diabetólogo conocer y evaluar cómo ha mantenido sus niveles de azúcar en sangre durante los últimos tres meses, con este valor usted podrá saber cómo se ha controlado la enfermedad durante el tiempo mencionado.
- Usted podrá conocer de manera gratuita si poseen o no el polimorfismo rs8192675 del transportador *SLC2A2* que puede estar influyendo en el control de los niveles de azúcar en su sangre.



Confidencialidad de los datos

Quienes realizamos este estudio nos comprometemos a mantener absoluta confidencialidad con su información, por lo cual aplicaremos las medidas necesarias para que nadie conozca su identidad ni tenga acceso a sus datos personales:

- 1) La información obtenida de su persona se registrará a través de un código alfa-numérico al que únicamente los investigadores y personal de la fundación DOMUN tendrán acceso.
- 2) Su nombre no será mencionado en los reportes o publicaciones.
- 3) El Comité de Bioética de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ) podrá tener acceso a sus datos en caso de que surgieran problemas en cuanto a la seguridad y confidencialidad de la información o de la ética en el estudio.

Derechos y opciones del participante

Usted está en la libertad de decidir participar o no de esta investigación, de igual manera, si en el desarrollo de la misma decide retirarse puede hacerlo con total libertad, sin que esto afecte los derechos que usted goza en la Fundación DONUM, únicamente su decisión deberá ser comunicada a los investigadores.

Si Usted decide participar no recibirá ningún pago ni tendrá que pagar absolutamente nada.

Su participación o no dentro de esta investigación no afectará en ningún aspecto el servicio y la atención que recibe dentro de la Fundación DONUM.

Información de contacto

Si usted tiene alguna pregunta sobre el estudio por favor comunicarse con:

Dr. Fausto Leonardo Zaruma Torres, PhD.

Tlf: 09830518590

e-mail: fazato@hotmail.com

Dra. Maritza Raphaella Ochoa Castro, MSc.

Tlf: 0998052559

e-mail: mariochoa_112@hotmail.com



Nohela Betzabeth Arévalo Ramírez

Tlf: 099465973

e-mail: nohela_arevalo@outlook.es

Noemí Elizabeth Cadmen Ochoa

Tlf: 0984369684

e-mail: noemi.cadmen2610@ucuenca.ec

Consentimiento informado	
He leído y comprendido toda la información contenida en este documento, el lenguaje utilizado ha sido claro y oportuno y todas mis dudas han sido contestadas, me han dado a conocer los riesgos y beneficios de participar en este estudio. He tenido el tiempo suficiente para decidir mi participación y manifiesto que acepto voluntariamente participar en esta investigación.	
Firma del participante	Fecha
Firma del testigo <i>(si aplica)</i>	Fecha
Nombre del investigador que obtiene el consentimiento informado	
Firma del investigador	Fecha



ANEXO 3. Hoja de Recolección de datos

Universidad de Cuenca
Facultad de Ciencias Químicas
Carrera de Bioquímica y Farmacia

Trabajo de Titulación: ASOCIACIÓN GENOTÍPICA Y FENOTÍPICA DEL POLIMORFISMO rs8192675 DEL TRANSPORTADOR SLC2A2 CON LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 DE LA FUNDACION DONUM.

Investigadoras Principales: Nohela Betzabeth Arévalo Ramírez

Noemí Elizabeth Cadmen Ochoa

Director de Tesis: Dr. Fausto Zaruma, PhD.

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Código del Paciente: En mayúsculas, primera letra del primer nombre, primera letra del segundo nombre, primera letra del primer apellido, primera letra del segundo apellido, seguido de un guion medio, número que se le asignó al paciente a su llegada al Laboratorio Clínico de la Fundación DONUM.

Ejemplo: **NBAR-1**

Historia Clínica: Asignada por la Fundación

Parte I – VARIABLES

1. **Edad:** Marcar con un X

Adulto joven: 18-35 años () Adulto: 35-64 años () Tercera edad: 65 años en adelante () **Edad exacta:** () años

2. **Sexo:** Marcar con un X

Masculino () Femenino ()

3. **Etnia:** Marcar con un X



Blanco () Afro descendiente () Mestizo () Montubio () Indígena ()

4. Procedencia: Marcar con un X

Costa () Sierra () Oriente () Región Insular ()

5. Índice de Masa Corporal: Marcar con un X

Normo peso IMC entre 18,5-24,9 () Sobrepeso : 25-29,9 () Obesidad ≥ 30 ()

- Valor exacto de ICM: () kg/m^2

6. Diabético compensado/no compensado: Marcar con un X

Compensado () No Compensado ()

7. Hemoglobina Glicosilada: Marcar con un X

En control: 6,5% - 7,5% () Niveles aumentados: 8-10% () Niveles severamente aumentados: 11-14% () **Valor exacto de HbA1c:** ()%

8. Glucosa basal

En control: 135 – 170 mg/dL () Niveles aumentados: 171 – 275 mg/dL () Niveles severamente aumentados: 276 – 415 mg/dL () **Valor exacto de glucosa:** () mg/dl

9. Tiempo de aparición de la enfermedad

- Meses o años de evolución:

10. Tipo de tratamiento farmacológico: Marcar con un X (admite más de una opción)

Biguanidas () Sulfonilureas () Insulina ()

PARTE II - CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

1. El paciente es mayor de edad: Marcar con un X

Si () No ()

2. Manifiesta alguna de las siguientes características: Marcar con un X

() Enfermedad Renal

() Anemias crónicas

() Hemoglobinopatías



-) Alcoholismo
-) Consumido alcohol previo a la determinación de HbA1c
-) Déficit de hierro
-) Déficit de vitamina B12
-) Tratamiento con ácido acetil salicílico en dosis mayor a 4g diarios
-) Tratamiento con vitamina C



ANEXO 4. Carta de Aprobación del estudio emitido por el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos Universidad San Francisco de Quito.

2017-047E



**Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos
Universidad San Francisco de Quito**

**El Comité de Revisión Institucional de la USFQ
The Institutional Review Board of the USFQ**

Aprobación MSP, Oficio No. MSP-VGV5-2016-0244-D, 26 de Abril de 2016

Quito, 18 de julio de 2017

Señoritas
Nohela Betzabeth Arévalo Ramírez
Noemí Elizabeth Cadmen Ochoa
Investigadoras Principales
UNIVERSIDAD DE CUENCA
Ciudad

De mi mejor consideración:

Por medio de la presente, el Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Universidad San Francisco de Quito se complace en informarle que su solicitud de revisión y aprobación del estudio de investigación **"ASOCIACIÓN GENOTÍPICA Y FENOTÍPICA DEL POLIMORFISMO rs8192675 DEL TRANSPORTADOR SLC2A2 CON LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA EN PACIENTES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 DE LA FUNDACION DONUM"**, ha sido aprobada el día de hoy como un estudio *expedito*, debido a que la investigación va a tomar datos personales pero el investigador asegura que serán codificados para el análisis y presentación de los resultados y una vez concluido el estudio cualquier dato que pudiese identificar al participante será borrado.

El CEISH - USFQ aprueba el estudio ya que cumple con los siguientes parámetros:

- El proyecto de investigación muestra metas y/o objetivos de significancia científica con una justificación y referencias.
- El protocolo de investigación cuenta con los procedimientos para minimizar sus riesgos de sus participantes y/o los riesgos son razonables en relación a los beneficios anticipados del estudio.
- Los participantes del estudio tienen el derecho a retirarse del estudio y su participación su conseguida a través de un proceso de consentimiento informado
- El protocolo cuenta con provisiones para proteger la privacidad y confidencialidad de los participantes del estudio en sus procesos de recolección, manejo y almacenamiento de datos
- El protocolo detalla las responsabilidades del investigador

Además el investigador principal de este estudio ha dado contestación a todas las dudas y realizado todas las modificaciones que este Comité ha solicitado en varias revisiones. Los documentos que se aprueban y que sustentan este estudio es la versión # 2 de junio 26, 2017 que incluyen:

Casilla Postal 17-12-841, Quito, Ecuador
comitebioetica@usfq.edu.ec
PBX (593-2) 297-1700 ext 1149



2017-047E

- Solicitud de revisión y aprobación de estudio de investigación, 20 páginas;
- Solicitud de aplicación al consentimiento informado por escrito, 4 páginas;
- Carta de solicitud de revisión y aprobación, 2 páginas;
- CV de Noemi Elizabeth Cadmen Ochoa, 13 páginas;
- CV de Nohela Betzabeth Arévalo Ramírez
- Protocolo de tesis Universidad de Cuenca, 3 páginas.

Esta aprobación tiene una duración de **un año (365 días)** transcurrido el cual se deberá solicitar una extensión si fuere necesario. En toda correspondencia con el Comité de Bioética favor referirse al siguiente código de aprobación: **2017-047E**. El Comité estará dispuesto a lo largo de la implementación del estudio a responder cualquier inquietud que pudiese surgir tanto de los participantes como de los investigadores.

Favor tomar nota de los siguientes puntos relacionados con las responsabilidades del investigador para este Comité:

1. El Comité no se responsabiliza por los datos que hayan sido recolectados antes de la fecha de esta carta; los datos recolectados antes de la fecha de esta carta no podrán ser publicados o incluidos en los resultados.
2. El Comité ha otorgado la presente aprobación en base a la información entregada por los solicitantes, quienes al presentarla asumen la veracidad, corrección y autoría de los documentos entregados.
3. De igual forma, los solicitantes de la aprobación son los responsables por la ejecución correcta y ética de la investigación, respetando los documentos y condiciones aprobadas por el Comité, así como la legislación vigente aplicable y los estándares nacionales e internacionales en la materia.

Deseándole los mejores éxitos en su investigación, se solicita a los investigadores que notifiquen al Comité la fecha de terminación del estudio.

Atentamente,



William F. Waters, PhD
Presidente Comité de Ética de Investigación en Seres Humanos USFQ
cc. Archivo general, Archivo protocolo

Casilla Postal 17-12-841, Quito, Ecuador
comitebioetica@usfq.edu.ec
PBX (593-2) 297-1700 ext 1149

ANEXO 5. Procedimiento, materiales y reactivos para la determinación de HbA1c

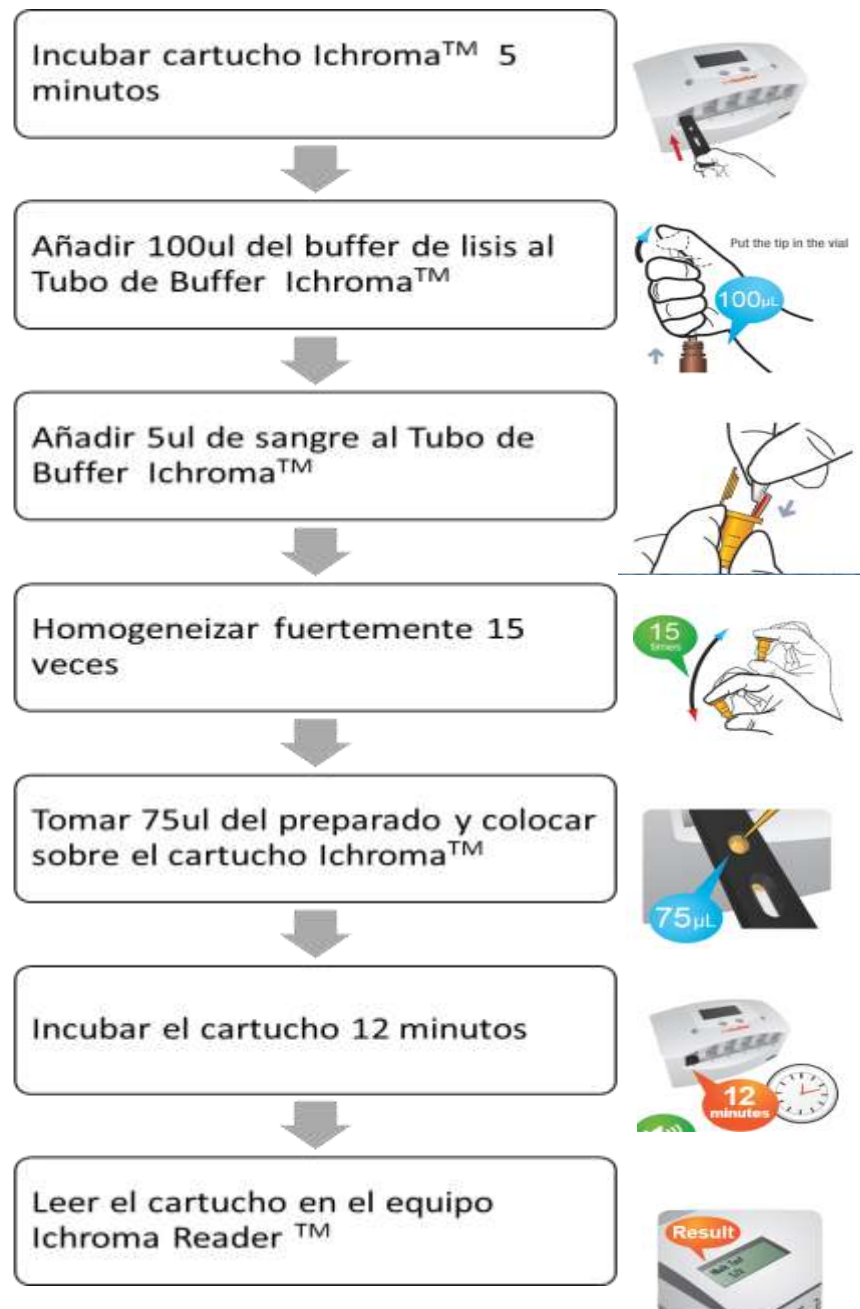


Figura 4. Procedimiento para la determinación de HbA1c. Fuente: (Ichroma™, 2016)

Materiales y Equipos



Tabla 14. Materiales y equipos para la determinación de Hemoglobina Glicosilada.

Materiales	Equipos
Pipeta automática Labnet Biopette 100ul	I-chamber TM
Pipeta automática Labnet Biopette 5ul	Ichroma Reader TM
Pipeta automática Labnet Biopette 15ul	
Puntas plásticas 100ul	
Puntas Plásticas 10ul	
ID Chip	
Cartucho del Test	
Fuente: Autoras	



ANEXO 6. Procedimiento, materiales y reactivos para la extracción de ADN

Lisado de Células

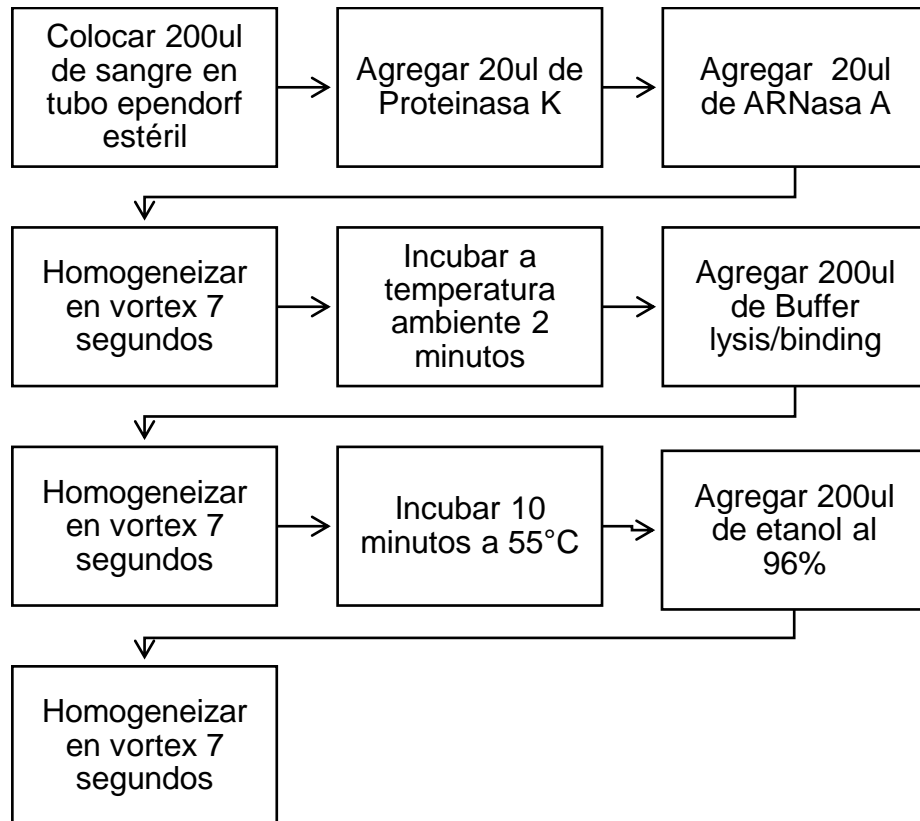


Figura 5. Procedimiento del lisado de células para la extracción de ADN. *Fuente:* Autoras



Lavado

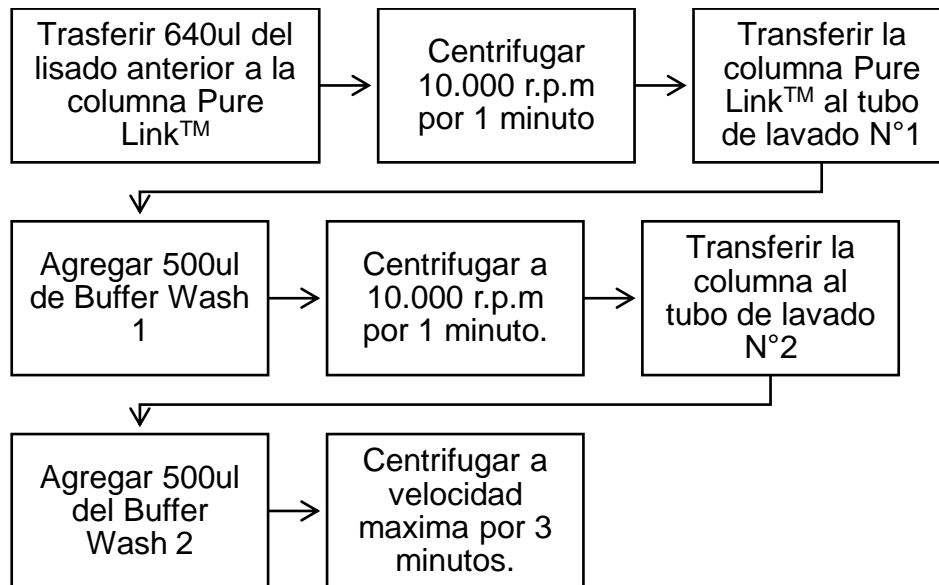


Figura 6. Procedimiento del lavado de células para la extracción de ADN. *Fuente: Autoras*

Elución

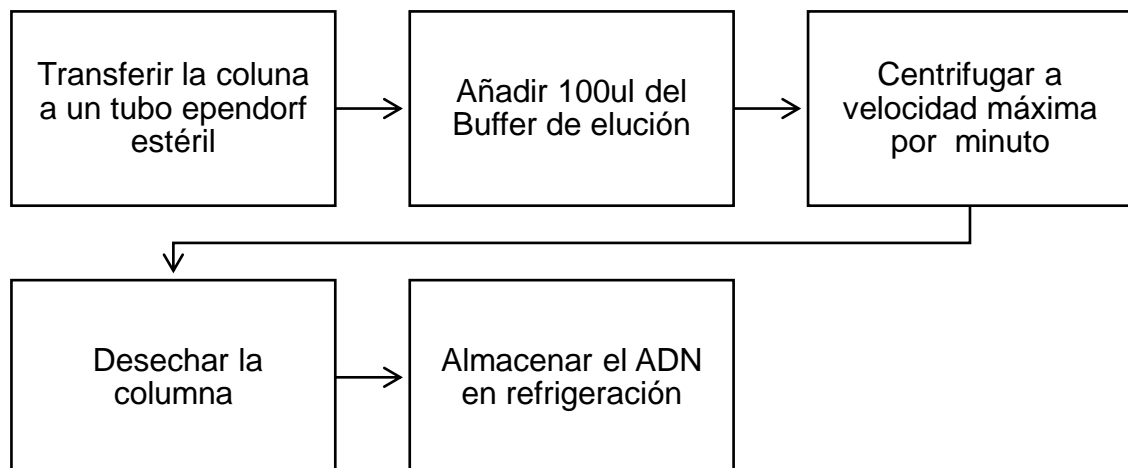


Figura 7. Procedimiento de la fase elución de ADN. *Fuente: Autoras*

**Materiales y equipos****Tabla 15.** Materiales y equipos para la extracción de ADN.

Materiales	Equipos
Pipetas automáticas Labnet Biopette 1000ul	Vortex IKA® 3 Basic
Pipetas automáticas Labnet Biopette 200ul	Centrifuga 5415
Pipetas automáticas Labnet Biopette 20ul	Baño María VORTEMP 56 EVC
Puntas con filtro estériles AXYGEN™ de 1000ul	Cabina de Flujo Horizontal Telstar AH- 100
Puntas con filtro estériles AXYGEN™ de 100ul a 200ul	Refrigerador Indurama® RI 425
Tubera plástica 80 x 1.5ml HEATROW	Autoclave Tuttnauer® 2540EK

Fuente: Autoras



ANEXO 7. Procedimiento, materiales y reactivos para la estandarización y técnica de PCR Tiempo Real

Preparación de las Diluciones

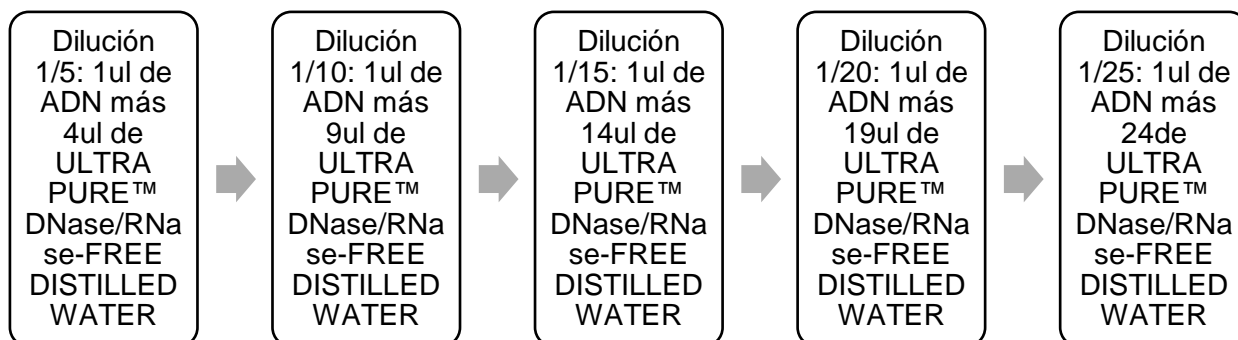


Figura 8. Procedimiento para dilución de ADN. Fuente: Autoras

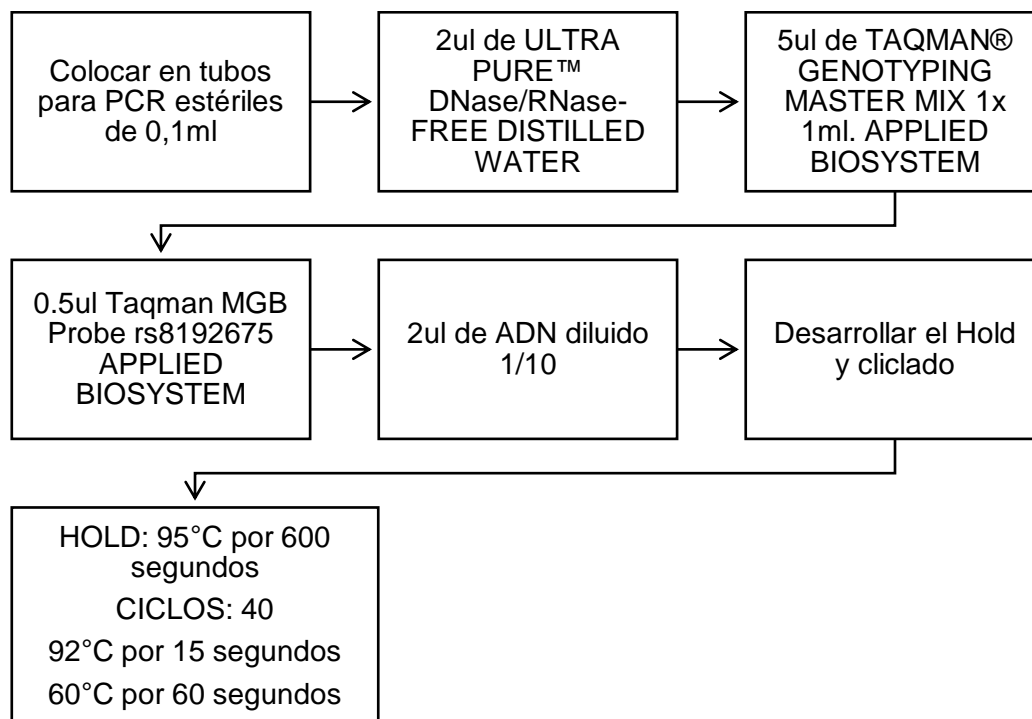


Figura 9. Procedimiento de qPCR para corrida de las muestras. Fuente: Autoras



* Todas las corridas se trabajaron con blanco, que en lugar de muestra llevó ULTRA PURE™ DNase/RNase-FREE DISTILLED WATER correspondiente a la cantidad de ADN.

- Resultados fuera de los rangos de normalidad fueron sujetos a verificación.

Materiales y Equipos

Tabla 16. Materiales y equipos para el desarrollo de qPCR.

Materiales	Equipos
Pipetas automáticas Labnet Biopette 1000ul	Centrifuga 5415
Pipetas automáticas Labnet Biopette 20ul - 200ul	Light Cycler Nano 1.0.7
Pipetas automáticas Labnet Biopette 0.5ul -10 ul	Cabina de Flujo Horizontal Telstar AH-100
Puntas con filtro estériles AXYGEN™ de 1000ul	Refrigerador Indurama® RI 425
Puntas con filtro estériles AXYGEN™ de 100ul a 200ul	
Puntas con filtro estériles AXYGEN™ de 10ul - 100ul	
Tubera plástica 80 x 1.5ml HEATROW	

Fuente: Autoras

ANEXO 8. Equipos usados para la extracción de ADN y qPCR

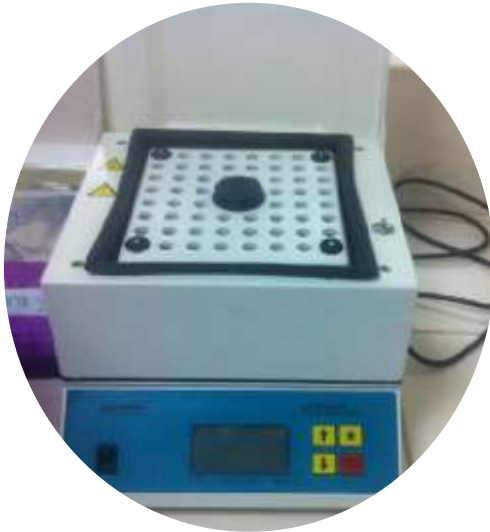


Figura 11. Baño María VORTEMP 56 EVC usado en el proceso de extracción de ADN.
Fuente Autoras



Figura 13. Light Cycler Nano 1.0.7.
Fuente Autoras



Figura 12. Muestras de ADN preparadas para el proceso de qPCR. *Fuente Autoras*



ANEXO 9. Interpretacion de los resultados obtenidos en latecnica de qPCR

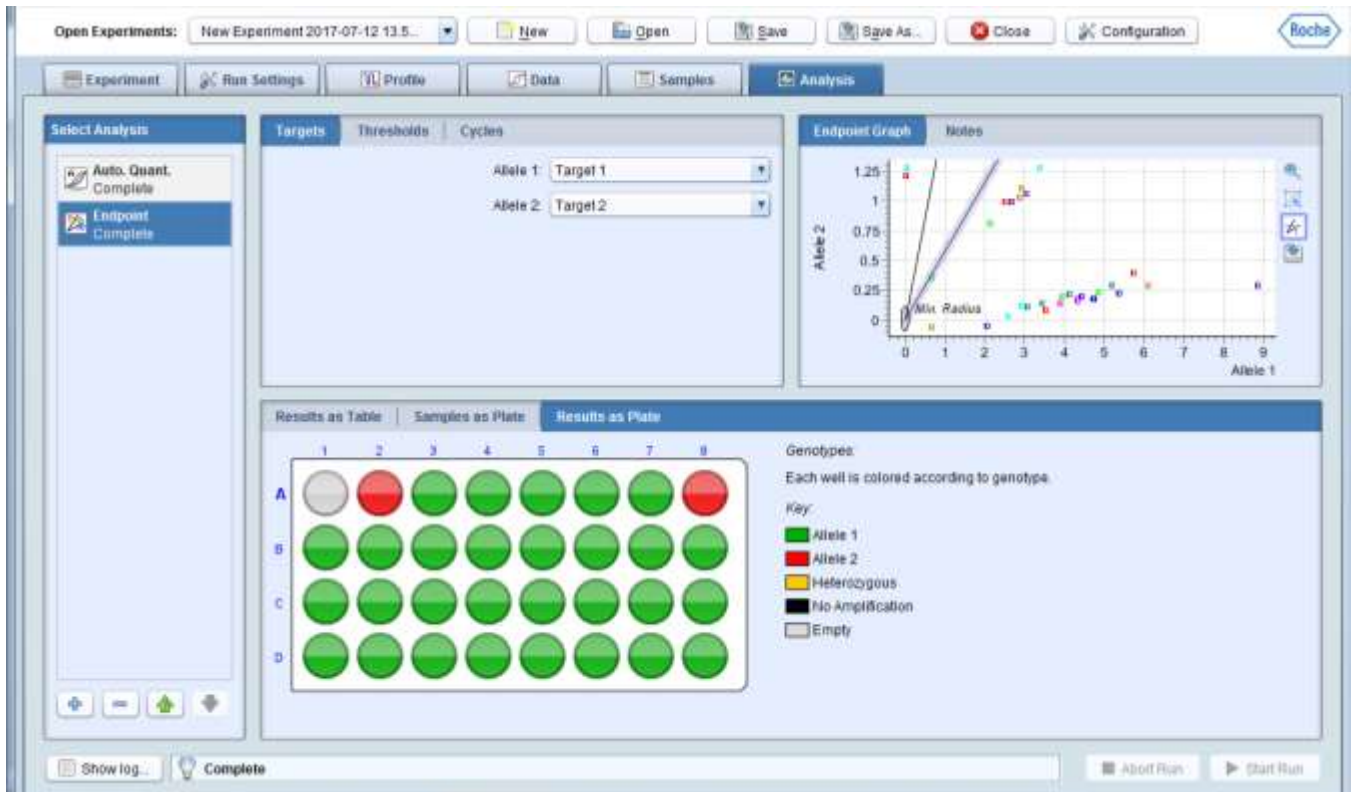


Figura 14. Análisis Endpoint de LightCycler Nano. Fuente: Autoras