



# UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA

La Universidad Católica de Loja

## ÁREA BIOLÓGICA

TITULACIÓN DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

**“Análisis de haplotipos del gen de *Calpaína 10* en individuos diabéticos y no diabéticos de la ciudad de Loja”.**

TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN

**AUTOR:** Sarango Gaona, Pamela del Cisne

**DIRECTOR:** Arévalo Jaramillo, Ana Paulina, Mg.

LOJA-ECUADOR

2014

**APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN.**

Magister.

Ana Paulina Arévalo

**DOCENTE DE LA TITULACIÓN**

De mi consideración:

El presente trabajo de fin de titulación: “Análisis de haplotipos del gen de *Calpaína 10* en individuos diabéticos y no diabéticos de la ciudad de Loja”, realizado por: Pamela del Cisne Sarango Gaona, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, septiembre de 2014

f) .....

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo Sarango Gaona Pamela del Cisne declaro ser autor (a) del presente trabajo de fin de titulación: “Análisis de haplotipos del gen de *Calpaína 10* en individuos diabéticos y no diabéticos de la ciudad de Loja”, de la Titulación de Bioquímica y Farmacia, siendo Mg. Ana Paulina Arévalo directora del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

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

f. ....

**Autor:** Sarango Gaona Pamela del Cisne

**Cédula:** 1104432917

## **DEDICATORIA.**

A Dios Padre Celestial por guiarme a lo largo de mi vida; a mi familia quienes me impulsaron a seguir mi carrera universitaria, de especial a mis queridos abuelitos pues sin su ayuda mi madre no hubiera podido ser papá y mamá y por supuesto a mi madre de la cual he aprendido grandes valores como: amor, comprensión, entrega y servicio y a ti mi Edu, mi hermano mayor mi compañero de siempre que estuviste y estás, en todo momento sin importar el tiempo ni las circunstancias, gracias por tu ayuda y tu gran paciencia.

Finalmente a todas mis amigas y amigos con quienes compartí mi vida estudiantil y fueron mi ayuda y soporte, en especial a Tania y Sofi por sus consejos y amistad sincera.

## **AGRADECIMIENTO.**

Mi agradecimiento sincero e imperecedero a la Universidad Técnica Particular de Loja, en cuyas aulas me forje como profesional, a todos y cada uno de los docentes de los cuales tengo recuerdos invaluable, pero sobre todo enseñanzas de vida ; en especial al Área de Biología Molecular, Microbiología y Bioquímica Clínica en las personas de la Bq. Ana Córdova y Mg. Paulina Arévalo que hicieron posible que llegue a concluir esta etapa de mi vida profesional, brindándome su apoyo constante y generoso al transmitirme sus conocimientos para la elaboración de este proyecto y a todos los miembros de este departamento por brindarme las facilidades para la recepción de la información necesaria en este trabajo de fin de titulación.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

CARATULA.....	I
APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN. ....	II
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	III
DEDICATORIA. ....	IV
AGRADECIMIENTO. ....	V
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	VI
LISTA DE TABLAS. ....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
MARCO TÉORICO.....	4
1.1. Diabetes.....	5
<b>1.1.1. Clasificación de la Diabetes.</b> .....	6
<b>1.1.1.1 Diabetes tipo 1 (DT1).</b> ....	6
<b>1.1.1.2 Diabetes tipo 2 (DT2).</b> ....	6
<b>1.1.1.3 Diabetes Gestacional (DG).</b> .....	7
<b>1.1.1.4 Otros tipos de Diabetes</b> .....	7
<b>1.1.2 Factores de riesgo a diabetes tipo 2.</b> .....	11
<b>1.1.2.1 Factores Genéticos.</b> .....	11
<b>1.1.2.2 Factores Demográficos.</b> .....	11
<b>1.1.2.3 Comportamiento y estilo de vida.</b> .....	12
<b>1.1.2.4 Factores metabólicos y determinantes de categorías intermedias de riesgo a DT2:</b> .....	12
<b>1.1.2.4.1 Intolerancia a la glucosa.</b> .....	12
<b>1.1.2.4.2 Resistencia a la insulina.</b> .....	12
<b>1.1.2.4.3 Diabetes Gestacional.</b> .....	13
<b>1.1.3 Genética de la Diabetes tipo 2.</b> .....	13
<b>1.2 Calpaínas.</b> .....	14
<b>1.2.1 Estructura de las calpaínas.</b> .....	14

1.2.1.1 Unidad catalítica o mayor.....	15
1.2.1.2 Unidad reguladora o menor.....	16
1.2.2 Activación de las calpaínas.....	17
1.2.3 Inactivación de las calpaínas.....	18
1.2.4 Calpaínas y secreción de la insulina.....	18
1.3 Calpaína 10 (CAPN10).....	18
1.4 Haplotipo.....	19
MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	23
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1. Resultados.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1.1. Características antropométricas y bioquímicas.....</b>	<b>24</b>
<b>3.1.2. Polimorfismos en estudio.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1.3. Haplotipos.....</b>	<b>26</b>
<b>3.2. Discusión.....</b>	<b>28</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>31</b>
<b>Recomendación.....</b>	<b>31</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>32</b>

## LISTA DE TABLAS.

<b>Tabla 1.</b> Características bioquímicas y antropométricas de diabéticos y no diabéticos....	24
<b>Tabla 2.</b> Frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos Indel19, SNP43, SNP44, SNP 63 en el gen de <i>Calpaína 10</i> .....	25
<b>Tabla 3.</b> Análisis de haplotipos en diabéticos y no diabéticos.....	27



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Unidad catalítica mayor .....	16
<b>Figura 2:</b> Unidad menor 2. ....	16
<b>Figura 3.</b> Activación de las calpaínas.....	17
<b>Figura 4:</b> Desequilibrio de ligamiento.....	26

## RESUMEN.

La Diabetes tipo 2 (DT2) es un trastorno metabólico complejo, de etiología heterogénea. En el desarrollo de la enfermedad intervienen factores genéticos y ambientales que influyen en su expresión. Varios polimorfismos del gen *Calpaína 10* han sido asociados con DT2 y la resistencia a la insulina; sin embargo se han reportado resultados diferentes en varias poblaciones a nivel mundial. El objetivo de este trabajo fue determinar los haplotipos formados por los SNP43, Indel 19 y SNP 63 del gen *Calpaína 10* en población lojana, además evaluar su asociación con DT2. Del análisis de 380 personas, 197 diabéticas y 183 no diabéticas, se obtuvo que el haplotipo más frecuente fue el 221 (SNP43, Indel19 y SNP63) con una frecuencia de 0.326 en diabéticos y 0.334 en no diabéticos; ninguno de los haplotipos con frecuencia mayor al 5% encontrados en la población analizada mostró asociación con diabetes tipo 2.

**Palabras claves:** Diabetes tipo 2, SNP, CAPN10

## ABSTRACT

The type 2 diabetes is a complex metabolic disorder with a heterogeneous etiology. In the disease development are involved environmental and genetic factors that influence in the expression. Several polymorphism of the *Calpain 10* gen have been associated with type 2 diabetes and the insulin resistance, however, the results of this association are different in several populations around the world. The objective of this assay was to determinate the created haplotypes by the SNP43, Indel 19 and SNP 63 of the *Calpain 10* gen in the Loja population, also to evaluate its association with type 2 diabetes. 380 people were analyzed, 197 diabetic people and 183 non-diabetic people, the most common haplotype found was 221 (SNP43, Indel19 and SNP63) with a 0.326 frequency in diabetic people and 0.334 in non-diabetic people; none of the haplotypes found with a higher frequency of the 5% showed association with the type 2 diabetes.

**Key words:** Type 2 diabetes, SNP, CAPN10

## INTRODUCCIÓN.

La diabetes mellitus (DM) es un síndrome o conjunto de síndromes que se caracteriza por una alteración metabólica cuyo marcador es la hiperglucemia crónica, con alteraciones añadidas en el metabolismo de las grasas y proteínas. Aunque la diabetes se conoce desde hace muchos siglos, nuestros conocimientos sobre su etiología y patogenia distan mucho de ser completos. Esto conlleva implicaciones desfavorables a la hora de planificar la investigación básica y clínica, la asistencia y la prevención de una enfermedad, cuya prevalencia aumenta de formas alarmantes (Camena R, 2004)

La diabetes tipo 1 (DT1) y la diabetes tipo 2 (DT2) son enfermedades complejas, determinadas por múltiples factores genéticos y ambientales, cuyo resultado final es la hiperglucemia y, con ella, el riesgo a desarrollar complicaciones crónicas microvasculares y macrovasculares que condicionan el pronóstico de los pacientes. En la DT1 como en la DT2, son múltiples los genes que intervienen en la patogenia de la enfermedad (poligénica) (Wiebe *et al.*, 2011). Estudios han demostrado que el gen de *Calpaína 10* se relaciona directamente con la DT2, debido a que interviene en la translocación del transportador de la glucosa 4 que responde a insulina, y su liberación permitiendo que actúe sobre la glucosa en tejidos periféricos. Entre las variantes genéticas de este gen, tres han sido asociadas con un aumento del riesgo a padecer dicha enfermedad: SNP43, SNP63 e Indel 19 (Cuevas *et al.*, 2010; Paredes *et al.* 2014), siendo el SNP43 el que se asocia con mayor riesgo en poblaciones México-americanos y en poblaciones del norte de Europa (Cruz *et al.*, 2005).

En el Ecuador la diabetes es la segunda causa de muerte en población general según datos reportados por el INEC en el 2011. Es poca la información que existe en nuestro medio sobre los factores genéticos asociados a la enfermedad, razón por la cual en esta investigación se plantea estudiar el efecto de polimorfismos del gen de *Calpaína 10* y la enfermedad mediante la determinación del haplotipo de riesgo.

## **MARCO TÉORICO**

## 1.1. Diabetes.

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad metabólica de naturaleza crónica, no transmisible, degenerativa y de etiología multifactorial, caracterizada por hiperglucemia, que al no ser tratada se ha asociado con daño a largo plazo de varios órganos, especialmente ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos (A. Diabetes, 2012).

La base de las anomalías del metabolismo de los carbohidratos, las grasas y las proteínas en la DM, es la secreción o/y acción deficiente de insulina sobre los tejidos diana, la deficiencia de esta proviene de su secreción inadecuada y/o la disminución de la respuesta de los tejidos a la insulina en uno o más puntos en la compleja vía de la acción hormonal. Adicionalmente, varios procesos patogénicos están involucrados en el desarrollo de la DM, desde la destrucción autoinmune de las células  $\beta$  del páncreas, con la consecuente deficiencia de insulina, hasta las anomalías que provocan resistencia a la acción de esta hormona (Carmena R 2004).

La diabetes se perfila en la actualidad como uno de los grandes retos para la salud pública a nivel mundial. Según la Federación Internacional de Diabetes (IDF) existen 371 millones de personas afectadas. Más del 80% de las muertes por diabetes se registran en países desarrollados, países de ingresos bajos y medios. Casi la mitad de esas muertes corresponden a personas de menos de 70 años y un 55% a mujeres. Se calcula que esta cifra aumentará hasta alcanzar los 552 millones de personas para el 2030, afectado al 9,9% de los adultos, lo cual equivale aproximadamente a tres nuevos casos de diabetes cada 10 segundos. Si a estas cifras se agrega que en el 2011 padecían alteración de la tolerancia a la glucosa (el estadio previo al desarrollo de la diabetes como enfermedad) 280 millones de personas, se observa que el total de diabéticos sería de 646.2 millones, una cifra alarmante por las consecuencias orgánicas de enfermedades cardiovasculares, neurológicas, de los riñones, los ojos (ceguera) y dérmicas principalmente ("Diabetes Atlas 2012," 2013).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la diabetes afecta entre un 10 - 15% de la población adulta de América Latina y el Caribe. Según la IDF en el 2012 en América Central y Latina 26 millones de personas padecieron diabetes, lo que representó una prevalencia del 9.2 %, de estos casos solo el 45.5% son diagnosticados.

En el pacífico occidental la prevalencia de diabetes es del 8%, en el sudeste Asiático de 8.7%, y en el resto del mundo la prevalencia se aumenta cada vez más (Asia, 2012).

En la actualidad la Diabetes tipo 2 (DT2) es una de las enfermedades más comunes en nuestro país, los factores como el estilo de vida, el exceso de ingesta calórica, la obesidad y el sobrepeso han provocado un incremento acelerado en la última década. En Ecuador, los casos informados fueron de 92 629 en el 2010. En este año la diabetes fue la segunda causa de muerte para la población en general, alcanzando el primer lugar en el año 2011, y siendo la primera causa de muerte en el sexo femenino. En Loja en el 2011, se estimó que 20 mil personas fueron afectadas y 1145 personas fallecieron por esta patología. (INEC. 2011).

### **1.1.1. Clasificación de la Diabetes.**

Según la Asociación Americana de Diabetes (ADA) se clasifica esta patología de la siguiente manera:

#### **1.1.1.1 Diabetes tipo 1 (DT1).**

La diabetes tipo 1 es una enfermedad autoinmune que se desarrolla como consecuencia de la interacción entre factores genéticos, inmunológicos y ambientales. Resultando en la destrucción de las células  $\beta$ , que suelen provocar una deficiencia absoluta de insulina (ADA, 2012a); Breu *et al.*, 2008).

Hasta la actualidad, no se ha identificado variante alélica de ningún gen que pueda inducir DT1 por lo que hablamos de una enfermedad poligénica, con patrón de herencia no conocido. Los factores genéticos contribuyen en un porcentaje aproximado de un 50% a la patogenia de esta enfermedad (ADA, 2012a); Breu *et al.*, 2008).

#### **1.1.1.2 Diabetes tipo 2 (DT2).**

La DT2 se puede considerar como un síndrome metabólico crónico, de etiología heterogénea, en el que coexisten una disminución de la secreción pancreática de insulina y una disminución de su acción biológica (insulinorresistencia) en los tejidos musculares, hepáticos y adiposos. Se presentan disturbios en el metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas resultando en una hiperglucemia. En el desarrollo de la enfermedad intervienen factores genéticos (poligénicos) y ambientales (vida sedentaria, tabaquismo,

malos hábitos dietéticos) (Barrio 2004; Buraczynska, *et al.*, 2013a; IDF 2012; Da Silva Xavier, *et al.*, 2013).

La DT2 es el tipo más frecuente de diabetes, constituyendo aproximadamente un 90-95% de todos los casos. Se desarrolla a menudo en etapas adultas de la vida y está en asociación con obesidad (Diabetes 2011; (Ning *et al.*, 2013).

#### **1.1.1.3 Diabetes Gestacional (DG).**

La Diabetes Gestacional es cualquier grado de intolerancia a la glucosa que se inicia durante el embarazo, se produce un aumento de resistencia a la insulina y por tanto hiperinsulinismo, que puede predisponer a ciertas mujeres a desarrollar diabetes posterior al embarazo. Los hijos de madres con DG tienen un riesgo 4 a 10 veces mayor de presentar malformaciones congénitas, abortos espontáneos y muerte neonatal. Las investigaciones actuales en el campo de la genética apuntan hacia la presencia de una variación del gen *Calpaína 10* (CAPN10) que estaría relacionada con el desarrollo de la DG. (Toboso *et al.*, 2012; Gutiérrez *et al.*, 2012; López *et al.*, 2005). La prevalencia de DG en las diferentes poblaciones varía de manera proporcional a la prevalencia de DT2 en la población general y el origen étnico es un factor de riesgo independiente. Las mujeres latinas, por cuestiones genéticas, están más propensas a padecer diabetes que el resto de la población, en muchos casos, desconocen que tienen diabetes, por lo que su embarazo es más riesgoso (Diabetes 2011; Gattullo *et al.*, 2010; Carrera *et al.*, 2005).

#### **1.1.1.4 Otros tipos de Diabetes**

##### **A. Defectos Genéticos en las Células $\beta$ .**

Se caracterizan con frecuencia por la aparición de hiperglucemia a una edad temprana. También conocida como diabetes de aparición en la madurez de los jóvenes (MODY) (Torres Morera, 2001). Entre los defectos genéticos en las células  $\beta$ , tenemos:

1. Cromosoma 12, HNF-1a (MODY3)
2. Cromosoma 7, glucocinasa (MODY2)
3. Cromosoma 20, HNF-4a (MODY1)
4. Cromosoma 13, factor promotor de insulina -1 (IPF-1; MODY4)



5. Cromosoma 17, HNF-1b (MODY5)
6. Cromosoma 2, NeuroD1 (MODY6)
7. ADN mitocondrial
8. Entre otros.

**B. Defectos genéticos en la acción de la insulina.**

Son formas muy poco frecuentes. Incluyen mutaciones del receptor de la insulina que puede cursar con hiperinsulinemia e hiperglucemia leve o diabetes importante. Entre estas tenemos: (Torres Morera, 2001)

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

**C. Enfermedades del páncreas exocrino.**

Este grupo incluye aquellos procesos que dañan el páncreas y producen diabetes como (Torres Morera, 2001):

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

**D. Endocrinopatías.**

Determinadas hormonas como la hormona de crecimiento, el cortisol, el glucagón y la epinefrina antagonizan la acción de la insulina. El exceso en la producción de alguna de estas hormonas, puede desencadenar diabetes. (A. Diabetes, 2012); (Torres Morera, 2001)

Entre ellas tenemos:

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

#### **E. Inducida por Fármacos o químicos.**

Algunos fármacos pueden alterar la secreción de la insulina. No causan por sí solo diabetes, pero puede precipitar en individuos con resistencia a la insulina. Tóxicos como el Vacor (raticida) o la pentamidina por la vía intravenosa pueden destruir las células  $\beta$  pancreáticas, y fármacos como los glucocorticoides o el ácido nicotínico pueden alterar la acción de la insulina (Torres Morera, 2001).

Entre ellos tenemos:

1. Ácido nicotínico.
2. Hormona tiroidea.
3. Diazóxido.
4.  $\beta$ -adrenérgicos.
5. Tiazidas.
6. Dilantin.
7. interferón- $\gamma$ .
8. Otros.

#### **F. Infecciones.**

Varios virus han sido asociados con la destrucción de las células  $\beta$ . Entre ellos se encuentran (Torres Morera, 2001):

1. Virus de la rubéola

2. Virus de la parotiditis
3. Cotiditis.
4. Coxsacie
5. Adenovirus
6. Citomeglivirus.

**G. Formas infrecuentes de diabetes autoinmunes.**

Anticuerpos contra el recetor de la insulina pueden causar diabetes por su unión con el receptor al bloquear la acción de la insulina. Sin embargo, en otros casos, estos anticuerpos pueden comportarse como agonistas y causar hipoglucemia. Anticuerpos contra el receptor de la insulina se han descrito en el lupus eritematoso sistémico y en otras enfermedades autoinmunes (Torres Morera, 2001).

Tenemos las siguientes:

1. Síndrome del "hombre rígido".
2. Anticuerpos anti receptores de Insulina.
3. Otros.

**H. Otros síndromes genéticos asociados ocasionalmente a diabetes.**

Muchos síndromes genéticos están acompañados por un aumento de la incidencia de la diabetes, a los que se los incluye (Torres Morera, 2001):

1. Síndrome de Down.
2. Síndrome de Klinefelter.
3. Síndrome de Turner.
4. Síndrome de Wolfram.
5. Ataxia de Friedreich.
6. Corea de Huntington.
7. Síndrome de Laurence-Moon-Biedl.
8. Distrofia miotónica.
9. Porfiria.

## **1.1.2 Factores de riesgo a diabetes tipo 2.**

Los factores de riesgo establecidos para la DT2 son los siguientes:

### **1.1.2.1 Factores Genéticos.**

En la DT2 existe una interacción compleja entre múltiples genes, en la cual no se ha identificado un patrón mendeliano específico (Wiebe *et al.*, 2011).

El riesgo de padecer DT2 es del 30-40% en pacientes que tienen un padre con la misma enfermedad. Se estima que las personas que tienen un hermano o un familiar con DT2 corren un riesgo de un 40% de desarrollar a lo largo de su vida. Estos factores de riesgo genéticos hasta el momento no se pueden modificar (Garagnani *et al.*, 2013; Park 2011).

Se han determinado algunos genes como: *CAPN10*, *TCF7L*, *el HHEX*, *el EXT* y *el SLC30A8*, *PPARG*, *FTO*, *HHEXIDE*, *CDKAL1*, *CDKN2A/2B*, *IGF2BP2* y *SLC30A8* asociados a la presencia de diabetes (Gutierrez Valverde, 2010).

### **1.1.2.2 Factores Demográficos.**

La prevalencia de diabetes varía dependiendo de la edad y el sexo. En las personas menores de 60 años es inferior al 10% y entre los 60 y 79 años de edad su prevalencia aumenta entre el 10-20%. A nivel mundial existe una mayor prevalencia de DT2 en varones de 30 a 69 años y en mujeres mayores de 70 años ( ADA 2012)

Ciertos grupos étnicos están expuestos a desarrollar con mayor facilidad diabetes, como los indios americanos, las comunidades de las islas del Pacífico, las poblaciones del sur de Asia, los aborígenes australianos, los afro-americanos, los mexicano-americanos y los indios Pima, debido a que la población es obesa, tiene poca actividad física, y podrían compartir un gen "económico" que les dejaron sus ancestros, y les ayudó a sobrevivir durante los ciclos de "escasez y abundancia". Pero, ya que esos ciclos han pasado, ese mismo gen podría hacer que una persona sea más vulnerable al desarrollo de la diabetes tipo 2, por lo que todos ellos tienen un riesgo dos veces mayor a desarrollarla en comparación con los nativos europeos. Por el contrario, las personas que viven en áreas no occidentales son menos propensas a padecer DT2, independientemente de su riesgo genético (Park, 2011).

### **1.1.2.3 Comportamiento y estilo de vida.**

Un elemento esencial en el tratamiento de la diabetes es la alimentación, tanto que en muchos pacientes basta una alimentación adecuada para lograr el control metabólico deseado. En cambio una alimentación inadecuada, con lleva a la obesidad lo cual es un factor directamente asociado a la resistencia a la insulina y por lo tanto a DT2 (Gutierrez Valverde, 2010). Personas que tiene el hábito de fumar tienen un riesgo entre 1.2 y 2.6 veces superior de desarrollar diabetes en comparación con los no fumadores, y este riesgo es independiente de la actividad física y la obesidad (Montero 2007).

La realización cotidiana de actividad física resulta ser una de las prácticas prioritarias en su tratamiento integral, ya que uno de sus principales beneficios es el retardo en la aparición de las complicaciones de este padecimiento (Huerta *et.al.*, 2013). En los pacientes con DT2 juega un papel clave para la mejoría de la sensibilidad periférica a la insulina y la disminución de la glucemia plasmática, puede ayudar en el control glucémico a largo plazo (Carral San Laureano et al., 2010).

### **1.1.2.4 Factores metabólicos y determinantes de categorías intermedias de riesgo a DT2:**

#### **1.1.2.4.1 Intolerancia a la glucosa.**

Es una condición en donde los niveles de glucosa en ayunas son superiores a los normales (100 mg/dl), pero inferiores a los de diagnóstico de DT2, se conoce con el nombre de prediabetes (>100 hasta  $\leq 125$ mg/dl) (ADA 2012).

#### **1.1.2.4.2 Resistencia a la insulina.**

Es la inhabilidad de la insulina de metabolizar la glucosa en el hígado, músculo esquelético, tejido adiposo y otros tejidos periféricos como también para producir sus efectos sobre la captación, metabolismo o almacenamiento dentro del organismo. En esta patología el cuerpo no responde a la acción de la insulina y con el tiempo los niveles elevados de glucosa comienzan a afectar el organismo (Gutierrez Valverde, 2010).

#### 1.1.2.4.3 Diabetes Gestacional.

Estudios refieren que en el 90% de las mujeres con diabetes gestacional la intolerancia a los carbohidratos desaparece después del embarazo, y el 10% padecerá DT2 posterior al parto (Gutiérrez *et al.*, 2012).

#### 1.1.3 Genética de la Diabetes tipo 2.

En la DT2 existe una compleja interacción entre múltiples genes y diversos factores ambientales, se caracteriza por defectos en la secreción y/o en la acción de la insulina que conduce a la hiperglucemia (Wiebe *et al.*, 2011). Se ha estimado que el 30-70% del riesgo puede deberse al componente genético del individuo. En su desarrollo participan múltiples genes en número y combinación distinta en las diversas poblaciones. El análisis de ligamiento y el enfoque de genes candidatos han llevado al descubrimiento de defectos genéticos altamente penetrantes que participan en el desarrollo de la diabetes, sin embargo, sólo alrededor del 10% del riesgo de esta patología se explica por los SNPs causales que se han detectado hasta la fecha (Kwak & Park 2013; Da Silva Xavier *et al.*, 2013a).

Entre los genes candidatos de riesgo para desencadenar DT2 se encuentran los transportadores de glucosa GLUT-1 y GLUT-4, el gen de hexocinasa II, fosfofructocinasa, glucógeno-sintasa, sustrato del receptor de insulina 1 (*IRS1*), calpaína 10 (*CAPN10*) y el receptor activado de proliferación de los peroxisoma gamma 2 (*PPARG2*). Todos están involucrados en la disfunción de la célula pancreática productora de insulina y respuesta baja a la acción de esta hormona en distintos órganos y tejidos, principalmente hígado y músculo (García-E., *et al.*, 2009).

Según Horikawa *et al.* 2000, el riesgo para la DT2 que confiere el gen de *CAPN10* viene dado para los haplotipos formado por los SNP63, SNP43, y la inserción/delección de 32 pb conocida como Indel 19 y su haplotipo de riesgo para el desarrollo de la enfermedad es el 112/121((SNP43 G, Indel19 2 repeticiones de 32pb, SNP63 T) / (SNP43 G, Indel19 3 repeticiones de 32pb, SNP63 C)).

Años posteriores, Del Bosque-Plata *et al.* publica un trabajo en población mestiza mexicana, en el que analizaron 5 polimorfismos del gen de *CAPN10* (SNP43, Indel19, SNP63, SNP44 y SNP110) encontrando diferencia significativa en las frecuencias genotípicas del SNP44 (p 0.017) entre individuos diabéticos y no diabéticos, por tanto un

mayor riesgo a padecer DT2. En este grupo poblacional el haplotipo 112/121 no confirió riesgo como en el caso de Horikawa.

En la ciudad de Loja - Ecuador se han realizado estudios de determinación del SNP43, Indel19, SNP63, SNP44 del gen *CAPN 10*, cuyos resultados no mostraron diferencias significativas para frecuencias alélicas ni genotípicas en personas diabéticas y no diabéticas (Morocho V. Loaiza D., 2010; Ochoa S, Cordová A., 2013).

## **1.2 Calpaínas.**

Las calpaínas son una amplia familia de cisteína proteasas citosólicas. Existen 15 genes de calpaína no lisosomales, su actividad está determinada por las concentraciones de  $Ca^{2+}$  y por la presencia de calpastatina (único inhibidor endógeno conocido) (Hernando Martínez 2010; Herradón 2011). Se encuentran en todos los tejidos y están involucradas en una amplia gama de procesos como: proliferación, motilidad celular, diferenciación celular, y particularmente, en la diferenciación de adipocitos, en la regulación del sustrato del receptor de la insulina, incluyen la remodelación del citoesqueleto, la migración celular, el desarrollo embrionario y la función de las plaquetas. También están involucradas en procesos patológicos como en las enfermedades neurodegenerativas, distrofias musculares, cáncer, gastropatías, diabetes mellitus (Rasbach et al., 2010).

Existen 15 genes del genoma humano que codifican toda la familia de calpaínas. Estas proteínas contienen un dominio EF- mano penta (calpaínas clásicos), y otras que no contienen este dominio (calpaínas no clásicos o atípicos). La *CANP10* es un miembro atípico de la familia de la calpaína (Pánico et al., 2014).

El gen *CAPN10* se localiza en el cromosoma 2 región q37.3, en el cual se ha descrito previamente una región de susceptibilidad para la diabetes denominada NIDDM1 (Non-insulindependent diabetes mellitus) (Pánico et al., 2014).

### **1.2.1 Estructura de las calpaínas.**

La familia de calpaínas comprende diversas isoformas específicas de tejido y dos isoenzimas ubicuas. Las calpaínas  $m$  y calpaínas  $\mu$  son las mejor caracterizadas y se diferencian en sus afinidades por  $Ca^{2+}$ . La  $\mu$ -calpaína (o calpaína I) y la  $m$ -calpaína (o calpaína II) requieren cantidades micromolares y milimolares de  $Ca^{2+}$  respectivamente, para su activación (Hernando Martínez, 2010).

La calpaína consta de una unidad catalítica y una reguladora. Además de estas unidades, en la m-calpaína se expresa una región extra, formada por 248 aminoácidos, que al unirse con la

unidad catalítica produce una proteólisis de la enzima, activándola en un 70%, por lo que puede sustituir a la unidad reguladora (Rodríguez López, 2009); Sáinz González 2012).

#### **1.2.1.1 Unidad catalítica o mayor.**

La subunidad mayor presenta cuatro dominios (dI-dIV) (Figura 1).

**Dominio I (dI):** Corresponde al NH<sub>2</sub>-terminal, es una  $\alpha$ -hélice anclada en una cavidad del dIV, y contribuye a la estabilidad de la proteína (Sáinz González, 2012); (Rodríguez López, 2009).

**Dominio II (dII):** Está formado por dos subdominios (IIa y IIb) que se encuentran separados, pero que se unen al activarse la enzima. En el dominio IIa se encuentra la Cisteína en la posición 105 (m-Calpaína) o 115 (u-Calpaína), y en el dominio IIb la His en la posición 262 (m-Calpaína) o 272 (u-Calpaína) y la Asn en la 272 (u-Calpaína) o 286 (m-Calpaína). Estos residuos de aminoácidos forman una triada característica de las proteasas de cisteína, y son los que cumplen con la función catalítica (Sáinz González, 2012). Se ha mostrado mediante estudios con un fragmento de  $\mu$ -calpaína compuesto de los dominios I y II que tanto el dominio IIa como el IIb presentan un lugar de unión a Ca<sup>2+</sup> (Hernando Martínez, 2010).

**Dominio III (dIII):** Se relaciona con la regulación de la actividad de la calpaína por medio de uniones electrostáticas con los fosfolípidos de la membrana celular y estabiliza el dominio II por medio de un lazo ácido. Presenta dos secuencias EF-hand de unión a Ca<sup>2+</sup>, que se distribuyen una en cada subdominio: III y III'. Al parecer, el EF-hand que se encuentra cerca del dominio II en los residuos de aminoácidos 329-341 no se une a Ca<sup>2+</sup> en algunas calpaínas (Sáinz González, 2012).

**Dominio IV (dIV):** Dominio carboxiterminal, ligado con la unidad pequeña por medio de una dimerización que se da con las cinco secuencias EF-hand de unión a Ca<sup>2+</sup>. La m-calpaína posee dos dominios extra uno de 18 residuos de aminoácidos que se ubican entre el dominio I y II, y el otro es de 17 entre los dominios III y IV; denominándolos



dominios de unión (Sáinz González, 2012), podrían tener un importante papel en la activación de calpaína por  $\text{Ca}^{2+}$  (Rodríguez López, 2009).



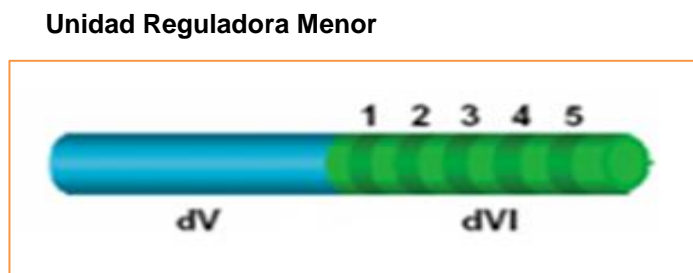
**Figura 1.** Unidad catalítica mayor (dI - dIV=dominio; dIV 1,2,3,4= subdominios)  
**Fuente:** Cortesía de Khorchid e Ikura 2002.

### 1.2.1.2 Unidad reguladora o menor.

La subunidad menor se divide en dos dominios (Figura 2):

**Dominio V (dV):** Tiene una porción hidrofílica y una hidrofóbica, la cual es rica en glicina (39.6%) cerca de la región NH<sub>2</sub>-terminal, que se asocia a fosfolípidos. La forma como se ordenan los residuos de aminoácidos es muy variante, lo que probablemente permite la unión a diferentes moléculas (Sáinz González, 2012).

**Dominio VI (dVI):** Presenta cuatro dominios EF-hands que se unen a  $\text{Ca}^{2+}$  para formar un complejo que permite la unión con la membrana celular (Sáinz González, 2012).

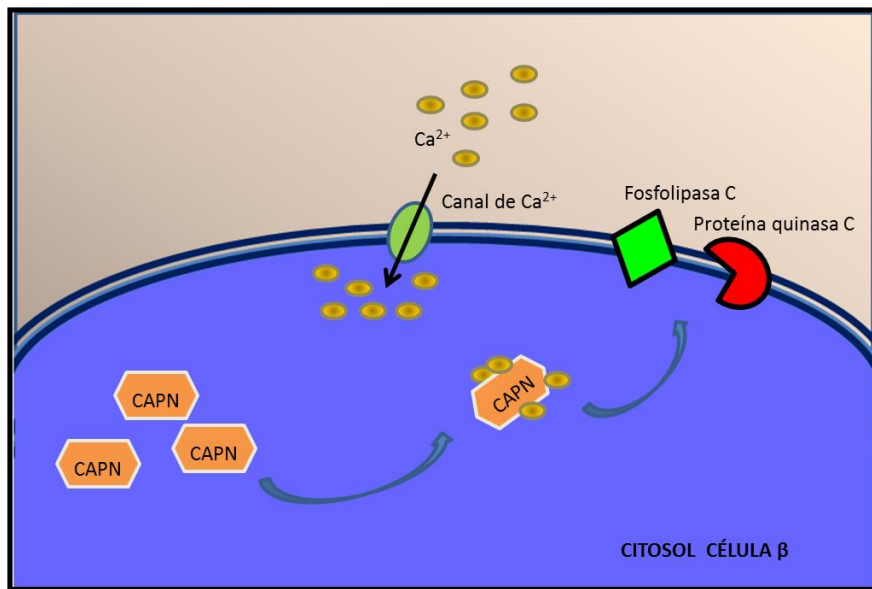


**Figura 2:** Unidad menor (dV = dominio ; dVI 1,2,3,4,5= subdominios)  
**Fuente:** Cortesía de Khorchid e Ikura 2002.

### 1.2.2 Activación de las calpaínas.

La activación de las calpaínas está dada por el contacto con el calcio, por tanto de manera contrarreguladora tiene que haber un sistema que impida su activación exagerada, este proceso se ha visto implicado en ciertas patologías. La activación de las calpaínas puede inducir apoptosis en determinados tipos celulares, y esta activación sólo ocurre con algunos de los estímulos proapoptóticos (Hernando Martínez, 2010).

Para que las calpaínas se activen ocurre el siguiente proceso: se encuentran inactivas en el citosol, tras incrementar la cantidad de  $\text{Ca}^{2+}$  las calpaínas van hacia la membrana, y se unen a una molécula de  $\text{Ca}^{2+}$  en el dominio IIa y dos en el IIb haciendo que estas dos subunidades se unan. Otra molécula de este ion se une al dominio III, lo que permite la unión de esta proteína con la fosfolipasa C y la proteína quinasa C en la membrana (Figura 3). Para facilitar el paso de la calpaína a la membrana se produce una hidrólisis en el dominio I, proceso que se sigue dando de una forma auto-catalítica (Sáinz González, 2012).



**Figura 3.** Activación de las calpaínas.

**Fuente:** Cortesía de la Biq. Sofia Ochoa Ochoa 2013.

### **1.2.3 Inactivación de las calpaínas.**

La inactividad de las calpaínas se da porque disminuye la concentración intracelular de  $\text{Ca}^{2+}$ , como consecuencia las subunidades IIa y IIb se separan y se inactiva la enzima. La quinasa A es capaz de mantener las CAPNs en un estado inactivo por medio de una fosforilación en la Ser-369 del dominio III. El único inhibidor intracelular específico de las calpaínas es la calpastatina (CAST), la cual se ubica en el citosol y está formada por tres regiones conservadas: A, B y C; las dos primeras se unen con los dominios IV y VI de las calpaínas para inactivarlas, y la tercera se encarga de la auto-regulación. De acuerdo a estas características la CAST sólo inactiva a aquellas calpaínas de tipo diméricas (1, 2 y 9) (Sáinz González, 2012).

Se han descrito inhibidores reversibles e irreversibles de CAPNs. Los rasgos estructurales más frecuentes de estos inhibidores es que son péptidos o peptidomiméticos con pocos aminoácidos (entre 2 y 6) hidrófobos y alguna funcionalidad electrófila (Giner, 2006).

### **1.2.4 Calpaínas y secreción de la insulina.**

Para la liberación de insulina, deben ocurrir varios procesos. El ICA (Islet cell autoantigen) 512 es un receptor tirosina-proteínfosfatasa que se encuentra en los gránulos o vesículas de insulina en las células  $\beta$ . ICA512 está unido a un complejo formado por  $\beta$ 2-Syntrophin-utrofina y actina, el cual puede anclar los gránulos de secreción al citoesqueleto de actina. La entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  estimula la desfosforilación de  $\beta$ 2-Syntrophin y promueve la disociación del complejo ( $\beta$ 2-Syntrophin-utrofina y F-actina), el cual se une con ICA512, que está unido a los gránulos de insulina. Una vez disociados, el dominio citoplasmático de ICA512 es dividido por calpaína (activado por  $\text{Ca}^{2+}$ ), lo que promueve la movilización de los gránulos de insulina y facilita la exocitosis (Sáinz González, 2012).

## **1.3 Calpaína 10 (CAPN10).**

CAPN10 es un miembro de la familia de calpaínas ubicuas, se localiza en el citosol, (Rasbach et al. 2010; Covington & Schnellmann 2012). El gen que la codifica se encuentra en el cromosoma 2, y consta de 15 exones que abarcan 31 kb, es una proteasa intracelular de 672 aminoácidos. Fue el primer gen identificado por clonaje posicional en el loci de susceptibilidad para DT2, denominado NIDDM1 (Non-insulindependent diabetes mellitus) (Manuscript & Human 2009; Cuevas *et al.*, 2010). Sin embargo, la CAPN10 no se expresa en algunos tejidos y tipos de células, tales como el páncreas exocrino, tejido

ductal y las neuronas del cerebro. La CAPN10 se ha demostrado involucrada en la función de células  $\beta$  pancreáticas, en la estimulación de la captación de glucosa mediada por insulina, el gen de *CAPN10* se asocia a fenotipos metabólicos de susceptibilidad a la diabetes (Pánico et al., 2014).

Se expresa principalmente en el hígado, músculo esquelético, y los islotes pancreáticos y es una de las proteasas de cisteína esenciales para la señalización intracelular de calcio (Song, Niu, Manson, Kwiatkowski, & Liu, 2004). Varios estudios de asociación de casos y controles muestran que los polimorfismos en CAPN10 estarían relacionados con el desarrollo de DT2 y la resistencia a la insulina, más aún en los pacientes obesos los que presentaron una edad más temprana de inicio de la enfermedad (Buraczynska et al., 2013a).

Se ha demostrado que la CAPN10 está envuelta en el mecanismo de secreción de la insulina, en apoptosis de las células  $\beta$  pancreáticas y en la utilización oxidativa de la glucosa por el músculo esquelético (Cuevas et al., 2010), interviene en la regulación de varias funciones celulares, incluyendo señales reguladas por calcio, proliferación (Paredes, Lizaraso, & Huapaya, 2010), diferenciación y apoptosis, expresándose en los tejidos fetales y adulto. Está implicada en la reorganización del citoesqueleto de actina, entre otras funciones (Rasbach et al., 2010).

#### **1.4 Haplotipo**

El haplotipo corresponde a una región específica del genoma donde existen combinaciones de bases particulares identificadas. Un haplotipo está constituido por diversos patrones o fragmentos polimórficos de ADN a lo largo de una misma región cromosómica y se caracteriza porque sus alelos se transmiten a través de las generaciones (Pánico *et al.*, 2014).

Los polimorfismos de un único nucleótido, representan a las variantes genéticas más comúnmente encontradas en el genoma humano, la variación genética se ha relacionado principalmente con los SNP, y esto con la susceptibilidad a padecer diversas enfermedades comunes. Actualmente se han descrito más de 20 millones de SNP, algunos desempeñan un papel biológico importante en el desarrollo de enfermedades comunes debido a que constituyen SNP funcionales, los cuales pueden afectar al gen, al

ARNm de genes que sintetizan proteínas y a las mismas proteínas (Brumfield, *et al*, 2003; Ramírez-Bello *et al.*, 2013).

A los haplotipos se los considera como las unidades biológicas que contienen mayor información y por lo tanto pueden ser mejores biomarcadores para usar en el examen de susceptibilidad a enfermedades (Lee, *et al.*, 2011). Por lo general, los haplotipos se han construido a través del análisis de segregación a partir de datos de la familia, o inferidos por métodos estadísticos (Tyson & Armour, 2012).

La variación genética humana posee una estructura en mosaico en forma de bloques haplotípicos. Los bloques haplotípicos poseen una longitud de 5000 a 200000 bp y cada bloque puede poseer hasta 4- 5 haplotipos distintos. Si un bloque de haplotipo específico es más frecuente entre persona con cierta enfermedad que en quienes no la padecen, es probable que la mutación asociada con esa enfermedad se encuentre en el mismo segmento de ADN (Shaw, Sicree, & Zimmet, 2010).

El análisis de haplotipos es más poderoso que el análisis de los marcadores individuales por lo que mismo haplotipo se puede detectar en individuos normales de la misma población, lo cual nos indica simplemente que la mutación ocurrió en un cromosoma caracterizado por ese haplotipo. (Tyson & Armour 2012; French & Lumley 2012; Romero *et al.*, 1998).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El siguiente trabajo de investigación es un estudio observacional transversal. Los datos con los que se realizó este estudio corresponden a los obtenidos en los trabajos realizados por Morocho V., Loaiza D., Torres P., Ochoa S., Córdova A. Estos trabajos previos fueron realizados en personas diabéticas y no diabéticas de la ciudad de Loja.

Las características antropométricas y bioquímicas de diabéticos y no diabéticos se analizaron mediante el programa SPSS versión 19.0 programa para Windows.

Las frecuencias alélicas, frecuencias genotípicas, equilibrio de Hardy-Weinberg, desequilibrio de ligamiento y OR (Odds Ratio) de los polimorfismos SNP44, SNP43, SNP19 e Indel 19, se calcularon utilizando el programa SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/snpstats/start.htm>). Finalmente, la construcción de los haplotipos y la evaluación de su relación con DT2 se realizaron empleando el mismo programa.

El programa MedCalc ([http://www.medcalc.org/calc/odds\\_ratio.php](http://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php)) se utilizó como programa adicional para validar los valores de OR. Valores de  $p < 0.05$  fueron considerados estadísticamente significativos.

## **RESULTADOS Y DISCUSIONES**



### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Resultados.

##### 3.1.1. Características antropométricas y bioquímicas.

Los datos analizados corresponden a 380 personas de la ciudad de Loja del Hospital "Manuel Ignacio Monteros" (IESS Loja). De las cuales 197 fueron diabéticas y 183 no diabéticas.

En la tabla 1 se puede observar las características antropométricas y bioquímicas de los grupos analizados expresados como media  $\pm$  desviación estándar.

**Tabla 1.** Características bioquímicas y antropométricas de diabéticos y no diabéticos.

Datos	Diabéticos ( n = 197)	No diabéticos ( n = 183)	p-value*
% mujeres	67%	55%	-
Edad (años)	64,93 $\pm$ 11,00	66,26 $\pm$ 9,5	-
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	29,27 $\pm$ 4,63	26,13 $\pm$ 4,06	<0,001
TAD	78,06 $\pm$ 9,45	75,28 $\pm$ 10,87	0,82
TAS	137,26 $\pm$ 21,02	120,36 $\pm$ 16,54	0,015
Colesterol (mg/dl)	211,83 $\pm$ 44,13	199,51 $\pm$ 43,2	0,012
HDL (mg/dl)	47,70 $\pm$ 14,26	50,28 $\pm$ 13,46	0,039
Triglicéridos (mg/dl)	198,79 $\pm$ 121,85	168,00 $\pm$ 73,74	0,011
LDL (mg/dl)	123,18 $\pm$ 47,03	115,26 $\pm$ 39,97	0,079
Glucosa en ayunas (mg/dl)	146,48 $\pm$ 55,78	89,27 $\pm$ 8,58	<0,001
Glucosa postpandrial (mg/dl)	182,97 $\pm$ 74,63	ND	-
HbA1 (%)	7,69 $\pm$ 1,69	ND	-
Insulina (mU/ml)	ND	8,87 $\pm$ 6,69	-

IMC: Índice de Masa Corporal, TAS: Tensión Arterial Sistólica, TAD: Tensión Arterial Diastólica, HDL: Lipoproteínas de Alta Densidad, LDL: Lipoproteínas de Baja Densidad; \* : valor calculado mediante Prueba de Chi-cuadrado, ND: no determinado.

**Elaboración:** Sarango, P. (2014)

### 3.1.2. Polimorfismos en estudio.

Los polimorfismos estudiados mostraron equilibrio de Hard-Weinberg tanto en el grupo de personas diabéticas y no diabéticas, así como en la población general. Los valores de p en cada caso son: SNP43 0.27, 0.41 y 0.17; SNP 44 1, 0.04 y 0,11; SNP63 0.52, 0.27 y 0.88; e Indel19 0.64, 0.22 y 0.66, respectivamente.

En la tabla 2 se muestran las frecuencias alélicas y genotípicas de los SNP estudiados. Como se puede observar no existe diferencia estadísticamente significativa entre éstas en los grupos de diabéticos y no diabéticos.

**Tabla 2.** Frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos Indel19, SNP43, SNP44, SNP 63 en el gen de *Calpaína 10*.

<b>Polimorfismo</b>	<b>Genotipo</b>	<b>Diabéticos</b>	<b>No diabéticos</b>	<b>P*</b>	<b>OR IC=95</b>
<b>Indel19</b>	2R/2R	0.141 (26)	0.168 (31)	0.47	
	2R/3R	0.476 (88)	0.427 (79)	0.35	
	3R/3R	0.384 (71)	0.405 (75)	0.67	
	Frecuencia alélica	2R: 0,378 (140)	2R: 0,381 (141)	0.94	<b>0.99 (0.73- 1.33)</b>
		3R: 0,622 (230)	3R: 0,619 (229)		
<b>SNP 43</b>	G/G	0.43 (83)	0.42 (72)	0.32	
	G/A	0.42 (81)	0.43 (74)	0.29	
	A/A	0.15 (28)	0.15 (25)	0.61	
	Frecuencia alélica	G: 0,627 (247)	G: 0,596 (124)	0.72	<b>3.19 (2.36-4.33)</b>
	A: 0,348 (137)	A: 0,339 (220)			
<b>SNP 44</b>	C/C	0.01 (1)	0.03 (5)	0.10	
	C/T	0.14 (27)	0.17 (28)	0.59	
	T/T	0.85 (165)	0.8 (135)	1.41	
	Frecuencia alélica	C: 0,076 (29)	C: 0,093 (38)	0.23	<b>0.63 (0.38-1.05)</b>
	T: 0,92 (357)	T: 0,89 (298)			
<b>SNP 63</b>	C/C	0.60 (115)	0.58 (86)	0.85	
	C/T	0.36 (70)	0.34 (50)	0,81	
	T/T	0.04 (7)	0.08 (12)	0.24	
	Frecuencia alélica	C: 0,769 (300)	C: 0,607 (222)	0.15	<b>1,19 (0,83-1,70)</b>
	T: 0,231 (84)	T: 0,24 (74)			

\*: Prueba de Chi-cuadrado, MedCalc OR (IC 95%).

**Elaboración:** Sarango, P. (2014)

Los valores de OR obtenidos al analizar los genotipos formados por los diferentes polimorfismos no fueron significativos (valores no mostrados).

### 3.1.3. Haplotipos.

Al realizar el análisis de ligamiento se determinó que los polimorfismos estudiados presentan desequilibrio de ligamiento. El figura 4 representa en colores oscuros (rojo) mayor desequilibrio de ligamiento considerando el valor de D, que representa diferencia entre frecuencia observada y esperada asumiendo equilibrio.

		SNP43	SNP63	SNP44
Marker 1	INDEL79	-0.12330 0.883 -0.5272 197.91 < 2e-16 356	0.09020 0.635 0.4382 127.49 < 2e-16 332	0.03392 0.598 0.2399 40.74 1.74e-10 354
	SNP43		-0.06737 0.807 -0.3324 73.60 < 2e-16 333	-0.01213 0.364 -0.0871 5.39 0.0202 355
	SNP63	D D' r X <sup>2</sup> P-value n		-0.00478 0.221 -0.0390 1.01 0.3145 333
		Marker 2		

**Figura 4:** Desequilibrio de ligamiento  
**Elaboración:** Sarango, P. (2014)

En la tabla 3 podemos observar los haplotipos formados por los SNP 43, Indel19 y SNP63 del gen *CAPN 10* que presentaron una frecuencia mayor al 5% en la población. El haplotipo 221 fue el más común en la población analizada. Se consideran estos polimorfismos para la formación de haplotipos ya que según la bibliografía estos polimorfismos conforman los haplotipos de riesgo para diabetes tipo 2.

**Tabla 3. Análisis de haplotipos en diabéticos y no diabéticos.**

Haplotipo	Diabéticos	No Diabéticos	OR (95% CI)	p-value
<b>221</b>	0.3262	0.3342	1 (referencia)	---
<b>121</b>	0.2509	0.2134	1.31 (0.86 - 2.00)	0.21
<b>111</b>	0.182	0.2051	1.02 (0.65 - 1.60)	0.94
<b>112</b>	0.1632	0.1911	1.01 (0.61 - 1.67)	0.97

Haplotipo: SNP-43 (alelo 1=G, alelo 2= A), Indel-19 (alelo 1=2 R, alelo 2=3R), SNP-63(alelo 1=C, alelo 2= T).

**Elaboración:** Sarango, P. (2014)

Cabe mencionar que también se realizó la formación de los haplotipos considerando el SNP44, pero no se encontró ningún valor significativo (datos no mostrados).

### 3.2. Discusión.

La DT2 se ha convertido en un grave problema de salud pública. Esta enfermedad es un trastorno metabólico caracterizado por alteración de la captación de glucosa estimulada por insulina en el músculo y la secreción de insulina inducida por la glucosa (Ezzidi et al., 2010). Muchos pacientes con DT2 son asintomáticos, y la enfermedad es diagnosticada luego de muchos años debido a que la hiperglucemia no suele ser lo suficientemente grave como para provocar síntomas evidentes (Zaharna, Abed, & Sharif, 2010).

La diabetes tipo 2 es una enfermedad crónica caracterizadas por hiperglucemia como consecuencia de los defectos en la secreción y/o acción de la insulina. La hiperglucemia crónica se asocia con lesiones a largo plazo en diversos órganos, particularmente ojos, riñón, nervios, vasos sanguíneos y corazón (Salud, 2000). Factores como la edad, alimentación, actividad física son causales de la diabetes tipo 2. Se considera que la obesidad es un factor de riesgo mayor e independiente para diabetes tipo 2. La mayoría de los pacientes con diagnóstico de diabetes tipo 2 (>80%) tienen sobrepeso (índice de masa corporal IMC >25 kg/m<sup>2</sup>) y de ellos 50% son obesos (IMC >30 kg/m<sup>2</sup>) y casi 10% tiene obesidad extrema (IMC >40 kg/m<sup>2</sup>). En nuestro estudio observamos que las personas tanto diabéticas (29,27 ±4,63) como no diabéticas (26,13±4,06) presentan sobrepeso. Como se indicó anteriormente la obesidad es un factor de riesgo importante en la DT2, ya que aumenta la resistencia a la insulina. Es necesario cambiar el estilo de vida como la dieta, modificación de conductas y ejercicio para mejorar el estado general de salud y respuesta a la insulina (Esper C., et al, 2012). Al comparar la glucosa en ayunas entre ambos grupos encontramos una diferencia significativa, como era de esperarse en el grupo diabético los valores de glucosa son mayores al compáralos con el grupo control. A pesar de tratarse de un grupo de pacientes diabéticos bajo tratamiento no se evidencia una disminución el sus valores de glucemia, pudiendo explicarse por la falta de seguimiento y apego a las indicaciones médicas en cuanto al estilo de vida y tratamiento farmacológico.

Estudios realizados por Horikawa, et al. vinculados con CAPN10 demuestra que la combinación del haplotipo 112/121 formado por los SNP 43, 19 y 63 está asociados a DT2 en población mexicano-americana (Ezzidi et al., 2010). Los SNPs antes mencionados aumentan el riesgo a desarrollar DT2, afectando tanto sensibilidad a la insulina y la secreción de la misma (Demirci et al., 2008) (Ezzidi et al., 2010), y si bien no se presenta este efecto en todas la poblaciones, su combinación en el haplotipo

específico (112/121) confiere un mayor riesgo para padecer la enfermedad (Demirci et al., 2008).

El haplotipo con mayor frecuencia en el presente estudio fue el haplotipo 221 formado por la combinación de los SNP 43, Indel 19 y SNP 63 del gen *CAPN10*. En las muestras analizadas los haplotipos 112 y 121 presentaron frecuencias menores, y ninguno de los haplotipos analizados mostró asociación a diabetes tipo 2. Comparando nuestros resultados con otras investigaciones, se observaron diferentes haplotipos frecuentes según la población analizada. En las poblaciones México-Americana, Alemana y Filandesa la combinación 112/121 del gen *CAPN10* confiere riesgo a diabetes tipo 2, sin embargo esta asociación no se mantiene en otras poblaciones estudiadas lo que se evidencia en la población coreana en donde la combinación asociada a la enfermedad fue 111/221, en el norte de Europa fue 112/221, en China es 112/221. Esta discrepancia de resultados puede deberse a las características propias de cada población y/o grupo de personas analizadas en cada estudio. (Ezzidi et al., 2010); Buraczynska et al., 2013b; Dasgupta et al., 2012; Horikawa 2003), posiblemente en nuestro medio sean otros haplotipos o factores genéticos los que estén asociados al desarrollo de la enfermedad

Desde los primeros estudios realizados en población mexicana donde se determina la asociación del gen *CAPN10* y diabetes tipo 2 se han desarrollado diferentes trabajos con la finalidad de evaluar el efecto de este gen sobre la enfermedad, ya sea analizando los polimorfismos presentes en el gen o sus haplotipos. Del Bosque-Plata et al., realizó un estudio de los SNP 43, SNP 44, SNP 63 e Indel 19 del gen en población mexicana sin encontrar diferencias en las frecuencias alélicas de estos polimorfismos en personas diabéticas y no diabéticas. En otro estudio realizado en la Franja de Gaza se determinó que la presencia del SNP 44 está relacionada con un aumento en el riesgo para diabetes tipo 2 (Zaharna et al., 2010). Del mismo modo en el presente trabajo al evaluar los datos de frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos tampoco se encontró ninguna relación con diabetes tipo 2.

Es necesario el desarrollo de estudios de asociación a gran escala y estudios funcionales que permitan confirmar la influencia del gen *CAPN10* en el riesgo a desarrollar diabetes tipo 2, estudios que tomen en consideración factores étnicos y geográficos que puedan modificar el efecto de las variantes genéticas (Ezzidi et al., 2010). Esto conducirá a un aumento en el número de variaciones comunes que se asocien con la enfermedad,

encontrar variantes raras con un mayor efecto es una estrategia para descubrir genes relacionados a DT2 (Park, 2011).

### **Conclusiones.**

- ✓ Los haplotipos formados por SN 43, Indel 19 y SNP 63 del gen de *CAPN 10* con una frecuencia superior al 5% en la población estudiada fueron el 221, 121, 111, 112.
- ✓ El haplotipo mas frecuenté tanto en diabéticos y no diabéticos fue 221 (33%.)
- ✓ Ninguno de los haplotipos analizados mostro asociación a diabetes tipo 2.

### **Recomendación.**

Debido a la bibliografía actual sobre Calpaína 10 y la variedad de resultados obtenidos en diferentes poblaciones se sugiere realizar un estudio representativo a nivel nacional donde se evaluaron en varios polimorfismos del gen a fin de determinar su asociación a diabetes tipo 2 en población ecuatoriana.



## BIBLIOGRAFÍA.

1. ADA. (2012b). Standards of medical care in diabetes--2012. *Diabetes Care*, 35 Suppl 1(October 2011), S11–63. doi:10.2337/dc12-s011
2. Asia, S. (2012). IDF DIABETES ATLAS, 3–4.
3. Barrio, R. (2004). Diabetes mellitus en la edad pediátrica : diabetes tipo 1 , diabetes tipo 2 y MODY, 51(Supl 2), 31–37.
4. Brumfield, R. T., Beerli, P., Nickerson, D. a., & Edwards, S. V. (2003). The utility of single nucleotide polymorphisms in inferences of population history. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(5), 249–256. doi:10.1016/S0169-5347(03)00018-1
5. Buraczynska, M., Wacinski, P., Stec, A., & Kuczmaszewska, A. (2013a). Calpain-10 gene polymorphisms in type 2 diabetes and its micro- and macrovascular complications. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 27(1), 54–8. doi:10.1016/j.jdiacomp.2012.07.005
6. Carmena Rafael (2004). Ochoa y la Medicina Clinica, Madrid: Frama Industria Seie Cientifica,
7. Carral San Laureano, F., Gutiérrez Manzanedo, J. V., Ayala Ortega, C., García Calzado, C., Silva Rodríguez, J. J., & Aguilar Diosdado, M. (2010). [Impact of physical activity on metabolic control and the development of chronic complications in patients with type 1 diabetes mellitus]. *Endocrinología Y Nutrición : Órgano de La Sociedad Española de Endocrinología Y Nutrición*, 57(6), 268–76. doi:10.1016/j.endonu.2010.03.007
8. Carrera, M. J., Goday, A., Soler, M., Chillarón, J. J., & Cano, J. P. J. F. (2005). Diabetes gestacional. In *La Medicina del hoy* (Vol. LXVIII, pp. 25–30).
9. Covington, M. D., & Schnellmann, R. G. (2012). Chronic high glucose downregulates mitochondrial calpain 10 and contributes to renal cell death and diabetes-induced renal injury. *Kidney International*, 81(4), 391–400. doi:10.1038/ki.2011.356
10. Cruz, M., García, M., López, E., & Valladares, A. (2005). Genes candidatos como posibles marcadores de susceptibilidad a diabetes tipo 2. *REB*, 24, 81–86. Retrieved from [http://sirio.uacj.mx/ICB/RedCIB/REB/2005/09 y 12/g\\_81-86\\_GenesDT2.pdf](http://sirio.uacj.mx/ICB/RedCIB/REB/2005/09 y 12/g_81-86_GenesDT2.pdf)
11. Cuevas, A., Jaramillo, P., Lanás, C., Lanás, F., & Salazar, L. (2010). Polimorfismo SNP-43 del gen de Calpaína-10 en individuos con enfermedad coronaria y controles SNP43 polymorphism of Calpain-10 gene in Southern Chilean subjects with coronary artery disease and controls. *Revista Chilena de Cardiología -*, 29(45), 201–206.

12. Da Silva Xavier, G., Bellomo, E. a, McGinty, J. a, French, P. M., & Rutter, G. a. (2013). Animal models of GWAS-identified type 2 diabetes genes. *Journal of Diabetes Research*, 2013, 906590. doi:10.1155/2013/906590
13. Dasgupta, S., Sirisha, P. V. S., Neelaveni, K., Anuradha, K., & Reddy, B. M. (2012). Association of CAPN10 SNPs and haplotypes with polycystic ovary syndrome among South Indian Women. *PloS One*, 7(2), e32192. doi:10.1371/journal.pone.0032192
14. Demirci, H., Yurtcu, E., Ergun, M. A., Yazici, A. C., Karasu, C., & Yetkin, I. (2008). Calpain 10 SNP-44 Gene Polymorphism Affects Susceptibility to Type 2 Diabetes Mellitus and Diabetic-Related Conditions. *GENETIC TESTING*, 12(2), 305–310.
15. Diabetes, A. (2012). Diagnóstico y clasificación de la diabetes mellitus ( I ), (I).
16. Diabetes, D. O. F. (2011). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 34 Suppl 1, S62–9. doi:10.2337/dc11-S062
17. Esper Carrillo, R., Arias Delgadillo, C. R., Ferrusquía Toríz, D. L., Peralta Prado, A. B., & Carrillo Córdova, J. R. (2012). Artículo de revisión tratamiento quirúrgico de la diabetes mellitus tipo 2. *Medicina Interna de Mexico*, 28(1), 38–46.
18. Ezzidi, I., Turki, A., Messaoudi, S., Chaieb, M., Kacem, M., Al-Khateeb, G. M., ... Mtiraoui, N. (2010). Common polymorphisms of calpain-10 and the risk of Type 2 Diabetes in a Tunisian Arab population: a case-control study. *BMC Medical Genetics*, 11, 75. doi:10.1186/1471-2350-11-75
19. French, B., & Lumley, T. (2012). Associations with Censored Survival Outcomes, 11(3). doi:10.1515/1544-6115.1764.Non-Iterative
20. Garagnani, P., Giuliani, C., Pirazzini, C., Olivieri, F., Bacalini, M. G., Ostan, R., ... Franceschi, C. (2013). Centenarians as super-controls to assess the biological relevance of genetic risk factors for common age-related diseases: A proof of principle on type 2 diabetes. *Aging*, 5(5), 373–85. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3701112&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
21. García-Escalante, M. G., Suárez-Solís, V. M., López-Ávila, M. T. de J., Pinto-Escalante, D. del C., & Laviada-Molina., H. (2009). Efecto de los polimorfismos Gly972Arg del gen IRS1 , SNP43 del gen CAPN10 y Pro12Ala del gen PPARG2 sobre la falla secundaria a sulfonilureas y metformina en pacientes con diabetes tipo 2 de Yucatán ,. *Investigacion Clínica*, 50(1), 65–76.

22. Gattullo, Barbara Ann, Olubummo, C. (2010). Evaluacion de la diabetes gestacional. *Nursing*, 28, 40–42. Retrieved from [http://congreso.med.unne.edu.ar/revista/revista152/7\\_152.htm](http://congreso.med.unne.edu.ar/revista/revista152/7_152.htm)
23. Giner, A. (2006). *Derivados de isoquinolina con inhibidores de calpaina* (pp. 1–35).
24. Gutiérrez, G. R., Rocha, A. L. M., & Álvarez, E. I. P. (2012). Prevalencia de alteraciones en la tolerancia a la glucosa postparto en pacientes con diabetes gestacional previa. *GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA DE MÉXICO*, 80(10), 631–636.
25. Gutierrez Valverde, J. M. (2010). *RIESGO DE DESARROLLAR DIABETES TIPO 2*. universidad autónoma de Nuevo León. Retrieved from [http://eprints.uanl.mx/2653/1/Riesgo\\_de\\_desarrollar\\_Diabetes\\_tipo\\_2\\_Interacci%C3%B3n\\_Gen-Medio\\_Ambiente\\_Juana\\_Mercedes\\_Guti%C3%A9rrez\\_Val.pdf](http://eprints.uanl.mx/2653/1/Riesgo_de_desarrollar_Diabetes_tipo_2_Interacci%C3%B3n_Gen-Medio_Ambiente_Juana_Mercedes_Guti%C3%A9rrez_Val.pdf)
26. Hernando Martínez, V. (2010). *Activación de calpaínas durante la reperfusión miocárdica. importancia como sistema efector de muerte celular y como diana terapéutica*. Universidad Autonoma de Barcelona.
27. Herradón, Bernardo. (2011). *Calpaína y sus inhibidores*, Barcelona :Departamento de Química Orgánica General, CISC. Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular.
28. Horikawa, Y. Oda, Naohisa., Li yu., IMamura, Shiege., Fujiwara, Kentara., Makino, Masaki., Yutaka, Seino., Itoh, Mitsuyasu. (2003). Genetic Variations in Calpain-10 Gene Are Not a Major Factor in the Occurrence of Type 2 Diabetes in Japanese. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(1), 244–247. doi:10.1210/jc.2002-020847
29. Kwak, S. H., & Park, K. S. (2013). Genetics of type 2 diabetes and potential clinical implications. *Archives of Pharmacal Research*, 36(2), 167–77. doi:10.1007/s12272-013-0021-x
30. Lee, M.-H., Tzeng, J.-Y., Huang, S.-Y., & Hsiao, C. K. (2011). Combining an evolution-guided clustering algorithm and haplotype-based LRT in family association studies. *BMC Genetics*, 12(1), 48. doi:10.1186/1471-2156-12-48
31. López, P. C., Linares, E. P. y, & Martí, F. de la C. (2005). Diabetes gestacional: cribado, diagnóstico y seguimiento en el centro de salud. *Atención Primaria*, 35(5), 265–268. doi:10.1157/13072793
32. Manuscript, A., & Human, R. (2009). Characterization of Endogenous and Recombinant Human Calpain-10, 90(9), 1362–1371. doi:10.1016/j.biochi.2008.04.001.Characterization

33. Montero, A. C. (2007). D I A B E T O L O G Í A Epidemiología , genética y mecanismos patogénicos de la diabetes mellitus, 3–11.
34. Ning, F., Pang, Z., Laatikainen, T., Gao, W., Wang, S., Zhang, L., ... Qiao, Q. (2013). Joint Effect of Family History of Diabetes with Obesity on Prevalence of Type 2 Diabetes Mellitus Among Chinese and Finnish Men and Women. *Canadian Journal of Diabetes*, 37(2), 65–71. doi:10.1016/j.jcjd.2012.12.001
35. Ochoa Astudillo, S. G. (2013). *Determinacion del polimorfismo SNP-63, en el gen de Calpaina 10 en individuos diabeticos y no diabeticos de la ciudad de Loja*. Universidad Tecnica Particular de Loja.
36. Pánico, P., Salazar, A. M., Burns, A. L., & Ostrosky-Wegman, P. (2014). Role of Calpain-10 in the Development of Diabetes Mellitus and Its Complications. *Archives of Medical Research*, 45(2), 103–115. doi:10.1016/j.arcmed.2014.01.005
37. Paredes, M., Lizaraso, F., & Huapaya, J. (2010). Diabetología Artículo original, 184–188.
38. Paredes, M., Lizaraso, F., & Huapaya, J. (2014). Asociación del SNP19 del gen «calpaína 10» a diabetes mellitus tipo 2 y factores de riesgo en población peruana. *Diabetologia*, 184–188.
39. Park, K. S. (2011). The search for genetic risk factors of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolism Journal*, 35(1), 12–22. doi:10.4093/dmj.2011.35.1.12
40. Pilar Isabel Beato Víbora. (2012). *Características clínicas, inmunológicas y genéticas en el debut de diabetes mellitus tipo 1 en adolescentes y adultos y su influencia en el control metabólico y la variabilidad glucémica posteriores*. Vasa. universidad de Extremadura. Retrieved from <http://medcontent.metapress.com/index/A65RM03P4874243N.pdf>
41. Ramírez-Bello, J., Vargas-Alarcón, G., Tovilla-Zárate, C., & Fragoso, J. M. (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 Medica de Mexico*.
42. Rasbach, K. A., Arrington, D. D., Odejinmi, S., Giguere, C., Beeson, C. C., & Schnellmann, R. G. (2010). Identification and Optimization of a Novel Inhibitor of Mitochondrial Calpain 10. *J Med Chem*, 52(1), 181–188. doi:10.1021/jm800735d.Identification
43. Rodríguez López, J. N. (2009). *Proteólisis Intracelular: Recambio Proteico* (p. 32). Retrieved from <http://hdl.handle.net/10201/6236>

44. Sáinz González, E. (2012). *Determinacion de los polimorfismos SNP-43, SNP-19 Y SNP-63 del gen de ña Calpaia 19 en población sinaloense con Diabetes Mellitus tipo 2.*
45. Salud, N. De. (2000). Tratamiento de la diabetes mellitus.
46. Shaw, J. E., Sicree, R. a, & Zimmet, P. Z. (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 87(1), 4–14. doi:10.1016/j.diabres.2009.10.007
47. Song, Y., Niu, T., Manson, J. E., Kwiatkowski, D. J., & Liu, S. (2004). Are variants in the CAPN10 gene related to risk of type 2 diabetes? A quantitative assessment of population and family-based association studies. *American Journal of Human Genetics*, 74(2), 208–22. doi:10.1086/381400
48. Torres Morena, Luis Miguel (2001). *Tratado de cuidados criticos y emergencia: Aran Ediciones.*
49. Tobosoa, R. P. Q., Y, G. A. B., & Romeroa, F. B. (2012). Protocolo de actuación en la diabetes gestacional. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 11(18), 1117–1122. doi:10.1016/S0304-5412(12)70436-5
50. Tyson, J., & Armour, J. a L. (2012). Determination of haplotypes at structurally complex regions using emulsion haplotype fusion PCR. *BMC Genomics*, 13(1), 693. doi:10.1186/1471-2164-13-693
51. Wiebe, J. C., Wägner, A. M., & Mogollón, F. J. . (2011). Genética de la diabetes mellitus. *Revista Nefrología. Órgano Oficial de La Sociedad Española de Nefrología*, 111–119. doi:10.3265/NefrologiaSuplementoExtraordinario.pre2011.Mar.10918
52. Zaharna, M. M., Abed, A. a, & Sharif, F. a. (2010). Calpain-10 gene polymorphism in type 2 diabetes mellitus patients in the Gaza Strip. *Medical Principles and Practice : International Journal of the Kuwait University, Health Science Centre*, 19(6), 457–62. doi:10.1159/000320304