
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, México.

María Guadalupe García-Escalante¹, Víctor Manuel Suárez-Solis²,
María Teresa de Jesús López-Ávila¹, Doris del Carmen Pinto-Escalante¹ y
Hugo Laviada-Molina³.

¹Departamento de Salud Reproductiva y Genética, Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi”, ²Departamento de Patología Tropical,

³Departamento de Nutrición Humana y Trastornos del Metabolismo, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Yucatán, México.

Palabras clave: Diabetes tipo dos, polimorfismos Gly972Arg del gen *IRS1*, SNP43 del gen *CAPN10*, Pro12Ala del gen *PPARG2*.

Resumen. La diabetes tipo 2 (DT2) es elevada en Yucatán; 52% de los afectados presentan falla al tratamiento con sulfonilureas y metformina. Una posible explicación es por polimorfismos en los genes *IRS1*, *CAPN10*, *PPARG2*, involucrados en la disfunción de la célula β pancreática y respuesta baja a la acción de insulina. Se determinó la asociación de los polimorfismos Gly972Arg, SNP43 y Pro12Ala con el riesgo a la falla al tratamiento con sulfonilurea y metformina, en pacientes con DT2 de Yucatán, México. Se estudiaron ciento treinta y dos pacientes, clasificados con base al control de la hiperglucemia con sulfonilureas y metformina, en grupos de respondedores (HbA1c < 8%) y no respondedores (HbA1c > 8%) al tratamiento. De cada sujeto, se obtuvieron datos demográficos, antropométricos, clínicos y metabólicos. Los polimorfismos se identificaron mediante el análisis del ADN por PCR/RFLP y PCR/OAL. Se calcularon las frecuencias genotípicas y alélicas y el equilibrio de Hardy-Weinberg. Se analizó estadísticamente con X^2 y regresión logística múltiple (Epi-Info 2000 y SPSS versión 12). Se observó diferencia significativa ($p = 0,027$) en el riesgo a la falla al tratamiento 4,69 veces mayor en sujetos obesos con genotipo AA SNP43, comparado con sujetos con

genotipo GA: X^2 (OR= 4,69, IC: 1,15-20,59) y regresión logística múltiple, $p= 0,048$, (OR= 3,72, IC: 1,009-13,718). Se identificó interacción entre el genotipo AA y el $IMC > 27$ ($p=0,009$). Los hallazgos sugieren que el polimorfismo SNP43 podría influir en la respuesta al tratamiento con sulfonilureas y metformina, con expresión dependiente de obesidad.

Effect of the Gly972Arg, SNP43 and Pro12Ala polymorphisms of the genes *IRS1*, *CAPN10* and *PPARG2* on secondary failure to sulphonylurea and metformin in patients with type 2 diabetes in Yucatán, México.

Invest Clin 2008; 50(1): 65 - 76

Key words: Type 2 diabetes, polymorphisms Gly972Arg of the *IRS1* gene, SNP43 of gene *CAPN10*, and Pro12Ala of the *PPARG2* gene.

Abstract. In Yucatán, 52% of patients with type 2 diabetes (DT2) present secondary failure to treatment associated with sulphonylurea and metformin. A possible explanation may be due to polymorphisms in the genes *IRS1*, *CAPN10*, *PPARG2*, which are involved in pancreatic β cell dysfunction and a poor response to the action of insulin. The association of the polymorphisms Gly972Arg, SNP43, and Pro12Ala, of the genes *IRS1*, *CAPN10*, *PPARG2*, with the risk of failure to sulphonylurea and metformin therapies was determined in patients with DT2 in Yucatán, México. One hundred and thirty and two subjects with DT2 were classified in groups of responders ($HbA1c < 8\%$) and non-responders ($HbA1c > 8\%$) to the treatment, according to the control of hyperglucemia with sulphonylurea and metformin. Demographic, anthropometric and metabolic data were obtained from each subject. The polymorphisms were identified by means of DNA analysis by PCR/RFLP and PCR/OAL. Genotypic and allelic frequencies and the Hardy-Weinberg equilibrium were determined. Statistical analyses consisted of X^2 and multiple logistic regression tests (Epi-Info 2000 and SPSS version 12). Obese subjects carrying the genotype AA SNP43 showed 4.69 times more risk of failure to respond to treatment ($p=0.027$), when compared with subjects sharing GA genotype: X^2 (OR= 4.69, IC: 1.15-20.59) and multiple logistic regression, $p= 0.048$, (OR= 3.72, IC: 1.009-13.718). The interaction between genotype AA and the $BMI > 27$ showed also a significant difference ($p=0.009$). The findings suggest the fact that polymorphism SNP43 may influence the response to treatment with sulphonylurea and metformin, the expression being dependent on obesity.

Recibido: 11-04-2008. Aceptado: 11-09-2008.

INTRODUCCIÓN

La Diabetes Tipo 2 (DT2) es una enfermedad sistémica producida por la interacción de factores genéticos y ambientales. Desarrolla complicaciones micro y macrovasculares prevenibles con control glucémico. El tratamiento se basa en dieta e ingesta de hipoglucemiantes orales, tales como las sulfonilureas y metformina. Una respuesta exitosa inicial, determinada por valores sanguíneos de HbA1c < 8%; posteriormente, puede fallar (falla secundaria, HbA1c >8%) y requerir la adición de insulina u otro hipoglucemiante (1). Los factores de riesgo para la falla secundaria, son edad joven al diagnóstico, incremento en el peso, mal control metabólico y disminución de la función de la célula β . A pesar de tener buen control en la dieta y apego a tratamiento, se estima que cada año del 5 al 7% de los afectados requieren insulina debido a falla secundaria del tratamiento con sulfonilureas y metformina, lo que pudiera tener explicación por factores genéticos (2, 3).

Los genes candidatos de riesgo para tener DT2, el substrato del receptor de insulina 1 (IRS1), calpaína 10 (CAPN10) y el receptor activado de proliferación de los peroxisoma γ 2 (PPARG2), están involucrados en disfunción de la célula β pancreática productora de insulina y respuesta baja a la acción de esta hormona en distintos órganos y tejidos, principalmente hígado y músculo.

IRS1 es polimórfico; la variante más común Gly972Arg, es la prevalente en sujetos con resistencia a la insulina y con DT2 en algunas poblaciones (4-6). Afecta el control glicémico y la regulación de la función de las células β (7, 8). Adicionalmente, puede alterar la secreción de insulina en respuesta a sulfonilureas (9, 10). La resistencia a la insulina mejora con metformina, mediante la inducción de la fosforilación de la subunidad beta del receptor de insulina y

de la IRS (11), lo que apoya que variantes en el gen podrían modular la respuesta a metformina. La asociación entre este polimorfismo y falla secundaria a sulfonilureas y metformina (2) se ha estimado con un OR de 2 (95% IC: 1,38-3,86).

El gen CAPN10 codifica una proteasa de cisteína no lisosómica, que participa en la fisiopatología de la DT2. (12-16). Presenta un polimorfismo SNP43 GA, está asociado con DT2 (17, 19). El genotipo GG se asocia con disminución del RNAm en el músculo, resistencia a la insulina y disminución de la secreción de insulina (20, 21), aunque aún está en controversia (22). No hay evidencia de la repercusión de este polimorfismo, con la respuesta al tratamiento con sulfonilureas y a metformina. Sin embargo, *in vitro* la expresión disminuida del gen puede reducir la secreción de la insulina pancreática (14), además de incrementar el número de células apoptóticas (13).

PPARG2 es miembro de la familia de receptores nucleares ligados a factores de actividad transcripcional. El polimorfismo Pro12Ala en el gen, causa pérdida parcial de su función por medio de disminuir el RNAm, la afinidad de unión al ADN y la actividad transcripcional (23, 24). El alelo Ala se asocia con disminución en el riesgo de padecer DT2 en población general (25, 26). En pacientes con DT2 y el alelo Ala, se ha detectado disminución de la secreción de la insulina en asociación con incremento de colesterol total, de glucosa en ayuno y de HbA1c y por tanto, con severidad de la enfermedad (27). Las sulfonilureas actúan en el canal de K, y en la unión y activación de PPARG2; mejorando la sensibilidad de la insulina (28, 29). Así mismo, polimorfismos en el gen, aumentan la posibilidad de influir en la respuesta al tratamiento con sulfonilureas.

Yucatán, México, es una población con prevalencia elevada de DT2 (11,8%) (30), de acuerdo a los registros del Centro de re-

ferencia en Diabetes del Estado de Yucatán. El 52% de los pacientes tienen falla secundaria a sulfonilureas y a metformina (Comunicación personal Dr. H. Laviada Molina). El presente trabajo analiza los tres polimorfismos descritos en pacientes con DT2 para determinar la asociación con la falla secundaria a sulfonilureas y metformina en la población de yucatecos de México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Sujetos de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en individuos que pertenecen al Departamento de Salud de la Universidad Autónoma de Yucatán. Este departamento provee atención a 11,890 derechohabientes, ofrece servicios de laboratorio clínico y proporciona medicamentos a los beneficiarios. Todos los individuos poseen un número de registro, con la cual se identifica la historia clínica con datos generales del sujeto y los motivos de consulta, incluyendo la nutricional; contiene también información de los resultados de los análisis de laboratorio realizados y de los medicamentos utilizados, así como su periodicidad.

Se incluyeron 132 individuos, hombres y mujeres, con diagnóstico médico de diabetes tipo 2 (1), con un rango en la edad al diagnóstico mayor 35 a 65 años, quienes cumplieron con los criterios de selección. Se clasificaron en dos grupos: casos (no respondedores) y controles (respondedores). El parámetro de respuesta al tratamiento fue el control de la hiperglucemia, con base en los valores de hemoglobina glucosilada (HbA1c), de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana para la prevención, tratamiento y control de la diabetes vigente (1). Se consideraron no respondedores a 71 pacientes (22 masculinos y 49 femeninos) con inadecuado control de la glucosa (HbA1c >8%) después de 6 años de tratamiento con sulfonilurea y metformina, a pesar de recibir do-

sis máximas tolerables de sulfonilureas (glibenclamida: 20mg/día), metformina (2550mg/día) y combinaciones de metformina y sulfonilurea (2000/20 mg/día), así como seguir una dieta adecuada, valorado con el registro de su asistencia a consulta especializada de nutrición, por lo menos en 6 ocasiones en un período de 6 meses consecutivos, en el último año. Los pacientes con falla secundaria requirieron insulina u otros hipoglucemiantes para el control de su glucemia (1-3). Se consideraron respondedores a 61 pacientes (23 masculinos y 38 femeninos) con adecuado control de la glucosa (HbA1c ≤ 8%), tratados por al menos 10 años.

Se excluyeron a los pacientes con diabetes tipo 1, así como aquellos que presentaron algún síndrome genético reconocido de resistencia a la insulina, embarazo, enfermedades gastrointestinales crónicas asociadas a mala absorción, como pancreatitis crónica, historia de alcohol o abuso de drogas, enfermedades de riñón o de hígado, enfermedades de tiroides, y tratamiento con corticoesteroides o estrógenos.

Del expediente clínico se obtuvieron datos demográficos, clínicos, metabólicos, régimen dietético, tratamiento y datos de laboratorio (sexo, edad actual, edad al diagnóstico, IMC: peso en kilogramos dividido entre la talla en metros cuadrados, años con DM2, tensión arterial, glucosa en ayuno, HbA1c, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicéridos). Se obtuvo una muestra de sangre de cada individuo, para analizar polimorfismos genéticos.

A todos los participantes se le informó acerca del objetivo del estudio, así como los procedimientos a realizar y se obtuvo el consentimiento de participación voluntaria, de acuerdo a las recomendaciones de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial en su versión adoptada en la LII Asamblea General de Edimburgo del año 2000.

Genotipificación del ADN

Los polimorfismos genéticos se analizaron de ADN extraído de linfocitos en sangre, de acuerdo con procedimientos estandarizados (31). Los polimorfismos Gly972Arg/BstO1 del gen *IRS1* y Pro12Ala/MvaI del gen *PPARG2* se identificaron empleando las secuencias de oligonucleótidos y las condiciones de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar el fragmento de interés (5, 23). El producto de la PCR, se sometió a digestión usando enzimas de restricción correspondientes (RFLP restriction fragment length polymorphisms) y los fragmentos generados se resolvieron mediante la electroforesis en geles de poliacrilamida, teñidos con nitrato de plata. Para el polimorfismo Gly972Arg se identificaron los genotipos silvestre (GG), heterocigoto (GA) y mutado (AA) y para Pro12Ala se identificaron los genotipos (CC), (CG) y (GG) silvestre, heterocigoto y mutado, respectivamente.

La identificación del polimorfismo SNP43 en el gen *CAPN10* se llevó a cabo mediante la PCR oligo alelo específica (OAL), de acuerdo a los métodos descritos que involucran dos PCR separadas y simultáneas, con un iniciador sentido común para las dos reacciones y un iniciador antisentido específico para el alelo G y otro específico para el alelo A. Se identificaron los genotipos silvestre (GG), heterocigoto (GA) y mutado (AA) (19).

Análisis estadístico

Se verificó la distribución normal de las variables en estudio y se llevó a cabo la transformación logarítmica en caso necesario. Se obtuvo la media y la desviación estándar de las variables obtenidas y se aplicó la prueba de t de Student o ANOVA para establecer la diferencia entre los grupos. Para el sexo se usó X^2 . Se determinaron las frecuencias genotípicas y alélicas de cada polimorfismo en los sujetos de estudio por con-

teo, se calcularon los porcentajes y se compararon entre los grupos de estudio para determinar asociación de cada polimorfismo con la falla secundaria a sulfonilureas y metformina mediante la prueba de X^2 o Fisher. Se calculó el riesgo que representa cada polimorfismo mediante la razón de momios (OR) con intervalo de confianza de 95%, usando el programa Epi Info 2000. El análisis de las interacciones de los genes con las características metabólicas para la falla secundaria a sulfonilureas y metformina se realizó por medio de regresión logística multivariado con el programa SPSS versión 12. En todos los análisis se consideró el valor de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo y el intervalo de confianza respectivo.

RESULTADOS

Las características demográficas, antropométricas, clínicas y metabólicas, de los grupos de estudio, se presentan en la Tabla I. Los datos de control de las características metabólicas fueron similares para ambos grupos. Las diferencias significativas se observan en el colesterol total, los triglicéridos, la glucemia, HbA1c con mayor promedio en el grupo de los no respondedores.

La frecuencia de obesidad (IMC > 27), fue de 70,5% y de 64,8% para los grupos de respondedores y no respondedores, respectivamente ($p=0,65$), la frecuencia de hipertensión ($\geq 130/85$ mm/Hg) fue de 46,7% y 42,3% ($p=0,69$), de colesterol total elevado (> 200 mg/dL) fue de 35% y de 47% ($p=0,28$), de colesterol HDL bajo (< 40) fue de 29,4% y 32,7% ($p=0,73$) y de hipertriglicéridemia (> 200 mg/dL) fue de 23% y de 33,8% ($p=0,29$), para cada grupo, respectivamente.

Frecuencia de los polimorfismos Gly972Arg, SNP43 y Pro12Ala

Las frecuencias genotípicas y alélicas de cada polimorfismo se encontraron en

TABLA I
 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS, ANTROPOMÉTRICAS, CLÍNICAS Y METABÓLICAS
 DE SUJETOS CON DT2

	Respondedores		No Respondedores		p*
	N	Media ± SD	N	Media ± SD	
Sexo M/F**	61	23/38	71	22/49	0,416
Edad (años)	61	63,11 ± 8,916	71	60,48 ± 9,219	0,706
Edad al dx (años)	61	48,31 ± 8,280	71	46,18 ± 8,259	0,995
Años con DT2	61	14,62 ± 5,771	71	14,31 ± 6,604	0,098
IMC (kg/m ²)	61	29,77 ± 4,720	71	29,31 ± 5,053	0,792
TA sistólica (mmHg)	60	133,65 ± 16,375	71	133,51 ± 13,953	0,324
TA diastólica (mmHg)	60	76,82 ± 7,677	71	76,68 ± 10,103	0,105
Colesterol total (mg/dL)	60	193,20 ± 36,301	63	203,99 ± 48,176	0,030
HDL (mg/dL)	51	47,77 ± 14,14	52	50,33 ± 15,110	0,374
LDL (mg/dL)	50	119,76 ± 29,87	50	108,71 ± 33,58	0,238
Triglicéridos (mg/dL)	60	167,07 ± 58,76	62	192,42 ± 111,59	0,001
Glucemia (mg/dL)	61	132,44 ± 40,23	71	179,23 ± 59,71	0,004
HbA1c (%)	61	6,734 ± 0,86	71	9,10 ± 1,94	0,000

*t Student. **X². N = número de individuos. SD = desviación estándar. M/F=masculino/femenino.

equilibrio de Hardy-Weinberg. Para el polimorfismo Gly972Arg, las frecuencias genotípicas observadas en respondedores y no respondedores, fueron: Para GG 57 (93,4%) y 65 (91,5%), para GA 4 (6,6%) y 6 (8,5%), para el alelo G fueron de 118 (97,0) y 136 (95,7) y para el alelo A de 4 (3,0) y de 6 (4,3), respectivamente. Las frecuencias genotípicas del polimorfismo SNP43, observadas en respondedores y no respondedores, fueron: Para GG 18 (29,5%) y 22 (31%), para GA 33 (54,1%) y 34 (47,9%), para AA 10 (16,4%) y 15 (21,1%) y para el alelo G fueron de 69 (56,6%) y 78 (55%) y para el alelo A 53 (43,4%), 64(45%), respectivamente.

Para el polimorfismo Pro12Ala, las frecuencias genotípicas observadas en respondedores y no respondedores, fueron: Para CC 54 (88,5%) y 61 (85,9%), para CG 7 (11,5%) y 10 (14,1%) y para el alelo C fueron de 115 (94,3) y 132 (93) y para el alelo G 7 (5,7%) y 10 (7%), respectivamente.

No fue significativa la diferencia en la frecuencia de cada polimorfismo entre los grupos estudiados ($p > 0,05$), por lo que no pueden considerarse como factor de riesgo independiente de la falla al tratamiento.

Frecuencia de cada polimorfismo agrupados de acuerdo a la presencia o ausencia de las obesidad, hipertensión, colesterol total elevado, colesterol HDL bajo e hipertrigliceridemia y a la respuesta al tratamiento, en los sujetos de estudio

La obesidad (IMC > 27) representó un riesgo 3,84 veces mayor para la falla secundaria al tratamiento en los sujetos con genotipo AA del polimorfismo SNP43, comparado con sujetos con al menos un alelo G (genotipo GG o GA), $p=0,04$ (OR= 3,84, IC: 1,02-15,59). El riesgo se incrementó a 4,69 en sujetos con genotipo AA comparado con sujetos con genotipo GA, $p=0,01$ (OR= 4,69, IC: 1,15-20,59) mediante X² (Tabla II). Estos resultados permanecieron

TABLA II
ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO SNP 43 DE *CAPN10* CON LA FALLA SECUNDARIA A SULFONILUREAS Y METFORMINA, EN PRESENCIA O NO DE OBESIDAD

Genotipo	No-obeso					Obeso				
	No-R n	R n	OR	IC	p*	No-R n	R n	OR	IC	p*
GG+GA	23	12				33	39			
AA	2	6	5,75	(0,83-49,40)	0,05	13	4	3,84	1,02-15,59	0,04
GA	16	7				18	26			
AA	2	6	6,86	(0,87-66,57)	0,07	13	4	4,69	1,15-20,59	0,01

No-obeso: individuo con IMC <27 kg/m². Obeso: individuo con IMC >27 kg/m². No-R: individuos no respondedores. R: individuos respondedores. OR: Odds ratio. IC: intervalo de confianza (95%). *X², prueba exacta de Fisher.

significativos cuando se analizaron mediante la regresión logística múltiple. Se identificó diferencias en cuanto al genotipo AA, p= 0,048 (OR= 3,72 IC: 1,009-13,71). El IMC>27 resultó significativo con p=0,036 y de riesgo para la falla al tratamiento (OR 8,250, IC: 1,15-59,00), además se observó interacción entre el genotipo AA del polimorfismo SNP43 con IMC>27 con p=0,009.

No se encontró diferencias significativas cuando se comparó las frecuencias genotípicas de los polimorfismos Gly972Arg y Pro12Ala en sujetos en presencia o ausencia de la obesidad, hipertensión, colesterol total elevado, colesterol HDL bajo e hipertrigliceridemia, entre ambos grupos.

Interacciones entre genes y con las características antropométricas, clínicas y metabólicas

Se obtuvo diferencia significativa entre ambos grupos de estudio en las combinaciones donde estuvo presente el genotipo mutado del polimorfismo SNP43, los genotipos silvestres en los polimorfismos Gly972Arg y Pro12Ala y la covariable de IMC>27.

La combinación GG/AA/CC correspondiente a los polimorfismos Gly972Arg/SNP43/Pro12Ala, fue significativa, p= 0,047 (OR= 3,603 IC: 1,020-12,735), cuando se

analizó con el IMC. En la combinación GG/AA (Gly972Arg /SNP43), se obtuvo un valor de p= 0,048 (OR 3,721 IC: 1,009-13,718). El IMC>27 resultó de riesgo con p= 0,036 OR 8,250 IC: 1,154-59. La interacción entre ambos factores para el riesgo fue significativa con p=0,009. La combinación SNP43/Pro12Ala, con el genotipo AA/CC, fue significativa con p= 0,023 e incrementó el riesgo (OR 4,58 IC: 1,235-17,008) cuando se analizó con la covariable IMC, siendo la interacción entre ambos factores para el riesgo significativa (p=0,017).

DISCUSIÓN

En las patologías producidas por interacción genético-ambiental resulta complejo identificar los genes que desempeñan un factor primordial para su manifestación, en particular si se consideran los diferentes procesos del curso de la enfermedad en los que puede haber variación debida a los genes participantes en cada paso, y las variaciones originadas por combinaciones múltiples de los polimorfismos de los diferentes genes. En el presente estudio se trató de encontrar una explicación a la diferencia en respuesta al tratamiento oral con sulfonilurea y metformina. Los polimorfismos analizados están relacionados de alguna forma

con la acción del metabolismo de la insulina, por lo que es razonable considerar que las variantes de los genes que controlan estas funciones sean capaces de afectar la respuesta al tratamiento. Los hallazgos resultantes no apoyan la participación individual de ninguno de los polimorfismos como causantes de la falla al tratamiento, a pesar de que estudios *in-vivo* e *in-vitro* apoyan la asociación de los polimorfismos estudiados en los genes *IRS1* y *PPARG2* (2), con la falla a sulfonilureas y metformina. No obstante, se sugiere riesgo para la falla, en el análisis de asociación del polimorfismo SNP43 del gen *CAPN10* y la obesidad, una asociación no descrita previamente.

Las alteraciones funcionales descritas para el polimorfismo SNP43, incluyen niveles alterados de expresión de la calpaína (20). Se sabe que la disminución de los mensajeros para *CAPN10* se relaciona con estados de resistencia a la insulina y disminución de la secreción de insulina en células β del páncreas (14, 21). Adicionalmente, puede alterar la secreción de insulina por alteraciones en la fusión de membranas de los gránulos. Existe controversia acerca de cuál de los genotipos de este gen es de riesgo para DT2, relacionado con la disminución de ARNm de *CAPN10*, se ha descrito como GG (23), GA o AA (21, 22).

Los hallazgos del presente estudio apoyan el hecho de que el genotipo AA es de riesgo probable para la población estudiada, al encontrar asociación significativa del genotipo AA en pacientes obesos con la falla a tratamiento. En relación con la obesidad, el genotipo GG se ha encontrado asociado con disminución del ARNm de *CAPN10* y con relación inversa entre el tejido adiposo y la expresión del gen; a mayor adiposidad menor expresión del mensajero (32). Así mismo, la interacción entre el genotipo AA SNP43 con IMC y obesidad abdominal en sujetos masculinos, se ha descrito para pacientes de primer grado de pacientes con

DT2 (33). Esta aparente controversia es semejante a los hallazgos en otro polimorfismo de riesgo para DT2, Pro12Ala del gen *PPARG2*, el alelo de Ala (AA) es de protección en sujetos delgados y de riesgo en sujetos obesos (34, 35). Estos hallazgos concuerdan con los obtenidos en los pacientes del presente estudio con riesgo a la falla al tratamiento, conferido por el genotipo AA SNP43 en pacientes con obesidad (32).

La interacción de los polimorfismos Gly972Arg/SNP43/Pro12Ala resultó significativa cuando incluyó el genotipo mutante para SNP43 y silvestre para los otros polimorfismos; esto es, GG/AA/CC, además de obesidad. En población Mexicana, polimorfismos en estos tres genes, se han asociado con DT2, (SNP 43, SNP 44 del mismo gen, Gly972Arg y Pro12Ala), (genes *CAPN10*, *ISRI*, *PPARG2* respectivamente), refiriéndose de riesgo los haplotipos como GG-CT-GlyArg-ProPro y GA-CT-GlyGly-ProPro y una combinación presente únicamente en pacientes con DT2 que es AA-TT-GlyGly-AlaAla. En este estudio se observó la presencia de las combinaciones de riesgo descritas por García Fajardo y col. (36), pero no se consideraron de riesgo para la falla secundaria al tratamiento.

En otra población mestiza de la ciudad de México y de Orizaba, México, se estudio la asociación de cuatro polimorfismos del gen *CAPN10* con el riesgo para DT2, encontraron asociación con el polimorfismo SNP44, implicando la participación del gen en Diabéticos Mexicanos. Sin embargo, no se encontró asociación de la combinación 112/121 de los polimorfismos SNP43, SNP19, SNP63 descritos para riesgo en México-Americanos (37). Estas diferencias entre los polimorfismos de riesgo en diferentes poblaciones refuerza el concepto de que las variaciones en la composición de las poblaciones les confieren frecuencias génicas variables, que pueden responder de forma diferente en presencia de los componentes

genéticos adicionales y ante medios ambientes también variables, por lo que se resalta la importancia de que en cada población se conozca su composición genética y los riesgos que para ésta implica.

Debido a que la información de las características demográficas, antropométricas, clínicas y metabólicas se obtuvo del registro de datos clínicos de los pacientes en forma transversal, durante 2006, se usó la definición vigente ese año para determinar la falla secundaria a sulfonilurea y metformina: pacientes con niveles de HbA1c > 8% de mal control hiperglucémico para cambio de terapia (1-3). Actualmente, los individuos que tienen HbA1c > 7% son los indicados para cambio en el tratamiento farmacológico, para alcanzar las metas señaladas por la Asociación Americana de Diabetes (ADA) en el 2008 (38). Probablemente se obtendrían resultados diferentes si se considerara este criterio actualizado como determinación de falla secundaria a tratamiento. Otro punto es la evidencia que indica que la adherencia al tratamiento y a la dieta, que influyen en el desarrollo de la falla secundaria (39). Los parámetros utilizados fueron obtenidos de los registros de los pacientes, aquellos que acudieron regularmente a consulta nutricional especializada, con evidencia de que recibieron el medicamento indicado en el último año. No permitió la medición cuantitativa de la adherencia, como sería con un recordatorio de 24 horas, en un estudio prospectivo. Finalmente, el efecto del polimorfismo SNP43 y la obesidad, sobre la falla al tratamiento, fue modesto. Un estudio longitudinal con mayor número de pacientes podría determinar la validez de los resultados obtenidos. En base a evidencias previas que apoyan que los polimorfismos de genes pueden influir en la variabilidad de la respuesta a sulfonilureas y a metformina en pacientes con DT2 (2, 3, 40), el resultado que se obtuvo para el genotipo AA del polimorfismo SNP43, podría consi-

derarse válido para esta población Mexicana, con variación en la respuesta al tratamiento con sulfonilureas y metformina en pacientes obesos.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue realizado bajo el apoyo financiero del Programa de Impulso a la Orientación a la Investigación (PRIORI) de la Universidad Autónoma de Yucatán, Clave PRIORI-CIRB-05-017.

REFERENCIAS

1. Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2000, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes.
2. Sesti G, Marini MA, Cardellini M, Sciacqua A, Frontoni S, Andreozzi F, Irace C, Lauro L, Gnasso A, Federico M, Perticone F, Lauro R, Irace C, Lauro L, Gnasso A, Federico M, Perticone F, Lauro R. The Arg972 Variant in Insulin Receptor Substrate-1 Is Associated With an Increased Risk of Secondary Failure to Sulfonilurea in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2004; 27:1394-1398.
3. Sesti G, Laratta E, Cardellini M, Andreozzi F, Del Guerra S, Irace C, Ganso A, Grupillo M, Lauro R, Hribal ML, Perticone F, Marchetti P. The E23K Variant of KCNJ11 Encoding the Pancreatic β -Cell Adenosine 5'-Triphosphate-Sensitive Potassium Channel Subunit Kir6.2 Is Associated with an Increased Risk of Secondary Failure to Sulfonilurea in Patients with Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:2334-2339.
4. Sesti G, Federici M, Hribal ML, Lauro D, Sbraccia P, Lauro R. Defects of the insulin receptor substrate (IRS) system in human metabolic disorders. *FASEB J* 2001; 15:2099-2111.
5. Almind K, Bjorbaek C, Vestergaard H, Hansen T, Echwald S, Pedersen O. Amino acid polymorphism of insulin Receptor Substrate-1 in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet*. 1993; 342:828-832.

6. **Jellema A, Zeegers MP, Feskens EJ, Dagnelie PC, Mensink RP.** Gly972Arg variant in the insulin receptor substrate-1 gene and association with type 2 diabetes. A meta-analysis of 27 studies. *Diabetologia* 2003; 46:990-995.
7. **Almind K, Inoue G, Pedersen O, Kahn CR.** A common amino acid polymorphism in insulin receptor substrate-1 causes impaired insulin signaling. Evidence from transfection studies. *J Clin Invest* 1996; 97:2569-2575.
8. **McGettrick AJ, Feener EP, Kahn CR.** Human insulin receptor substrate-1 (IRS-1) polymorphism G972R causes IRS-1 to associate with the insulin receptor and inhibit receptor autophosphorylation. *J Biol Chem* 2005; 280:6441-6446.
9. **Porzio O, Federici M, Hribal ML, Lauro D, Accili D, Lauro R, Borboni P, Sesti G.** The Gly972Arg amino acid polymorphism in IRS-1 impairs insulin secretion in pancreatic beta cell. *J Clin Invest* 1999; 104: 357-364.
10. **Marchetti P, Lupi R, Federici M, Marselli L, Masini M, Boggi U, Del Guerra S, Patane G, Piro S, Anello M, Bergamini E, Purrello F, Lauro R, Mosca F, Sesti G, Del Prato S.** Insulin secretory function is impaired in isolated human islets carrying the Gly(972)Arg IRS-1 polymorphism. *Diabetes* 2002; 51:1419-1424.
11. **Wiernsperger NF, Bailey CJ.** The antihyperglycaemic effect of metformin therapeutic and cellular mechanisms. *Drugs* 1999; 58:31-39.
12. **Horikawa Y.** Calpain-10 (NIDDM1) as a Susceptibility Gene for Common Type 2 Diabetes. *Endocr J* 2006; 53:567-576.
13. **Johnson JD, Han Z, Otani K, Ye H, Zhang Y, Wu H, Horikawa Y, Mislser S, Bell GI, Polonsky K.** RyR2 and calpain-10 delineate a novel apoptosis pathway in pancreatic islets. *J Biol Chem* 2004; 279:24794-24802.
14. **Marshall C, Hitman GA, Partridge CJ, Clark A, Ma H, Shearer TR, Turner MD.** Evidence that an isoform of Calpain-10 is a regulator of exocytosis in pancreatic beta cells. *Mol Endocrinol* 2005; 19:213-224.
15. **Logie LJ, Brown AE, Yeaman SJ, Walter M.** Calpain inhibition and insulin action in cultured human muscle cells. *Mol Genet Metab* 2005; 85:54-60.
16. **Paul DS, Harmon AW, Winston CP, Patel YM.** Calpain facilitates GLUT4 vesicle translocation during insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes. *Biochem J* 2003; 376: 625-632.
17. **Hanis CL, Boerwinkle E, Chakraborty R, Ellsworth DL, Concannon P, Stirling B, Morrison VA, Wapelhorst B, Spielman RS, Gogolin-Ewens KJ, Shepard JM, Williams SR, Risch N, Hinds D, Iwasaki N, Ogata M, Omori Y, Petzold C, Rietzch H, Schröder HE, Schulze J, Cox NJ, Menzel S, Boriraj VV, Chen X, Lim LR, Lindner T, Mereu LE, Wang YQ, Xiang K, Yamagata K, Yang Y, Bell GI.** A genome-wide search for human non-insulin-dependent (type 2) diabetes genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 2. *Nat Genet* 1996; 13:161-166.
18. **Horikawa Y, Oda N, Imamura S, Fujiwara, Makino M, Seino Y, Itoh M, Takeda J.** Genetic variations in calpain-10 gene are not a major factor in the occurrence of type 2 diabetes in Japanese. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:244-247.
19. **Horikawa Y, Oda N, Cox N, Xiangquan L, Orho-Melander M, Hara M, Hinokio Y, Lindner TH, Mashima H, Schwarz P, del Bosque-Plata L, Horikawa Y, Oda Y, Yoshiuchi I, Colilla S, Polonsky KS, Wei S, Concannon P, Iwasaki N, Schulze J, Baier LJ, Bogardus C, Groop L, Boerwinkle E, Hanis CL, Bell GI.** Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* 2000; 26:163-175.
20. **Baier LJ, Permana PA, Yang X, Pratley RE, Hanson RL, Shen GQ, Mott D, Knowler WC, Cox NJ, Horikawa Y, Oda N, Bell GI, Bogardus C.** A calpain-10 gene polymorphism is associated with reduced muscle mRNA levels and insulin resistance. *J Clin Invest* 2000; 106: R69-73.
21. **Stumvoll M, Fritsche A, Madaus A, Stefan N, Weisser M, Machicao F, Häring H.**

- Functional significance of the UCSNP-43 polymorphism in the CAPN10 gene for proinsulin processing and insulin secretion in nondiabetic Germans. *Diabetes* 2001; 50: 2161-2163.
22. **López-Orduña E, García-Mena J, García-Macedo R, Stumvoll M, Cruz M.** CAPN10 mRNA splicing and decay is not affected by a SNP associated with susceptibility to type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 358:831-836.
 23. **Yen CJ, Beamer BA, Negri C, Silver K, Brown KA, Yarnall DP, Burns DK, Roth J, Shuldiner AR.** Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor gamma (hPPAR gamma) gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala PPARgamma 2 missense mutation. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 241:270-274.
 24. **Stumvoll M, Häring H.** The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 Pro12Ala polymorphism. *Diabetes* 2002; 51:2341-2347.
 25. **Stefan N, Fritsche A, Häring H, Stumvoll M.** Effect of experimental elevation of free fatty acids on insulin secretion and insulin sensitivity in healthy carriers of the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene. *Diabetes* 2001; 50:1143-1148.
 26. **Francis GA, Fayard E, Picard F, Auwerx J.** Nuclear receptors and the control of metabolism. *Annu Rev Physiol* 2003; 65:261-311.
 27. **Mori H, Ikegami H, Kawaguchi Y, Seino S, Yokoi N, Takeda J, Inoue I, Seino Y, Yasuda K, Hanafusa T, Yamagata K, Awata T, Kadowaki T, Hara K, Yamada N, Gotoda T, Iwasaki N, Iwamoto Y, Sanke T, Nanjo K, Oka Y, Matsutani A, Maeda E, Kasuga M.** The Pro12 Ala substitution in PPAR-gamma is associated with resistance to development of diabetes in the general population: possible involvement in impairment of insulin secretion in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes* 2001; 50: 891-894.
 28. **Fukuen S, Iwaki M, Yasui A, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I.** Sulfonylurea agents exhibit peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonistic activity. *J Biol Chem* 2005; 280: 23653-23659.
 29. **Scarsi M, Podvinea M, Roth A, Hug H, Kersten S, Albrecht H, Schwede T, Meyer UA, Rücker C.** Sulfonylureas and glinides exhibit peroxisome proliferator-activated receptor gamma activity: a combined virtual screening and biological assay approach. *Mol Pharmacol* 2007; 71:398-406.
 30. **Velázquez-Monroy O, Rosas-Peralta M, Lara-Esqueda A, Pastelón-Hernandez G, Sánchez-Castillo C, Attie F, Tapia-Conyer R.** Prevalence and interrelations of non-communicable chronic diseases and cardiovascular risk factors in Mexico. Final outcomes from the National Health Survey 2000. *Arch Cardiol Mex* 2003; 73:62-77.
 31. **Miller SA, Dijkes DD, Polesky HF** A simple salting out procedure for extracting DNA from nucleated cell. *Nuclei Acid Res* 1988, 16:1215-1218.
 32. **Carlsson E, Fredriksson J, Groop L, Ridderstrale M.** Variation in the Calpain-10 Gene Is Associated with Elevated Triglyceride Levels and Reduced Adipose Tissue Messenger Ribonucleic Acid Expression in Obese Swedish Subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 3601-3605.
 33. **Pihlajamäki J, Salmenniemi U, Vanttinen M, Ruotsalainen E, Kuusisto J, Vauhkonen I, Kainulainen S, Ng MC, Cox NJ, Bell GI, Laakso M.** Common polymorphisms of calpain-10 are associated with abdominal obesity in subjects at high risk of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2006; 49:1560-1566.
 34. **Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, Pihlajamäki J, Mykkänen L, Kuusisto J, Laakso M, Fujimoto W, Auwerx J.** A Pro12Ala substitution in PPARgamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* 1998; 20:284-287.
 35. **Lindi VI, Uusitupa MI, Lindström J, Louheranta A, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Tuomilehto J.** Association of the Pro12Ala polymorphism in the PPAR-gamma2 gene with 3-year incidence of type 2 diabetes

- and body weight change in the Finnish diabetes prevention study. *Diabetes* 2002; 51: 2581-2586.
36. **García-Fajardo LV, García-Mena J, Wachter-Rodarte N, de la Vega F, Kumate J, Cruz-López M.** Asociación de polimorfismos de una sola base (snps) en genes candidatos CAPN10, IRS-1 Y PPAR-G con diabetes tipo 2 en una muestra de población mexicana. Memorias del XXVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica A.C. Guanajuato, Guanajuato. 12 al 17 de noviembre, 2006.
 37. **del Bosque-Plata L, Aguilar-Salinas C, Tusié-Luna M, Ramírez-Jiménez S, Rodríguez-Torres M, Aurón-Gómez M, Ramirez E, Velasco-Perez ML, Ramirez-Silva A, Gomez-Perez F, Hanis CL, Tsuchiya T, Yoshiuchi I, Cox NJ, Bell GI.** Association of the calpain-10 gene with type 2 diabetes mellitus in a Mexican population. *Mol Genet and Metab* 2004; 81(2): 122-126.
 38. **American Diabetes Association.** Standards of medical care in diabetes-2008. *Diabetes Care* 2008; 31:Suppl 1:S12-54.
 39. **Matthews DR, Cull CA, Stratton IM, Holman RR, Turner RC.** UKPDS 26: Sulphonylurea failure in non-insulin-dependent diabetic patients over six years. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Diabet Med* 1998; 15:297-303.
 40. **Reitman ML, Schadt EE.** Pharmacogenetics of metformin response: a step in the path toward personalized medicine. *J Clin Invest* 2007; 117:1226-1229.