

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACION
FACULTAD DE MEDICINA

112424

10



BÚSQUEDA DE LOS GENES DE DIABETES TIPO MODY EN PACIENTES CON DIABETES
GESTACIONAL DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA MATERNO FETAL DEL CENTRO
MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE, I. S. S. T. E."

TESIS DE POSTGRADO PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN:

MEDICINA MATERNO FETAL

PRESENTA:

DR. TITO /RAMIREZ LOZADA

Asesor:

DR. FERNANDO ESCOBEDO AGUIRRE

México, D.F.
2002

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central

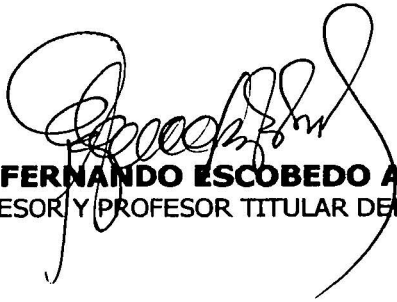


UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

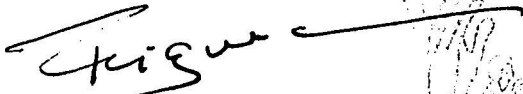
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).


El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



DR. FERNANDO ESCOBEDO AGUIRRE
ASESOR Y PROFESOR TITULAR DEL CURSO



DR. SIEGFRIED FIGUEROA BARKOW
SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN



INSTITUTO DE ESPECIALIZACION
DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U. N. A. M.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE

Resumen	1
Antecedentes y marco teórico	2
Planteamiento del problema	6
Hipótesis	6
Objetivos	6
Justificación	7
Material y métodos	8
Resultados	11
Conclusiones	12
Bibliografía	13

RESUMEN

Se han identificado hasta el momento en las pacientes con diabetes gestacional cinco genes relacionados con la diabetes tipo MODY, lo cual representa de manera temprana a mujeres que desarrollarán diabetes mellitus.

En población caucásica las alteraciones génicas que se han encontrado en pacientes con diabetes gestacional son las relacionadas con el gen de la glucocinasa, sin embargo en población mexicana son otras las más frecuentes y que son el motivo de estudio de este trabajo.

Este estudio es un corte de un extenso trabajo, que investiga las alteraciones en tres genes específicos relacionados con la diabetes tipo MODY en pacientes con diabetes gestacional, además de aquellas que durante el embarazo cursaron con intolerancia a los carbohidratos o con una prueba de tamiz de glucosa alterada y una curva de tolerancia a la glucosa oral normal o las que no presentaron ningún trastorno de los carbohidratos durante el embarazo y se confirmó mediante una prueba de tamiz de glucosa con resultado normal.

Por otra parte, también se hará extensivo el estudio de las alteraciones génicas a los hijos de las pacientes que presentaron diabetes gestacional o intolerancia a los carbohidratos.

ANTECEDENTES Y MARCO TEORICO

La diabetes gestacional (DG) se define como algún grado de intolerancia a la glucosa que inicia o se reconoce por primera vez durante el embarazo.(1)

La definición se aplica sin tener en cuenta si se usa para el tratamiento la insulina o sólo la modificación de la dieta o si la condición persiste después del embarazo.

Ninguna excluye la posibilidad de que la intolerancia a la glucosa no haya sido reconocida antes o que pueda haber iniciado con el embarazo.

Seis semanas o más después de concluir el embarazo, la mujer debe ser reclasificada en alguna de las categorías siguientes: 1) diabetes, 2) intolerancia a la glucosa en ayuno, 3) Intolerancia a la glucosa o 4) normoglicemia.

En la mayoría de los casos de DG, la regulación de la glucosa retorna a lo normal después de resuelto el embarazo.

La prevalencia es del 1 al 14% de las embarazadas, dependiendo de la población estudiada.(2)

En México la prevalencia observada es del 3.9 al 20.4% (promedio 9.1%).(3-6)

La DG representa cerca del 90% de todos los embarazos complicados con trastornos de los carbohidratos.(7)

El reconocimiento clínico de la DG es importante por que el tratamiento (que incluye dieta y en caso necesario insulina) mejora la sobrevivida fetal al reducir la morbilidad y mortalidad asociados a la DG.(8)

Las complicaciones maternas relacionadas con la DG incluyen un aumento en la frecuencia de operación cesárea e hipertensión crónica.(8-10)

Aunque muchas pacientes con DG no desarrollan diabetes posteriormente, otras serán diagnosticadas algunos años posparto como diabéticas tipo 1, diabéticas tipo 2, intolerantes a la glucosa en ayuno o intolerantes a la glucosa.(11-16)

El deterioro de la tolerancia a la glucosa ocurre normalmente durante el embarazo, particularmente en el tercer trimestre. Los criterios para hablar de intolerancia a la glucosa durante el embarazo fueron propuestos por O'Sullivan y Mahan en 1964,

basándose en datos obtenidos por la realización de curva de tolerancia la glucosa (CTG) a 752 mujeres embarazadas.(11)

La tolerancia anormal a la glucosa fue definida como dos o más valores alterados (por arriba de lo normal) de los cuatro o dos derivaciones estándar por arriba del promedio. Estos valores se basaron en la predicción para desarrollar diabetes posteriormente.

En 1979, el Grupo de Datos de Diabetes Nacional (NDDG) revisan los criterios de O'Sullivan y Mahan y convierten sus valores de sangre entera a valores en plasma.

Los criterios fueron adoptados por la American Diabetes Association (ADA) y el American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG), éstos varían con los criterios de World Health Organization (WHO).(17)

Carpenter y Coustan sugieren al NDDG la conversión de los valores de O'Sullivan y Mahan a los de la determinación con la técnica de Somogy-Nelson lo cual ha producido una detección de mayor número de casos.(18)

Ellos proponen que al disminuir los valores diagnósticos de glucosa plasmática son más precisos que las determinaciones de O'Sullivan y Mahan. En tres estudios, éstos criterios identificaron más pacientes con DG con infantes que tenían mayor morbilidad perinatal.(19-21)

Estudios adicionales se han completado para definir valores anormales con CTG de 75 gramos en diferentes poblaciones.(22-24) Este método proporciona valores de la concentración de glucosa en plasma equivalente a los extrapolados en la CTG de 100 gramos de Carpenter y Coustan.

Las recomendaciones de la ADA en el cuarto taller – conferencia sobre DG realizado en marzo de 1997 plantean que el uso de la CTG a las 2 horas con 75 gramos es una buen alternativa a los criterios diagnósticos de Carpenter y Coustan.(25)

La búsqueda de DG se debe realizar en todas las mujeres embarazadas, sin embargo, existen ciertos factores que hacen de bajo riesgo a la mujer para el desarrollo de intolerancia a la glucosa durante el embarazo, pero esto no es rentable para proteger a dichas pacientes.

El grupo de bajo riesgo lo comprenden mujeres < 25 años con índice de masa corporal normal (IMC), sin historia familiar de diabetes (p.e. pariente en primer grado), sin antecedentes de metabolismo anormal de la glucosa o pobres resultados

obstétricos y no pertenecer a grupos étnicos con alta prevalencia de diabetes (p.e. hispanoamericanos, nativos americanos, asiático americanos, afro americanos, de las islas del pacífico). Las mujeres embarazadas que cumplan todos estos criterios no necesitan la búsqueda de DG.(26-28)

La evaluación del riesgo para desarrollar DG se puede realizar durante la primer visita prenatal.

Las mujeres que presentan alguna de las siguientes características tienen alto riesgo de desarrollar DG: obesidad, historia familiar de DG, glucosuria o fuerte historia familiar de diabetes, se le debe realizar prueba de tamiz de glucosa en cuanto sea posible.

Si no se establece el diagnóstico de DG en la prueba inicial, se realiza nuevamente la prueba entre las 24 y 28 semanas de gestación. A las mujeres con riesgo moderado se les debe realizar prueba de tamiz entre las 24 – 28 semanas de gestación.(29-30)

Existen diversas formas de diabetes que están asociadas con defectos monogénicos en la función de las células beta (β).

Estas formas de diabetes se caracterizan frecuentemente por el inicio de hiperglucemia a temprana edad (generalmente antes de los 25 años), por lo que es referida como diabetes de la madurez de inicio en la juventud (MODY) y se caracteriza por alteración en la secreción con o sin defectos mínimos en la acción de la insulina.

Tiene un patrón de herencia autosómica dominante y hasta el momento se han identificado al menos cinco genes causales del fenotipo MODY en distintas familias (HNF – 4 α , glucocinasa, HNF – 1 α , IPF – 1 y HNF – 1 β). (31-33)

La forma más común esta asociada con mutaciones en el cromosoma 12 en el factor de transcripción hepático referido como factor nuclear del hepatocito - 1 α (HNF – 1 α). (34-35)

La segunda forma esta asociada con mutaciones en el gen de la glucocinasa en el cromosoma 7p, lo que condiciona una molécula de glucocinasa defectuosa.

La glucocinasa convierte a la glucosa en glucosa-6-fosfato, la cual al ser metabolizada estimula la secreción de insulina por parte de las células β .

La glucocinasa sirve como sensor de la glucosa para las células β , por lo que un defecto en el gen de la glucocinasa incrementa los niveles de glucosa plasmática para estimular la secreción normal de insulina.(36-37)

La tercera forma esta asociada con una mutación en el gen del factor nuclear del hepatocito – 4α del cromosoma 20q.

Este es un factor de transcripción involucrado en la regulación de la expresión del HNF – 1α , El defecto genético específico en un número importante de individuos que presentan un cuadro clínico similar aún se desconoce.(38-39)

Las mutaciones en el gen de glucocinasa se han identificado en pacientes caucásicas con DG, con una prevalencia del 80%, mientras que no se ha estudiado la prevalencia de las cuatro mutaciones restantes.(40)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existen alteraciones génicas relacionadas con el fenotipo MODY en mujeres que cursan con diabetes gestacional?

HIPÓTESIS

Las mutaciones génicas relacionadas con el fenotipo MODY son frecuentes en mujeres con diabetes gestacional.

OBJETIVOS

Identificar en la historia la clínica de pacientes con diabetes gestacional a las que presentan un rasgo de transmisión autosómico dominante compatible con el fenotipo MODY.

Identificar la(s) secuencia(s) génica(s) alterada(s) relacionada(s) con diabetes tipo MODY en pacientes con diabetes gestacional.

Plantear la posibilidad a largo plazo de corrección de la alteración génica.

Disminuir el riesgo de morbilidad y mortalidad perinatal materno fetal.

Realizar los cuidados pertinentes para retrasar la aparición de los trastornos de los carbohidratos durante el embarazo y aún después.

JUSTIFICACIÓN

La frecuencia de diabetes gestacional en pacientes atendidas en el Departamento de Medicina Materno Fetal del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" oscila del 13 al 17%, pero considerando la frecuencia de internamientos, por el tipo de vigilancia que debe realizarse, éstas son las que cuentan con mayor número de días de ocupación hospitalaria, ya que se internan para control metabólico, ajuste de calorías durante el segundo y tercer trimestre, evaluación de fondo de ojo y otros estudios complementarios (determinación de función renal, amniocentesis para determinar perfil de fosfolípidos en líquido amniótico, etc.), con lo cual se ha logrado disminuir el riesgo de complicaciones tanto maternas como fetales, además de los días de estancia de los hijos de éstas pacientes en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales. Por otra parte, se puede considerar que la presencia de diabetes gestacional es un elemento temprano que indica la paciente puede desarrollar diabetes mellitus tipo MODY posteriormente y por ende sus complicaciones.

Lo que se pretende con el estudio es diagnosticar de forma temprana las portadoras de alteraciones génicas relacionadas con el fenotipo MODY para favorecer el desarrollo de hábitos higiénico dietéticos que en determinado momento ayuden a retrasar la aparición de la enfermedad.

Por último, identificar a las familias portadoras de alteraciones génicas relacionadas con el fenotipo MODY que condicionarán un comportamiento metabólico alterado durante la gestación, lo que aumenta el riesgo de morbilidad y mortalidad perinatal.

MATERIAL Y METODOS

Tipo de estudio

Transversal y Descriptivo.

Grupo de estudio

Mujeres con diabetes gestacional diagnosticada en el Departamento de Medicina Materno Fetal del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", las cuales aceptaron y firmaron hoja de consentimiento para participar en el estudio.

Grupo Control

Mujeres que no presentaron algún trastorno de los carbohidratos durante la gestación y que presentaron pruebas de tamiz de glucosa dentro de parámetros normales.

Tamaño de la muestra

Cincuenta pacientes con diabetes gestacional.

Cincuenta pacientes sin trastorno de los carbohidratos durante el embarazo.

Criterios de inclusión

Pacientes con diabetes gestacional.

Pacientes que durante el embarazo no presentaron trastorno de los carbohidratos.

Criterios de exclusión

Pacientes embarazadas con diabetes mellitus tipo I y tipo II.

Criterios de eliminación

Pacientes con diabetes gestacional que no aceptaron ingresar al protocolo de estudio.

Pacientes sin trastorno de los carbohidratos que no aceptaron ingresar al protocolo de estudio.

Estudios de laboratorio

La búsqueda de DG se debe realizar en toda mujer embarazada entre las 24 - 28 semanas de gestación, o antes en caso de que pertenezca al grupo de alto riesgo.

Un nivel de glucosa plasmática en ayuno > 126 mg/dl o una glucosa plasmática al azar > 200 mg/dl se consideran en el umbral para el diagnóstico de diabetes y si se confirman en otro día, no es necesario realizar cualquier prueba de tolerancia a la glucosa. En ausencia de este grado de hiperglucemia, la evaluación para DG en mujeres con moderado o alto riesgo se realiza de la siguiente manera:

La primera prueba que se debe llevar a cabo es la denominada **Prueba Tamiz**, para la cual no necesita preparación de la paciente y consiste en:

1. Toma de muestra de sangre periférica en ayuno.
2. Administración de una carga oral de glucosa de 50 gramos.
3. Se realiza otra toma de glucemia central 60 minutos después de la toma de glucosa oral.

Si el resultado de la glucosa a la hora es > 140 mg/dl es imperativo realizar la curva de tolerancia a la glucosa. Cuando se sobrepasa este resultado es posible detectar el 80% de mujeres con DG, pero si se considera como alterado cuando sobrepasa 130 mg/dl se detecta el 90% de pacientes con DG.

Para el diagnóstico confirmatorio de DG o intolerancia a los carbohidratos es necesario realizar la prueba conocida como curva de tolerancia a la glucosa, la cual requiere de una preparación de tres días antes de la prueba con una dieta que contenga mínimo 150 gramos de carbohidratos al día (en el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre se ajustó a 3000 calorías por día), sin consumo de medicamentos ni tabaco y con actividad física normal. El día de la prueba:

1. Toma muestra de sangre periférica en ayuno.
2. Administración de una carga oral de 100 gramos de glucosa.
3. Determinación de glucemia a los 60, 120 y 180 minutos después de la administración de la carga de glucosa.

Los valores de referencia (normales) son los siguientes:

Ayuno	< 95 mg/dl
60 '	< 180 mg/dl
120 '	< 155 mg/dl
180 '	< 140 mg/dl

Si existe un valor por arriba de lo normal se considera que la paciente cursa con intolerancia a los carbohidratos.

En caso de que estuvieran dos o más valores por arriba de lo normal se hace el diagnóstico de diabetes gestacional.

Para la búsqueda de los 5 distintos genes relacionados al fenotipo MODY se obtendrá una muestra sanguínea 20 ml, la cual se depositará en un tubo con EDTA como anticoagulante.

El DNA genómico se aislará con técnica libre de fenol, se amplificaran y analizarán cada uno de los exones y uniones intrón - exón de los genes que se han asociado con diabetes de aparición temprana en población Mexicana a través de PCR (exones 1,3,4 y 7 del gen HNF-1 α , el exón 4 del gen HNF-4 α y los 10 exones del gen de la enzima glucocinasa).

La temperatura de alineación para la amplificación de cada fragmento se establecerá experimentalmente dependiendo de los oligonucleótidos utilizados. La amplificación se realizará en presencia de ³²P alfa-dCTP.

Los productos del PCR se desnaturalizaran a 95° C y se correrán en gel de 6% de poliacrilamida con y sin glicerol al 10%, de 2 a 8 watts por 12 - 24 horas, con excepción de los exones 4 y 7 de HNF-4 α y HNF 1 α respectivamente, los que se estudiarán por secuenciación directa.

RESULTADOS

De las cincuenta pacientes estudiadas con diabetes gestacional se encontró en 16 considerando su árbol genealógico que corresponden a familias con un posible patrón de herencia autosómico dominante compatible con el subtipo MODY.

Se analizaron en cincuenta pacientes con diabetes gestacional y en 13 pacientes sin trastorno de los carbohidratos durante el embarazo los exones 1, 3 y 4 del gen HNF-1 α y el exón 1 del gen HNF-4 α .

Con respecto al exón 1 del gen HNF-1 α se identificaron cambios de migración en 2 pacientes, en el exón 3 del gen HNF-1 α , no se encontró ningún cambio de migración, en el exón 4 del gen HNF-1 α se detectaron cambios de migración en 17 pacientes y en el exón 1 del gen HNF-4 α no se identificó algún cambio de migración.

Estos cambios de migración en las 19 pacientes pueden corresponder a posibles mutaciones, ya que estos cambios se buscaron también en 13 pacientes sanas (esta pendiente el estudio de 37 pacientes sanas para completar el grupo control).

En total se identificaron 19 pacientes con posibles mutaciones relacionadas con el fenotipo MODY (38%), lo cual corresponde al rango de prevalencia descrito en la literatura mundial, por otra parte también significa que estas mujeres desarrollarán en algún momento de su vida diabetes mellitus tipo II, con lo cual, de acuerdo a la historia natural de la enfermedad, también presentarán sus secuelas y complicaciones.

Con respecto al estudio del gen de la glucocinasa los resultados se presentarán en estudios posteriores, dado que la demostración de las alteraciones génicas representa un trabajo muy estricto y requiere de mucho tiempo.

CONCLUSIONES

Este estudio es un corte de un trabajo amplio que además de estudiar las alteraciones génicas ya descritas en pacientes con diabetes gestacional, incluye a embarazadas que cursaron con intolerancia a los carbohidratos y aquellas que obtuvieron una prueba de tamiz de glucosa alterada pero con curva de tolerancia a la glucosa oral dentro de parámetros normales. Además, se analizarán muestras de sangre de los hijos de las pacientes con diabetes gestacional e intolerancia a los carbohidratos.

La detección y manejo oportuno de la diabetes gestacional favorece la posibilidad de disminuir la frecuencia de complicaciones tanto en la madre como en el producto, es decir, la morbilidad y mortalidad del binomio, por otro lado, considerando los resultados de este estudio, podemos sugerir que la diabetes gestacional es un evento con una estrecha relación de alteraciones génicas que tendrán una manifestación importante en el futuro (diabetes mellitus), para lo cual hasta el momento no existe forma de corrección, sin embargo, pueden tomarse medidas preventivas que prolonguen el tiempo de aparición de la diabetes mellitus, como son el control de peso, la dieta, ejercicio, etc., mejorando con ello la calidad de vida del individuo portador.

Por otra parte se encuentran pendientes los resultados en cuanto a la enzima glucocinasa, que por complicado y estricto que tiene ser la búsqueda de las mutaciones en la secuencia de bases y el tiempo para la entrega del presente trabajo se presentarán en revisiones posteriores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Metzger BE, Organizing Commite. Sumary and recommendations of the Thrid International Workshop – Conference on Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes* 1991;40:197-201
2. Englegau MM, Herman WH, Smth PJ, German RR, Aubert RE. The epidemiology of diabetes and pregnancy in the U.S., 1998
3. Forsbach G, Vazquez-Lara J, Alvarez y Garcia C, Vazquez Rosales J. Diabetes and pregnancy in Mexico. *Rev Invest Clin* 1998;50(3):227-231
4. Forsbach G, Cantu Diaz C, Vazquez Lara J, Villanueva Cuellar MA, Alvarez y Garcia C, Rodriguez Ramirez E. Gestational diabetes mellitus and glucose intolerance in a Mexican population. *Int J Gynaecol Obstet* 1997;59(3):229-232
5. Lopez de la Pena XA, Cajero Avelar JJ, De Leon Romo LF. Prevalence of gestational diabetes in a group of women receiving treatment at the Mexican Institute of social security in Aguascalientes, Mexico. *Arch Med Res* 1997;28(2):281-284
6. Meza E et al. Gestational diabetes in a Mexican - U.S. border population: prevalence and epidemiology. *Rev Invest Clin* 1995;47(6):433-8
7. Coustan DR. Gestational diabetes. In *Diabetes in America*. 2nd ed. Washington, DC, U.S. Govt. Printing Office, 1995 (NIH publ. No 95-1468), p. 703-717
8. Langer O, Rodriguez DA, Xenakis EMJ, McFarland MB, Berkus MD, Arredondo F. Intensified versus conventional managment of gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:1036-1047
9. Magee MS, Walden CE, Benedetti TJ. Influence of diagnostic criteria on the incidence of gestational diabetes and perinatal morbidity. *JAMA* 1993;269:609-615
10. Cousins L. Obstetric complications. In *Diabetes mellitus and pregnancy, principles and practice*. 2nd ed. New York, Churchill Livingstone, 1995, p. 455- 468
11. O'Sullivan JB, Mahan CM. Criteria for oral glucose tolerance test in pregnancy. *Diabetes* 1964;13:278

12. O'Sullivan JB. The Boston Gestational Diabetes Studies, review and perspective. In Carbohydrate metabolism in pregnancy and the Newborn. Sutherland HW, Stowers JM, Pearson DWM, Eds. London, Springer-Verlag, 1989, p. 187-294
13. O'Sullivan JB. Diabetes after GDM. *Diabetes* 1991;40(suppl. 2);131-135
14. Metzger BE, Cho NH, Roston SM, Radvany R. Prepregnancy weight and antepartum insulin secretion predict glucose tolerance five years after gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1993;16:1598-1605
15. Coustan DR, Carpenter MW, O'Sullivan PS, Carr SR. Gestational diabetes: predictors of subsequent disordered glucose metabolism. *Am J Obstet Gynecol* 1993;168:1139-1145
16. Kjos SL et al. Gestational diabetes: the prevalence of glucose intolerance and diabetes mellitus in the first two months postpartum. *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:93-98
17. Diabetes and pregnancy. In ACOG Technical Bulletin 1994, 200
18. Carpenter MW, Coustan DR. Criteria for screening tests for gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol* 1982;144:768-773
19. Sacks DA, Abul-Fadii S, Greenspoon JS. Do the current standards for glucose tolerance testing in pregnancy represent a valid conversion of O'Sullivan's original criteria? *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:638-641
20. Neiger R, Coustan DR. Are the current ACOG glucose tolerance test criteria sensitive enough? *Obstet Gynecol* 199;78:1117-1120
21. Naylor CD, Sermer M, Chen E, Sykora K. Caesarean delivery in relation to birth weight and gestational glucose tolerance. *JAMA* 1996;275:1265-1270
22. Pettitt DJ, Bennett PH, Hanson RL, Narayan KMV, Knowler WC. Comparison of World Health Organization and National Diabetes Data Group procedures to detect abnormalities of glucose tolerance during pregnancy. *Diabetes care* 1994;17:1264-1268
23. Sacks DA et al. Toward universal criteria for gestational diabetes: the 75 gram glucose tolerance test in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1995;172:607-614

24. Deerochanawong C, Putiyanum C, Wongsuryrat M, Serirat S, Jinayon. Comparison of National Diabetes Data group and World Health Organization criteria for detecting gestational diabetes mellitus. *Diabetologia* 1996;39:1070-1073
25. Metzger BE, Coustan DR. Summary and recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1998;21(suppl. 2):B161-B167
26. Marquette GP, Klein VR, Niebyl JR. Efficacy of screening for gestational diabetes. *Am J Perinatology* 1985;2:7-14
27. Dietrich ML, Dolnicek TF, Rayburn WR. Gestational diabetes screening in a private, midwestern American population. *Am J Obstet Gynecol* 1987;156:1403-1408
28. Lucas MJ, Lowe TW, Bowe L, McIntire DD. Class A1 gestational diabetes: a meaningful diagnosis? *Obstet Gynecol* 1993;82:260-265
29. Bolanos R, Abas M, Zea F, Herrerias T, Barranco A. Analysis of the 50g glucose test at the National Institute of Perinatology. *Gynecol Obstet Mex* 1997;65:52-55
30. Tamez Perez et al. Experience with a screening program for gestational diabetes. *Rev Invest Clin* 1993;45(5):453-456
31. Herman WH et al. Abnormal insulin secretion, not insulin resistance, is the genetic or primary of MODY in the RW pedigree. *Diabetes* 1994;43:40-46
32. Byrne et al. Altered insulin secretory response to glucose in diabetic and nondiabetic subjects with mutations in the diabetes susceptibility gene MODY3 on chromosome 12. *Diabetes* 1996;45:1503-1510
33. Clement et al. Assessment of insulin sensitivity in glucokinase-deficient subjects. *Diabetologia* 1996;39:82-90
34. Vaxillaire M et al. A gene for maturity onset diabetes of the young (MODY) maps to chromosome 12q. *Nature genet* 1995;9:418-423
35. Yamagata K et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor - 1 α gene in maturity - onset diabetes of the de young (MODY3). *Nature* 1996;384:445-458

36. Froguel P et al. Close linkage of glucokinase locus on chromosome 7p to early onset non insulin dependent diabetes mellitus. *Nature* 1992;356:162-164
37. Vionnet N et al. Nonsense mutation in the glucokinase gene causes early onset non insulin dependent diabetes mellitus. *Nature* 1992;356:721-1488
38. Bell GI et al. Gene for non insulin dependent diabetes mellitus (maturity onset diabetes of the young subtype) is linked to DNA polymorphism on human chromosome 20q. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:1484-1488
39. Yamagata K et al. Mutations in the hepatocyte factor - 4 α gene in maturity onset diabetes of the young (MODY1). *Nature* 1996;384:458-460
40. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of diabetes mellitus. *Diabetes care* 2000;23(suppl 1):S32-S42