



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**Instituto Nacional De Perinatología
Isidro Espinosa De Los Reyes**

**Investigación Genómica De Pacientes
Con Diabetes Mellitus Gestacional En México**

Tesis

**Que Para Obtener El Título De
ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA**

PRESENTA

DRA. MARIA DE LOURDES FLORES ISLAS

DR VALENTÍN IBARRA CHAVARRÍA

**Subdirector Médico INPerIER
Profesor Titular del Curso**

DIRECTORES DE TESIS: Dr. Adalberto Parra Covarrubias
Jefe del Departamento de Endocrinología INPerIER

Dra Maria Teresa Tusié Luna
Jefa de la Unidad de Biología Molecular y Medicina
Genómica INCMNSZ y del Instituto de Investigaciones
Biomédicas de la UNAM



**INPer
MÉXICO DF**

2007



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.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

Dr. Enrique Alfonso Gómez Sánchez
Encargado de la Dirección de Enseñanza

Dr. Valentín Ibarra Chavarría
Subdirector Médico
Profesor Titular del Curso

Dr. Adalberto Parra Covarrubias
Jefe del Departamento de Endocrinología
Director de Tesis INPerIER*

Dra. Teresa Tusié Luna
Jefa de la Unidad de Biología Molecular y
Medicina Genómica INCMNSZ** y del Instituto
de Investigaciones Biomédicas de la UNAM
Directora de Tesis

MÉXICO DF

2007

*Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes

**Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

*A mi esposo por recorrer junto a mí este pasaje y brindarme su
apoyo incondicional en todo momento.*

A mi madre por mostrarme el camino e impulsarme a seguirlo.

En especial para Abigail...

Índice

Generalidades de la diabetes mellitus gestacional.....	1
Metabolismo de los carbohidratos durante el embarazo.....	1
Prevalencia de la diabetes mellitus gestacional.....	2
Factores de riesgo para diabetes mellitus gestacional.....	5
Pruebas de escrutinio para la diabetes mellitus gestacional.....	6
Pruebas diagnósticas para la diabetes mellitus gestacional.....	8
Genética de la diabetes mellitus gestacional.....	12
Justificación.....	15
Objetivos e hipótesis.....	16
Diseño del estudio.....	16
Metodología.....	16
Resultados.....	19
Discusión.....	29
Conclusiones.....	31
Bibliografía.....	32
Currículum vitae.....	35

RESUMEN

La diabetes mellitus gestacional (DMG) es un padecimiento con importantes afecciones maternas y fetales, su prevalencia va del 7 al 15% en la población mexicana, su fisiopatología es parecida a la Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) y de hecho más del 50% de las pacientes que padecieron DMG desarrollaron DM2 en los 10 años posteriores al parto. Se han descrito distintos genes involucrados en el desarrollo de la DM2 mismos que se sugieren como responsables de la DMG, para investigarlo se realiza el presente estudio en el que se pretende demostrar dicha asociación.

Se analizan un total de 378 pacientes de las cuales 165 son casos de DMG diagnosticados de acuerdo a criterios internacionales y 213 son controles sanos, mediante técnicas de pirosecuenciación de las regiones sugeridas se analizan tres de los genes involucrados en el desarrollo de la DM2, (USF1, HNF4a y ABCA1), el diseño del estudio y análisis de resultados involucra la obtención de Odds Ratio e intervalos de confianza mismos que en ninguno de los genes resultaron significativos, concluyendo que en este estudio no existe evidencia de asociación para ninguno de los polimorfismos estudiados con DMG en nuestra población.

Es necesario realizar más estudios como este para descifrar la etiopatogenia de esta entidad y de esta forma poder ofrecer algo más a las pacientes con este padecimiento.

ABSTRACT

Gestational diabetes (GD) is an important disease with significant fetal and maternal implications. The prevalence for this entity is around 7-15% in Mexican population, physiopathology seems diabetes mellitus 2 and in fact 50% of patients with GD will have DM2 10 years later to the pregnancy resolution. It has been described different genes involved in these entity both not found in our population, for this cause is the present effort in which we pretend display the association between genes described for other population in ours.

The present study involve 378 patients from Instituto Nacional de Perinatología, 165 cases diagnosed by accepted international criteria's and 213 healthy controls, by pyrosequencing we analyzed from 3 genes (USF1, HNF4a, ABCA1) the regions involved in DM2's etiology suggested like responsible in the development of gestational diabetes. The research implicated OR and CI 95% revision but none was significant and in conclusion there is no association between the studied polymorphisms and the disease in our population.

Analysis of other genes will be required to uncover the etiology of the disease before genetic information could help to predict GDM in pregnancies.

GENERALIDADES DE LA DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

El primer caso de diabetes mellitus gestacional (DMG) fue reportado en la literatura médica en Berlín por Bennewitz en 1824 y para 1945 se utilizaba el término “prediabetes en el embarazo”. No fue sino hasta 1951 en que se utilizó por primera vez el término diabetes gestacional por el danés Pedersen, mismo que años mas tarde propuso la primer teoría para el desarrollo de la macrosomía. ⁽ⁱ⁾

En Estados Unidos la ciudad de Boston toma parte importante en la historia de la DMG, ya que en esta ciudad se encuentran los investigadores Elliott P. Joslin, Priscilla White y John O’Sullivan que para la década de 1960 realizaron grandes contribuciones en el campo de la investigación de esta enfermedad.

METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS DURANTE EL EMBARAZO

En el ser humano la regulación de las concentraciones de glucosa en sangre es mediada fundamentalmente por la hormona insulina. Después de una ingesta de carbohidratos, la glucosa sanguínea se incrementa rápidamente y este cambio es inmediatamente detectado por las células B del páncreas que son las productoras de insulina. Una vez que se une a su receptor, la insulina promueve la captación de glucosa por el músculo esquelético, estimula la síntesis de glucógeno en hígado y en músculo y suprime la producción de glucosa por el hígado, así como la lipólisis en los adipocitos. Cuando las concentraciones de glucosa retornan al valor basal, la producción de insulina disminuye y ahora es el hígado el que toma el control de la producción de glucosa hasta la siguiente ingesta de alimentos. Durante un ayuno prolongado los niveles de insulina disminuyen aún más y es entonces cuando surge la lipólisis como proveedora de sustratos para la gluconeogénesis y esto mantiene la homeostasis metabólica corporal.

Durante el embarazo ocurren grandes cambios en el metabolismo normal, el mayor de ellos es el desarrollo de resistencia a la insulina que se inicia en el segundo trimestre y durante el tercer trimestre puede aumentar hasta en un 50%. Estos cambios son atribuidos a hormonas presentes durante estas etapas de la gestación, tales como: el lactógeno placentario (una variante placentaria de la hormona del crecimiento), cortisol, estrógenos y prolactina, además del incremento ponderal propio del embarazo y el incremento en la ingesta calórica.

En cierta forma la resistencia a la insulina es útil para permitir el crecimiento normal del feto, al permitir que las moléculas de glucosa pasen a través de la placenta por medio de transporte facilitado. En promedio, las concentraciones de glucosa fetales serán 20-40mg/dL menores que las concentraciones maternas. Como el acceso de las hormonas reguladoras de la glucosa, incluidas la insulina, se encuentran bloqueados por la barrera placentaria, el metabolismo de la glucosa en el feto se realizará directamente por la producción de insulina fetal. ⁽ⁱⁱ⁾

Debido a esta resistencia, el embarazo se caracteriza por una elevada concentración de insulina que induce una mayor utilización periférica de glucosa para mantener la glucemia dentro de límites normales. Si esta compensación no ocurre entonces se desarrolla la llamada DMG.

Entonces la DMG se define como la intolerancia a la glucosa que aparece o es reconocida por primera vez durante el embarazo y desaparece posterior al parto. Esta definición ha sufrido diversos cambios en los últimos 10 años. ⁽ⁱⁱⁱ⁾

PREVALENCIA DE LA DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

La prevalencia exacta de la DMG es variable y los reportes en la literatura difieren dependiendo de las características de la población estudiada y los criterios utilizados para diagnosticarla. Sin embargo, en los últimos años se ha observado una tendencia generalizada al incremento de este padecimiento en todo el mundo, debido a causas tales como la epidemia de obesidad debida a cambios en el estilo de vida, la inactividad física y el consumo de dietas ricas en carbohidratos refinados y grasas.

En 1992 un estudio reportó una incidencia de 2.4% para mujeres con bajo riesgo y de 3.2% para las de alto riesgo. Al dividir los grupos en etnias, los resultados fueron un 0.4% para mujeres Caucasicas, 1.5% para raza negra, 3.5-7.3% para Asiáticas, 4.4% para mujeres de la India y 16% para las nativas de Norteamérica. ^(iv)

En una revisión reciente publicada en 2007 por Hunt se analizan los estudios realizados en los últimos 10 años en cuanto a prevalencia en diversas poblaciones, mismos que incluyen una muestra significativa de la población general en las diferentes áreas geográficas estudiadas y especificando en cada caso, los criterios diagnósticos. Se observó que la prevalencia de DMG puede

variar dependiendo de éstos criterios, de la metodología del estudio, del país de residencia, la etnia y el grupo racial. ^(v)

Así, dentro de los estudios analizados realizados en la población general , podemos mencionar una cohorte retrospectiva descrita por Ferrara en 2002 en el Norte de Carolina en la cual se practicó tamizaje para DMG en el 93% de la muestra total y se observó un 2.5% de prevalencia de DMG en mujeres blancas y 5.7% en Asiáticas utilizando los criterios del National Diabetes Data Group (NDDG); cuando se utilizaron los criterios de la American Diabetes Association (ADA) los resultados fueron 3.9% y 8.3%, respectivamente. Esto es un claro ejemplo de que el criterio para hacer el diagnóstico puede influir en el grado de prevalencia de la enfermedad. ^(vi)

De los estudios analizados podemos mencionar los siguientes porcentajes: (puede observarse como incrementa cuando los estudios son realizados directamente en hospitales).

Población	Prevalencia (población general)	Prevalencia (por hospital)	Criterio Diagnóstico
Afro-Americana	10.6%		NDDG
Mexicana	3.2%	3.2-8.7%	NDDG, ADA, WHO
Asiática	10.5%		NDDG
Nativas Norteamericanas	8.4-12.8%		NDDG
Europeas (Holanda, Alemania, Suecia, Dinamarca, Reino Unido)	0.6-3.6%		Criterios locales
Española	3.3%	8.8%	NDDG
Italiana	6.3-22.3% ⁽¹⁾	4.6-8.7% ⁽²⁾	ADA ⁽¹⁾ NDDG ⁽²⁾
Turquía	15.5%	4.1-4.7%	NDDG
Australiana	3.6-4.3%	5.2%	ADIPS
China	2.3%	15%	WHO
Japonesa	2.9%	1.8%	JSOG

Tabla 1.- Abreviaciones: NDDG=National Diabetes Data Group; ADA=American Diabetes Association; ADIPS=Australasian Diabetes In Pregnancy Society; JSOG Japanese Society of Obstetrics and Gynecology; WHO World Health Organization.(v)

(1) primer columna (2) segunda columna

Se incluyeron además, estudios de hospitales, uno de los cuales se realizó en México en el Hospital Universitario de Monterrey por Santos-Ayarzagotia y publicado en 2006 en el que se reporta una prevalencia de 3.2% , 4.1% y 8.7% con los criterios de NDDG, ADA y WHO, respectivamente.^(vii)

En México pueden mencionarse además otros estudios de prevalencia que concuerdan con el porcentaje anteriormente mencionado, entre ellos el reportado por Forsbach 2003 con 3.9% realizado en el Instituto Mexicano del Seguro Social en la ciudad de Monterrey y el de Tamez-Pérez en 1993 en donde reporta una prevalencia de 6%. Ambos estudios utilizaron los criterios diagnósticos de la ADA.^(viii,ix)

En el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (INPerIER) se han llevado a cabo diversas investigaciones al respecto. Ramirez-Torres en 2005 publicó resultados sobre una cohorte prospectiva de 4 años que involucró 8074 pacientes en la que se puede observar una prevalencia para DMG de 8.4%, de las cuales el 52.2% se diagnostica con Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) durante la reclasificación en el puerperio.^(x)

El incremento paulatino en la prevalencia mundial puede observarse en los siguientes porcentajes principalmente:

Población	Prevalencia previa	Prevalencia posterior
Nativas norteamericanas	2.1% (1994)	4.1% (2002)
Canadienses	2.2% (1991)	2.8% (1997)

Tabla 2

El mayor cambio observado en la prevalencia fue a raíz de la 4ta conferencia internacional del NDDG en 1997, en la cual se establecieron nuevos criterios diagnósticos al disminuir las concentraciones de glucemia para hacer el diagnóstico de DMG. Esto es solo una visión de la tendencia al incremento de esta enfermedad.

FACTORES DE RIESGO PARA DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

Se han propuesto diferentes características fenotípicas y conductuales denominadas factores de riesgo, mismas que hoy en día son tomados en cuenta para realizar pruebas de tamizaje y diagnósticas entre la población.

De esta forma aquellas mujeres que tienen factores de riesgo para desarrollar DMG, tales como edad mayor a 25 años, IMC pregestacional de más de 25, el origen étnico de acuerdo a los porcentajes que mencionamos en las tablas antes mostradas, el antecedente de familiares en primer grado con DMG o DM2, la propia historia de DMG, así como los antecedentes obstétricos son vigiladas estrechamente desde el inicio del embarazo ya que estos son considerados marcadores para incrementar las posibilidades de desarrollar la enfermedad.

Dependiendo de cuales factores de riesgo están presentes las mujeres son sometidas a diagnóstico oportuno antes que el resto de la población, identificando aquellas pacientes que se denominan de alto riesgo con presencia de los siguientes caracteres: mayores de 25^a, IMC>25, historia familiar positiva para DM2, origen hispánico.

En el caso particular de la población Mexicana se debe tomar en cuenta que, todas las mujeres en edad reproductiva pertenecen a una etnia francamente predispuesta, tanto genética como ambientalmente, al padecimiento de la enfermedad.

La tendencia de las mujeres actuales hacia la superación personal, ha originado que la edad para tener a su primer hijo sobrepase los 25 años, esto último es considerado factor de riesgo para el desarrollo de DMG. Además, dentro de los factores de riesgo que afectan específicamente a la población Mexicana debemos tomar en cuenta que existen estudios que indican que en México se encuentra la tasa mundial más alta de obesidad y sobrepeso de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud. ^(xi)

PRUEBAS DE ESCRUTINIO PARA LA DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

Desde hace muchos años se ha recomendado hacer la prueba de tamiz de glucosa (TG) como una prueba de escrutinio, para identificar a aquellas mujeres embarazadas que tienen la probabilidad de desarrollar DMG. Por lo tanto, es una prueba de escrutinio; no es una prueba diagnóstica. Consiste en administrar una carga oral de 50g de glucosa y una hora después determinar la concentración sérica o plasmática de glucosa. Si ésta es $\geq 140\text{mg/dL}$ la prueba es positiva y debe procederse de inmediato a realizar una prueba diagnóstica. Así se puede identificar aproximadamente al 80% de las mujeres con DMG con una sensibilidad de 68% y una especificidad de 82%, que aumenta al 90% con una sensibilidad de 79% y una especificidad de 87% si el nivel de corte se establece en $\geq 130\text{mg/dL}$.^(ii, xii) Es preciso subrayar tres aspectos: a) La prueba NO implica la necesidad de realizar una determinación de glucosa ANTES de administrar la carga oral de glucosa; b) La prueba se puede realizar a cualquier hora del día y sin importar la hora de ingestión de la última comida y c) En poblaciones con alto riesgo de DMG, el nivel de corte debe ser $\geq 130\text{mg/dL}$.

En relación a esta prueba de escrutinio, que abreviaremos como TG-1h. 50g surgen varias preguntas:

1) ¿Es necesario realizar el TG-1h, 50 g?

A pesar del debate continuo entre los autores “a favor” o “en contra” y sus variados argumentos, creemos que en nuestra población mexicana de mujeres embarazadas, considerada como de “alto” riesgo, sí debemos realizar esta prueba de tamizaje o escrutinio. Ello nos ayudará indudablemente a disminuir la mortalidad materna y perinatal.

2) ¿A quien debemos aplicar el TG-1h, 50g?

Existen algunos factores que identifican a las mujeres con un riesgo bajo, para desarrollar algún tipo de intolerancia a los carbohidratos durante la gestación y en ellas, no es necesario realizar el TG-1h, 50g, siempre y cuando cumplan con todos y cada uno de los requisitos:

- Edad menor a 25 años
- Peso corporal pregestacional normal
- No tener historia familiar (parientes de primer grado) de DM2
- No tener historia personal de alteraciones en el metabolismo de la glucosa
- No tener historia familiar de complicaciones obstétricas
- No pertenecer a un grupo étnico o racial con alta prevalencia de DM2

Como puede verse, ninguna mujer mexicana embarazada puede considerarse con “bajo” riesgo, puesto que todas pertenecen a un grupo étnico, el Hispano - Americano, con una alta prevalencia de DM2. Aunado a ello, esta la creciente frecuencia de mujeres mayores de 25 años que se embarazan, la tasa mundial más alta de obesidad y sobrepeso, una frecuencia $\geq 50\%$ de DM2 en parientes de primer grado, la elevada frecuencia de abortos, partos prematuros, ruptura prematura de membranas y preeclampsia, etc. De tal forma, que en México todas las mujeres embarazadas deberían tener la prueba de escrutinio o tamizaje para DM2.

3) ¿Cuándo debe realizarse el TG-1h, 50g?

La recomendación, internacionalmente aceptada, es que aquellas mujeres embarazadas con alto riesgo para DMG, es decir todas las mujeres mexicanas embarazadas, deben tener la prueba de TG-1h, 50g , en la primera visita obstétrica y yo agregaría, o tan pronto termine el primer trimestre del embarazo, en las semanas 14-15 de gestación. Si la prueba es normal ($\leq 129\text{mg/dL}$ a la hora), deberá repetirse entre la semana 24-28 de la gestación; pero si es anormal ($\geq 130\text{mg/dL}$), se debe proceder de inmediato a realizar alguna de las pruebas diagnósticas o confirmatorias del diagnóstico de DMG.

4) ¿Cuál es el valor autentico del TG-1h 50g?

En nuestra población mexicana, una mujer embarazada con una glucemia $\geq 130\text{mg/dL}$, debe considerarse que tiene una prueba positiva y debe someterse de inmediato a una prueba diagnóstica de DMG.

Sin embargo, existe una excepción a esta regla: Una mujer embarazada que se presenta por primera vez con una glucemia en ayuno de $\geq 126\text{mg/dL}$ ó una glucemia al azar de $\geq 200\text{mg/dL}$. Si se acompaña de síntomas y/o signos claros de hiperglucemia, el diagnóstico de DMG queda establecido. Si no existen datos clínicos claros de hiperglucemia, la(s) cifra(s) anormal(es) de glucemia debe(n) confirmarse en un día posterior. Si así ocurre, nuevamente el diagnóstico de DMG se corrobora y dicha paciente no necesita ser sometida a ninguna prueba adicional de escrutinio o de diagnóstico.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS PARA LA DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

En los Estados Unidos de Norteamérica (USA) el criterio para considerar una tolerancia a la glucosa como anormal durante la gestación, sigue siendo el propuesto desde 1982, ^(xiii) basado en la realización de una curva de tolerancia oral a la glucosa de 3 horas, usando una carga oral de 100g de glucosa anhidra (CTOG-3h, 100g) y un método específico para determinar las concentraciones de glucosa (como el de la glucosa-oxidasa), en plasma o suero de sangre venosa. ^(xiv) El uso alternativo de una CTOG de 2 horas, con una carga oral de 75g (CTOG-2h, 75g) ^(xv) y usando-en ayuno, a la hora y a las 2 horas- como criterio diagnóstico, con los mismos valores numéricos que en la CTOG-3h 100g, has sido recientemente avalado por la Asociación Americana de Diabetes (American Diabetes Association, ADA). ^(xii,xiv)

Los valores de la CTOG-3h 100g, son los criterios mayoritariamente utilizados en USA. Por otra parte, desde 1985 la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization, WHO) propuso su criterio para el diagnóstico de DM en la población general. Sin embargo, en la actualidad la WHO reconoce un solo grupo como DMG (lo que antes consideraba como “intolerancia” gestacional a la glucosa y el diagnóstico de DMG, propiamente dicho). ^(xvi) Este criterio es el más usado en el mundo a excepción de USA. Los tres criterios mencionados se resumen en la siguiente tabla:

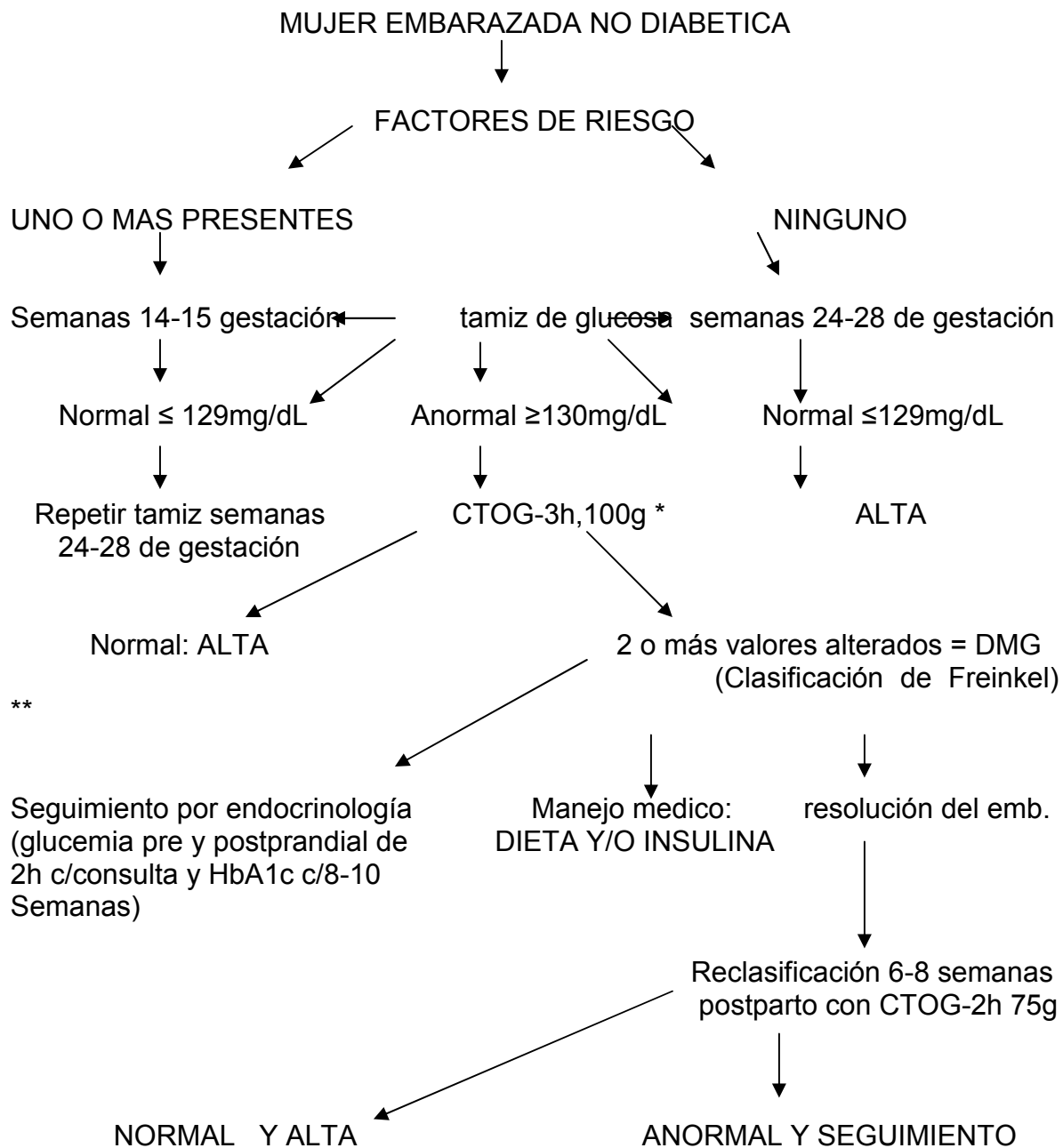
Criterio	Ayuno, 1h,2h,3h (mg/dL)	Ayuno, 1h,2h,3h (mmol/L)
CTOG-3h 100g ADA	95,180,155,140	5.3,10,8.6,7.8
CTOG-2h 75g ADA	95,180,155,-	5.3,10,8,6,-
WHO	126, -, 140, -	7, -, 7.8, -

Tabla 3.- Abreviaciones: CTOG Curva de Tolerancia Oral a la Glucosa.
WHO World Health Organization.
- = sin valor referido

Si la paciente embarazada se presenta para ser evaluada por primera vez, por el riesgo de DMG, se pueden seguir dos esquemas:

a)- Esquema de una etapa. Después de la semana 14-15 del embarazo y tan pronto como sea posible, realizar cualquiera de las tres pruebas diagnósticas para DMG mencionadas en la tabla previa. No se necesita realizar previamente ninguna prueba de escrutinio o tamizaje. Este esquema puede ser altamente recomendable para poblaciones de alto riesgo para DMG, como la nuestra, no solo porque “disminuye los costos”, sino fundamentalmente, porque se gana tiempo y se puede empezar el manejo dietético (sin o con tratamiento adicional con insulina) en una etapa más temprana del embarazo. Seguramente esto nos ayudará a disminuir la morbilidad materna y perinatal, por el simple hecho de controlar el incremento del peso corporal durante la gestación y los niveles maternos de glucosa, sin menospreciar el resto de medidas terapéuticas encaminadas a otros objetivos como el control de las cifras tensionales. ^(xvii)

b) Esquema en dos etapas. Tan pronto como sea posible después de la semana 14-15 de gestación, realizar la prueba de TG-1h, 50g. Si la glucemia a la hora es ≤ 129 mg/dL, la prueba se considera “negativa” y deberá repetirse invariablemente entre las semanas 24-28 de la gestación. Si la glucemia a la hora es ≥ 130 mg/dL, la prueba se considera “positiva” y debe procederse de inmediato a la realización de cualquiera de las tres pruebas diagnósticas enunciadas en la tabla previa y proceder o no al diagnóstico de la DMG según se cumplan o no los requisitos específicos. En la siguiente figura se representa el algoritmo aquí descrito para el estudio de una mujer embarazada y que es el que se sigue en el Instituto nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (INPerIER).



*Se puede optar por cualquiera de las tres pruebas diagnósticas mencionadas en la tabla 3.
 ** El criterio diagnóstico varía según la prueba utilizada, de acuerdo con lo indicado en la tabla 3.
 FIG I

Lo curioso de esta situación, es que independientemente de que se seleccione el esquema de una o de dos etapas, el diagnóstico de DMG se hará siempre en base a una CTOG, en cualquiera de sus tres variedades. Así es que la pregunta obligada es: ¿Realmente es necesario o adecuado usar el esquema de dos etapas en una población de mujeres con alto riesgo para DMG, como lo son nuestras mujeres mexicanas? La respuesta la debe encontrar cada uno de nuestros lectores. Por lo pronto sea suficiente mencionar que en el INPerIER el Departamento de Endocrinología, esta llevando a cabo un estudio encaminado a validar en nuestra población, el esquema de una o de dos etapas y cual de las tres variedades de CTOG, es la que nos brinda la mayor sensibilidad y especificidad, para el diagnóstico de la DMG

Existe un último punto que debe mencionarse, que si bien no esta directamente involucrado con el diagnóstico de DMG, sí se deriva del mismo y tiene relevancia con el tratamiento y el futuro postgestacional de la mujer con DMG. Considerando la CTOG que se utiliza para hacer el diagnóstico de DMG, debemos clasificar a nuestras pacientes basándonos en la glucemia de ayuno, según lo propuesto por Freinkel. ^(xviii)

DMG A1 <105 mg/dL
DMG A2 105-129mg/dL
DMG B1 ≥130mg/dL

En un estudio recientemente realizado en el INPerIER, se ofrecen evidencias que demuestran que las mujeres embarazadas con diagnóstico de DMGB1 tienen: ^(x)

- Mayor morbilidad materna (infección de vías urinarias, preeclampsia, y ruptura prematura de membranas).
- Mayor frecuencia en el uso de insulina para su control glucémico y desde edades gestacionales más tempranas.
- Mayor incidencia de recién nacidos con peso corporal <2500 ó >4000g.
- Un mayor número de ellas quedan con DM2 en el periodo postgestacional inmediato (6-8 semanas postgestacionales)

De tal forma, que la clasificación de la paciente embarazada con DMG resulta no solo un acto de preciosismo académico, sino más bien un acto con trascendencia terapéutica y epidemiológica.

GENÉTICA DE LA DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

Debido a que se ha reportado que hasta el 52.2% de mujeres con DMG desarrollaron algún grado de intolerancia a la glucosa aproximadamente una década después del parto, aún sin antecedentes familiares algunos investigadores se han dado a la tarea de buscar susceptibilidad genética que predisponga al desarrollo de las 2 entidades ^(xix)

Se han realizado diversos estudios con el fin de conocer los genes y las variantes alélicas específicas que se relacionan con el desarrollo de esta enfermedad. Algunos de los genes que se han estudiado son genes de susceptibilidad para la DM2. Dentro de los genes que se han analizado se encuentran el gen de la calpaína, el gen que codifica para el receptor 1 de sulfonilurea (SUR1), y los genes MODY: el gen de la glucocinasa (GCK), el gen HNF4- α , e IPF-1; también los genes mitocondriales: el gen del RNAt de la leucina y el gen de la NADH deshidrogenasa 1. ^(xx,xxix,xxx,xxxii)

En un estudio que incluyó 40 pacientes con DMG en la ciudad de Viena, el 20% de ellas presentaban el haplotipo 112/121 en el gen de la calpaína, mientras que en los controles este haplotipo no se encontró. ^(xxi) En mujeres inglesas con diabetes gestacional recurrente, hiperglucemia en el ayuno posparto e historia familiar de diabetes tipo 2, se presentó una alta prevalencia de mutaciones en GCK. ^(xxii)

Mutaciones en los genes relacionados de la glucocinasa y del factor transcripcional HNF-4 α han sido implicados en el desarrollo de la DMG en otras poblaciones. Por lo tanto es importante el estudio de estos y otros genes involucrados en la regulación de la secreción de la insulina o de procesos fisiológicos que reducen la liberación de la hormona (e.g. depósito de triglicéridos en tejidos anormales o concentraciones altas de ácidos grasos).

Los genes USF-1, HNF-4, ABCA1 y FT7L2 son 4 de los posibles genes de susceptibilidad para el desarrollo de DMG y/o distintos rasgos metabólicos asociados en mujeres mexicanas. Así mismo se ha observado que el gen ABCA1 (ATP-binding cassette transporter A1) es el responsable de la enfermedad de

Tánger una entidad caracterizada por bajos niveles de HDL-C e hipoalfalipoproteinemia, este gen también se ha asociado con la diferenciación de los adipocitos, y con la DM2.

En estudios realizados en población mexicana se ha observado que una variante funcional del gen ABCA1 (R230C) tiene una prevalencia de hasta 41.2% ; este gen ha demostrado un RR de 4.5 con un IC 95% (2.4-8.9) para el desarrollo de DM2 en los estudios realizados en población japonesa, Debido a la alta prevalencia en nuestra población de esta patología se hace indispensable el estudio de este gen. ^(xxiii)

El factor estimulante de la transcripción río arriba 1 (Upstream Stimulating Factor, USF-1) es miembro de una familia de factores de transcripción eucarióticos conservados evolutivamente y constituidos por una estructura básica de hélice-vuelta-hélice y un cierre de leucina, ha sido asociado a hiperlipidemia familiar combinada (FHCL) y distintos rasgos relacionados a la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico. Este gen se localiza en un locus en el cromosoma 1q22-23 asociado a diabetes tipo 2. ^(xxiv,xxv)

USF-1 se expresa de manera ubicua y participa en diferentes procesos transcripcionales, mediando el reclutamiento de las enzimas encargadas del remodelaje de la cromatina y además interactuando con coactivadores y miembros del complejo de preiniciación de la transcripción. USF-1 es un factor clave en diversas rutas metabólicas, incluyendo las respuestas tanto inmune como de estrés, el ciclo celular y la proliferación celular, el metabolismo de lípidos y carbohidratos. ^(xxv)

Debido a que el gen USF-1 se ubica en una región con evidencia de ligamiento para DM2 y a que se ha visto que participa en vías metabólicas relacionadas con los carbohidratos, se ha analizado en diversas poblaciones para evidenciar su posible asociación a la DM2 y a diversos rasgos metabólicos relacionados.

En un estudio realizado recientemente en población China, se analizaron tres SNP's (single nucleotide polymorphism): **rs3737787**, **rs2516841** y **rs2516839**, localizados en el gen USF-1 con el propósito de investigar el posible ligamiento y

asociación de este gen a la DM2 y a síndrome metabólico en dicha población; se estudiaron familias y casos-contróles. Se encontró una asociación significativa de estos polimorfismos de manera individual y con haplotipos a la DM2 y rasgos asociados al síndrome metabólico en las familias analizadas; sin embargo, en los casos no se encontró asociación a la DM2 ni al síndrome metabólico.

En otro estudio realizado en población caucásica francesa, se analizó la contribución de ocho SNP's a la susceptibilidad para el desarrollo de DM2. Ninguno de los 8 SNP's analizados, incluyendo 2 SNP's previamente asociados a hiperlipidemia familiar combinada, mostraron asociación a DM2, por lo que se concluyó que no había evidencia de que la variación genética en USF-1 contribuye a la susceptibilidad de desarrollar DM2 en población caucásica francesa. ^(xxvi)

El gen HNF4- α codifica para el factor nuclear de hepatocitos 4 α (HNF-4 α), esta proteína es miembro de la superfamilia de factores de transcripción dependientes de ligando y juega un papel importante en el desarrollo, la diferenciación celular y el metabolismo del páncreas endocrino y es requerido también para el funcionamiento normal del intestino, el hígado y el riñón. Este gen se localiza en el cromosoma 20q12-13.1 en un locus de susceptibilidad para la DM2 corroborado en distintas poblaciones. Es responsable de una forma monogénica de la diabetes denominada MODY (maturity onset diabetes of the young) caracterizada por una disminución en la secreción de la insulina. ^(xxvii)

Mutaciones en este gen y otros genes MODY (IPF-1, HNF1 α) se han relacionado con la susceptibilidad al desarrollo de la DM2. Por ejemplo, variantes de secuencia en el gen IPF-1 se han descrito en pacientes con DM2 de inicio tardío. ^(xxviii, xxix)

Por su parte, mutaciones en los genes HNF1 α , IPF-1 y glucocinasa se han identificado en pacientes con diabetes gestacional mostrando con ello que estos genes participan tanto en las formas monogénicas como poligénicas de la enfermedad. ^(xxii, xxx, xxxi)

Adicionalmente existen numerosos estudios de mapeo para la DM2 que muestran evidencia de ligamiento a la región 20q12-13.1, por lo que se ha evaluado la asociación de diferentes polimorfismos (SNP's) que se encuentran en

la región promotora y la región codificante de HNF-4 α con la DM2 en diferentes poblaciones. Por ejemplo en poblaciones de finlandeses y judíos se ha demostrado una fuerte asociación entre SNP's del gen y la DM2 mientras que en una población de indios Pima se observó que estas mismas variantes confieren una susceptibilidad menor a la DM2. ^(xxxii)

En contraparte existen estudios donde no se encontró ninguna asociación entre estos mismos polimorfismos y la DM2 en diferentes poblaciones como Suecos, Canadienses y Polacos. ^(xxxiii,xxxiv, xxxv)

Adicionalmente se ha demostrado que mujeres con mutaciones en distintos genes MODY tienen un mayor riesgo al desarrollo de DMG. ^(xxxvi)

Con respecto al comportamiento de las variantes en el gen HNF-4 α en población mexicana, nuestro grupo de investigación recientemente publicó un estudio de asociación de dichas variantes con niveles de lípidos séricos y síndrome metabólico. Los SNP's estudiados (**rs6031558, rs745975, rs3212198, rs2425640**) se asociaron al riesgo de presentar síndrome metabólico. ^(xxxvii)

En resumen existe evidencia de que los genes antes mencionados tienen relación directa con la aparición de DM2, y que dicha relación difiere entre poblaciones, por lo que es necesario su estudio en las pacientes de nuestra población. Se analizan estos genes debido a que el 50 % o más de las pacientes que manifestaron DMG culmina con el desarrollo a 10 años de DM2 por lo que pudiese parecer que la DMG fuera una primera manifestación de esta enfermedad.

JUSTIFICACIÓN

En México la prevalencia de DMG se estima entre el 7-15% de acuerdo a diferentes estudios y esta entidad complica el embarazo con posibles desenlaces adversos tanto para el feto como para la madre. En este sentido es importante identificar el componente genético de riesgo a la DMG en nuestra población. Esta información es fundamental para la comprensión de los mecanismos y rutas bioquímicas implicadas en la fisiopatología de esta entidad y es potencialmente útil también para la identificación de las mujeres en riesgo de manifestar DMG incluso antes del embarazo, con el fin de prevenir las complicaciones asociadas a esta entidad.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

OBJETIVO

Determinar la contribución de distintos polimorfismos de los genes *USF-1*, *HNF-4 α* y *ABCA1* como posibles alélos de susceptibilidad en el desarrollo de la diabetes gestacional en pacientes mexicanas.

HIPÓTESIS

Polimorfismos de los genes *USF-1* y *HNF-4 α* y *ABCA1* están asociados al desarrollo de diabetes gestacional en pacientes mexicanas.

DISEÑO DEL ESTUDIO

TIPO DE DISEÑO: transversal comparativo

EN RELACIÓN AL MÉTODO DE OBSERVACIÓN: observacional

EN RELACIÓN AL TIPO DE ANÁLISIS: analítico

EN RELACIÓN A LA TEMPORALIDAD: transversal

METODOLOGÍA

LUGAR Y DURACIÓN.

Se realizará el reclutamiento de pacientes en el Instituto Nacional de Perinatología y se llevara a cabo el análisis de las muestras obtenidas en la Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica en Instituto Nacional de Ciencias Medicas y Nutrición. Tendrá una duración de 2 años.

UNIVERSO

Mujeres con resolución del embarazo en el Instituto Nacional de Perinatología que bajo criterios establecidos se diagnosticaron con DMG, controles.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.

Inclusión

- a) Resolución del embarazo en el INPerIER, conforme a los criterios institucionales de admisión.
- b) Diagnostico de DG de acuerdo a los criterios de Carpenter y Counstan 1982. (grupo de casos)
- c) Diagnostico de paciente sin alteración con criterios de Carpenter y Counstan (grupo control)
- d) Que acepten participar en el estudio mediante firma de una carta de consentimiento informado.

Exclusión

- a) Pacientes que no acepten participar en el estudio
- b) Pacientes que acepten participar y no acudan a la toma de la muestra
- c) Pacientes con valores de curva de reclasificación posparto compatibles con DM2.

VARIABLES EN ESTUDIO

VARIABLES dependientes

- a)DMG.
- b)Curva de tolerancia a la glucosa Normal

VARIABLES independientes

- A) edad
- B) índice de masa corporal
- C) complicaciones durante el embarazo
- D) Mutación en el gen USF1
- E) Mutación en el gen HNF 4 α
- F) Mutación en el gen ABCA1

TAMAÑO DE LA MUESTRA

De acuerdo con la incidencia de la DMG se estima que se requieren al menos 200 casos y 200 controles para identificar asociación de SNP's particulares o haplotipos específicos de SNP's en cada uno de los genes. El grupo de pacientes estará constituido por 200 mujeres mexicanas diagnosticadas con DG, de acuerdo a los criterios de Carpenter y Constan.^(Error! Bookmark not defined.) El grupo control estará compuesto por 200 mujeres con curva de tolerancia oral a la glucosa normal realizada en la misma edad gestacional que el grupo de los casos.

PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS

El aislamiento del DNA se realizará por medio de lisis hipotónica de eritrocitos a partir de sangre total, digestión con proteinasa K del botón linfocitario, seguido por extracción fenol-cloroformo (Sambrook y cols., 1989). El DNA genómico de cada muestra se almacenó a 4°C.

GENOTIPIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS

Los polimorfismos serán genotipificados utilizando la técnica de pirosecuenciación, empleando el instrumento PSQ96 y el kit "SNP reagent". Se contempla también el análisis de entre 5-10 marcadores genéticos que permitirán ajustar por estratificación poblacional.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Una vez que se realice la genotipificación de los SNP's en las pacientes y en los controles, se elaborará el registro de frecuencias alélicas y genotípicas de cada uno de los SNP's estudiados.

Se realizará el análisis por grupo para determinar si los genotipos se encuentran en equilibrio de acuerdo a la ley de Hardy-Weinberg ⁽²⁸⁾ y se procederá a realizar el análisis de asociación caso-control. Para esto se utilizará la prueba de X^2 y se calculará el OR (Odds Ratio o razón de momios) e IC 95% (intervalo de confianza al 95%) utilizando el programa SPSS. ⁽²⁹⁾.

RESULTADOS

Análisis de los SNPs de *USF1*, *HNF4 α* y *ABCA1* en los grupos de Diabetes Gestacional y Controles

- Equilibrio de Hardy-Weinberg: menciona que para que se encuentre en equilibrio la $P > 0.05$ lo que indica que las frecuencias alélicas son similares en ambos grupos.

USF1 (SNP rs3737787)

- Casos DMG

n=165

SNP rs3737787			
Frecuencia		Alelos	
Alelo	C	246	
	T	80	
		Frecuencia observada	Frecuencia esperada
Genotipo	CC	95	92.82
	CT	56	60.37
	TT	12	9.82
Total		163	
		p	0.356

Cuadro 1 .- representación de las frecuencias de cada uno de los alelos C o T para el gen USF1 así como sus posibles combinaciones, homocigoto o heterocigoto.

- Controles

n=213

SNP rs3737787			
Frecuencia		Alelos	
Alelo	C	299	
	T	119	
		Frecuencia observada	Frecuencia esperada
Genotipo	CC	104	106.94
	CT	91	85.12
	TT	14	16.94
Total		209	
		p	0.318

$p > 0.05$

Cuadro 2.- Frecuencias alélicas para el gen USF1.

HNF4 α (SNP rs2144908)

- Casos DMG

SNP rs2144908			
Frecuencia		Alelos	
Alelo	A	208	
	G	112	
		Frecuencia observada	Frecuencia esperada
Genotipo	AA	70	67.60
	AG	68	72.80
	GG	22	19.60
Total		160	
		p	0.404

Cuadro 3.- Frecuencias alélicas para el gen HNF4 α

- Controles

SNP rs2144908			
Frecuencia		Alelos	
Alelo	A	256	
	G	162	
		Frecuencia observada	Frecuencia esperada
Genotipo	AA	79	78.39
	AG	98	99.22
	GG	32	31.39
Total		209	
		p	0.859

Cuadro 4.- Frecuencias alélicas para el gen HNF4 α

p>0.05 en ambos grupos

HNF4 α (SNP rs6031558)

- Casos DMG

SNP rs6031558			
Frecuencia		Alelos	
Alelo	C	288	
	G	36	
		Frecuencia observada	Frecuencia esperada
Genotipo	CC	129	128.00
	CG	30	32.00
	GG	3	2.00
Total		162	
		p	0.548

Cuadro 5.- Frecuencias alélicas para el gen HNF4 α

- Controles

SNP rs6031558			
Frecuencia		Alelos	
Alelo	C	372	
	G	48	
		Frecuencia observada	Frecuencia esperada
Genotipo	CC	168	164.74
	CG	36	42.51
	GG	6	2.74
Total		210	
		p	0.038

Cuadro 6.- Frecuencias alélicas para el gen HNF4 α

P<0.05 en el grupo control y de >0.05 en el grupo de casos.

HNF4 α (SNP rs745975)

- Casos DMG

SNP rs745975			
Frecuencia		Alelos	
Alelo	C	297	
	T	25	
		Frecuencia observada	Frecuencia esperada
Genotipo	CC	136	136.97
	CT	25	23.06
	TT	0	0.97
Total		161	
		p	0.202

Cuadro 7.- Frecuencias alélicas para el gen HNF4 α

- Controles

SNP rs745975			
Frecuencia		Alelos	
Alelo	C	379	
	T	41	
		Frecuencia observada	Frecuencia esperada
Genotipo	CC	170	171.00
	CT	39	37.00
	TT	1	2.00
Total		210	
		p	0.354

Cuadro 8.- Frecuencias alélicas para el gen HNF4 α

p>0.05 en ambos grupos, en el grupo control no existen alelos TT.

ABCA1 R230C

Casos DMG

ABCA1 R230C			
		Frecuencia observada	Frecuencia esperada
Genotipo	TT	120	120.51
	TC	28	26.97
	CC	1	1.51
Total		149	
		p	0.645

Cuadro 9.- Frecuencias alélicas para el gen ABCA1

Controles

ABCA1 R230C			
		Frecuencia observada	Frecuencia esperada
Genotipo	TT	147	148.06
	TC	37	34.97
	CC	1	2.06
Total		185	
		p	0.411

Cuadro 10.- Frecuencias alélicas para el gen ABCA1

p>0.05 en ambos grupos

ESTUDIO DE ASOCIACIÓN CASO-CONTROL

USF1 (SNP rs3737787)

- Modelo Aditivo (CC=0, CT=1, TT=2)

	B	S.E.	p	OR	95.0% C.I.	
					Lower	Upper
Step 1(a) AdditModr3737	-.204	.169	.228	.815	.585	1.137
Constant	-.141	.137	.306	.869		

a Variable(s) entered on step 1: AdditModr3737...- Tabla 4.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo de expresión aditivo para el gen USF1 utilizando el programa SPSS.

- Modelo Dominante (CC=0, CT=1, TT=1)

	B	S.E.	p	OR	95.0% C.I.	
					Lower	Upper
Step 1(a) Dom3737787	-.344	.211	.103	.709	.469	1.071
Constant	-.091	.142	.524	.913		

a Variable(s) entered on step 1: Dom3737787. ...- Tabla 5.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo dominante para el gen USF1 utilizando el programa SPSS

- Modelo Recessivo (CC=0, CT=0, TT=1)

	B	S.E.	p	OR	95.0% C.I.	
					Lower	Upper
Step 1(a) Rec3737787	.102	.408	.803	1.107	.497	2.463
Constant	-.256	.108	.018	.774		

a Variable(s) entered on step 1: Rec3737787. ...- Tabla 6.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo recesivo para el gen USF1 utilizando el programa SPSS

***HNF4 α* (SNP rs2144908)**

- Modelo Aditivo (AA=0, AG=1, GG=2)

		B	S.E.	p	OR	95.0% C.I.	
						Lower	Upper
Step 1(a)	AdditModr2 144	-.156	.152	.304	.856	.635	1.152
	Constant	-.152	.153	.320	.859		

a Variable(s) entered on step 1: AdditModr2144. ...- Tabla 7.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo aditivo para el gen HNF4 α utilizando el programa SPSS

- Modelo Dominante (AA=0, AG=1, GG=1)

		B	S.E.	p	OR	95.0% C.I.	
						Lower	Upper
Step 1(a)	Dom21449 08	-.247	.214	.249	.781	.514	1.188
	Constant	-.121	.164	.461	.886		

a Variable(s) entered on step 1: Dom2144908. Tabla 8.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo dominante para el gen HNF4 α utilizando el programa SPSS

- Modelo Recesivo (AA=0, AG=0, GG=1)

		B	S.E.	p	OR	95.0% C.I.	
						Lower	Upper
Step 1(a)	Rec21449 08	-.126	.299	.674	.882	.490	1.585
	Constant	-.249	.114	.028	.780		

a Variable(s) entered on step 1: Rec2144908. Tabla 9.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo recesivo para el gen HNF4 α utilizando el programa SPSS

HNF4 α (SNP rs6031558)

- Modelo Aditivo (CC=0, CG=1, GG=2)

		B	S.E.	P	OR	95.0% C.I.	
						Lower	Upper

Step 1(a)	AdditModr6031	-.028	.222	.898	.972	.629	1.501
	Constant	-.253	.116	.029	.776		

a Variable(s) entered on step 1: AdditModr6031. Tabla 10.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo aditivo para el gen HNF4 α utilizando el programa SPSS

- Modelo Dominante (CC=0, CG=1, GG=1)

	B	S.E.	p	OR	95.0% C.I.		
					Lower	Upper	
Step 1(a)	Dom6031558	.023	.260	.930	1.023	.614	1.705
	Constant	-.264	.117	.024	.768		

a Variable(s) entered on step 1: Dom6031558. Tabla 11.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo dominante para el gen HNF4 α utilizando el programa SPSS

- Modelo Recesivo (CC=0, CG=0, GG=1)

	B	S.E.	p	OR	95.0% C.I.		
					Lower	Upper	
Step 1(a)	Rec6031558	-.444	.715	.535	.642	.158	2.605
	Constant	-.249	.106	.018	.779		

a Variable(s) entered on step 1: Rec6031558. Tabla 12.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo aditivo para el gen HNF4 α utilizando el programa SPSS.

HNF4 α (SNP rs745975)

- Modelo Aditivo (CC=0, CT=1, TT=2)

	B	S.E.	p	OR	95.0% C.I.		
					Lower	Upper	
Step 1(a)	AdditModr7459	-.268	.274	.328	.765	.447	1.309
	Constant	-.219	.115	.057	.803		

a Variable(s) entered on step 1: AdditModr7459. Tabla 13.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo aditivo para el gen HNF4 α utilizando el programa SPSS

- Modelo Dominante (CC=0, CT=1, TT=1)

		B	S.E.	p	OR	95.0% C.I.	
						Lower	Upper
Step 1(a)	Dom745975	-.247	.280	.377	.781	.452	1.352
	Constant	-.223	.115	.052	.800		

a Variable(s) entered on step 1: Dom745975. Tabla 14.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo dominante para el gen HNF4 α utilizando el programa SPSS

- Modelo Recesivo (CC=0, CT=0, TT=1)

		B	S.E.	p	OR	95.0% C.I.	
						Lower	Upper
Step 1(a)	Rec745975	-20.942	40192.970	1.000	.000	.000	.
	Constant	-.261	.105	.013	.770		

a Variable(s) entered on step 1: Rec745975. Tabla 15.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo recesivo para el gen HNF4 α utilizando el programa SPSS

ABCA1 R230C

- Modelo dominante (TT= 0 TC= 1 CC = 1)

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)		
							Lower	Upper	
Step 1	DOM	.067	.276	.060	1	.807	1.070	.623	1.836
	Constant	.203	.123	2.721	1	.099	1.225		

a. Variable(s) entered on step 1: DOM.

Tabla 16.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo aditivo para el gen HNF4 α utilizando el Programa SP.SS

- Modelo aditivo (TT = 0 TC = 1 CC = 2)

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)		
							Lower	Upper	
Step 1	ADITIVO	.054	.263	.042	1	.838	1.055	.630	1.768
	Constant	.205	.123	2.802	1	.094	1.228		

a. Variable(s) entered on step 1: ADITIVO.

Tabla 16.- calculo de la razón de momios y el IC95% en el modelo aditivo para el gen HNF4 α utilizando el Programa SP.SS

DISCUSIÓN

En este trabajo se evaluó la posible participación de tres genes que han sido asociados al desarrollo de DM2 debido a la similitud entre la fisiopatología de la DMG y la DM2.

Se analizaron un total de 378 muestras, 165 casos diagnosticados de DMG de acuerdo a los criterios internacionalmente aceptados y 213 controles, se evaluaron los polimorfismos de dichos genes más frecuentemente asociados al desarrollo de DM2 en otras poblaciones.

El primero de los genes estudiados es el gen USF1, relacionado con la presencia de resistencia a la insulina en múltiples estudios y particularmente en un estudio realizado en población China donde el SNP 3737787 se encontró asociado significativamente con el desarrollo de DM2. Este mismo polimorfismo se evaluó en los casos y controles de este estudio encontrando que en ambos grupos no se desvió del equilibrio de Hardy-Weinberg (grupo control fue $p=0.31$ y para el grupo de casos $p=0.35$).

En la segunda fase se realizó el estudio de asociación caso-control, en la que se identifican los tres genotipos posibles para esta variante. Se calculó la razón de momios (OR) y la p considerando tanto el modelo dominante, el modelo aditivo y el modelo recesivo. Ninguno de los tres modelos mostró asociación para este SNP. Para el modelo aditivo se obtuvo un OR 0.8 IC95% (0.58-1.13) con una $p=0.22$, para el modelo dominante un OR 0.70 IC 95% (0.46-1.07) $p=0.10$ y para el modelo recesivo un OR de 1.10 IC95%(0.49-2.46) con $p=0.80$ lo que nos indica que ninguno de los resultados es estadísticamente significativo por lo que en primera instancia puede ser atribuido a un tamaño de muestra insuficiente para encontrar diferencias entre ambos grupos.

El segundo de los genes es el HNF4 α , un gen asociado directamente con el metabolismo pancreático, responsable de algunas formas de MODY asociadas con disminución de la producción de insulina. Los polimorfismos estudiados incluyeron rs2144908, rs6031558 y rs745975 mismos que ya habían sido estudiados por nuestro grupo de trabajo encontrando asociación con la presencia de síndrome metabólico en individuos con hiperlipidemia familiar combinada y síndrome metabólico.

Para dos de los tres SNP's existió equilibrio de Hardy-Weinberg el rs2144908, ($p=0.40$ en los casos y $p=0.85$ en los controles) y el rs745975 ($p=0.20$

en los casos y $p=0.35$ en los controles), por el contrario, el SNP rs6031558 mostró desequilibrio en el grupo de los controles ($p=0.54$ en los casos y $p=0.03$ en los controles) debido a la presencia de un exceso de homocigotos del alelo GG. En este caso todos los homocigotos fueron secuenciados para descartar posibles errores de genotipificación, confirmando los genotipos GG en todos los individuos.(cuadro 6).

En la segunda fase del estudio para ninguno de los tres polimorfismos se obtuvo avocación significativa al fenotipo de DMG, para el SNP rs2144908 en el modelo aditivo mostró OR 0.85 IC 95% (0.63-1.15) $p=0.30$, para el modelo dominante un OR 0.78 IC95% (0.51-1.18) $p=0.24$ y para el modelo recesivo OR 0.88 IC 95% (0.45-1.58) $p=0.67$. Para el SNP rs6031558 en el modelo aditivo se obtuvo un OR 0.97 IC95%(0.62-1.50) $p=0.89$, para el modelo dominante un OR 1.02 IC95%(0.61-1.70) $p=0.93$ y para el modelo recesivo OR 0.64 IC95% (0.15-2.60) $p=0.53$. Para el SNP rs745975 en el modelo aditivo un OR 0.76 IC95%(0.44-1.30) $p=0.32$, en el modelo dominante OR 0.78 IC95%(0.45-1.35) $p=0.37$ y para el modelo recesivo un OR de 0 debido a que no existen casos de este tipo de alelo, éste ultimo resultado no es válido, y los otros dos no son significativos, aunque nuevamente se repite lo observado en los genes previos.

Para el gen ABCA1 conocido por ser el responsable de la enfermedad de Tánger, por su asociación en la diferenciación de los adipocitos y por tener un OR 4.5 IC95%(2.4-8.9) par el desarrollo de la DM2, con una prevalencia de hasta el 41.2% para la variante funcional R230C en nuestra población, resultó interesante su análisis en el grupo de casos y controles de DMG.

En general al comparar los dos grupos en la primera fase del estudio se obtuvo equilibrio de Hardy-Weinberg con una $p=0.64$ para los casos y $p=0.41$ para los controles demostrando grupos con frecuencias alélicas similares.

En la segunda fase del estudio para el modelo dominante un OR 1.07 IC95%(0.62-1.83) $p=0.80$, para el modelo aditivo un OR 1.05 IC95%(0.63-1.76) $p=0.83$ para este gen no se tomaron en cuenta los modelos recesivos ya que no hay suficientes individuos homocigotos para el alelo CC requiriendo un mínimo 5 para el análisis.

CONCLUSIONES

Debido a que ninguno de los resultados de este estudio fue significativo se concluye que ninguna de las variantes estudiadas de manera individual se asocia a riesgo o protección al fenotipo de diabetes gestacional. Resta aún el análisis combinado de haplotipos en el caso del gen HNF-4 α y del análisis de variables cuantitativas dependiendo del genotipo en cada grupo (casos y controles). Llama particularmente la atención el caso del polimorfismo R230C del gen ABCA1 que mostró una asociación muy significativa a la DM2, la obesidad y el síndrome metabólico en población mestiza mexicana y no mostró ninguna tendencia de asociación al grupo de DMG. Es posible entonces que este gen y este polimorfismo participen en el riesgo a esta entidad sin embargo su efecto es mucho menor que el observado en el grupo de DM2, por lo que se requerirá del incremento en el número de pacientes y controles para evaluar esta posibilidad.

Se descarta la hipótesis original ya que la presencia de SNP's de manera individual en los genes de USF1, HNF4a y ABCA1 no demostraron asociación significativa con la presencia de DMG.

BIBLIOGRAFIA

Vidaeff AC, Yeomans ER, Ramón SM. Gestational diabetes: a field of controversy. *Obstet Gynecol Surv* 2003;58:759-769.

²Galernau F, Inzucci SE. Diabetes mellitus in pregnancy. *Obstet Gynecol Clin N Am* 2004;31:907-933.

³Hollander MH, Paarlberg M, Huisjes A. Gestational diabetes: A review of the current literature and guidelines. *Obstet Gynecol Surv* 2007;62:125-136

⁴Dornhorst A, Paterson C, Nicholls J, High prevalence of gestational diabetes in women from ethnic minority groups. *Diabet Med* 1992;9:820-825.

⁵Hunt KJ, Schuller KL. The increasing prevalence of diabetes in pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2007;34:173-199.

⁶Ferrara A, Hedderson M, Quesenberry C. Prevalence of gestational diabetes mellitus detected by the national diabetes data group or the carpenter and coustan plasma glucose thresholds. *Diabetes Care* 2002;25:1625-1630.

⁷Santos-Ayarzagotia M, Salinas-Martinez AM, Villarreal-Perez JZ. Gestational diabetes: Validity of ADA and WHO diagnostic criteria using NDDG as the referente test. *Diabetes Res Clin Pract* 2006;74:322-328

⁸Forsbach-Sanchez G, Gonzalez-Obele E, Villanueva-Cuellar MA, Tamez HE, Rocha-Márquez J. Impacto del nuevo criterio para el diagnóstico de diabetes gestacional en la estimación de su prevalencia. *Rev Invest Clin* 2003;55:507-510.

⁸Támez-Pérez HE, Rodríguez-Ayala M, Treviño-Hernández M, Espinosa-Campos J, Salas Galindo LR, Barquet-Barquet J, Paez-Jiménez FJ. Experiencia con un programa de escrutinio de diabetes gestacional. *Rev Invest Clin* 1993;45:453-456.

¹⁰Ramírez-Torres MA. Diabetes mellitus gestacional. Experiencia en una institución de tercer nivel de atención. *Ginecol Obstet Mex* 2005;73:484-491.

¹¹Rivera JA, Barquera S, Campirano F, Campos I, Safdie M, Tovar V. Epidemiological and nutritional transition in México: Rapad increase in non-communicable chronic diseases and obesity. *Public Health Nutr* 2002;5:113-122.

¹²The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. *Diabetes Care* 2005;28(suppl.1):S37-S42.

¹³Esakoff T, Chen Y, Caughey A. Screening for gestational diabetes: Different cut-pifts for different ethnicities? *Am J Onset Gynecol* 2005;193:1040-1044.

¹⁴Carpenter M, Constan D: Criteria for screening tests for gestational diabetes. *Am J Onset Gynecol* 1982;144:768-773.

¹⁵The 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* 1997;20:1183-1197.

¹⁶Schmidt M, Duncan B, Reichelt A, *et al.* For the Brazilian Gestational Diabetes Study Group. Gestational Diabetes Mellitus diagnosed with a 2h, 75g oral glucosa tolerante test and adverse pregnancy outcomes. *Diabetes Care* 2001;24:1151-1155.

¹⁷WHO Consultation: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: Report of a WHO consultation. Part I: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Geneva, WHO/NCD/NCS/99.2, World Health Org., 1999.

- ¹⁸ Freinkel N. Banting Lectura 1980: Of pregnancy and progeny. *Diabetes* 1980;29:1023-1025.
- ¹⁹ McLellan JA, Barrow B A, Levy J C, *et al.* Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in parents of women with gestational diabetes. *Diabetologia* 1995; 38: 693-698.
- ²⁰ Lynn S, Evans J, White C, *et al.* Variation in the calpain-10 gene affects blood glucose levels in the british population. *Diabetes* 2002;51:247-250.
- ²¹ Leipold H, Knöfler M, Gruber C, *et al.* Calpain-10 Haplotype Combination and Association With Gestational Diabetes Mellitus. *Obstetrics and Gynecology* 2004; 103: 1235 –1240.
- ²² Ellard S, Beards F, Allen LI, *et al.* A high prevalence of glucokinase mutations in gestational diabetic subjects selected by clinical criteria *Diabetologia* 2000;43: 250-253.
- ²³ Daimon M, Kido T, Baba M, *et al.* Association of the ABCA1 gene polymorphisms with type 2 DM in a Japanese Population. *Biochem and Biophys Res Com* 2005;329:205-210.
- ²⁴ [Hitman GA, Sudagani J.](#) Searching for genes in diabetes and the metabolic syndrome. *Int J Clin Pract Suppl.* 2004;143:3-8.
- ²⁵ [Corre S, Galibert MD.](#) Upstream stimulating factors: highly versatile stress-responsive transcription factors. *Pigment Cell Res.* 2005;18:337-348.
- ²⁶ [Gibson F, Hercberg S, Froguel P.](#) Common polymorphisms in the USF1 gene are not associated with type 2 diabetes in French Caucasians. *Diabetes.* 2005;54:3040-3042.
- ²⁷ Yamagata K, Furuta H, Oda N, Kaisaki PJ, Bell GI. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY1). *Nature* 1996;384:458-460.
- ²⁸ Hani EH, Stoffers DA, Chevre JC, Durand E, Froguel P. Defective mutations in the insulin promoter factor (IPF-1) gene in late-onset type 2 diabetes mellitus. *J.Clin. Invest.* 1999;104: R41-R48.
- ²⁹ Macfarlane WE, Frayling TM, Ellard S, Evans JC, Hattersley AT. Missense mutations in the insulin promoter factor-1 gene predispose to type 2 diabetes. *J.Clin.Invest.* 1999;104:R33-R39.
- ³⁰ Reis AF, Ye WZ, Dubois-Laforgue D, Bellane-Chantelot C, Velho G. Mutations in the insulin promoter factor-1 gene in late onset type 2 diabetes mellitus. *European.J. Endocrinol.* 2000;143: 511-513.
- ³¹ Hansen L, Urioste S, Petersen HV, Jensen JN, Pedersen O. Missense mutations in the human insulin promoter factor-1 gene and their relation to maturity-onset diabetes of the young and late-onset type 2 diabetes mellitus in Caucasians. *J.Clin.Endo.Metab.* 2000;85: 1323-1326.
- ³² Muller YL, Infante AM, Hanson RL, *et al.* Variants in hepatocyte nuclear factor 4alpha are modestly associated with type 2 diabetes in Pima Indians. [Diabetes.](#) 2005;54:3035-3039.

³³Weedon MN, Owen KR, Shields B, *et al.* Common variants of the hepatocyte nuclear factor-4alpha P2 promoter are associated with type 2 diabetes in the U.K. population. [Diabetes](#). 2004; 53:3002-3006.

³⁴[Vaxillaire M](#), [Dina C](#), [Lobbens S](#), *et al.* Effect of common polymorphisms in the HNF-4alpha promoter on susceptibility to type 2 diabetes in the French Caucasian population. *Diabetologia*. 2005;48:440-444.

³⁵[Winckler W](#), [Graham RR](#), [de Bakker PI](#), *et al.* Association testing of variants in the hepatocyte nuclear factor 4alpha gene with risk of type 2 diabetes in 7,883 people. *Diabetes*. 2005;54:886-892.

³⁶Shaaf N, Karlsson E, Lernmark A, *et al.* Common variants in MODY genes increase the risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2006;49:1545-1551.

³⁷[Weissglas-Volkov D](#), [Huertas-Vazquez A](#), [Suviolahti E](#), *et al.* Common hepatic nuclear factor-4alpha variants are associated with high serum lipid levels and the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2006;55:1970-1977.