

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

**CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE" INSTITUTO DE SEGURIDAD Y
SERVICIOS SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO**

**ESTUDIO DE GENES KCNJ11, HHEX y SLC30A8 COMO GENES DE
SUSCEPTIBILIDAD PARA EL DESARROLLO DE LA DIABETES
GESTACIONAL EN LA POBLACION MEXICANA**

NÚMERO DE REGISTRO: 340.2009

TESIS DE POSTGRADO

**PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD DE:
MEDICINA MATERO FETAL**

PRESENTA:

DR. YAHIR ERNESTO HERNANDEZ RINCON
MÉDICO RESIDENTE DE MEDICINA MATERNO FETAL

ASESOR DE TESIS:
DR. FERNANDO ESCOBEDO AGUIRRE

México, D.F. 2008-2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

DEDICATORIA

A DIOS,

A MI MADRE, MA. ELENA RINCON JACOBO

A MI NOVIA, NORMA CAROLINA GONZALEZ MIRANDA

A MIS HERMANOS, JORGE Y ALBERTO

A MI FAMILIA,

A LAS PACIENTES,

A MI AMIGO, DR. MIGUEL ANGEL GUERRERO CASILLAS

A LA DRA. MA. TERESA TUSIE LUNA POR SU INCONDICIONAL APOYO EL
DESARROLLO DE LA TESIS

AL DR. FERNANDO ESCOBEDO AGUIRRE Y AL PERSONAL MEDICO DEL
CENTRO MEDICO NACIONAL "20 DE NOVIEMBRE" QUE PARTICIPO EN MI
ENSEÑANZA DURANTE LA RESIDENCIA EN MEDICINA MATERNO FETAL

GRACIAS

INDICE

I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	3
III. ANTECEDENTES.....	4
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	8
V. OBJETIVOS.....	9
VI. MATERIAL Y MÉTODOS.....	10
VII. RESULTADOS.....	12
VIII. DISCUSIÓN.....	13
IX. CONCLUSIONES.....	14
X. REFERENCIAS.....	15
XI. ANEXOS.....	20

RESUMEN

OBJETIVO. Determinar la contribución de distintos polimorfismos en los genes KCNJ11, SLC30A8 y HHEX como posibles alelos de susceptibilidad en el desarrollo de diabetes gestacional en pacientes mexicanas.

MATERIAL Y MÉTODOS. El grupo de pacientes estuvo constituido por 500 mujeres mexicanas diagnosticadas con DG, de acuerdo a los criterios de Carpenter y Coustan. El grupo control estuvo compuesto por 500 mujeres con curva de tolerancia oral a la glucosa normal.

En la hoja de recolección de datos del estudio se recabaron los datos de edad, índice de masa corporal, tipo de tratamiento para el control de la hiperglucemia, complicaciones durante la gestación y el parto, y la información del producto. Los polimorfismos se tipificaron utilizando sondas Taqman.

Se tipificaron adicionalmente en todas las muestras un panel 10 marcadores de ancestría utilizados previamente para ajustar por estratificación poblacional en estudios de asociación caso-control realizados en población mestiza mexicana (Villarreal-Molina et al, 2007; Villarreal-Molina et al, 2008). Los genotipos se realizaron a través del ensayo KASPar.

RESULTADOS. Para los SNPs de los tres genes analizados no se observó desequilibrio HW en los grupos de controles totales como en el grupo de controles sin antecedentes heredofamiliares de DT2. En el grupo de casos solo se observó desequilibrio de HW para el SNP rs13266634 del gen SLC30A8. Para el gen KCNJ11 la frecuencia del alelo de riesgo es mayor en el grupo de controles al compararla con el grupo de casos. El gen SLC30A8 muestra una tendencia similar donde la frecuencia del alelo de riesgo es mayor en el grupo de mujeres control para DG con respecto al grupo de casos. Para el gen HHEX se observa que la frecuencia del alelo de riesgo es menor en el grupo de controles al

compararla tanto con el grupo de casos totales como con el grupo de mujeres control sin antecedentes heredofamiliares de DT2.

CONCLUSIONES. Los resultados obtenidos para los SNPs de los genes KCNJ11 y SLC30A8 sugieren que el incrementar el número de mujeres control sin antecedentes heredofamiliares de DT2 podría evidenciar una posible asociación de estos dos genes a la DG, particularmente para el SNP rs13266634 del gen SLC30A8 que mostró una clara desviación del equilibrio HW sugerente de una posible asociación ($p=0.02$).

INTRODUCCIÓN

La diabetes gestacional (DG) se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa de inicio o de primer reconocimiento durante el embarazo (ADA, 2004; Jovanovic y Pettitt, 2001). La definición se aplica sin importar si se utiliza insulina o modificación de la dieta como tratamiento o si la condición persiste después del embarazo y no se aplica a las mujeres embarazadas con diagnóstico de diabetes previo al embarazo (Metzger y Coustan, 1998; Jovanovic y Pettitt, 2001; ADA, 2004).

La prevalencia mundial de la DG varía entre 1 y 14% en distintas poblaciones, con más de 200,000 casos reportados anualmente (ADA, 2004). En México, la prevalencia nacional es desconocida; sin embargo, en 1992 en la ciudad de México se reportó una prevalencia del 7% (Grupo de estudio sobre Diabetes Mellitus, 1992) y en 1998 se reportó una cifra del 4.3% en 693 mujeres embarazadas estudiadas en la ciudad de Monterrey (Forsbach et al, 1998).

Se ha documentado que un 61% de mujeres con DG desarrollaron intolerancia a la glucosa o diabetes tipo 2 (DT2) una década después del parto. En este 61% de mujeres se observó que 36% de ellas no tenían antecedentes de DT2 o DG en los padres (McLellan et al, 1995).

La DG presenta herencia poligénica, es decir, en su etiología participan distintos genes de susceptibilidad además de factores ambientales. Antecedentes familiares DT2 es considerado uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de la DG (Rodrigues et al, 1999; Savona et al, 2000).

ANTECEDENTES

Se han realizado diversos estudios con el fin de identificar los genes y las variantes alélicas particulares que se relacionan con el desarrollo de esta entidad. Algunos de los genes que se han estudiado son genes vinculados al riesgo para el desarrollo de la DT2. Dentro de los genes que se han analizado se encuentran el gen de la calpaína-10, el gen que codifica para el receptor 1 de sulfonilurea (SUR1) (Gloyn et al, 2003) y los genes MODY que codifican para la enzima glucocinasa (GCK) y los factores de transcripción HNF1- α , e IPF-1.

En un estudio que incluyó 40 pacientes con DG de la ciudad de Viena, el 20% de ellas presentaban el haplotipo 112/121 en el gen de la calpaína-10, mientras que en los controles este haplotipo no se encontró (Leipold et al., 2004). 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 el gen de la GCK (Ellard et al, 2000).

La evidencia de que existe una base genética para la DT2 se ha derivado a partir de estudios de familias y gemelos en poblaciones de distinto origen étnico. La identificación de genes asociados con la patogénesis de las DT2 se ha realizado por medio de estudios de asociación caso-control para el análisis sistemático de genes candidatos (Hitman y Sudagani, 2004), estrategias de ligamiento genético para la exploración del genoma completo y más recientemente estudios de asociación genómica (Frayling, 2007). El escaneo del genoma en diferentes grupos étnicos ha permitido identificar regiones cromosómicas que contienen genes de susceptibilidad para el desarrollo de DT2 tales como el gen de calpaína 10 (CAPN10), el gen del factor nuclear de hepatocitos 4 alfa (HNF-4 α), el gen del factor de transcripción USF-1 factor (Hitman y Sudagani, 2004), o el gen que codifica para el factor transcripcional TCF7L2 (Grant et al, 2006).

El factor nuclear de hepatocitos 4 α (HNF-4 α) es miembro de la superfamilia de factores de transcripción dependientes de ligando, 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 (Yamagata et al, 1996). El gen *HNF-4 α* se ha relacionado a una forma monogénica de la diabetes denominada MODY (maturity onset diabetes of the young) caracterizada por una disminución en la secreción de la insulina.

Mutaciones en este gen y otros genes MODY (*IPF-1*, *HNF1 α*) además de asociarse a la diabetes MODY, se han relacionado con la susceptibilidad al desarrollo de la DT2 de inicio tardío (Hani et al, 1999, MacFarlane et al, 1999). Por otro lado se ha demostrado que mujeres con mutaciones en genes MODY tienden a presentar un mayor riesgo para desarrollar DG (Shaat et al, 2006).

Actualmente existen numerosos estudios de ligamiento a la DT2 que muestran evidencia de ligamiento a la región cromosómica 20q12-13.1 donde se localiza el gen *HNF4 α* , por lo que se ha evaluado la asociación de diferentes polimorfismos (SNP's) que se encuentran en la región promotora y codificante de *HNF-4 α* con la presencia de DT2 en diferentes poblaciones. En poblaciones finlandesa y judía se demostró una fuerte asociación entre SNP's del gen y la DT2 (Muller et al., 2005) mientras que en Indios Pima se observó que estas mismas variantes se asocian a un riesgo disminuido para el desarrollo de la DT2. Sin embargo, en algunas poblaciones caucásicas europeas y americanas como la Sueca y Canadienses así como en población polaca no ha sido posible demostrar asociación de este gen con el riesgo a manifestar DT2 (Weedon et al, 2004; Vaxillaire et al, 2005; Winckler et al, 2005).

Debido a los distintos resultados obtenidos en los estudios previos es necesario evaluar el papel del gen *HNF-4 α* en cuanto a su posible papel como alelo de riesgo para el desarrollo de la DT2 y DG en pacientes mexicanos.

Con respecto a las variantes en el gen *HNF-4 α* en población mexicana, recientemente se publicó un estudio de asociación de dichas variantes con niveles de lípidos séricos y el síndrome metabólico (Weissglas-Volkov et al, 2006). Los SNP's rs6031558, rs745975, rs3212198, rs2425640 se asociaron al riesgo de presentar síndrome metabólico por lo que resulta interesante estudiar su papel como gen de susceptibilidad para la DT2 y la DG en la población mexicana.

Por su parte, el gen que codifica para el factor de transcripción TCF7L2 se identificó inicialmente relacionado al riesgo para el desarrollo de DT2 en población de Islandia (Grant et al, 2006) y posteriormente se evidenció su papel como gen de susceptibilidad para la DT2 en diversas poblaciones humanas aunque con un riesgo variable.

En población caucásica americana y danesa se demostró asociación de las variantes rs7903146 y rs12255372) con el riesgo a DT2 [OR= 1.5] ($p= 4.7 \times 10^{-18}$) (Jukka et al, 2007). Estas mismas variantes se asociaron a la DT2 en población Inglesa, Amish, Finlandesa, Alemana e indú (Groves et al, 2006; Damcott et al, 2006; Scout et al, 2006; van Vliet-Ostaptchouk et al, 2007).

Sin embargo, a pesar de que este gen parece contribuir en el desarrollo de la DT2 en distintas poblaciones humanas, su papel sobre el riesgo parece ser variable entre poblaciones de distinto origen étnico siendo más importante su papel como alelo de susceptibilidad para DT2 en poblaciones caucásicas (Weedon et al, 2004).

En un estudio realizado por nuestro grupo de investigación en más de 800 sujetos con DT2 de la población mestiza mexicana demostramos que la variante

rs7903146 se asocia significativamente al riesgo de DT2, particularmente en los sujetos que con diagnóstico antes de los 45 años (OR= 2.14 p= 0.001 CI 1.43-3.2) (Manuscrito enviado a revisión), aún después del ajuste por mezcla étnica realizado a través del análisis de marcadores de ancestría validados previamente para estudios de asociación caso-control en población mestiza mexicana (Villarreal-Molina et al, 2007). De acuerdo a estos antecedentes nos parece importante valorar su papel como gen de susceptibilidad en pacientes con diagnóstico de DG de la población mexicana.

El gen que codifica para el transportador de colesterol ABCA1 se identificó recientemente relacionado al riesgo para la DT2, la obesidad y el síndrome metabólico en sujetos de la población mexicana (Villarreal-Molina et al, 2007, Villarreal-Molina et al, 2008). Este gen se localiza en el locus 9q31 y codifica para una proteína transmembranal que regula el eflujo de lípidos de las células periféricas a las lipoproteínas de alta densidad o HDL (Attie et al, 2001). Aunque la función más conocida de ABCA1 se relaciona a la formación de partículas HDL y el eflujo del colesterol, esta proteína se expresa en distintos tejidos incluyendo el lumen intestinal, la vesícula biliar, la célula β pancreática y el adiposito (Brunham et al, 2007).

En sujetos de la población mexicana identificamos la variante R230C del gen ABCA1 asociada al riesgo de DT2, particularmente en sujetos con diagnóstico antes de los 45 años (OR=3.77, p= 3.3×10^{-6}), HDL bajo (p=0005), obesidad (p=0.004) y el síndrome metabólico (OR=1.83 p=0.001) (Villarreal- Molina et al, 2007).

Debido a que esta variante se identificó como la única responsable de la asociación para los distintos rasgos analizados, y que aparentemente es exclusiva de poblaciones de origen amerindio como lo es la población mestiza, resulta de

gran relevancia estudiar su papel como gen de susceptibilidad para el desarrollo de DG en mujeres con y sin obesidad asociada.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se han realizado diversos estudios con el fin de identificar los genes y las variantes alélicas particulares que se relacionan con el desarrollo de la DG. Algunos de los genes que se han estudiado son genes vinculados al riesgo para el desarrollo de la DT2.

¿Existen genes de susceptibilidad para el desarrollo de la diabetes gestacional en la población mexicana?

OBJETIVOS

VI. a.- OBJETIVO GENERAL:

Estudiar KCNJ11, SLC30A8 y HHEX como posibles genes de susceptibilidad a la diabetes gestacional en mujeres de mestizas-mexicanas.

VI. b.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Genotipificación de distintos polimorfismos del gen *HHEX* en pacientes con diabetes gestacional y controles.
- Genotipificación del polimorfismo rs5219 (E23K) del gen KCNJ11.
- Genotipificación del polimorfismo rs1111875 del gen HHEX.
- Genotipificación del polimorfismo rs132663 (R325W) del gen SLC30A8.
- Análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg para cada polimorfismo en ambos grupos.
- Evaluar la posible asociación de cada uno de los polimorfismos al desarrollo de DG de manera individual.
- Determinar la posible asociación de estos polimorfismos a distintos rasgos bioquímicos, metabólicos o antropométricos como el índice de masa corporal, la presión arterial o los niveles de lípidos en los distintos grupos de estudio (casos y controles) de manera independiente.

MATERIAL Y MÉTODOS

Población de estudio

El grupo de pacientes estará constituido por 500 mujeres mexicanas diagnosticadas con DG, de acuerdo a los criterios de Carpenter y Coustan (Carpenter y Coustan, 1982) [Tabla 1]. El grupo control estará compuesto por 500 mujeres con curva de tolerancia oral a la glucosa normal.

En todos los casos se obtendrá el consentimiento informado.

En la hoja de recolección de datos del estudio (ver formato anexo) se recabarán los datos de edad, índice de masa corporal, tipo de tratamiento para el control de la hiperglucemia, complicaciones durante la gestación y el parto, y la información del producto como su peso, la presencia de malformaciones congénitas, o muerte perinatal.

Tiempo	Concentraciones de glucosa en plasma	
	mg/dL	mmol/L
En ayuno	95	5.3
1 hora	180	10.0
2 horas	155	8.6
3 horas	140	7.8

Tabla 1. Diagnóstico de DG después de una carga de 100 g de glucosa. La prueba se realiza entre la semana 24-28 de la gestación.

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 almacenará a 4°C.

Genotipificación de polimorfismos

Los polimorfismos serán genotipificados utilizando sondas Taqman diseñadas para el análisis de cada uno de los polimorfismos propuestos.

Se tipificará adicionalmente en todas las muestras un panel 10 marcadores de ancestría o AIMs (ancestry informative markers) utilizados previamente para ajustar por estratificación poblacional en estudios de asociación caso-control realizados en población mestiza mexicana (Villarreal-Molina et al, 2007; Villarreal-Molina et al, 2008). Los genotipos se realizarán a través del ensayo KASPar por la compañía KBiosciences.

Análisis estadístico de los resultados

Una vez que se realice la genotipificación de los SNPs en las pacientes y controles, se elaborará el registro de frecuencias alélicas y genotípicas de cada uno de los SNPs estudiados. Se realizará entonces el análisis por grupo para determinar si los genotipos se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Para el análisis de asociación entre los distintos SNPs o haplotipos y la DG se utilizará la prueba de χ^2 y se calculará el OR (Odds Ratio o razón de momios) y el intervalo de confianza. Se utilizará un análisis de regresión logística para evaluar

posibles asociaciones entre genotipos y DG. Se utilizará la prueba de T student para evaluar la influencia del genotipo sobre distintos rasgos metabólicos. Para estos análisis se utilizará el paquete SSPSv10.0 y el programa ADMIXMAP para ajustar por estratificación poblacional.

RESULTADOS

Para los SNPs de los tres genes analizados no se observó desequilibrio HW en los grupos de controles totales como en el grupo de controles sin antecedentes heredofamiliares de DT2.

En el grupo de casos solo se observó desequilibrio de HW para el SNP rs13266634 del gen SLC30A8.

Para el gen KCNJ11 la frecuencia del alelo de riesgo es mayor en el grupo de controles al compararla con el grupo de casos. Considerando que entre el grupo de mujeres control para DG un gran porcentaje de ellas presenta antecedentes heredofamiliares de DT2, se evaluó también la frecuencia del alelo de riesgo en el grupo de mujeres control que no presentaban antecedentes heredofamiliares de DT2. Como puede observarse en la tabla la frecuencia del alelo de riesgo en este grupo es menor a la de los casos (0.342 vs 0.388) sin embargo esta diferencia no alcanza significancia estadística. Esto probablemente se deba a que el número de mujeres control sin antecedentes heredofamiliares de DT2 es muy pequeño (n=20).

El gen SLC30A8 muestra una tendencia similar donde la frecuencia del alelo de riesgo es mayor en el grupo de mujeres control para DG con respecto al grupo de casos. Sin embargo si se consideran únicamente las mujeres sin antecedentes heredofamiliares de DT2 la frecuencia del alelo de riesgo disminuye pero no alcanza significancia al compararla con el grupo de casos particularmente por el grupo reducido de mujeres incluidas en el grupo control sin antecedentes heredofamiliares de DT2.

Para el gen HHEX se observa que la frecuencia del alelo de riesgo es menor en el grupo de controles al compararla tanto con el grupo de casos totales como con el grupo de mujeres control sin antecedentes heredofamiliares de DT2.

DISCUSIÓN

La susceptibilidad genética tiene un papel primario en el desarrollo de la DG, contribuyendo no sólo al desarrollo de la enfermedad coronaria sino de otras patologías asociadas tales como distintas dislipidemias, e hipertensión arterial.

Factores ambientales como tabaquismo, dieta o inactividad física tienen un papel modulador en la expresión. No es posible reconocer un patrón de herencia mendeliano que sugiera la participación de un único gen, por ende, se ha propuesto como un padecimiento poligénico.

En el servicio de Medicina Materno Fetal la DG tiene una prevalencia de 0.51. Lo cual quiere decir que 1 de cada dos pacientes que ingresa ésta unidad desarrollará la enfermedad. Lo anterior debido a que al tratarse de una unidad de referencia a nivel nacional, son pacientes con embarazo de alto riesgo.

La identificación de genes de susceptibilidad para la DG nos permitirá en un futuro identificar pacientes con riesgo elevado para el desarrollo de esta enfermedad y por tal podremos corregir los factores ambientales relacionados a la aparición de ésta, lo que impactará de manera importante en la disminución de morbi-mortalidad relacionada con éste padecimiento, no solo a nivel institucional sino a nivel nacional.

CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos para los SNPs de los genes KCNJ11 y SLC30A8 sugieren que el incrementar el número de mujeres control sin antecedentes heredofamiliares de DT2 podría evidenciar una posible asociación de estos dos genes a la DG, particularmente para el SNP rs13266634 del gen SLC30A8 que mostró una clara desviación del equilibrio HW sugerente de una posible asociación ($p=0.02$).
2. Entre el grupo de controles para DG existe un gran porcentaje de mujeres que refieren antecedentes familiares para DT2. Además estas mujeres fueron captadas a través de instituciones de tercer nivel ya que fueron referidas por presentar otra patología que las catalogaba como embarazos de alto riesgo. Es probable que estas dos circunstancias expliquen la mayor frecuencia del alelo de riesgo para los tres genes analizados en este grupo.
3. Para el SNP rs1111875 del gen HHEX la frecuencia del alelo de riesgo es mayor en el grupo de mujeres control considerando aquéllas con y sin antecedentes heredofamiliares de DT2, lo cual sugiere que el alelo se comporta como protector. Sin embargo, considerando que este mismo alelo se ha evidenciado como de riesgo en distintas poblaciones, incluyendo la población mexicana (manuscrito enviado a revisión) es posible que el resultado obtenido en el grupo de DG se deba a que este SNP no es el directamente responsable del efecto sobre el riesgo ya que no se trata de un SNP dentro de la región codificadora que resulte en un cambio de aminoácido.

REFERENCIAS

1. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2004;27 (Suppl. 1): S5-10.
2. Attie AD, Kastelein JP, Hayden MR. Pivotal role of ABCA1 in reverse cholesterol transport influencing HDL levels and susceptibility to atherosclerosis. *J Lipid Res* 2001; 42:1717-1726
3. Brunham LR, Kruit JK, Pape TD, Parks JS, Kuipers F, Hayden MR. Tissue-Specific Induction of Intestinal ABCA1 Expression With a Liver X Receptor Agonist Raises Plasma HDL Cholesterol Levels *Circulation Research*. 2006;99:672
4. Carpenter M W, Coustan D R. Criteria for screening test for gestational diabetes. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1982; 144: 763-73.
5. Dammcott CM, Pollin TI, Reinhard LJ, Ott SH, Shen H, et al. Polymorphisms in the Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) Gene are Associated with type 2 Diabetes in the Amish: replication and evidence for a role in both insulin secretion and insulin resistance. *Diabetes* 2006; 55: 2654-2659
6. Ellard S, Beards F, Allen L I S, Shepherd M, Ballantyne E, *et al.* A high prevalence of glucokinase mutations in gestational diabetic subjects selected by clinical criteria *Diabetologia* 2000 43: 250-3.
7. Forsbach G, Contreras J J, Fong G, Flores G, Moreno O. Prevalence of gestational diabetes and macrosomic newborns in a Mexican population. *Diabetes Care* 1988; 11: 235-8.

8. Frayling TM. Genome-wide association studies provide new insights into type 2 diabetes aetiology. 2007 Nature Reviews 8: 657-662
9. Gloyn AI, Weedon MN, Owen KR et al. Large scale association studies of variants in genes encoding the pancreatic beta cell K-ATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR 1 (ABCC8) confirm that the KCJNJ11 E23K variant is associated with type 2 diabetes. Diabetes 2003; 52:568-572.
10. Grant SF, Thorleifsson G, Reynisdottir I, Benedtsson R, Manolescu A, Sainz J et al. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. Nat Genet. 2006; 38: 320-323.
11. Groves CJ, Zeggini E, Minton J, Frayling TM, Weedon MN, et al. Association Analysis of 6736 U.K. Subjects provides replication and confirms TCF7L2 as a Type 2 Diabetes Susceptibility Gene with Substantial Effect on Individual Risk. Diabetes 2006; 55: 2640-2644.
12. Grupo de estudio sobre Diabetes Mellitus. Diabetes y Embarazo. Importancia Diagnóstica. Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social IMSS 1992; 30: 35-9.
13. 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
14. 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,.

15. Hitman GA, Sudagani J. Searching for genes in diabetes and the metabolic syndrome. *Int J Clin Pract Suppl.* 2004 143:3-8.
16. Jukka T. Salonen, Pekka Uimari, Juha-Matti Aalto, Mia Pirskanen, Jari Kaikkonen, Boryana Todorova, Jelena Hyppönen, Veli-Pekka Korhonen, Janne Asikainen, Christopher Devine, Tomi-Pekka Tuomainen, Jan Luedemann, Matthias Nauck, Wolfgang Kerner, Richard H. Stephens, John P. New, William E. Ollier, J. Martin Gibson, Antony Payton, Michael A. Horan, Neil Pendleton, Walt Mahoney, David Meyre, Jérôme Delplanque, Philippe Froguel, Oren Luzzatto, Benjamin Yakir, and Ariel Darvasi. Type 2 Diabetes Whole-Genome Association Study in Four Populations: The DiaGen Consortium *Am J Hum Genet.* 2007 81: 338–345
17. Jovanovic L, Pettitt D J. Gestational Diabetes Mellitus. *Journal of American Medical Association* 2001; 286:2516-18.
18. Leipold H, Knöfler M, Gruber C, Haslinger P, Bancher-Todesca D, *et al.* Calpain-10 Haplotype Combination and Association With Gestational Diabetes Mellitus. *Obstetrics and Gynecology* 2004; 103: 1235 –1240.
19. McLellan JA, Barrow B A, Levy J C, Hammersley M S, Hattersley A T, *et al.* Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in parents of women with gestational diabetes. *Diabetologia* 1995; 38: 693-698.
20. Metzger BE, Coustan DR. Summary and recommendations of the Fourth International Workshop-Conference on Gestational Diabetes Mellitus. The Organizing Committee. *Diabetes Care* 1998;21 Suppl 2:B161-167.

21. Muller YL, Infante AM, Hanson RL, Love-Gregory L, Knowler W, *et al.* Variants in hepatocyte nuclear factor 4alpha are modestly associated with type 2 diabetes in Pima Indians. *Diabetes*. 2005, 54:3035-3039.
22. Rodrigues S, Robinson E J, Ghezzi H, Gray-Donald K. Interaction of body weight and ethnicity on risk of gestational diabetes mellitus^{1–3}. *American Journal of Clinical Nutrition* 1999; 70: 1083–1089.
23. Savona-Ventura C, Azzopardi J, Sant R. Risk Factors for Gestational Diabetes Mellitus in the Maltese Population: a population based study *International Journal of Risk and Safety in Medicine* 2000;13: 1-7.
24. Scott LJ, Bonnycastle C, Willer CJ, Sprau AG, Jacjson AU, Narisu N, *et al.* Association of Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) variants with type 2 diabetes in a Finnish Sample. *Diabetes* 2006; 55: 2649-2653.
25. Shaat N, Karlsson E, Lernmark A, Ivarsson S, Lynch K, *et al.* Common variants in MODY genes increase the risk of gestational diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2006, 49:1545-51
26. Van Vliet-Ostaptchouk JV, Shiri-Sversdlov R, Zhernakova A Strengman e, *et al.* Association of variants of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) with susceptibility to type 2 diabetes in the dutch Breda cohort. *Diabetologia* 2007; 50: 59-62.
27. Vaxillaire M, Dina C, Lobbens S, Dechaume A, Vasseur-Delannoy V, *et al.* Effect of common polymorphisms in the HNF4alpha promoter on susceptibility to type 2 diabetes in the French Caucasian population. *Diabetologia*. 2005 48:440-4.

28. Villarreal-Molina MT, Aguilar-Salinas CA, Rodríguez-Cruz M, Riaño D, Villalobos-Comparán M, Coral-Vázquez R et al, The ABCA1 R230 variant affects HDL-cholesterol levels and body mass index in the Mexican population: association with obesity and obesity-related comorbidities. *Diabetes* 2007 56:1881-1887
29. Villarreal-Molina MT, Arellano-Campos O, Dorantes-Flores MT, Villalobos-Comparan M, Riaño D, Rodríguez-Cruz M, Campuzano R, Huertas-Vazquez A, Menjivar M, M. Tusié-Luna MT, Aguilar-Salinas CA, Canizales-Quinteros S and The Metabolic Study Group Association of the ABCA1 R230C variant with early-onset type 2 diabetes and its interaction with obesity in the Mexican population. *Diabetes* 2008, 57:509-513
30. Weedon MN, Owen KR, Shields B, Hitman G, Walker M, 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 53:3002-6.
31. Weissglas-Volkov D, Huertas-Vazquez A, Suviolahti E, Lee J, Pajukanta P, et al. Common hepatic nuclear factor-4alpha variants are associated with high serum lipid levels and the metabolic syndrome. *Diabetes*. 2006, 55:1970-1977.
32. Winckler W, Graham RR, de Bakker PI, Sun M, Almgren P, 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, 54:886-92.
33. 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* 384:458-60, 1996.

ANEXOS

Tabla 1. Características clínicas de la muestra de DG.

		Controles n= 113	Casos n= 241
Factores maternos	Edad (años)	30.4±7.3	34.9±5.4 *
	Obesidad	12.5%	30.8% *
	Presión sistólica (mmHg)	106.4±9.8	112.5±12.1 *
	Presión diastólica (mmHg)	67.7±8.5	72.4±8.7 *
	Edad materna avanzada (>35 años)	32.7%	57.3% *
	Alta paridad (>3 gestas)	44.9%	57.1% *
	Antecedentes de DT2	78.7%	83.3%
	Antecedentes de DG	0%	7.3% *
		0%	11.1% *
Datos diagnósticos	Semana de gestación	27.9±3.8	23.9±4 *
	Glucosa en ayuno ⁷ (mg/dL)	80.2±6.8	94.6±12.5 *
	Glucosa a 60 ⁷ (mg/dL)	128.1±25.5	195.3±27.2 *
	Glucosa a 120 ⁷ (mg/dL)	114.1±18.2	176.1±27.2 *
	Glucosa a 180 ⁷ (mg/dL)	98.1±16.8	140.5±27.3 *
		19883.6±2665.6	28796.2±3553.4 *
Datos postparto	Glucosa en ayuno ⁷ (mg/dL)	95.9±6.7	103.3±31.2 *
	Glucosa a 120 ⁷ (mg/dL)	108.9±15.7	139.9±64 *
Factores producto	Semana de parto	38.1±2.2	37.1±2.1 *
	Peso (gr)	2901.3±521	2899.1±604.1
	Talla (cm)	48.8±2.8	48.6±3.9
	Capurro	38.6±1.8	37.5±2.4 *

Los datos se presentan como media ± DS; o bien, porcentaje.

*Diferencias significativas de casos vs controles. P<0.05

Gen/SNP	GRUPO	HWE p	<i>f</i> alélica riesgo	<i>f</i> genotípica		
				0	1	2
KCNJ11 rs5219	Casos DG	0.886	0.388	83	108	33
	Controles DG	0.562	0.436	36	51	22
	Controles s/AHF	0.322	0.342	7	11	1
SLC30A8 rs13266634	Casos DG	0.020	0.753	7	98	122
	Controles DG	0.299	0.766	4	44	63
	Controles s/AHF	0.550	0.725	2	7	11
HHEX rs1111875	Casos DG	0.669	0.354	96	100	30
	Controles DG	0.334	0.445	36	49	24
	Controles s/AHF	0.643	0.425	7	9	4