



BÚSQUEDA DE GENES DE SUSCEPTIBILIDAD PARA EL DESARROLLO DE LA DIABETES GESTACIONAL EN MUJERES MESTIZAS MEXICANAS, A TRAVÉS DEL MAPEO POR ADMIXTURE Y EL ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GÉNICA GLOBAL EN PLACENTA Y TEJIDO ADIPOSO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LA ESPECIALIDAD DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA.

PRESENTA:

ROBERTO ALONSO CORDERO BRIEÑO

TUTORA: LIZETTE MANZO CARRILLO

**Asesores: Ma. Teresa Tusié Luna
Alicia Huerta Chagoya**

México, DF.

Julio

2012



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.

Este trabajo fue realizado en el **Hospital General “*Dr. Manuel Gea González*”**, y en la **Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “*Salvador Zubirán*”**.

Este trabajo de Tesis con **No. 11-86-2010**, presentado por el alumno **ROBERTO ALONSO CORDERO BRIÑO** se presenta en forma con visto bueno por el Tutor principal de la Tesis Dra. Lizette Manzo Carrillo, y la División de Investigación Clínica a cargo de la Dra. Maria de Lourdes Suárez Roa y con fecha del **30 de Julio de 2012** para su impresión final.

DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN CLINICA

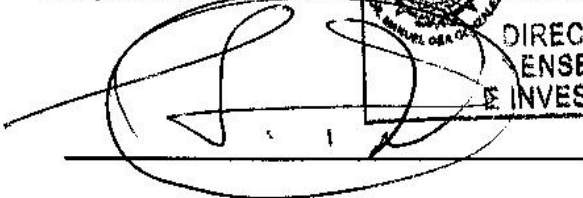
Dra. Maria de Lourdes Suárez Roa

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Lizette Manzo Carrillo

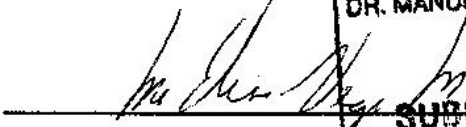
Autorizaciones

Dr. Octavio Sierra Martínez
Director de enseñanza
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"



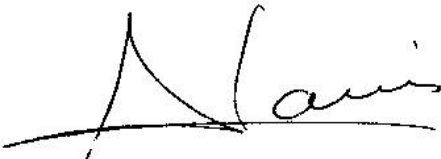
HOSPITAL GENERAL
"DR. MANUEL GEA
GONZÁLEZ"
DIRECCIÓN DE
ENSEÑANZA
E INVESTIGACIÓN

Dra. María Elisa Vega Memije
Subdirección de Investigación
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"

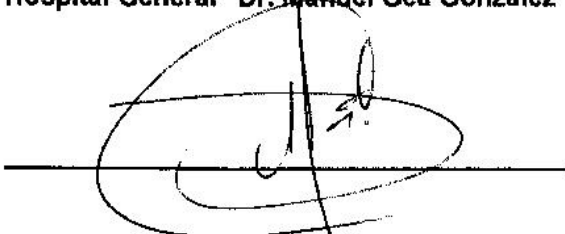


HOSPITAL GENERAL
DR. MANUEL GEA GONZALEZ
SUBDIRECCION
DE INVESTIGACION

Dr. José Alanis Fuentes
Profesor Titular del Curso de Pos-grado
Jefe de la División de Ginecología
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"



Dra. Lizette Manzo Carrillo
Jefa de la División de Obstetricia
Hospital General "Dr. Manuel Gea González"



BÚSQUEDA DE GENES DE SUSCEPTIBILIDAD PARA EL DESARROLLO DE LA DIABETES GESTACIONAL EN MUJERES MESTIZAS MEXICANAS, A TRAVÉS DEL MAPEO POR *ADMIXTURE* Y EL ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GÉNICA GLOBAL EN PLACENTA Y TEJIDO ADIPOSO.

Colaboradores:

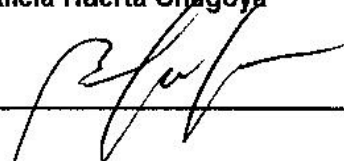
Nombre: Dra. Ma. Teresa Tusié Luna

Firma: _____



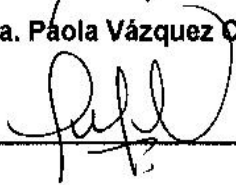
Nombre: Dra. Alicia Huerta Chagoya

Firma: _____



Nombre: Dra. Paola Vázquez Cárdenas

Firma: _____



INDICE

Glosario	7
Relación de figuras y tablas	8
Resumen	9
Abstract	10
1. Introducción	11
1.1. Diabetes Tipo 1	
1.2. Diabetes Tipo 2	
1.3. Otros tipos específicos de diabetes	
2. Antecedentes	12
2.1. Genética de la Diabetes y estrategias de estudio	
2.2. Similitud con la DT2 y estudios genéticos	
3. Justificación	18
4. Hipótesis	19
5. Objetivos	19
5.1. Objetivo General	
5.2. Objetivos Particulares	
6. Material y Métodos	20
6.1. Tipo de estudio	
6.2. Ubicación temporal y espacial	
6.3. Criterios de selección de la muestra y descripción operativa del estudio	
6.4. Variables	
6.5. Tamaño de la muestra	
6.6. Procedimiento	
6.7. Análisis estadístico	
7. Resultados	25
7.1. Características de la muestra	
7.2. Genotipificación de las variantes alélicas analizadas	
7.3. Descripción de la muestra para análisis de expresión global	
8. Discusión	29
9. Conclusiones	31
10. Perspectivas	32
11. Bibliografía	32
12. Anexos	35
12.1. Carta aceptación del Comité de Bioética	
12.2. Hoja de colección de datos	
12.3. Cuestionario socioeconómico	
12.4. Consentimiento informado parte 1	
12.5. Consentimiento informado parte 2	

GLOSARIO

ADA *American Diabetes Association*

AUC *Area Under the Curve*

CTOG *Curva de Tolerancia Oral a la Glucosa*

DG *Diabetes Gestacional*

DM *Diabetes Mellitus*

DNA *Desoxyribonucleic Acid*

DS *Desviación estándar*

DT1 *Diabetes Tipo 1*

DT2 *Diabetes Tipo 2*

ENSA *Encuesta Nacional de Salud*

ENSANUT *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición*

GWAS *Genome Wide Association Studies*

HDL *High Density Lipoprotein*

IMC *Índice de Masa Corporal*

INCMNSZ *Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán*

LDL *Low Density Lipoprotein*

MALD *Mapping by Admixture Linkage Disequilibrium*

MODY *Maturity Onset Diabetes of the Young*

OMS *Organización Mundial de la Salud*

OR *Odds ratio*

RN *Recién nacido*

RNA *Ribonucleic Acid*

TG *Triglicéridos*

RELACION DE FIGURAS Y TABLAS

Tabla 2.1 Estadísticas de la DM en México

Tabla 2.2. Criterios de diagnóstico de la DG, según Carpenter y Coustan, 1982

Tabla 2.3. Criterios de reclasificación de la DM, según la ADA, 2007

Figura 1.3. Interacción genes-ambiente en el desarrollo de la DT2

Tabla 2.4. Similitudes entre la DT2 y la DG

Tabla 6.1. Criterios de inclusión y exclusión para parte 1

Tabla 6.2. Criterios de inclusión y exclusión para parte 2

Figura 6.1. Diseño experimental

Tabla 6.3. Variables independientes

Tabla 6.4. Variables dependientes

Tabla 6.5. Matriz de diseño para los experimentos de expresión génica

Tabla 7.1. Características de la muestra

Tabla 7.2. Frecuencias de variantes genéticas de riesgo para DT2

RESUMEN

La Diabetes Tipo 2 (DT2) se ha convertido en una pandemia; es alarmante que una proporción importante de los que la padecen sea gente joven y lo es aún más que muchos enfermos desconozcan tenerla. La DT2 comparte muchas características fisiopatológicas y genéticas con la Diabetes Gestacional (DG), por lo que se han considerado como entidades relacionadas. Por ejemplo, las mujeres que padecieron DG tienen mayor riesgo de desarrollar DT2. Ambas son enfermedades complejas en las que participa un conjunto de genes de susceptibilidad donde cada uno aporta un efecto modesto sobre el riesgo.

En el presente trabajo se realizó un estudio prospectivo que incluyó 142 mujeres embarazadas no relacionadas de la población mestiza mexicana (109 controles y 21 casos). Nuestros resultados revelaron una prevalencia de DG del 14.7%, y una incidencia del 50% y 10% de intolerancia a los carbohidratos y DT2, respectivamente, entre las mujeres casos. Pese a esto, el tratamiento nutricional oportuna permitió revertir los efectos hiperglucémicos postparto, en la mayoría de las pacientes que desarrollaron DG. Por otro lado, encontramos que los factores de riesgo más importantes que determinan el desarrollo de la DG son el estado de obesidad pregestacional, así como los antecedentes familiares de DM de primer grado (OR=13.1, $p=0.000$; OR=8.03, $p=0.0555$, respectivamente).

Adicionalmente, encontramos que los niveles de triglicéridos gestacionales se asociaron con una mayor ganancia de peso de la madre durante el embarazo; y que padecer DG se asocia con una resolución del embarazo en semanas más tempranas. Se observó que dos de las pacientes diagnosticadas con DG obitaron en las semanas 22 y 26 de gestación, respectivamente; una de ellas habiendo desarrollado DG tipo A2.

Finalmente, encontramos que cuatro variantes genéticas previamente asociadas a DT2, presentaron frecuencias alélicas similares entre los casos de DT2 y de DG. Queda clara la necesidad de continuar la búsqueda de variantes genéticas que contribuyan a la predisposición a la DT2 y la DG mediante el uso de otras estrategias, que nos permitan hacer conclusiones respecto a la similitud de ambas enfermedades. La importancia del estudio de la DG resalta en el hecho de que representa el estadio temprano de la DT2; y por tanto, la oportunidad de entender su patofisiología e incidir en métodos profilácticos eficaces.

Abstract

Type 2 Diabetes (T2D) has become a worldwide pandemic. It is alarming that a large proportion of individuals who suffer from it are young; moreover, many of them have not been diagnosed. Since DT2 and Gestational Diabetes (GD) share physiopathologic and genetic characteristics, they have been considered as related entities. Women who suffered from GD for instance, are at a greater risk to develop T2D. Both are complex diseases determined by a group of susceptibility genes, each conferring a modest risk.

In present work, we developed a prospective study that included 142 Mexican Mestizo non-related pregnant women (109 controls and 21 cases). Our results showed a GD prevalence of 14.7%, and a carbohydrate intolerance and T2D prevalence of 50% and 10%, respectively, among the cases women. Nevertheless, opportune nutritional intervention allowed to revert the postpartum hyperglycemic effects, among the majority of the patients who developed DG. On the other hand, we found that the most important risk factors determining the development of GD are pregestational obesity status, as well as familiar history of DM (OR=13.1, $p=0.000$; OR=8.03, $p=0.0555$, respectively).

Additionally, we found that the gestational triglycerides levels were associated with a greater mother weight gain during the pregnancy; and that DG is associated with premature births. It was observed that fetuses, of two patients diagnosed with GD, suffered early stillbirth during 22 and 26 gestational weeks, respectively; one of the patients developed type A2 GD.

Finally, we found that four genetic variants previously associated to T2D, showed similar allelic frequencies between T2D and GD cases. Further studies are needed in order to find out genetic variants that contribute to the T2D and GD predisposition, based on alternative strategies that allow us to make conclusions regarding both types of DM. The importance of the GD research is emphasized by the fact that it represents a early onset of T2D; and therefore, the opportunity of understanding its pathology, but also to proceed on profilactic efficient methods.

1. INTRODUCCION

La diabetes mellitus (DM) fue reconocida como desorden médico hace más de 2000 años. A la fecha se ha convertido en una de las enfermedades con mayor impacto epidemiológico en el mundo. La DM ha alcanzado proporciones pandémicas. En el año 2000 se calculó que había 171 millones de diabéticos alrededor del mundo[1] y 285 millones en 2010[2]. Se estima que aumentara a 439 millones en 2030[2]. El panorama no es diferente para nuestro país, donde ocupa el primer lugar en número de defunciones por año. La tendencia de mortalidad es ascendente en ambos sexos, con más de 60 mil muertes y 400 mil casos nuevos anuales. La Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000[3], informó que la prevalencia nacional de DM para adultos mayores de 20 años era de 7.5%; mientras que en solo seis años, la prevalencia aumentó a 14.42%, de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2006[4]. Estas diferencias no son atribuibles al diseño de los estudios o a la metodología para el diagnóstico y la estimación de la prevalencia, por lo que la tendencia es alarmante.

La DM es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia que resulta de defectos en la secreción de insulina, su acción o ambas[5]. La Organización Mundial de la Salud, reconoce cuatro tipos principales que se describen a continuación[6].

1.1. Diabetes mellitus Tipo 1 (DT1)

Es un trastorno autoinmune a causa del cual el cuerpo ataca y destruye sus células β pancreáticas, resultando en la producción casi nula de insulina (causa directa de la hipoglucemia). Los pacientes que la padecen, necesitan la administración exógena continua de dicha hormona, por lo que también es llamada diabetes mellitus dependiente de insulina. Además, estos pacientes son muy propensos a la cetosis (acidosis causada por una producción excesiva de cuerpos cetónicos) y una proporción variable de los casos presentan anticuerpos contra los islotes pancreáticos, característica utilizada para su diagnóstico[7]. Generalmente, los pacientes tienen síntomas agudos de la enfermedad y niveles muy elevados de glucosa sanguínea; debido a esto, son diagnosticados muy jóvenes[6]. El 90% de los casos comienzan en la infancia (entre 10-14 años de edad).

1.2. Diabetes mellitus Tipo 2 (DT2)

Es la forma más común de esta enfermedad, en México representa el 97% de los casos diagnosticados[1]. Generalmente, se diagnostica de manera tardía hasta que aparecen complicaciones; debido a esto, aproximadamente un tercio de los afectados permanecen no diagnosticados[6]. La causa de la hiperglucemia en este tipo de diabetes es más compleja debido a que resulta tanto de defectos progresivos en la secreción de la insulina como de la resistencia a

dicha hormona. En un inicio, los pacientes continúan secretando insulina, incluso suelen presentar hiperplasia de las células β e hiperinsulinemia; sin embargo, los órganos blancos no responden adecuadamente a la hormona[8]. Conforme avanza la enfermedad, las células β van perdiendo poco a poco su capacidad de proliferación y función.

1.3. Otros tipos específicos de DM

Dentro de este grupo se ubican el resto de tipos de DM que se desarrollan por otras causas, entre las que destacan[6]:

- 1) Defectos genéticos en la función de la célula β (MODY, *Maturity Onset Diabetes in the Young*; y otras).
- 2) Defectos genéticos en la acción de la insulina (Síndrome de Berardinelli-Seip, autoinmunidad al receptor de insulina, leprechaunismo).
- 3) Enfermedades en el páncreas exocrino (DM secundaria a pancreatitis, trauma o remoción quirúrgica del páncreas, cáncer de páncreas o fibrosis quística).
- 4) Enfermedades en el páncreas endocrino (Síndrome de Cushing, feocromocitoma, acromegalia)
- 5) Inducción por administración de medicamentos u otros químicos.

1.4. Diabetes mellitus Gestacional (DG)

Se define como una intolerancia a los carbohidratos de severidad variable que se presenta o se diagnostica por primera vez durante el embarazo[9]. Durante la gestación, se producen cambios drásticos en el metabolismo materno que son necesarios para asegurar las demandas de nutrientes del feto en crecimiento, aún cuando estos sigan incorporándose a la madre [10]. Uno de los cambios es un aumento en la resistencia a la insulina (cuyo mayor pico se da al final del segundo trimestre), a lo que el cuerpo compensa aumentando la secreción de la hormona; sin embargo, en las mujeres con DG no es suficiente y se genera hiperglucemia [11, 12]. Éste es el tipo de DM que ocupa a este trabajo y será explicado a detalle en las secciones que siguen.

2. ANTECEDENTES

La prevalencia de DG ha aumentado en los últimos años y varía entre las diferentes poblaciones étnicas; por ejemplo, en asiáticas es de 5-10%, en mexicanoamericanas de 5-7%, en árabes de 5-7%, mientras que en europeas es de 2-4%[13]. Un estudio revelado por el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinoza de los Reyes (INPer) de la Ciudad de México reveló una prevalencia del 8.4% en población mestiza mexicana en 2005[14]. Es importante mencionar, que dicha cifra es

poco confiable; y a la fecha, aún con las recomendaciones de la Asociación Americana de Diabetes (ADA, *American Diabetes Association*), no hay un consenso internacional para el método de diagnóstico de la DG. Además, a diferencia de la DT2, no hay registros históricos de su prevalencia en el país.

La DG ha cobrado gran relevancia epidemiológica, las Encuestas Nacionales de Salud han llamado la atención sobre ella a partir de algunas observaciones: 1) el número de adultos jóvenes diabéticos (20-40 años de edad) se ha incrementado[3][4]; 2) un porcentaje importante de estos pacientes no se sabía diabético, fue diagnosticado durante la realización de las Encuestas; 3) la prevalencia de síndrome metabólico es mayor en mujeres[15][16][17] (tabla 2.1). Con base en lo anterior, se piensa que la prevalencia de DG en el país podría estar subestimada, muchas pacientes podrían ser diabéticas no diagnosticadas y un buen control de la mujer con DG podría disminuir la presencia de complicaciones materno-fetales asociadas y, asegurar un buen estado metabólico al terminar el embarazo.

Tabla 2.1 Estadísticas de la DM en México.

	ENEC 1993	ENSA 2000	ENSA 2006
No. de causa de muerte (♀)	n.d.	1	1
No. de causa de muerte (♂)	n.d.	2	1
Prevalencia global (%)	6.7	7.5	14.42
Prevalencia de DM inicio temprano (%)	1.8	2.3	5.8
% del total de diabéticos de inicio temprano	14.8	13.2	21.5
Radio DP:ND	1:0.45	1:0.26	1:0.97
Prevalencia de DM en mujeres (%)	n.d.	7.8	13.2
Prevalencia de DM en hombres (%)	n.d.	7.2	15.8
Nuevos diagnósticos (%)	2.1	1.7	7.1
Prevalencia Sx metabólico ATP III (%)	26.6	34	36.8
Prevalencia Sx metabólico en mujeres (%)	n.d.	44.2	42.2
Prevalencia Sx metabólico en hombres (%)	n.d.	24.1	30.3

Datos obtenidos de[15][16][17] DP(diagnóstico previo); ND (nuevo diagnóstico); n.d. (no disponible).

La forma mundialmente aceptada para el diagnóstico de la DG es mediante la realización de una Curva de Tolerancia Oral a la Glucosa (CTOG) en la que se administran 100 g de glucosa en ayuno y, se realizan mediciones séricas de ésta, antes y 1, 2 y 3 horas después de la ingestión. Debe realizarse en las semanas 24-28 de gestación. Se diagnostica DG, cuando hay dos o más valores alterados de los establecidos por Carpenter y Coustan, 1982[18] (tabla 2.2). La curva debería realizarse a todas las mujeres embarazadas; sin embargo, dado su alto costo, se reemplaza por una prueba de escrutinio o tamiz de 50 g en las semanas 13-28 de gestación que permite identificar a las mujeres con mayor probabilidad de desarrollar DG. Sólo a ellas, se les realiza la CTOG de 100 g para verificar su estado metabólico[19].

Tabla 2.2. Criterios de diagnóstico de la DG, según Carpenter y Coustan, 1982.

	Glucosa (mg/dl)
Ayuno	95
1 h	180
2 h	155
3 h	140

La DG puede desaparecer horas después del parto; sin embargo, un porcentaje alto de las pacientes pueden desarrollar DT2 (17-63% en un periodo de 5-16 años después de resuelto el embarazo), principalmente si: 1) son obesas; 2) el diagnóstico se estableció en etapas tempranas del embarazo y; 3) la hiperglucemia fue muy elevada[19]. Adicionalmente, la recurrencia de DG es del 35 al 80% y está influenciada por el IMC, la paridad, las características del embarazo afectado (etapa de la gestación en que se diagnosticó la primera vez, requerimientos de insulina y ganancia de peso) y el intervalo entre los embarazos[20].

Para verificar el estado metabólico postparto, se les realiza una CTOG de 75 g, una de las formas de diagnóstico para DT2 aceptada por ADA. En ésta se realizan mediciones de glucosa, antes y después de 2 horas de la ingestión de glucosa (tabla 2.3). Normalmente, se les practica a partir de las 6 semanas del puerperio.

Tabla 2.3. Criterios de reclasificación de la DM, según la ADA, 2007.

Diagnóstico	Glucosa (mg/dl)	
	Ayuno	2 h
Normoglucemia	<110	<140
Intolerancia a los carbohidratos	110-125	140-199
Diabetes Mellitus Tipo 2	≥126	≥200

* Se diagnostica intolerancia o DT2 cuando el paciente tiene al menos 1 de los valores alterados.

2.1. Genética de la Diabetes y estrategias de estudio

La DM es una enfermedad heterogénea y multifactorial, en la que participan factores genéticos que van desde mutaciones puntuales que por sí mismas son suficientes para desarrollar la enfermedad –en las formas monogénicas de la enfermedad, como los casos MODY (*Maturity Onset Diabetes of the Young*), hasta combinaciones de variantes alélicas en distintos *loci* –en las formas más comunes– que resultan en el fenotipo diabético en presencia de diversos factores ambientales de diferente magnitud tales como alimentación, sedentarismo, obesidad, exposición a agentes genotóxicos, etc. Es el factor genético influenciado por el ambiente y el estilo de vida lo que determina la susceptibilidad de un individuo a desarrollar diabetes (figura 1.3).

Entre la evidencia que apoya que la DT2 tiene un fuerte componente genético destaca que:

1) la tasa de concordancia en gemelos monocigóticos idénticos (35-58%) es mayor a de gemelos

dicigóticos no idénticos (17-20%) pues éstos sólo comparten el 50% de sus genes; 2) los antecedentes familiares confieren 2.4 veces más riesgo de desarrollar DT2 y aumenta cuando ambos padres la padecen [21]. Esto demuestra también la existencia de factores ambientales predisponentes; entre ellos podemos mencionar que el riesgo a desarrollar DT2: 1) aumenta 20 veces en individuos obesos, 2) aumenta en individuos que tuvieron bajo peso al nacer y que en la vida adulta llevan mala nutrición (la malnutrición fetal puede provocar un pobre desarrollo de las células β pancreáticas y resistencia a la insulina) [8].

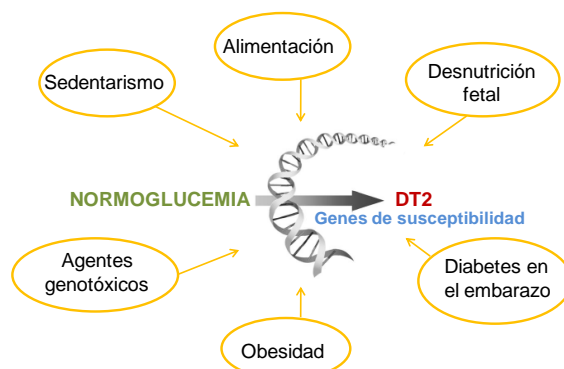


Figura 2.1. Interacción genes-ambiente en el desarrollo de la DT2.

Todos los esfuerzos para detectar los genes involucrados en el desarrollo de la DM están impulsados, en un principio, por el hecho de encontrar asociaciones genotipo-fenotipo que ayuden a dilucidar los mecanismos de la enfermedad y más adelante, que estos conocimientos puedan ser aplicados en la profilaxis y tratamiento. Sin embargo, con las estrategias más recientes sorprende que en varios de los genes encontrados, no sea tan obvia su responsabilidad en la enfermedad. Pese a ello, a la mayoría se les ha atribuido un papel importante en la disfunción de la célula β pancreática debido a que las proteínas para las cuales codifican se expresan dentro de la misma.

2.2. Similitud con la DT2 y estudios genéticos

Podemos distinguir varias características comunes por las que se han propuesto a la DT2 y a la DG como entidades relacionadas e, incluso a esta última como un estado prediabético: 1) ambos grupos presentan resistencia a la insulina y disfunción de la célula β pancreática; 2) comparten factores de riesgo y 3) la prevalencia de la DG varía proporcionalmente con la de la DT2[20] (tabla 2.4).

Tabla 2.4. Similitudes entre la DT2 y la DG.

	DT2 y DG	DT2	DG
Aparición		Adultos	Embarazo
Síntomas	Hiperglucemia Glucosuria Poliuria, polidipsia, polifagia Pérdida de peso inexplicable Obesidad Antecedentes familiares Etnicidad		
Factores de riesgo	Intolerancia a la glucosa previa Resistencia a la insulina previa Sedentarismo, tabaquismo Bajo peso al nacer Dieta Ejercicio		Edad avanzada Productos macrosómicos Multiparidad
Tratamiento	Hipoglucemiantes Insulina		
Complicaciones		Retinopatías Neuropatías Nefropatías Microangiopatías Problemas visuales	Macrosomía fetal Complicaciones en parto Hipoglucemia fetal Riesgo a DT2 fetal DT2 en la madre

Por dichas similitudes, se ha propuesto a la DG como una prediabetes y por ello, se han probado los genes asociados a la DT2 en muestras de diseño caso-control. Los estudios genéticos de la DG son escasos; la mayoría se enfoca sólo en el entendimiento de sus bases metabólicas. A la fecha, sólo hay tres reportes donde se replican en poblaciones europeas y asiáticas, algunas de las variantes inicialmente asociadas a la DT2[22][23][24]. Para población mestiza mexicana, aún no hay estudios genéticos reportados de la DG.

En el grupo de investigación de la Dra. Tusié, se han estudiado trece de las variantes genéticas de riesgo a la DT2, identificadas en poblaciones europeas; seis de ellas han resultado ser de riesgo para población mestiza mexicana. De manera interesante, hemos visto modulación de su efecto de acuerdo a la edad de diagnóstico de la enfermedad o el estado de obesidad (Gamboa-Meléndez, 2011, manuscrito en prensa).

De forma similar, se ha tratado de replicar dichas asociaciones en muestras caso-control de DG; sin embargo, a diferencia de los estudios de DT2, los reportes de DG son difícilmente comparables, debido a que: 1) los métodos de diagnóstico de la DG son diferentes; 2) las semanas de gestación en que se hizo el diagnóstico son diferentes y 3) los grupos controles no corresponden a un diseño caso-control. Como puede observarse el estudio genético de la DG es aún muy preliminar y la estructura genética de nuestra población lo hace aún más complicado.

Lo anterior nos ha llevado a proponer nuevas estrategias para la identificación de las regiones génicas implicadas en el desarrollo de la DG, que en conjunto con los estudios de expresión diferencial de genes en tejidos relevantes, nos permita entender los procesos fisiológicos que subyacen a esta enfermedad y su pronóstico. Las dos estrategias que proponemos como ideales para el estudio de la DG se discuten a continuación:

- 1) Mapeo por *admixture* (MALD, *Mapping by Admixture Linkage Disequilibrium*): el efecto del *admixture* o mezcla se basa en la generación de segmentos cromosómicos originarios de una u otra población parental, siendo posible saber de cuál proceden mediante el uso de marcadores. El MALD utiliza dicha mezcla para detectar variantes asociadas a una enfermedad si sus frecuencias son diferentes entre las poblaciones parentales. La idea general es buscar a lo largo del genoma de personas afectadas, regiones con alta representatividad de segmentos cromosómicos procedentes de la población amerindia con la mayor prevalencia de la enfermedad, bajo la premisa de que incluirán alelos de riesgo[25, 26].

No obstante, no todas las poblaciones ni enfermedades reúnen los requisitos para ser analizadas mediante MALD[27]; sin embargo, la mestiza mexicana cumple con ellos: 1) flujo génico y número de generaciones, puesto que se originó de la mezcla de ancestría europea, amerindia y africana (50%, 45% y 5%, respectivamente) hace 8.8 ± 1.2 generaciones[28] y 2) riesgo-etnicidad, dado que la prevalencia de la DM en población amerindia es mucho mayor que en la caucásica. Una de las ventajas del MALD es la posibilidad de estudiar sólo individuos afectados, aunque se pueden usar controles para asegurar que las desviaciones de ancestría sólo ocurren en casos y no en controles[26]. Además, este tipo de análisis resulta mucho más accesible económicamente, pues a diferencia de los GWAS se requieren cientos de veces menos marcadores (2000-3000), siempre y cuando sus frecuencias alélicas sean muy diferentes entre las poblaciones parentales[26].

La elección del conjunto de marcadores de ancestría determina la eficiencia del MALD y para poblaciones latinoamericanas ya se han descrito paneles de marcadores apropiados. Nuestro grupo de investigación participó en la generación de uno de ellos[28], en el cual, se seleccionaron un panel de 1649 marcadores utilizando 4 poblaciones latinoamericanas y 15 poblaciones ancestrales, entre las que nuestra población resultó una de las más adecuadas para este tipo de análisis.

- 2) Análisis de expresión génica global: a la fecha hay varias técnicas que nos permiten estimar la abundancia de transcritos en una muestra. Los microarreglos, si bien tienen limitaciones, permiten analizar la expresión de un gran número de genes. En especial los

chips de *Affymetrix* HG-U133 plus 2.0 han demostrado tener buena replicabilidad y sus resultados correlacionan con los de técnicas como *RNA seq* ($r=0.73$)[29]. Dentro de sus ventajas, está la factibilidad en el manejo de los datos obtenidos y el bajo costo computacional que requiere su análisis.

3. JUSTIFICACION

Como ya se ha dicho, ambos tipos de DM, la DT2 y la DG, mantienen similitud fisiopatológica y genética, dificultando la identificación de sus características individuales. El aumento de la prevalencia de DT2, sobre todo en gente joven, exige mayor cuidado en la selección de individuos para su análisis. Sin embargo, excluir a las pacientes con antecedentes familiares de DT2, no reflejaría la situación más común de nuestra población. Aún cuando se considerara como variable de exclusión, hemos comprobado que los estudios de diseño caso-control resultan metodológicamente complicados de realizar dada la dificultad de reunir muestras suficientes.

La estrategia alternativa para el estudio de las variantes genéticas asociadas a la DG, más conveniente es el MALD, puesto que no sólo nos permitirá identificar regiones de susceptibilidad para la enfermedad, sino que también serán aquéllas propias de nuestra población. La alta mezcla y el gran porcentaje de origen nativo americano (cuya prevalencia de la DM es alta) hacen de la población mexicana una de las más adecuadas para la realización de este tipo de análisis.

El panel que se utilizará arroja el mayor poder estadístico para la población mexicana, lo cual se traduce en la necesidad de un tamaño de muestra menor. Además: 1) el costo de genotipificación que genera es 5 veces más bajo en comparación con un escaneo del genoma completo y 2) es un análisis estadísticamente más potente puesto que considera los estimados de ancestría eliminando el ruido que introducen los controles y 3) reduce el número de comparaciones de un estudio clásico de diseño caso-control.

Por último, el análisis de expresión génica diferencial complementará y dirigirá la identificación puntual de los *loci* de riesgo a la enfermedad. La inclusión de una batería amplia de genes permitirá la identificación de aquéllos de los que no se tiene sospecha de su participación. El análisis global de las regiones de susceptibilidad y genes relevantes ayudará a establecer una red mucho más clara, a partir de la cual sea más fácil disecar el componente genético de la DG.

Dichas metodologías suponen un gran número de pacientes, de modo que en el presente trabajo se desarrollan los resultados preliminares que han permitido hacer conclusiones

importantes para el diseño experimental del mismo; así como una descripción del estado metabólico y factores de riesgo para desarrollar DG en mujeres embarazadas de la población mestiza mexicana. A pesar de la alarma epidemiológica, pocos son los estudios que describen a la DG en nuestra población. Es por ello, que consideramos fundamental su estudio, no sólo como medida preventiva del desarrollo de DT2 en la madre, sino también de enfermedades metabólicas en el producto.

4. HIPOTESIS

A través del MALD será posible identificar regiones de susceptibilidad a la DG en la población mestiza mexicana. La evaluación de las diferencias en la expresión génica global entre casos y controles en tejidos fisiológicamente relevantes para la enfermedad, orientará la identificación de los genes y las rutas metabólicas involucradas en la fisiopatología de esta entidad.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Identificar regiones génicas de susceptibilidad a la DG en pacientes de la población mestiza mexicana mediante MALD.

Identificar genes diferencialmente expresados en tejidos relevantes para la enfermedad, en pacientes que desarrollaron DG durante su embarazo, con respecto a las que no.

5.2. Objetivos particulares

Determinar la prevalencia de la DG en mujeres embarazadas mestizas mexicanas, atendidas en el Hospital General "*Dr. Manuel Gea González*".

Identificar los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de la DG.

Comparar las frecuencias de variantes genéticas de riesgo para DT2, en las pacientes que desarrollaron DG.

6. MATERIAL Y METODOS

6.1. Tipo de Estudio

Se trata de un estudio prospectivo longitudinal.

6.2. Ubicación Temporal y Espacial

El presente trabajo consta de dos partes: 1) la realización de un mapeo por *admixture* y 2) el análisis de expresión génica global. Para ello se reúne una muestra de mujeres mestizas mexicanas no relacionadas (donde las probando, padres y abuelos se reconocieron como mexicanos) y mayores de 18 años de edad, atendidas en diferentes hospitales de la Ciudad de México, entre ellos el Hospital General Manuel Gea González (GEA).

Para todas se sigue el mismo procedimiento de diagnóstico. Se les realiza una CTOG de 100 g y el diagnóstico de DG se lleva a cabo siguiendo los criterios de Carpenter y Coustan, 1982[18] (tabla 2.2). Los casos se clasifican según la severidad de la DG, de acuerdo a la clasificación propuesta por Freinkel, 1980: se considera DG tipo A1, cuando la concentración de glucosa sérica en ayuno es menor a 105 mg/dl; DG tipo A2, cuando los niveles se encuentran entre 105-129 mg/dl y DG tipo B1, cuando la glucosa ≥ 130 mg/dl.

Para cada paciente, se elabora una hoja de colección de datos, en la cual se recaba información sociodemográfica, datos antropométricos, antecedentes clínicos personales y heredofamiliares. También se recolectan datos diagnósticos y de los recién nacidos. Una vez concluido el embarazo, las mujeres reciben una solicitud para que acudan entre la semana 10-12 del puerperio a la realización de una CTOG de 75 g para la reclasificación de la DM. De acuerdo a los resultados, se clasifican según los criterios de la ADA ya mencionados (tabla 2.3).

6.3. Criterios de Selección de la Muestra

Todas las muestras de las pacientes que tengan un diagnóstico positivo o negativo a DG, se incluyen en la primera parte del estudio. El intervalo de semanas de gestación en que es realizado el diagnóstico fue ampliado con respecto al propuesto por Carpenter y Coustan. Dado que es durante la segunda mitad del embarazo cuando se establece el mayor pico de resistencia a la insulina, decidimos ampliar el intervalo: 1) hacia el final del embarazo en controles, puesto que se descarta que se desarrolle hiperglucemia en semanas de gestación avanzadas y 2) hacia el inicio del embarazo en casos para identificar a aquellas mujeres que desarrollan hiperglucemia temprana. Por otra parte, se excluyen mujeres con otros padecimientos que modifican *per se* el metabolismo de carbohidratos (tabla 6.1). A estas pacientes, se les toma una muestra de sangre

después de ayuno de doce horas para la purificación de DNA y la medición de rasgos bioquímicos. Al finalizar el embarazo, se recuperan los datos de sus recién nacidos y de su CTOG de reclasificación.

Tabla 6.1. Criterios de inclusión y exclusión para parte 1.

Inclusión		Exclusión
Casos	Mujeres embarazadas con DG CTOG en 16-30 sdg	Edad 18 años de edad No mestizas mexicanas Cualquier otra forma de DM Intolerancia a los carbohidratos pregestacional
Controles	Mujeres embarazadas sin DG CTOG en 22-35 sdg	Hiper o hipotiroidismo Síndrome de ovario poliquístico Pancreatitis y otras

Luego de haber revisado a detalle la historia clínica de las pacientes reclutadas, se decide quiénes cumplen los criterios de inclusión para ser candidatas a participar en la segunda parte del estudio. Estas pacientes son seguidas a lo largo de su gestación. Aquéllas que por alguna razón médica, se les indica cesárea como método de resolución del embarazo, son invitadas a participar nuevamente en el estudio. Entre los criterios adicionales, se incluyen que la CTOG 100 g se haya realizado específicamente entre las semanas 24-28 de gestación, que tengan un período intergenésico de al menos un año y que el embarazo no sea multigesta (tabla 6.2).

Tabla 6.2. Criterios de inclusión y exclusión para parte 2.

Inclusión	Exclusión
Mujeres embarazadas CTOG en 24-28 sdg Edad \geq 18 años de edad Período intergenésico \geq 1 año Parto programado por cesárea	Que no cumpla con los criterios de la parte 1 Embarazo múltiple Consumo de hormonas

Poco antes de la cesárea, las pacientes son pesadas y se les toma una muestra de sangre para la purificación de RNA y la medición de rasgos bioquímicos. Durante la intervención quirúrgica, se les toman biopsias de aproximadamente 0.5 cm³ de: tejido adiposo visceral y subcutáneo, músculo, placenta y cordón umbilical. De este último, se toma una muestra de sangre. Las biopsias se enjuagan con solución salina para eliminar el exceso de sangre materna en ellas y junto con las alícuotas de sangre, son congeladas inmediatamente en nitrógeno líquido. Las muestras se almacenan a -80°C hasta su uso.

Finalmente, a las pacientes que desarrollaron DG y que no recuperaron los niveles glucémicos normales, evaluados a través de la CTOG 75g, se les ofrece seguimiento nutricional y en caso de ser necesario, endocrinológico. Las pacientes reciben intervención nutricional continua.

En la figura 6.1 se esquematiza el diseño general del estudio a lo largo del embarazo y los procedimientos que se realizan en cada una de las dos partes que lo conforman.

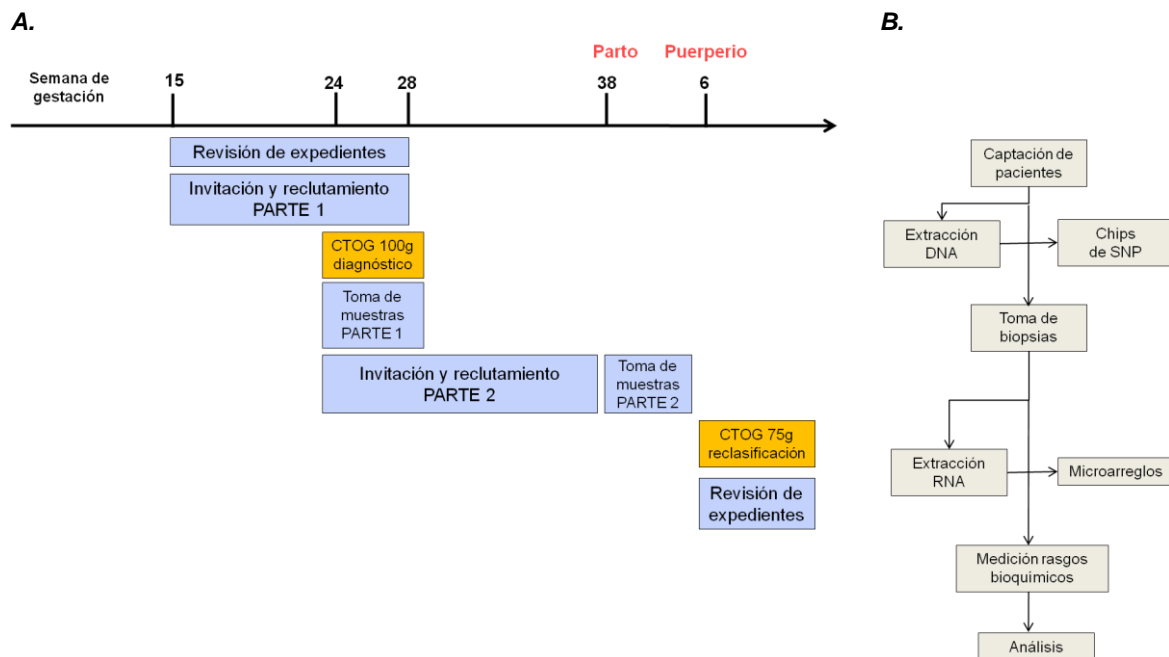


Figura 6.1. Diseño experimental. A. Actividades a realizar a lo largo del embarazo de las pacientes. B. Diagrama de flujo experimental.

6.4. Variables

Variable(s) Independiente(s)

Tabla 6.3. Variables independientes

Variable	Escala	Unidades de medición
Estado glucémico	Nominal	Caso/Control
Antecedentes familiares de DM	Binomial	Sí/No
Edad materna	Intervalo	Años
Obesidad	Nominal	Obesidad/No obesidad
Estatus socioeconómico	Nominal	Bajo/Alto
Genotipo	Intervalo	Frecuencia alélica

Variable(s) Dependiente(s)

Tabla 6.4. Variables dependientes

Variable	Escala	Unidades de medición
Estado glucémico postparto	Nominal	Normoglucémica/Intolerante/DT2
Peso del RN	Intervalo	g
Talla del RN	Intervalo	cm
Capurro	Intervalo	Semanas de gestación
Término del parto	Nominal	Pretérmino/A término

6.5. Tamaño de la Muestra

Para nuestra población, se estimó que con el conjunto de marcadores genéticos elegido, un MALD requeriría un número relativamente bajo de muestras para alcanzar un poder estadístico alto, debido a que las proporciones de ancestría tanto europea como amerindia son altas. Para detectar un locus de OR=1.5 se necesitan 724 casos aproximadamente y, disminuye en proporción inversa al aumento del OR. Se incluirá además un grupo de controles como método de normalización del porcentaje de ancestría.

En cuanto al análisis de expresión, se considerarán cuatro grupos de pacientes de acuerdo a su glucemia y su estado de obesidad. Las pacientes se parearán por edad. Se calculó un tamaño de muestra de 5 pacientes por grupo; en algunos se incluirá una réplica técnica. En un primer experimento, se incluirán cuatro tejidos: parénquima placentario, músculo, tejido adiposo visceral y tejido adiposo subcutáneo; por ser los tejidos con mayor relevancia biológica para la enfermedad (tabla 6.5).

Tabla 6.5. Matriz de diseño para los experimentos de expresión génica

Grupo	Réplicas biológicas	Réplicas técnicas	No. tejidos	No. de microarreglos
Normoglucémicas no obesas	5	1	4	24
Normoglucémicas obesas	5	1	4	24
Diabéticas no obesas	5	1	4	24
Diabéticas obesas	5	1	4	24

6.6. Métodos de laboratorio

El DNA genómico fue extraído de sangre total usando un *kit comercial* (Qiagen Cat.51162) y, fue resuspendido en agua miliQ. Se cuantificó utilizando un espectrofotómetro *NanoDrop 1000* (Thermo Scientific) y, se hicieron diluciones a una concentración de 10 ng/ μ L. La genotipificación fue realizada usando ensayos KASPar (*Kbiosciences Allele Specific PcR*) de la compañía *KBiosciences* (Hoddesdon, UK). Dicha tecnología es un sistema de detección de marcadores genéticos, cuya técnica se basa en la extensión de oligonucleótidos alelo-específicos y en la generación de la señal mediante fluorescencia. Emplea dos oligonucleótidos *forward* (uno por cada alelo) diseñados para cada variante, a los cuales se les acopla una cola no complementaria al DNA en su extremo 5' y; un oligonucleótido *reverse* común. Adicionalmente, utiliza cassetes FRET comunes (*Fluorescence Resonance Energy Transfer*), los cuales son dos oligonucleótidos complementarios a las colas de los alelo-específicos. Estos oligonucleótidos están marcados con fluoróforos (VIC ó FAM, cada uno reportero de un alelo).

Se utilizaron duplicados de muestras y controles de calidad (sólo agua). Se genotipificó un total de 4 SNP correspondientes a 4 regiones génicas diferentes, reportados en los GWAS recientes (o bien en otras publicaciones de interés) y que han resultado asociados a la DT2 en poblaciones europeas y asiáticas: rs5219 (*KCNJ11*); rs13266634 (*SLC30A8*); rs1111875 (*HHEX/IDE*) y rs10811661 (*CDKN2A/2B*).

En cuanto a los ensayos de MALD, se usarán chips de DNA *Custom iSelect* de *Illumina*, los cuales pueden contener de 3000-6000 SNP a diseño. Dentro de dicho conjunto de SNP, se incluirá el panel de 1649 marcadores de ancestría publicado por Price, 2007.

Por su parte, el RNA total se extraerá tanto de sangre total, como de cada biopsia usando un kit comercial (*Qiagen Cat. 73304*), el cual asegura obtener un material genético de suficiente calidad para los microarreglos de expresión. Las muestras se mantienen ultracongeladas a -80°C y serán procesadas una vez que se tenga el número de pacientes requerido y de manera aleatoria para disminuir la variabilidad técnica en el proceso de extracción de RNA. Se usarán chips HG-U133 plus 2.0 de *Affymetrix*, cuidando que sean del mismo lote de producción.

Todas las determinaciones son realizadas en el Departamento de Endocrinología y Metabolismo de Lípidos del INCMNSZ utilizan procedimientos comerciales estandarizados (*Boehringer, Mannheim*). Glucosa, colesterol total, HDL y triglicéridos son medidos por métodos enzimáticos. La insulina se mide por radioinmunoensayo, mientras que los niveles de LDL se calculan usando la fórmula de Friedewald (1972).

El estado nutricio pregestacional de las participantes se evalúa mediante el cálculo de índice de masa corporal (IMC), el cual es calculado siguiendo la fórmula: $IMC = \text{peso en kg} / \text{talla en m}^2$. Se usan como puntos de corte, los valores propuestos por la Organización Mundial de la Salud (OMS)[30]: obesidad cuando el $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^3$ y, no obesidad cuando el $IMC < 30 \text{ kg/m}^2$.

El área bajo la curva (AUC, *Area Under the Curve*) de los niveles de glucosa plasmática durante la CTOG de 100 g es calculada utilizando el método del trapecioide:

$$AUC = \left[\left(\frac{\text{gluc ayuno} + \text{gluc 60 min}}{2} \right) 60 \right] + \left[\left(\frac{\text{gluc 60 min} + \text{gluc 120 min}}{2} \right) 60 \right] + \left[\left(\frac{\text{gluc 120 min} + \text{gluc 180 min}}{2} \right) 60 \right]$$

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-1993, sobre la Atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio y del recién nacido [31], se consideró: 1) *pretérmino* si el parto se dio entre la semana 28-36; 2) *prematureo* si el parto se dio entre la semana 28-37 pero el producto pesó entre 1.0-2.5 kg y; 3) *muerte neonatal* si el parto se dio después de la semana 21 pero el producto nació sin vida. Adicionalmente, se evaluó la edad gestacional con el método de

Capurro, el cual considera datos somáticos y neurológicos del producto al momento del parto para su clasificación.

6.7. Análisis Estadístico

Todos los cálculos se realizaron usando los paquetes estadísticos STATA/SE v9.0 (StataCorp LP, USA) y SPSS v15.0. Se hicieron comparaciones entre parejas de grupos analizando entre medias o frecuencias, utilizando las pruebas de t de Student (variables con distribución normal) ó, χ^2 (variables categóricas), respectivamente. Para comparar los genotipos entre grupos, se utilizaron las pruebas de χ^2 o exacta de Fisher. El equilibrio de Hardy-Weinberg (casos y controles por separado) y el desequilibrio de ligamiento entre SNP (muestra total) fueron calculados con el paquete estadístico R v2.7.1 (<http://www.r-project.org>).

Se analizó la asociación del estado glucémico con las diferentes variables de interés por medio del ajuste de modelos de regresión lineal (variables continuas) o de regresión logística (variables categóricas), incluyendo las variables confusoras: edad de diagnóstico y estado de obesidad pregestacional, cuando la $p [f] < 0.05$.

7. RESULTADOS

La muestra total estuvo conformada por 142 mujeres: 109 normoglucémicas, 21 diabéticas gestacionales y 12 intolerantes a los carbohidratos. De acuerdo a los criterios de severidad propuestos por Freinkel: el 66.67% fue de tipo A1 y el 33.33% fue de tipo A2. De las pacientes que regresaron a realizarse la CTOG de 75g postparto, el 60% no recuperaron los niveles glucémicos normales.

La prevalencia de la DG fue de 14.78%. La incidencia de intolerancia a los carbohidratos entre las pacientes con DG luego del parto fue del 50%; mientras que la incidencia de DT2 fue del 10%. Las cifras anteriores resultan de alarmantes; sin embargo, es importante mencionar que las pacientes con dichos diagnósticos fueron intervenidas nutricionalmente y la mayoría de ellas han revertido la hiperglucemia. Ninguna de las pacientes ha requerido prescripción de medicamentos; lo cual indica que un manejo nutricional oportuno es suficiente para revertir y/o frenar los efectos metabólicos de la DG en la madre. Actualmente en el Gea González Mas del 80% de las pacientes con diagnóstico de DMG, no regresan a su reclasificación. Las pacientes que acuden nuevamente a consulta para reclasificación habitualmente son manejadas con hipoglucemiantes orales a poco tiempo de la resolución de su embarazo y este manejo queda a cargo del servicio de Medicina Interna, por lo tanto este trabajo demuestra que las pacientes que se logran reclasificar con el

método de seguimiento oportuno que usamos en este trabajo y se les brinda una simple orientación nutricional pueden remitir las alteraciones metabólicas sin necesidad de perder tiempo de consultas en otros servicios y con mejores resultados que usando medicamentos.

De especial importancia es la observación de que dos de las pacientes que desarrollaron DG obitaron en las semanas 22 y 26 de gestación. Ambas son pacientes de 33 años de edad, con sobrepeso pregestacional, ambos padres con diagnóstico de DT2 y con pérdidas gestacionales previas. Una de ellas con antecedente de producto con encefalocele fallecido a los 28 días. Cabe resaltar que esta última paciente padeció DG tipo A2, diagnosticada en la semana 20 de gestación. Ambas pacientes fueron reclasificadas como intolerantes a los carbohidratos. Luego de su tratamiento nutricional postparto, las pacientes no han recuperado sus niveles normoglucémicos.

7.1. Características de la muestra

En las comparaciones de todas las variables se usaron pruebas paramétricas. Los casos presentaron diferencias significativas en todos los factores de riesgo ya reportados para la DG, por ejemplo, una mayor proporción de las pacientes con DG tienen antecedentes familiares de DT2, así como mayor edad e IMC pregestacional. Los valores de glucosa diagnósticos y postparto fueron mayores en las mujeres con DG. Además, dieron a luz en semanas más tempranas, lo cual correlaciona con una disminución en el capurro. Los niveles de triglicéridos también fueron mayores en las pacientes con DG y, permanecieron más elevados al finalizar el embarazo. Además, un porcentaje alto de recién nacidos hijos de madres con DG fueron pretérmino e hipertróficos (tabla 7.1).

Resulta interesante notar que si bien las pacientes con DG iniciaron el embarazo con mayor IMC pregestacional, su ganancia de peso no fue mayor. Otra observación importante es que las pacientes con DG tienen en mayor proporción nivel socioeconómico bajo, consistente con observaciones realizadas previamente (tabla 7.1).

Los factores de riesgo más importantes que determinaron el desarrollo de la DG fueron la obesidad pregestacional y los antecedentes familiares de diabetes. Padecer obesidad pregestacional confiere 13.1 veces más riesgo de desarrollar DG ($p=0.000$, modelo corregido por edad de diagnóstico); mientras que tener antecedentes familiares confiere 8.03 veces más riesgo de desarrollar DG ($p=0.055$, modelo corregido por edad de diagnóstico). El desarrollo de la DG también se asoció con la edad materna ($\beta= 0.012$, $p=0.038$).

Observamos que los niveles de triglicéridos al momento del diagnóstico se asociaron con una mayor ganancia de peso en el embarazo ($\beta= 3.77$, $p=0.023$, modelo corregido por obesidad); y

que los niveles de triglicéridos postparto se asociaron con mayores niveles de glucemia a las 2 horas del postprandio ($\beta= 1.08$, $p=0.024$). Esta última observación fue independiente al estado de obesidad pregestacional (p Wald= 0.940).

El área bajo la curva de diagnóstico, como indicador de la gravedad de la hiperglucemia y capacidad de compensación del organismo, se asoció con mayores niveles de glucemia postparto, tanto en ayuno como a las 2 hrs del postprandio ($\beta= 283.61$, $p=0.010$, $\beta= 87.57$, $p=0.029$, respectivamente).

Finalmente, padecer DG se asoció con la resolución del embarazo en semanas más tempranas ($\beta= -0.058$, $p=0.002$, modelo corregido por obesidad).

Tabla 7.1. Características de la muestra.

Variable	Normoglucémicas	Intolerantes a los carbohidratos	Diabéticas Gestacionales	Valor P NG vs DG	
N	109	12	20		
Estado civil soltera (%)	90.36	75	83.33	0.307	
Trabaja (%)	28.24	25	17.65	0.281	
Escolaridad licenciatura o más (%)	35.71	25	25	0.300	
Nivel socioeconómico bajo (%)	63.49	60	40	0.086	
Consumo de alcohol (%)	27.47	28.57	23.53	0.498	
Consumo de tabaco (%)	25.27	0	23.53	0.574	
Anticonceptivos hormonales (%)	17.71	0	11.11	0.385	
Antecedentes familiares de DM (%)	76.53	66.67	95	0.049	
Cesárea iterativa (%)	2.08	0	5	0.436	
Edad materna avanzada (%)	9.43	33.33	15	0.340	
Estatura baja (%)	11.65	0	5	0.336	
Alta paridad (%)	25.77	25	25	0.594	
Pérdida gestacional recurrente (%)	5.21	10	10	0.347	
Edad (años)	26.22 ± 5.75	32.83 ± 5.52	29.10 ± 5.09	0.0384	
IMC (kg/m ²)	24.26 ± 4.10	26.2 ± 4.18	30.40 ± 5.18	0.000	
Obesidad (%)	4.95	10	40	0.000	
Peso durante primer trimestre (kg)	62.65 ± 11.30	64.28 ± 2.69	71.16 ± 10.10	0.0281	
Peso durante segundo trimestre (kg)	66.91 ± 10.89	71.63 ± 8.82	77.76 ± 12.62	0.0005	
Peso durante tercer trimestre (kg)	72.39 ± 11.61	73.7 ± 3.93	83.03 ± 9.59	0.0050	
Ganancia de peso (kg)	10.30 ± 6.18	13.3 ± 2.71	8.97 ± 6.55	0.4389	
SDG diagnóstico	28.41 ± 3.23	30.08 ± 3.60	28 ± 3.57	0.6120	
Glucosa diagnóstico (mg/dl)	Ayuno	78.36 ± 6.25	89.5 ± 11.56	95.33 ± 11.57	0.0000
	1 hr	125.38 ± 23.55	148.16 ± 27.39	189.10 ± 29.11	0.0000
	2 hr	110.28 ± 18.92	131.33 ± 30.88	168.52 ± 32.78	0.0000
	3 hr	99.62 ± 18.96	109.66 ± 27.29	136.95 ± 24.48	0.0000
	AUC	19487.34 ± 2515.21	22745 ± 3000.6	28425.71 ± 2933.16	0.0000
Perfil lipídico Diagnóstico	Colesterol (mg/dl)	231.44 ± 42.87	248.8 ± 57.9	232.38 ± 61.41	0.9321
	Triglicéridos (mg/dl)	236.28 ± 78.84	298.66 ± 130.9	279.76 ± 87.98	0.0248
	HDL (mg/dl)	69.78 ± 15.51	72.33 ± 18.1	65.90 ± 11.84	0.2804
	LDL (mg/dl)	114.32 ± 33.34	117.08 ± 37.1	110.76 ± 48.41	0.6799
SDG reclasificación	16.08 ± 7.62	n.d.	16.50 ± 8.73	0.9060	

Glucosa postparto (mg/dl)	Ayuno	85.17 ± 5.22	n.d.	98.40 ± 10.30	0.0009
	2 hr	97.50 ± 17.08	n.d.	126.90 ± 32.59	0.0133
Glucemia postparto	Intolerancia (%)	n.d.	n.d.	50	n.d.
	DT2 (%)	n.d.	n.d.	10	n.d.
Perfil lipídico Postparto	Colesterol (mg/dl)	190.50 ± 61.17	n.d.	195.44 ± 36.18	0.8320
	Triglicéridos (mg/dl)	129.92 ± 71.96	n.d.	164.33 ± 52.45	0.2409
	HDL (mg/dl)	51.58 ± 16.19	n.d.	49.67 ± 6.24	0.7412
	LDL (mg/dl)	112.92 ± 53.34	n.d.	112.89 ± 34.17	0.9989
Gestas		1.98 ± 1.08	2 ± 1.06	2.05 ± 1	0.7869
Semana del parto		38.42 ± 1.38	36.91 ± 4.43	36.75 ± 4.37	0.0130
Parto pretérmino (%)		10	16.67	33.3	0.037
Modo de parto (%)		68.33	50	93.33	0.043
Peso RN (g)		2958.82 ± 435.52	3155.33 ± 296.1	2755.93 ± 805.07	0.1864
Talla RN (cm)		49.12 ± 2.38	49.58 ± 1.49	48.43 ± 1.91	0.3167
RN macrosómico (%)		5	0	6.67	0.043
Capurro		38.52 ± 1.38	40 ± 4.54	37.91 ± 2.99	0.3063
APGAR	1 min	8.20 ± 0.55	8.33 ± 0.81	8 ± 0.43	0.2519
	5 min	8.96 ± 0.19	9 ± 0	8.92 ± 0.29	0.4735
Peso placenta (g)		529.07 ± 133.05	n.d.	555 ± 173.41	0.6807

* Se muestra la media ± d.s. Prueba t de Student para muestras independientes.

7.2. Genotipificación de las variantes alélicas analizadas

A excepción de *KCNJ11* (rs5219) y *SLC30A8* (rs13266634) en el grupo de casos ($p=0.05$, 0.015), el resto de las variantes estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p<0.05$). Con el fin de evaluar las diferencias entre el componente genético de la DT2 y la DG, se usaron datos de 4 variantes genéticas previamente asociadas a DT2 en poblaciones caucásicas y asiáticas, pero que también han sido replicadas en población mestiza mexicana. Para la mayoría de las variantes, las frecuencias del alelo de riesgo fueron mayores en los casos de DT2 en comparación con su grupo de controles. Resultó interesante que las frecuencias alélicas de los casos de DG fueron muy similares a las de los casos de DT2 (tabla 7.2).

Tabla 7.2. Frecuencias de variantes genéticas de riesgo para DT2

Gen	SNP	Alelo riesgo	DT2		DG
			Controles n=990	Casos n=1027	Casos n=109
<i>KCNJ11</i>	rs5219	T	0.373	0.396	0.388
<i>SLC30A8</i>	rs13266634	C	0.729	0.770	0.753
<i>HHEX/IDE</i>	rs1111875	T	0.623	0.626	0.646
<i>CDKN2A/2B</i>	rs10811661	T	0.877	0.911	0.916

7.3. Descripción de la muestra para análisis de expresión global

A partir de la muestra total, se seleccionó una submuestra de pacientes. Hasta el momento, 26 pacientes han aceptado participar. De ellas, 8 cursaron con DG en su embarazo (3 con sobrepeso y 5 con obesidad pregestacional) y, 18 pacientes normoglucémicas (9 delgadas, 1 con sobrepeso y 2 con obesidad pregestacional). El diseño original del estudio consideraba un IMC de 30kg/m² como punto de corte para comparación por estado nutricional; sin embargo, no se tienen muestras de mujeres diabéticas con peso normal. Las observaciones hechas en las muestras totales mostraron evidencia de la importancia del IMC pregestacional en la predisposición a la DG, de tal suerte, que se reconsiderará agrupar los estados de sobrepeso y obesidad para las comparaciones (peso normal vs sobrepeso/obesidad).

Las biopsias correspondientes a estas muestras, junto con sus datos clínicos, se han procesado adecuadamente y sólo resta completar la cohorte completa de estudio para comenzar su análisis experimental.

8. DISCUSION

El creciente estudio de la DM ha arrojado suficiente información como para reconocer su gran complejidad y reconsiderar su clasificación. En especial, la DG y la DT2 son enfermedades muy heterogéneas que no tienen una secuencia causal única; es decir, cada paciente presenta una combinación diversa de alteraciones que los hace progresar de forma distinta.

La aparición y severidad de estas alteraciones están determinadas por la existencia de condiciones ambientales adversas y la predisposición genética. Se propone que la DG se desarrolla cuando el ambiente potencia la resistencia a la insulina en una mujer que está genéticamente predispuesta a la disfunción de sus células β pancreáticas.

La importancia del estudio de la DG resalta en el hecho de que representa el estadio temprano de la DT2; y por tanto, la oportunidad de entender su patofisiología e incidir en métodos profilácticos eficaces. En este respecto, se ha visto que la resistencia a la insulina y, por tanto, la tolerancia a la glucosa tienden a deteriorarse conforme avanza la edad, debido a que aumentan los depósitos de grasa central –evaluada mediante la medición de circunferencia de cintura, indicador de riesgo para la resistencia a la insulina y DT2– y disminuye la función de las células β pancreáticas. No obstante, los estudios epidemiológicos más recientes indican que la prevalencia de pacientes que desarrollan DT2 en edad joven va en aumento (tabla 1.1). La principal característica que diferencia a estos pacientes del resto, es que presentan una deficiencia severa

en la secreción de insulina. Al parecer es una forma mucho más agresiva puesto que la descompensación comienza desde edad temprana, por lo que tienen mayor riesgo de sufrir complicaciones crónicas [32-34].

Por otro lado, la obesidad es una de las condiciones patológicas que se asocian estrechamente con la DG, dado que provoca un aumento en su prevalencia. En los individuos normoglucémicos que experimentan una ganancia de peso, se monta la respuesta compensatoria (aumento en la secreción de insulina), para contrarrestar la resistencia a la insulina asociada a la obesidad. Esta involucra el uso preferencial de ácidos grasos y se le ha llamado *glucolipoadaptación*. Cuando la compensación es insuficiente y las células β no son capaces de seguir manteniendo una respuesta secretoria suficiente, los niveles de glucosa se elevan tanto que se hacen evidentes los efectos adversos de los ácidos grasos (disminuye la secreción de insulina, la expresión de su gen y la masa β pancreática). A esta fase de descompensación se le llama *glucolipotoxicidad*. El deterioro de la función β pancreática irá en aumento, si persiste la hiperglucemia [35].

En función a lo anterior, se ha propuesto que la DG podría ser un estado pre-diabético y que la resistencia a la insulina (característica normal del embarazo) se suma a las alteraciones que ya de por sí habían desarrollado y a la predisposición genética que posean, siendo la gestación el factor decisivo en el desarrollo de la hiperglucemia. La predisposición genética determina la capacidad que tiene un individuo de mantener la normoglucemia aún cuando los retos ambientales sean fuertes; así que el componente genético de estas mujeres debería ser alto (como en los diabéticos tipo 2 de inicio temprano) para perder la capacidad de compensación aún cuando son jóvenes.

Nuestros resultados son congruentes con todo lo anterior. Evidenciamos que hay componentes ambientales que predisponen claramente para el desarrollo de la DG. Una de las variables más importantes es el estado de obesidad pregestacional, cuya asociación se mantiene si consideramos al IMC como una variable continua. Como ya se ha mencionado, el otro factor de riesgo documentado en la literatura es la edad materna avanzada, mismo que también encontramos asociado con el desarrollo de la enfermedad. De hecho, ambos factores, edad e IMC, tienen un efecto sinérgico en el desarrollo temprano de la DG.

Los niveles de triglicéridos representaron un factor importante en la gravedad de la glucemia, tanto durante el embarazo, como en el puerperio. Es interesante que el estado de obesidad sólo fue determinante en el desarrollo de la hiperglucemia gestacional; pero no así en el puerperio. En este último caso, la capacidad de compensación del organismo, medido a través del área bajo la curva diagnóstica, determinó los niveles de glucosa postparto.

Pudimos evidenciar también que la hiperglucemia determina importantemente la evolución de la gestación y el feto. Por ejemplo, nuestros resultados mostraron que la DG se asocia con la resolución del embarazo en semanas más tempranas.

La DG se ha propuesto como un estado prediabético dadas sus similitudes fisiopatológicas con la DT2. Los resultados muestran que ambas enfermedades comparten características genéticas, dado que: i) poseer antecedentes familiares de DM aumenta el riesgo de desarrollar, y DG y ii) la frecuencia de 4 variantes genéticas previamente asociadas con DT2 son muy similares entre diabéticos tipo 2 y las mujeres que desarrollaron DG. No obstante, el efecto de dichos factores de riesgo no aplica en todos los casos y su interacción debe ser mejor estudiada puesto que parece ser determinante no sólo del desarrollo de la DG sino del momento de su aparición en el embarazo y las consecuencias fisiopatológicas tanto para la madre como para el feto. Es necesario investigar si el componente genético es totalmente compartido entre la DT2 y la DG, o si existen variantes genéticas exclusivas de la DG.

9. CONCLUSIONES

La realización de esta investigación ha permitido derivar las siguientes conclusiones:

- La prevalencia de la DG, evaluada en pacientes de población mestiza mexicana procedentes del Hospital General Manuel Gea González en un periodo del 2011-2012, fue del 14.7%.
- La incidencia de DT2 postparto, en las pacientes que desarrollaron DG, fue del 10%.
- La incidencia de Intolerancia a los carbohidratos postparto, en las pacientes que desarrollaron DG, fue del 50%.
- La intervención nutricional oportuna puede revertir los efectos hiperglucémicos de la DG después del parto.
- Los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de la DG son en orden: el estado de obesidad pregestacional, los antecedentes familiares de DM y la edad materna avanzada.
- Los niveles de triglicéridos gestacionales se asociaron con una mayor ganancia de peso.
- La DG se asocia con la resolución del embarazo en semanas más tempranas.

- Cuatro de las variantes genéticas asociadas a la DT2, tienen frecuencias alélicas similares entre los casos de DT2 y de DG.

10. PERSPECTIVAS

Con base en las observaciones ya mencionadas y el número de pacientes reclutadas, será posible comenzar el resto de los estudios genéticos en breve. Aún cuando se continuará el reclutamiento de pacientes y su seguimiento postparto, se comenzará el análisis genético planeado. Consideramos que era sumamente importante hacer una descripción previa completa de las características de las pacientes con DG de la población mestiza mexicana, puesto que los reportes en la literatura aún son escasos.

El siguiente análisis de validación corresponderá a la elección de la mejor estrategia para el análisis de expresión y el diseño del mismo; así como del MALD. El resto del tiempo aprobado para el protocolo por parte del Comité de Bioética se empleará en dichos experimentos.

11. BIBLIOGRAFIA

1. Córdova, J., Lee, M.,Hernández, M.,Aguilar-Salinas, A.,Barrigete-Melendez, J. A.,Kuri, P.,Lara-Esqueda, A.,Álvarez, C.,Molina Cuevas, V.,Barquera, S.,Rosas-Peralta, M.,González, A.,Sánchez, J.,Rosas, J.,Rodríguez, G., *Numeralia 2008: Diabetes Mellitus*, S.d. Salud, Editor. 2008: México. p. 2166-2178.
2. Shaw, J.E., R.A. Sicree, and P.Z. Zimmet, *Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030*. *Diabetes Res Clin Pract.* 87(1): p. 4-14.
3. Olaiz, G., Rojas, R.,Barquera, S.,Shamah, T.,Aguilar Salinas, C. A.,Cravioto,P.,López, M.,Hernández, M.,Tapia, R.,Sepúlveda, J., *Encuesta Nacional de Salud 2000*. 2000, Instituto Nacional de Salud Pública: México.

4. Olaiz, G., Rivera, J, Shamah, T, Rojas, R, Villalpando, S, Hernández, M, Sepúlveda, J, *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006*. 2006, Instituto Nacional de Salud Pública: Cuernavaca, Morelos.
5. *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Diabetes Care, 2008. 31 Suppl 1: p. S55-60.
6. *Standards of medical care in diabetes--2007*. Diabetes Care, 2007. 30 Suppl 1: p. S4-S41.
7. Porterfield, S., White, B, *Endocrine Physiology*. 3a ed. 2007, EUA: Elsevier.
8. Permutt, M.A., J. Wasson, and N. Cox, *Genetic epidemiology of diabetes*. J Clin Invest, 2005. 115(6): p. 1431-9.
9. Buchanan, T.A., et al., *What is gestational diabetes?* Diabetes Care, 2007. 30 Suppl 2: p. S105-11.
10. Torgersen, K.L. and C.A. Curran, *A systematic approach to the physiologic adaptations of pregnancy*. Crit Care Nurs Q, 2006. 29(1): p. 2-19.
11. Vambergue, A., et al., *[Pathophysiology of gestational diabetes]*. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris), 2002. 31(6 Suppl): p. 4S3-4S10.
12. Buchanan, T.A. and A.H. Xiang, *Gestational diabetes mellitus*. J Clin Invest, 2005. 115(3): p. 485-91.
13. Shaat, N. and L. Groop, *Genetics of gestational diabetes mellitus*. Curr Med Chem, 2007. 14(5): p. 569-83.
14. Ramírez, M., *Diabetes mellitus gestacional. Experiencia en una institución de tercer nivel de atención*. Ginecol Obstet Mex, 2005. 73: p. 489-91.
15. Villalpando, S., et al., *Prevalence and distribution of type 2 diabetes mellitus in Mexican adult population: a probabilistic survey*. Salud Publica Mex. 52 Suppl 1: p. S19-26.
16. Jimenez-Corona, A., et al., *Early-onset type 2 diabetes in a Mexican survey: results from the National Health and Nutrition Survey 2006*. Salud Publica Mex. 52 Suppl 1: p. S27-35.
17. Villalpando, S., et al., *Trends for type 2 diabetes and other cardiovascular risk factors in Mexico from 1993-2006*. Salud Publica Mex. 52 Suppl 1: p. S72-9.
18. Carpenter, M.W. and D.R. Coustan, *Criteria for screening tests for gestational diabetes*. Am J Obstet Gynecol, 1982. 144(7): p. 768-73.
19. *Endocrinología Clínica*, ed. A. Yolanda. 2004, México: El Manual Moderno.
20. Ben-Haroush, A., Y. Yogevev, and M. Hod, *Epidemiology of gestational diabetes mellitus and its association with Type 2 diabetes*. Diabet Med, 2004. 21(2): p. 103-13.
21. Stumvoll, M., B.J. Goldstein, and T.W. van Haeften, *Type 2 diabetes: pathogenesis and treatment*. Lancet, 2008. 371(9631): p. 2153-6.
22. Cho, Y.M., et al., *Type 2 diabetes-associated genetic variants discovered in the recent genome-wide association studies are related to gestational diabetes mellitus in the Korean population*. Diabetologia, 2009. 52(2): p. 253-61.
23. Lauenborg, J., et al., *Common type 2 diabetes risk gene variants associate with gestational diabetes*. J Clin Endocrinol Metab, 2009. 94(1): p. 145-50.

24. Shaat, N., et al., *Association of the E23K polymorphism in the KCNJ11 gene with gestational diabetes mellitus*. *Diabetologia*, 2005. 48(12): p. 2544-51.
25. Darvasi, A. and S. Shifman, *The beauty of admixture*. *Nat Genet*, 2005. 37(2): p. 118-9.
26. Smith, M.W. and S.J. O'Brien, *Mapping by admixture linkage disequilibrium: advances, limitations and guidelines*. *Nat Rev Genet*, 2005. 6(8): p. 623-32.
27. Seldin, M.F., *Admixture mapping as a tool in gene discovery*. *Curr Opin Genet Dev*, 2007. 17(3): p. 177-81.
28. Price, A.L., et al., *A genomewide admixture map for Latino populations*. *Am J Hum Genet*, 2007. 80(6): p. 1024-36.
29. Marioni, J.C., et al., *RNA-seq: an assessment of technical reproducibility and comparison with gene expression arrays*. *Genome Res*, 2008. 18(9): p. 1509-17.
30. *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation*. World Health Organ Tech Rep Ser, 2000. 894: p. i-xii, 1-253.
31. Echeverría, Y.S., *Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-1993, Atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio y del recién nacido. Criterios y procedimientos para la prestación del servicio.*, in *Diario Oficial de la Federación*, S.d. Salud, Editor. 1993.
32. Aguilar-Salinas, C.A., et al., *Prevalence and characteristics of early-onset type 2 diabetes in Mexico*. *Am J Med*, 2002. 113(7): p. 569-74.
33. Aguilar-Salinas, C.A., et al., *Early-onset type 2 diabetes: metabolic and genetic characterization in the mexican population*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. 86(1): p. 220-6.
34. Garcia-Garcia, E., et al., *Early-onset type 2 diabetes in Mexico*. *Isr Med Assoc J*, 2002. 4(6): p. 444-8.
35. Poirout, V., et al., *Glucolipotoxicity of the pancreatic beta cell*. *Biochim Biophys Acta*, 2009.

12. ANEXOS

12.1. Carta aceptación del Comité de Bioética



COMISIONES DE ÉTICA Y DE INVESTIGACIÓN



SALUD

"2010 AÑO de la PATRIA. BICENTENARIO del INICIO de la INDEPENDENCIA y CENTENARIO del INICIO de la REVOLUCIÓN"

Oficio No. DEDI/594/10
24 de noviembre de 2010.

DRA. LIZETTE MANZO CARRILLO
INVESTIGADOR RESPONSABLE
JEFA DE LA DIVISIÓN DE OBSTETRICIA
PRESENTE.

Comunicamos a usted que en la Vigésima Segunda Sesión Ordinaria de las Comisiones de Ética y de Investigación, se presentó el protocolo: "Búsqueda de genes de susceptibilidad para el desarrollo de la Diabetes Gestacional en mujeres mestizas mexicanas, a través del mapeo por *Admixture* y el análisis de expresión génica global en placenta y tejido adiposo" y dado que cumple con los parámetros solicitados, le han otorgado el dictamen de:

Aprobado

El registro de este proyecto es el 11-86-2010. A su vez le informamos que este fallo tiene vigencia hasta el 30 de junio de 2013. Si se requiriera ampliar el periodo, le pedimos solicitar la renovación anual con 45 días de anticipación a su fecha de vencimiento, por medio de una carta donde se expongan los motivos correspondientes.

Así mismo le comunicamos que al realizar este proyecto adquiere el compromiso ineludible de informar cada tres meses el avance del estudio a la División de Investigación Clínica por medio del formato establecido, en el cual se debe incluir las presentaciones a congresos o las publicaciones que se han generado. Le recordamos que cualquier cambio o actualización en los integrantes o procedimientos de este estudio deberá ser enviado por escrito a estas Comisiones.

Sin otro particular por el momento, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE


DR. OCTAVIO SIERRA MARTÍNEZ
PRESIDENTE DE LAS COMISIONES
DE ÉTICA Y DE INVESTIGACIÓN

c. c. p. Dr. Roberto Alonso Cordero Briño – Investigador Principal.

OSM/MLSR/nov



Calzada de Tlalpan 4800, Col. Sección XVI, Delegación Tlalpan, México, C.P. 14080, D. F.

12.2. Hoja de colección de datos

INVESTIGACIÓN GENÓMICA EN DIABETES MELLITUS GESTACIONAL EN UNA MUESTRA DE LA POBLACIÓN MEXICANA

FOLIO ID: _____

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

INSTRUCCIONES No se deberán recolectar datos o muestras antes de la firma del consentimiento informado. Sólo llenar con datos reales y confirmados, en caso de haber duda, anotarla en el área de observaciones.

DATOS GENERALES

FECHA DE LLENADO DEL CUESTIONARIO: ____/____/____
 NOMBRE: _____ EDAD: _____ EXP: _____
 DOMICILIO: _____
 TELÉFONO (S): _____ EDO. DE ORIGEN: _____ CLÍNICA: _____
 FECHA DE NACIMIENTO: ____/____/____ TIENE PAREJA: Si () No () TRABAJA: Si () No ()
 OCUPACIÓN: _____ ¿QUIÉN(es) LA APOYAN CON EL GASTO?: _____
 ESCOLARIDAD: Primaria () Secundaria () Preparatoria () Licenciatura () Otra _____
 TALLA: _____ m PESO ACTUAL: _____ kg PESO PREGESTACIONAL SEGÚN HOJA DE REFERENCIA: _____ kg PESO PREGESTACIONAL SEGÚN INTERROGATORIO: _____ kg
 PESO Y FECHA POR TRIMESTRE: 1°: _____ kg 2°: _____ kg 3°: _____ kg
 TA: _____ FUR: _____ EDAD GESTACIONAL POR USG Y FECHA DE REALIZACIÓN: _____ EDAD GESTACIONAL ACTUAL: _____sdg.

ANTECEDENTES GINECO-OBSTÉTRICOS

Gestas		Diabetes gestacional en embarazos previos	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Abortos		No. de gesta en la que ha sufrido DG	
Cesáreas		Glucemia antes del embarazo (mg/dL)	
Partos		Fecha al momento de la muestra	

	Año	Sem	Aborto		Parto	Cesárea	Al nacer		Muerte			Edad al morir	Fecha
			Esp	Prov			Sexo	Peso	Preparto	Trans	Post		
1													
2													
3													
4													
5													
6													
7													

INFORMACIÓN DE EMBARAZOS PREVIOS:

HIPERTENSIÓN: SI () NO () EN CUÁL: _____
 PREECLAMPSIA: SI () NO () EN CUÁL: _____
 INTOLERANCIA A CARBOHIDRATOS: SI () NO () EN CUÁL: _____ EDAD DE LA PACIENTE AL HACER EL DX: _____ años.
 POLIHIDRAMNIOS: SI () NO () OLIGOHIDRAMNIOS SI () NO () MACROSÓMICOS: SI () NO ()
 MALFORMACIONES: SI () NO ()
 ESPECIFICAR CUÁL (ES), OTRAS COMPLICACIONES O PADECIMIENTOS DE PRODUCTOS ANTERIORES: _____

Prueba de tamiz:

Fecha	Semana de gestación	Gramos de glucosa administrados	Glucemia en ayuno (mg/dL)	Glucemia post-carga (mg/dL)	Tiempo de glucosa post-carga

Curva de tolerancia oral a la glucosa (CTOG):

Fecha	Semana de gestación	Valores de glucemia (mg/dL) en:				Normal o alterada
		Ayuno	60 min	120 min	180 min	

Normoglucemia () Intolerante a carbohidratos () Diabetes Gestacional ()

PATOLOGÍA DE BASE

Razón por la que acude al hospital	INFORMACIÓN
Control prenatal	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Diabetes Gestacional	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Preeclampsia	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Edad materna avanzada	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Pérdida gestacional recurrente	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Infertilidad	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Si otra, ¿cuál?	

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS

ENFERMEDAD	INFORMACIÓN
Diabetes Mellitus	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Obesidad	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Colesterol elevado	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Hipertensión	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Diagnóstico de Sx de ovario poliquístico	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Enfermedad endócrina (hiper o hipotiroidismo, Cushing, Addison, hipofisaria, otra)	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
¿cuál?	
Antecedentes de pancreatitis	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Enfermedad hepática	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Ingesta de esteroides u hormonas tiroideas	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Enfermedades virales	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Infección de vías urinarias recurrentes	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Tabaquismo (tiempo, cigarros/día)	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Alcoholismo (tiempo, tipo, copas/semana)	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Método anticonceptivo ¿cuál?	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Otras	

ANTECEDENTES FAMILIARES

Anotar país y/o estado de nacimiento de:

FAMILIAR	PAÍS/ESTADO	FAMILIAR	PAÍS/ESTADO
Abuelo Paterno		Abuelo Materno	
Abuela Paterna		Abuela Materna	
Padre		Madre	

¿Existe algún ascendiente extranjero en la familia?

SI NO Parentesco: _____

ANOTAR ANTECEDENTES FAMILIARES DE DIABETES, OBESIDAD, COLESTEROL ELEVADO, HIPERTENSIÓN, ENFERMEDAD ENDOCRINA (CUSHING, ADDISON, HIPOFISIARIA, HIPER O HIPOTIROIDISMO).

Parentesco	Lugar de origen o gpo. étnico	Enfermedad	Edad dx	Complicaciones	Pastillas	Insulina

Anotar si algún familiar (abuela materna, abuela paterna, madre, hermanas, tías) ha presentado diabetes gestacional; y en el caso afirmativo, especificar de quién se trata:

DATOS OBTENIDOS DURANTE EL EMBARAZO

TRATAMIENTO: Dieta SI () NO () Ejercicio SI () NO () Insulina SI () NO ()

Semana de gestación en que comenzó cada uno:

Dieta: _____ Ejercicio: _____ Insulina: _____

Ácido Fólico:	Mamá	Si () No ()	Marca:	Dosis:	Tiempo:
	Papá	Si () No ()	Marca:	Dosis:	Tiempo:

Otros medicamentos: _____

MEDICIONES BIOQUÍMICAS: Fecha: _____ Hb _____ Hto _____ Leu _____
 Glucosa basal _____ Urea _____ Creatinina _____ Ac. Úrico _____ Albúmina _____
 Proteínas totales _____ Colesterol _____ HDL _____ LDL _____ Triglicéridos _____

AMENAZA DE ABORTO SI () NO ()
 POLIHIDRAMNIOS SI () NO () OLIGOHIDRAMNIOS SI () NO ()
 HTA GESTACIONAL SI () NO () Preeclampsia SI () NO () Eclampsia SI () NO ()
 RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS SI () NO () Horas de Evolución _____
 Grado de maduración placentaria (GRANUM) _____

DATOS DEL PARTO

Fecha de término del embarazo _____ Semanas de gestación _____
Parto () Cesárea ()
Complicaciones SI () NO () Cuál (es): _____
Peso de la paciente en días cercanos al parto y fecha: _____
Ganancia de peso según interrogatorio: _____ kg. Ganancia de peso según datos: _____ kg.

DATOS DEL RECIÉN NACIDO

Sexo _____ Peso _____ g Talla _____ cm Perímetro cefálico _____ cm
Capurro _____ APGAR _____ SILVERMAN ANDERSON _____
Complicaciones: SI () NO () ¿cuál(es)?: _____
Malformaciones evidentes: _____
Resultados de tamiz neonatal: _____
Alojamiento conjunto: SI () NO ()

MUESTRAS

Peso de placenta _____ g Completa SI () NO ()
Edema SI () NO () Calcificación SI () NO () Signos de hemorragias SI () No ()
Otros hallazgos de la placenta _____

Se tomó muestra de:

Muestra	mL	Muestra	No.
Sangre materna (Suero)		Cordón	
Sangre materna (EDTA)		Placenta	
Sangre fetal (Suero)		Tejido adiposo subcutáneo	
Sangre fetal (EDTA)		Tejido adiposo visceral	
		Músculo	

CURVA DE RECLASIFICACIÓN (preparación 75g de glucosa):

Fecha: _____ Ayuno _____ 120 min _____

OBSERVACIONES IMPORTANTES: _____

Nombre y firma de quien elaboró: _____
Categoría: _____
Fecha: _____

12.3. Cuestionario socioeconómico

CUESTIONARIO REGLA AM AI NSE 10X6

NOMBRE: _____ FOLIO ID: _____
 EXP: _____ CLÍNICA: _____ FECHA: _____

1. ¿Cuál es el total de cuartos, piezas o habitaciones con que cuenta su hogar?, por favor incluya baños, medios baños, pasillos, patios y zotehuelas. **(Si el entrevistado pregunta específicamente si cierto tipo de pieza pueda incluirla o no, debe consultarse a la referencia que se anexa).**

RESPUESTA	PUNTOS
1	0
2	0
3	0
4	0
5	8
6	8
7 o más	14

2. ¿Cuántos baños completos con regadera y W.C. (excusado) hay para uso exclusivo de los integrantes de su hogar?

RESPUESTA	PUNTOS
0	0
1	13
2	13
3	31
4 o más	48

3. ¿En hogar cuenta con regadera funcionando en alguno de sus baños?

RESPUESTA	PUNTOS
No tiene	0
Sí tiene	10

4. Contando todos los focos que utiliza para iluminar su hogar, incluyendo los de techos, paredes y lámparas de buró o piso, dígame ¿cuántos focos tiene su vivienda?

RESPUESTA	PUNTOS
0-5	0
6-10	15
11-15	27
16-20	32
21 o más	46

5. ¿El piso de su hogar es predominantemente de tierra, o de cemento, o de algún otro tipo de acabado?

RESPUESTA	PUNTOS
Tierra o cemento (firme de)	0
Otro tipo de material o acabado	11

6. ¿Cuántos automóviles propios, excluyendo taxis, tienen en su hogar?

RESPUESTA	PUNTOS
0	0
1	22
2	41
3 o más	58

7. ¿Cuántas televisiones a color funcionando tienen en este hogar?

RESPUESTA	PUNTOS
0	0
1	26
2	44
3 o más	58

8. ¿Cuántas computadoras personales, ya sea de escritorio o lap top, tienen funcionando en este hogar?

RESPUESTA	PUNTOS
0	0
1	17
2 o más	29

9. ¿En este hogar cuentan con estufa de gas o eléctrica?

RESPUESTA	PUNTOS
No tiene	0
Si tiene	20

10. Pensando en la persona que aporta la mayor parte del ingreso en este hogar, ¿cuál fue el último año de estudios que completó? **(espere respuesta, y pregunte)** ¿Realizó otros estudios? **(reclasificar en caso necesario).**

RESPUESTA	PUNTOS
No estudio	0
Primaria incompleta	0
Primaria completa	22
Secundaria incompleta	22
Secundaria completa	22
Carrera comercial	38
Carrera técnica	38
Preparatoria incompleta	38
Preparatoria completa	38
Licenciatura incompleta	52
Licenciatura completa	52
Diplomado o Maestría	72
Doctorado	72
No sabe/no contesto	

12.4. Consentimiento informado parte 1



HOSPITAL GENERAL “Dr. Manuel Gea González”
SECRETARÍA DE SALUD
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO

BÚSQUEDA DE GENES DE SUSCEPTIBILIDAD PARA EL DESARROLLO DE LA DIABETES GESTACIONAL EN MUJERES MESTIZAS-MEXICANAS A TRAVÉS DEL MAPEO POR *ADMIXTURE* Y EL ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GÉNICA GLOBAL EN PLACENTA Y TEJIDO ADIPOSO

INTRODUCCIÓN: La siguiente información describe el protocolo y su papel como participante en un estudio clínico. El investigador contestará cualquier duda sobre este formato.

PROPÓSITO DEL ESTUDIO: Identificar los defectos genéticos asociados al desarrollo de la Diabetes Gestacional en pacientes de la población mexicana.

PROCEDIMIENTOS A SEGUIR: Usted ha sido invitada a participar en este estudio al ser paciente embarazada cursando o no con Diabetes Gestacional, deberá contar entre sus estudios de rutina, con uno llamado CURVA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA, que se realiza entre las 24 y 28 semanas de la gestación, para diagnosticar Diabetes Gestacional.

La curva de tolerancia oral a la glucosa consiste en medir los niveles de glucosa en sangre venosa en 4 muestras, la primera se tomará previo ayuno de 8 horas, después le darán a tomar una carga de 100 g de glucosa anhidra, seguida de toma de 3 muestras de sangre a los 60, 120 y 180 minutos.

Se registrarán datos de su historia médica en un cuestionario foliado y confidencial.

En caso de tener resultados negativos en la curva de tolerancia a la glucosa, su participación es fundamental para el estudio, **como parte del grupo control.**

POR SU PARTICIPACIÓN: Deberá asistir en dos ocasiones por la mañana y en ayuno, una para la realización de la curva de tolerancia oral a la glucosa y la segunda en una de las citas del control prenatal. En esta segunda ocasión se tomará una muestra de sangre para la obtención del material genético. La cantidad total de sangre obtenida (20 ml) no implica riesgos para su salud.

Seis semanas después de haber terminado su embarazo, se deberá realizar Curva de Reclasificación, la que consiste en toma de dos muestras de sangre

venosa, la primera en ayuno, la segunda dos horas después de haber recibido una carga de 75 gramos de glucosa anhidra.

Las muestras obtenidas se enviarán al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (**INCMNSZ**) y se reunirán en un sitio con características estructurales que se apegan a los estándares internacionales que asegure su preservación, llamado GENOTECA. El INCMNSZ es autor de estudios genómicos multicéntricos.

Las muestras se conservan de acuerdo al protocolo vigente, como sangre total, o en fracciones de suero y DNA o tejido congelado. Todas las muestras en sus diferentes formas, serán utilizadas hasta agotarlas, por lo que no es necesario señalar calendarios para su conservación ni destino final.

RIESGOS: Las muestras obtenidas de sangre no representan riesgo alguno. La toma de estas muestras no le causará ninguna molestia, dolor o sangrado.

CONFIDENCIALIDAD: Los datos obtenidos de su persona son absolutamente confidenciales, no pueden ser utilizados con otro fin y se registrarán como variables en una base de datos que será procesada y codificada para garantizar el **anonimato** de todos los participantes.

Usted será informada de cualquier hallazgo o resultado obtenido de las muestras que proporcionó.

BENEFICIO PARA LOS PARTICIPANTES: Los resultados aportarán información nueva e importante sobre las causas genéticas de la diabetes gestacional en mujeres mexicanas. La curva de tolerancia oral a la glucosa permitirá diagnosticar o descartar la diabetes gestacional. **Los exámenes no tendrán costo para usted.**

Los resultados obtenidos podrán ser utilizados para elaboración de otros trabajos de investigación, presentaciones en congresos y publicaciones en revistas de la especialidad.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:

Yo _____ declaro libre y voluntariamente que acepto participar en este estudio. Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento que lo desee. También puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en el estudio. En caso de que decidiera retirarme, la atención que recibo como paciente no se verá afectada. Recibiré, si así lo solicito, los resultados de mi participación. Debo informar, tan pronto como sea posible, a los investigadores, de cualquier cambio importante que ocurra en mi estado de salud, incluyendo el consumo de medicamentos, suspensión o inicio de algún hábito (ej. tabaquismo) o cambio de domicilio. Las muestras obtenidas sólo podrán ser utilizadas para los fines de este estudio.

He comprendido el contenido de ésta carta de consentimiento, mis dudas han sido resueltas y voluntariamente acepto participar en este estudio:

Nombre y firma de la paciente

Nombre, parentesco y firma del responsable

Nombre y firma del testigo 1

Nombre y firma del testigo 2

Nombre y firma del investigador

Investigador principal: Dra. Lizette Manzo Carrillo
Jefa de Servicio de Ginecología y Obstetricia, Hospital Gea González
Teléfono: 40003000, extensión 3094

Investigador responsable: Dr. Rogelio Zacarías Castillo
Jefe de Servicio de Medicina Interna, Hospital Gea González
Teléfono: 40003056

Investigador asociado: Dra. Teresa Tusié Luna
Jefa de Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica, INNCOMSZ
Teléfono: 56550011

12.5. Consentimiento informado parte 2



HOSPITAL GENERAL "Dr. Manuel Gea González"
SECRETARÍA DE SALUD
GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO

BÚSQUEDA DE GENES DE SUSCEPTIBILIDAD PARA EL DESARROLLO DE LA DIABETES GESTACIONAL EN MUJERES MESTIZAS-MEXICANAS A TRAVÉS DEL MAPEO POR *ADMIXTURE* Y EL ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GÉNICA GLOBAL EN PLACENTA Y TEJIDO ADIPOSO

INTRODUCCIÓN: La siguiente información describe el protocolo y su papel como participante en un estudio clínico. El investigador contestará cualquier duda sobre este formato.

PROPÓSITO DEL ESTUDIO: Identificar los defectos genéticos asociados al desarrollo de la Diabetes Gestacional en pacientes de la población mexicana.

PROCEDIMIENTOS A SEGUIR: Usted ha sido invitada a participar en este estudio al ser paciente embarazo cursando o no con Diabetes Gestacional, deberá contar entre sus estudios de rutina, con uno llamado CURVA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA, que se realiza entre las 24 y 28 semanas de la gestación, para diagnosticar Diabetes Gestacional.

La curva de tolerancia oral a la glucosa consiste en medir los niveles de glucosa en sangre venosa en 4 muestras, la primera se tomará previo ayuno de 8 horas, después le darán a tomar una carga de 100 g de glucosa anhidra, seguida de toma de 3 muestras de sangre a los 60, 120 y 180 minutos.

Se registrarán datos de su historia médica en un cuestionario foliado y confidencial.

En caso de tener resultados negativos en la curva de tolerancia a la glucosa, su participación es fundamental para el estudio, **como parte del grupo control.**

POR SU PARTICIPACIÓN: Deberá asistir en dos ocasiones por la mañana y en ayuno, una para la realización de la curva de tolerancia oral a la glucosa y la segunda en una de las citas del control prenatal. En esta segunda ocasión se tomará una muestra de sangre para la obtención del material genético. La cantidad total de sangre obtenida (30 ml) no implica riesgos para su salud.

Al momento del nacimiento de su hijo, se tomarán 20 ml de sangre del cordón umbilical (venosa o arterial) y una muestra de cordón umbilical (1-2 g). Asimismo

se tomarán pequeñas muestras de tejido graso (1-2 g), tejido muscular (1-2 g) y una de placenta (1-2 g). Estas muestras serán utilizadas para el análisis genómico.

Seis semanas después de haber terminado su embarazo, se deberá realizar Curva de Reclasificación, la que consiste en toma de dos muestras de sangre venosa, la primera en ayuno, la segunda dos horas después de haber recibido una carga de 75 gramos de glucosa anhidra.

Las muestras obtenidas se enviarán al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (**INCMNSZ**) y se reunirán en un sitio con características estructurales que se apegan a los estándares internacionales que asegure su preservación, llamado GENOTECA. El INCMNSZ es autor de estudios genómicos multicéntricos.

Las muestras se conservan de acuerdo al protocolo vigente, como sangre total, o en fracciones de suero y DNA o tejido congelado. Todas las muestras en sus diferentes formas, serán utilizadas hasta agotarlas, por lo que no es necesario señalar calendarios para su conservación ni destino final.

RIESGOS: Las muestras obtenidas de la sangre del cordón, del cordón umbilical y de la placenta no representan riesgo alguno. Las muestras de sangre de la madre para la obtención de DNA así como de los tejidos graso y muscular implican riesgos mínimos ya que se tomará solo una pequeña muestra (1-2 g de tejido) únicamente en las mujeres donde se indique la cesárea y serán tomadas durante la cirugía. La toma de estas muestras no le causará ninguna molestia, dolor o sangrado.

CONFIDENCIALIDAD: Los datos obtenidos de su persona son absolutamente confidenciales, no pueden ser utilizados con otro fin y se registrarán como variables en una base de datos que será procesada y codificada para garantizar el **anonimato** de todos los participantes.

Usted será informada de cualquier hallazgo o resultado obtenido de las muestras que proporcionó.

BENEFICIO PARA LOS PARTICIPANTES: Los resultados aportarán información nueva e importante sobre las causas genéticas de la diabetes gestacional en mujeres mexicanas. La curva de tolerancia oral a la glucosa permitirá diagnosticar o descartar la diabetes gestacional. **Los exámenes no tendrán costo para usted.**

Los resultados obtenidos podrán ser utilizados para elaboración de otros trabajos de investigación, presentaciones en congresos y publicaciones en revistas de la especialidad.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:

Yo _____ declaro libre y voluntariamente que acepto participar en este estudio. Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento que lo desee. También puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en el estudio. En caso de que decidiera retirarme, la atención que recibo como paciente no se verá afectada. Recibiré, si así lo solicito, los resultados de mi participación. Debo informar, tan pronto como sea posible, a los investigadores, de cualquier cambio importante que ocurra en mi estado de salud, incluyendo el consumo de medicamentos, suspensión o inicio de algún hábito (ej. tabaquismo) o cambio de domicilio. Las muestras obtenidas sólo podrán ser utilizadas para los fines de este estudio.

He comprendido el contenido de ésta carta de consentimiento, mis dudas han sido resueltas y voluntariamente acepto participar en este estudio:

Nombre y firma de la paciente

Nombre, parentesco y firma del responsable

Nombre y firma del testigo 1

Nombre y firma del testigo 2

Nombre y firma del investigador

Investigador principal: Dra. Lizette Manzo Carrillo
Jefa de Servicio de Ginecología y Obstetricia, Hospital Gea González
Teléfono: 40003000, extensión 3094

Investigador responsable: Dr. Rogelio Zacarías Castillo
Jefe de Servicio de Medicina Interna, Hospital Gea González
Teléfono: 40003056

Investigador asociado: Dra. Teresa Tusié Luna
Jefa de Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica, INNCSMZ
Teléfono: 56550011