





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.





## Contenido

	Página
1. Abreviaturas.....	6
2. Resumen.....	7
3. Introducción.....	9
4. Marco teórico.....	10
4.1. Definición de obesidad.....	10
4.2. Obesidad en el mundo.....	10
4.3. Obesidad en México.....	13
4.4. Obesidad en mujeres en edad reproductiva.....	15
4.5. Métodos para evaluar la obesidad.....	16
4.6. Factores genéticos de la obesidad.....	19
4.6.1. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs).....	20
4.6.1.1. Genotipificación.....	23
4.6.2. Gen FTO.....	29
4.7. Diabetes Mellitus Gestacional.....	32
4.7.1. Gen FTO y DMG.....	34
5. Planteamiento del problema.....	35
6 . Hipótesis.....	35
7 □. Objetivos.....	36
8 . Diseño experimental.....	36
9 . Resultados.....	40
10 . Discusión.....	44

11 .Conclusiones.....	46
12 .Perspectivas.....	46
13 .Referencias.....	47

## 1. Abreviaturas

2-OG: 2-oxoglutarato

3-meT: 3-metilimidina

ACT: agua corporal total

BIA: bioimpedancia eléctrica

cSNPs: polimorfismos de un solo nucleótido en regiones codificantes (exones)

DM2: diabetes mellitus tipo 2

DMG: diabetes mellitus gestacional

DNA: ácido desoxirribonucleico

dNTPs: desoxinucleótidos

ECV: enfermedades cardiovasculares

EDTA: ácido etilendiaminoacético

FMD: Federación Mexicana de Diabetes

FTO: Fat Mass and Obesity Associated (asociado con la masa grasa y la obesidad)

GHO: Global Health Observatory

gSNPs: polimorfismos de un solo nucleótido localizados en regiones intergenómicas

GWAS: estudios de asociación genómica

HA: hipertensión arterial

HDL-C: lipoproteínas de alta densidad

IMC: índice de masa corporal

iSNPs: polimorfismos de un solo nucleótido localizados en regiones intrónicas

Kg: kilogramos

LDL-C: lipoproteínas de baja densidad

LGA: grandes para la edad gestacional

MG: masa grasa

MGB: proteína de surco menor

MLG: masa libre de grasa

NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey

OCDE: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos

OIM: Instituto de Medicina

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR-RT: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real

PE: preeclampsia

RNA: ácido ribonucleico

rSNPs: polimorfismos de un solo nucleótido en regiones reguladoras

SM: síndrome metabólico

SNPs: polimorfismos de un sólo nucleótido

TAC: tomografía axial computarizada

TNF- $\alpha$ : factor de necrosis tumoral alfa

TNG: tolerancia normal a la glucosa

UH: unidades Hounsfield

UTR: regiones no codificantes

## **2. Resumen**

### **Antecedentes**

En México ha incrementado la frecuencia de obesidad en mujeres en edad reproductiva en un rango del 11 al 22% en los últimos años, aumentando paralelamente el riesgo de complicaciones obstétricas como la diabetes mellitus gestacional (DMG). La etiología de este padecimiento es multifactorial y en ella participan además de la obesidad, factores genéticos, por lo que es de interés conocer la frecuencia de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) del gen FTO (asociado con la masa grasa y la obesidad) en mujeres con DMG.

### **Objetivos**

Determinar la frecuencia de los polimorfismos del gen FTO rs9939609 y rs8050136 en mujeres con diabetes mellitus gestacional y embarazadas con tolerancia normal a la glucosa (TNG).

Determinar la asociación de los SNPs del gen FTO rs9939609 y rs8050136 con el peso corporal antes, durante y después del embarazo.

Determinar la asociación de los SNPs del gen FTO rs9939609 y rs8050136 con el metabolismo de glucosa en el embarazo y posparto.

### **Método**

Se llevó a cabo un estudio auxiliar (secundario) en el que se incluyeron 160 mujeres embarazadas, 80 con TNG y 80 con DMG. Se les tomó muestra de sangre venosa en el tercer trimestre de embarazo y a las seis semanas posparto, y se realizaron ensayos de genotipificación mediante reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real con tecnología TaqMan® para la determinación de los SNPs. El análisis estadístico se realizó mediante el equilibrio de Hardy-Weinberg y la prueba de U de Mann-Whitney en el programa IBM SPSS Statistics versión 21.

## **Resultados**

La frecuencia del alelo de riesgo de los SNPs rs9939609 y rs8050136 fue similar entre mujeres con TNG y DMG, además la frecuencia del alelo de riesgo (25% y 20% respectivamente) fue menor a la de otras poblaciones Europeas principalmente.

De manera alterna no se encontró asociación de dichas variantes respecto a los valores de peso corporal antes, durante y después del embarazo y con el metabolismo de glucosa durante y después del embarazo, a diferencia de los estudios realizados en la región europea.

## **Conclusión**

Con base en la baja frecuencia del alelo de riesgo de los SNPs (rs9939609 y rs8050136) del gen FTO mostrada en mujeres con DMG y embarazadas con TNG se determinó que no existe asociación con la elevación del peso corporal antes, durante y después del embarazo (riesgo para el desarrollo de DM2) ni con el metabolismo de glucosa.

Se recomienda analizar un tamaño de muestra superior al de este estudio y confrontar a la presencia del alelo de riesgo en dichos SNPs con las características antropométricas y bioquímicas presentadas.

### 3. Introducción

Durante las últimas décadas, en nuestro país se ha observado un aumento en la prevalencia de las enfermedades crónicas no transmisibles como hipertensión arterial (HA), diabetes mellitus tipo 2 (DM2), dislipidemias, enfermedad coronaria, enfermedad vascular cerebral, osteoartritis y algunos tipos de cáncer (mama, esófago, colon, endometrio y riñón).<sup>1,2</sup>

La obesidad es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de estos padecimientos. Ésta es una enfermedad de etiología multifactorial de curso crónico en la cual se involucran aspectos genéticos, ambientales y de estilo de vida que conducen a un trastorno metabólico. Es considerada un problema de salud pública ya que su incidencia y prevalencia se han incrementado de manera progresiva en los últimos años.<sup>3</sup>

En la actualidad, dentro de los países miembros de la OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos), México ocupa el segundo lugar de prevalencia de obesidad en la población adulta y de manera particular la prevalencia de obesidad en el embarazo se presenta en un rango del 11% al 22%. La obesidad en el embarazo aumenta el riesgo de múltiples complicaciones maternas como preeclampsia y diabetes mellitus gestacional (DMG), e incrementa el riesgo de malformaciones fetales.<sup>3</sup>

Desde el punto de vista genético, diversos estudios sobre polimorfismos de un sólo nucleótido (SNPs) del gen FTO (del inglés “asociado con la masa grasa y la obesidad”) han mostrado una asociación importante con la obesidad. La asociación entre las variantes rs9939609 y rs8050136 con la obesidad es una de las más fuertes entre genotipo y fenotipo identificada hasta la fecha.<sup>4</sup>

Aproximadamente una sexta parte de la población que tiene ascendencia europea es homocigota para el alelo de riesgo y se ha determinado que en ellas el riesgo de obesidad es de 67% en comparación con las personas heterocigotas en quienes el riesgo de presentar obesidad es del 30%.<sup>5</sup>

## **4. Marco teórico**

### **4.1. Definición de obesidad**

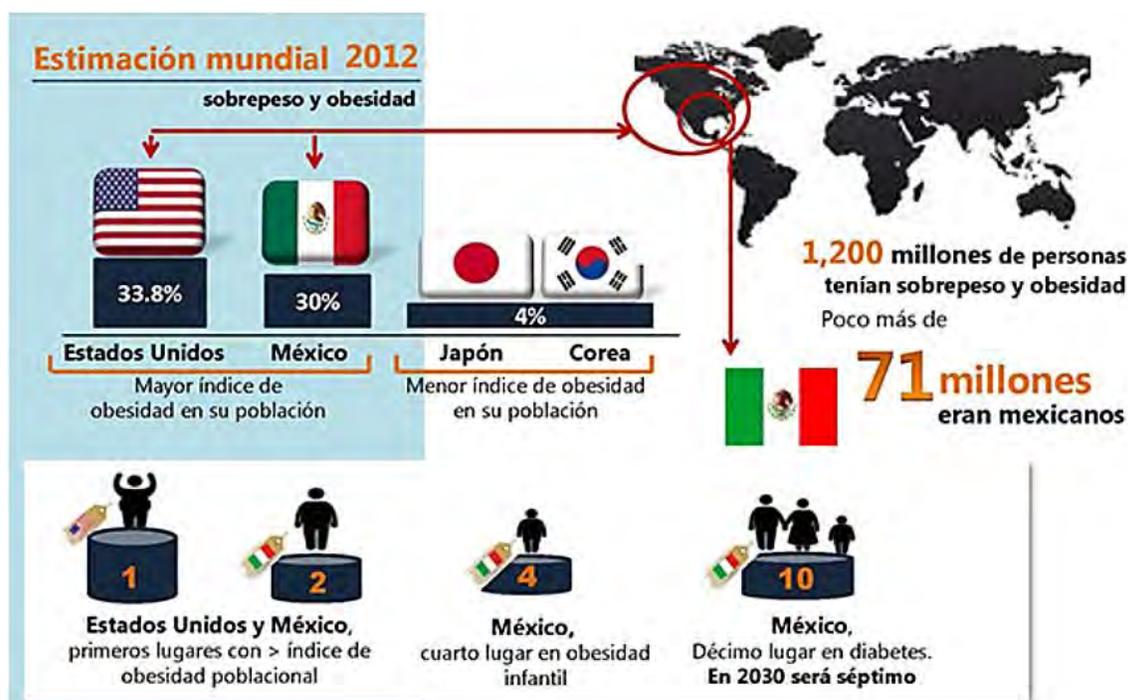
La obesidad es una enfermedad de curso crónico que tiene como origen una cadena causal compleja, de etiología multifactorial, donde interactúan factores genéticos, sociales y ambientales, incluyendo estilo de vida, así como determinantes sociales y económicos. Se caracteriza por un aumento en los depósitos de grasa corporal y por ende ganancia de peso, causados por un balance positivo de energía, que ocurre cuando la ingestión de energía de los alimentos excede al gasto energético y, como consecuencia, el exceso se almacena en forma de grasa en el organismo.<sup>6</sup>

La Organización Mundial de la Salud (OMS) actualmente declara que la obesidad aumenta el riesgo de padecer enfermedades concomitantes como: diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensión, dislipidemias, enfermedades cardiovasculares (ECV), gota, osteoartritis, síndrome de apnea del sueño, hígado graso y ciertos tipos de cáncer. Adicionalmente, la acumulación excesiva de grasa a nivel abdominal se asocia con resistencia a la acción de la insulina, intolerancia a la glucosa y una alteración en el perfil de lípidos (colesterol, HDL-C, LDL-C y triglicéridos), lo que aumenta el riesgo de ECV y determina un aumento significativo en la morbilidad y la mortalidad. Se ha estimado que la obesidad reduce la esperanza de vida de 5-20 años.<sup>7, 8</sup>

### **4.2. Obesidad en el mundo**

En el año 1999 se publicó la Declaración de Milán en la que los países pertenecientes a la Unión Europea asumieron que la obesidad constituía un trastorno básico a partir del cual se desarrollan comorbilidades cardíacas, reumatológicas, digestivas, endocrinas, entre otras. En 2002, la OMS desarrolló la Estrategia Mundial sobre Régimen Alimentario, Actividad Física, y Salud, la cual fue aprobada por los estados miembros en mayo de 2004, y a partir de ese momento se etiquetó a la obesidad como “epidemia del siglo XXI”.<sup>9</sup>

En el año 2008, alrededor de 1,400 millones de adultos mayores de 20 años tenían sobrepeso y 500 millones tenían obesidad (200 millones de hombres y 300 millones de mujeres). Es decir, más de 1 de cada 10 adultos eran obesos. Para el 2010 se estimó que más de 40 millones de niños menores de 5 años tenían sobrepeso, de los cuales 235 vivían en países en desarrollo y cerca de 8 millones en países desarrollados. Para el 2012, la estimación mundial de sobrepeso y obesidad fue de 1,200 millones de personas (Figura 1).<sup>10</sup>



**Figura 1.** Infografía de las estimaciones en México y el mundo del sobrepeso, obesidad y diabetes (Tomada y modificada de OMS, 2012; OCDE, 2012; FEDERACIÓN MEXICANA DE DIABETES, 2013) <http://www.revista.unam.mx/vol.16/num5/art34/>).

En 2014, más de 1900 millones de adultos tenían sobrepeso (39%) y más de 600 millones eran obesos (13%).<sup>11</sup>

En el continente americano durante el 2012 la tasa más alta de obesidad con base en el índice de masa corporal (IMC), la ocupó Estados Unidos en hombres y mujeres, seguido de nuestro país (Figura 2). Asimismo, en Estados Unidos se ha identificado que en la última década la obesidad ha incrementado 30% en personas mayores de 20 años.<sup>12</sup>

## ÍNDICE DE MASA CORPORAL

En mayores de 18 años

$$IMC = \frac{\text{masa (kg)}}{\text{Altura (m)}^2}$$

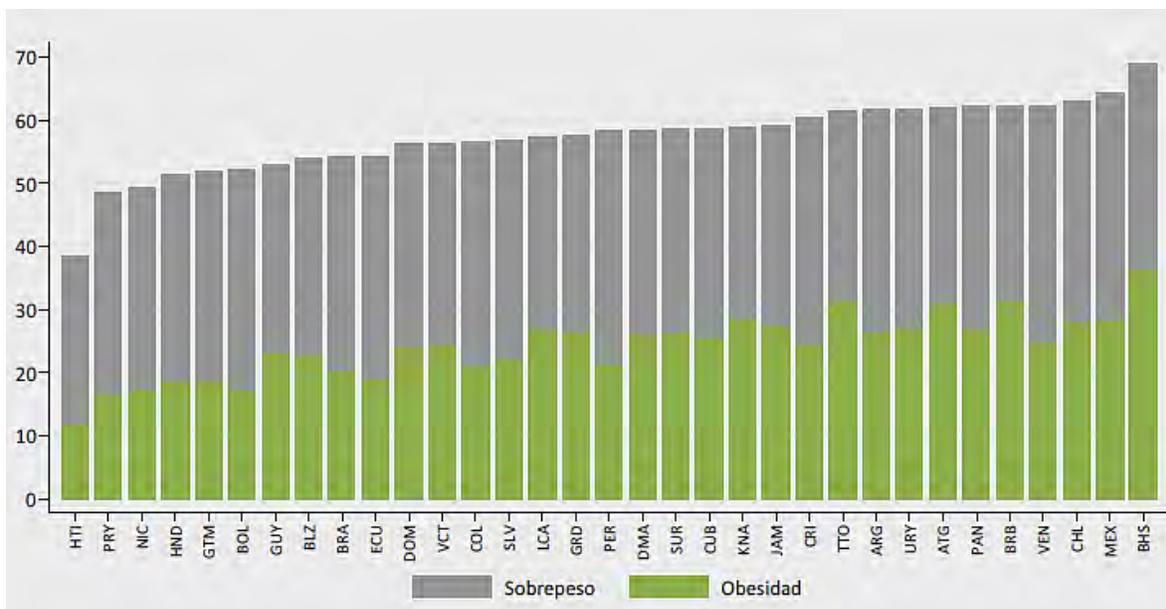
Delgadez leve	17-18,49
Normal	18,5-24,99
Sobrepeso	25,00-29,99
Obesidad	Igual o más de 30



Fuente: Organización Mundial de la Salud (OMS).

**Figura 2.** Porcentaje de la población que padece sobrepeso y obesidad en diferentes países según la OMS.

En la mayoría de los países de América Latina y el Caribe el sobrepeso y la obesidad afectan a más de la mitad de la población adulta. De acuerdo a la Figura 3, Chile, México y Bahamas son los países con las prevalencias más elevadas con 63, 64 y 69%, respectivamente. La proporción de mujeres con obesidad supera la de los hombres y en más de 20 países la diferencia es mayor de 10 puntos porcentuales. En Antigua y Barbuda la obesidad afecta al 22,8% de los hombres y al 38,7% de las mujeres, mientras que en Jamaica al 18,4% de los hombres y al 35,7% de las mujeres.<sup>13</sup>

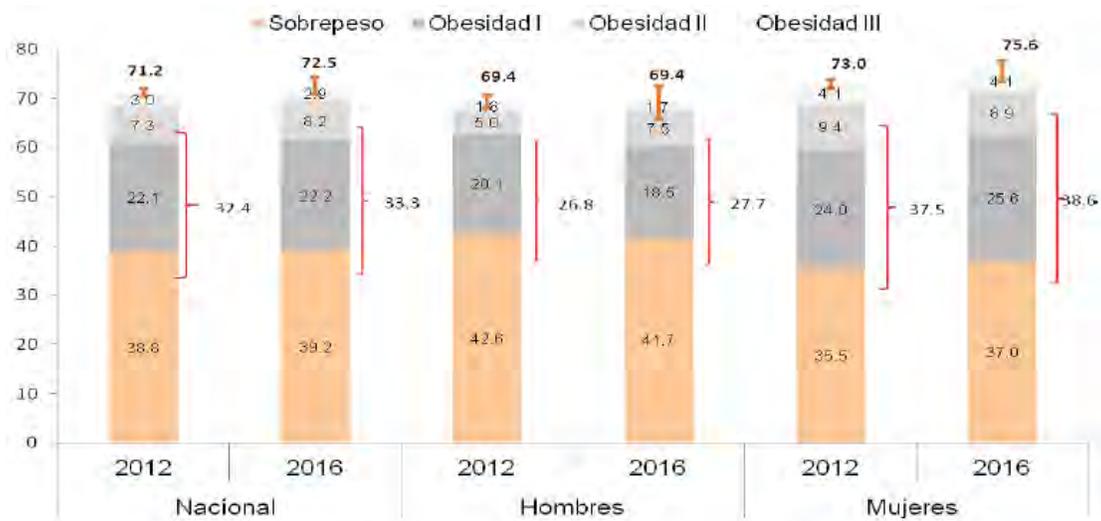


**Figura 3.** Prevalencia del sobrepeso y obesidad en población adulta (mayores de 18 años) en países de América Latina y El Caribe. 2014, en porcentaje. (Fuente: OMS (en línea). Global Health Observatory (GHO) data.)

### 4.3. Obesidad en México

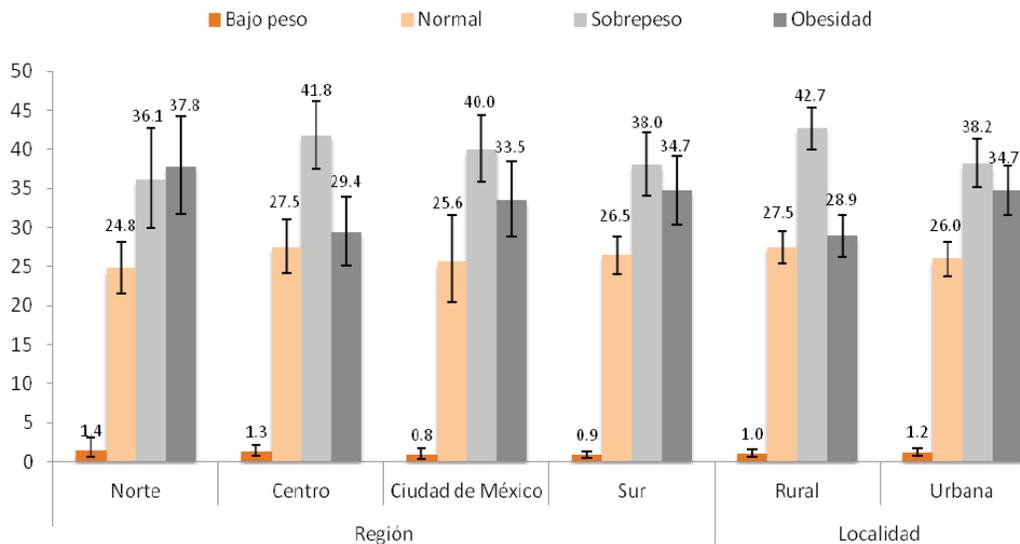
En México la obesidad es considerada un problema de salud pública, estudios recientes demuestran que la incidencia y prevalencia del sobrepeso y la obesidad han aumentado de manera progresiva durante los últimos seis decenios y de modo considerable en los últimos 20 años.<sup>3</sup> En la actualidad, de los países miembros de la OCDE, México ocupa el segundo lugar en prevalencia de obesidad en la población adulta y el cuarto lugar respecto a la población infantil; asimismo, más del 70% de la población adulta tiene exceso de peso.<sup>2</sup>

De 2012 a 2016 la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad pasó de 71.2% a 72.5% (IC 95% 70.8, 74.3) en adultos mayores de 20 años; este aumento de 1.3 puntos porcentuales no fue estadísticamente significativo (Figura 4).<sup>1</sup>



**Figura 4.** Prevalencia de sobrepeso y obesidad en población de 20 o más años de edad en la ENSANUT 2012 y ENSANUT 2016.

En 2016, por tipo de localidad y región la prevalencia de sobrepeso fue 4.5 puntos porcentuales más alta en las zonas rurales, mientras que la prevalencia de obesidad fue 5.8 puntos porcentuales más alta en las zonas urbanas. Además, la prevalencia de obesidad fue mayor en la región norte que en el centro, Ciudad de México y región sur (Figura 5).<sup>1</sup>



**Figura 5.** Comparación de las categorías de IMC en adultos de 20 o más años de edad, de acuerdo a la región del país y tipo de localidad (ENSANUT 2016).

Al categorizar por sexo se observa que la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad es mayor en las mujeres (75.6%, IC 95% 73.5, 77.5) que en los hombres (69.4%, IC 95% 65.9, 72.6); y que la prevalencia de obesidad es también más alta en el sexo femenino (38.6%, IC 95% 36.1, 41.2) que en el masculino (27.7%, IC 95% 23.7, 32.1) (Figura 4). Asimismo, la categoría de obesidad mórbida es 2.4 veces más alta en mujeres que en hombres.<sup>1, 2</sup>

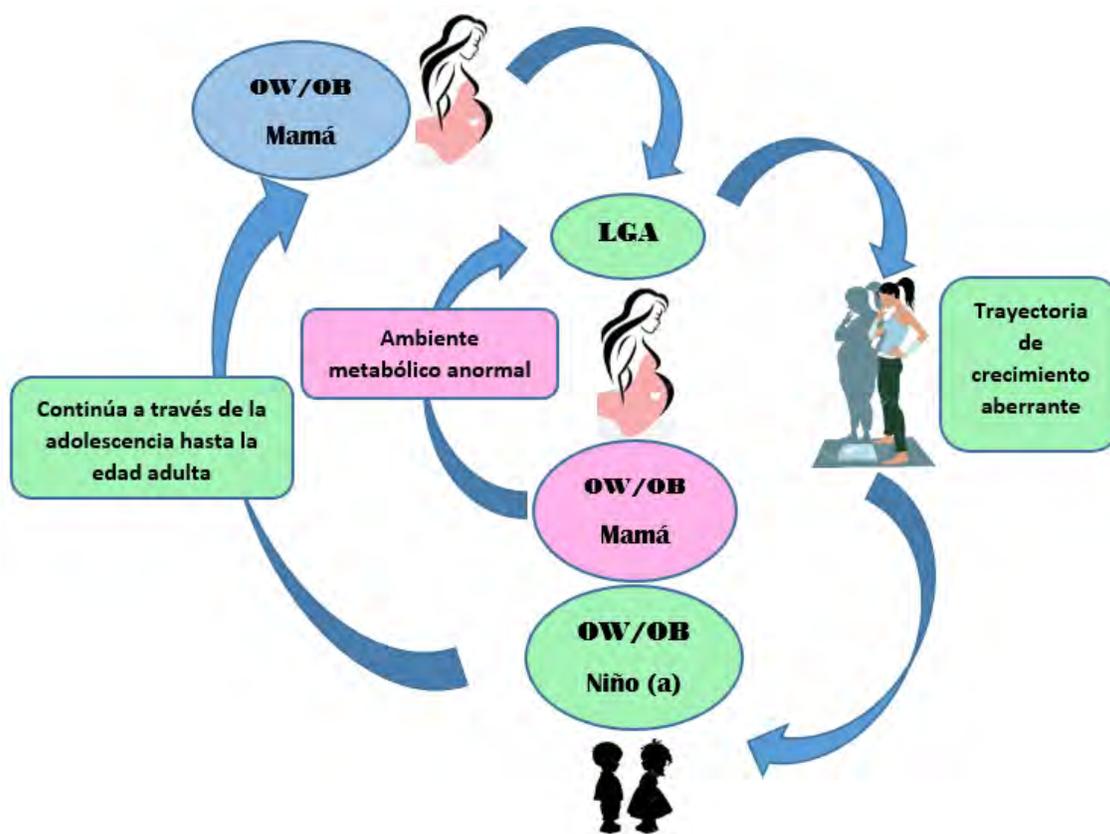
#### **4.4. Obesidad en mujeres en edad reproductiva**

En México las mujeres en edad reproductiva (entre 20 y 49 años) tienen una prevalencia de obesidad en un rango del 11 al 22% y se ha observado que más del 25% de quienes acuden a control prenatal tienen un peso mayor a 90 kg.<sup>3</sup> Además, se ha identificado que las mujeres con exceso de peso antes del embarazo tienen mayor probabilidad de ganar exceso de peso durante el embarazo. A este respecto, de manera general se considera que durante la gestación es necesario el aumento de peso fisiológico que consiste en aproximadamente 8 kg de agua (aumento del volumen plasmático y líquido amniótico), 1 kg de proteína (masa magra materna, placentaria y fetal) más cantidades variables de tejido adiposo (1 -6 kg).<sup>14</sup>

El exceso de peso de la mujer antes y durante el embarazo tiene un impacto negativo en la salud materna generando diversas complicaciones obstétricas como: hipertensión gestacional, preeclampsia, diabetes mellitus gestacional (DMG), varices, coledocolitiasis, embarazos prolongados, infecciones antes y después del parto, complicaciones tromboticas, anemia generada por el estado inflamatorio, infecciones urinarias y desórdenes en la lactancia.<sup>3</sup>

Asimismo, la obesidad gestacional altera el metabolismo del producto haciéndolo más susceptible antes del nacimiento y aumentando el riesgo de desarrollar complicaciones como: parto pretérmino, ruptura prematura de membranas, retardo en el crecimiento intrauterino, peso mayor a 4500g al nacer, defectos del tubo neural, anomalía cardiovascular, labio y paladar hendido, atresia anorectal, craneosinostosis, gastrosquisis, hidrocefalia y microcefalia.<sup>3, 13, 15</sup>

También, aumenta el riesgo de que el recién nacido padezca sobrepeso u obesidad durante la infancia y que persista en la adolescencia y la adultez. Particularmente en las niñas, al llegar a la edad reproductiva y embarazarse, el ciclo se repite debido a que la obesidad gestacional afecta al menos a las 2 siguientes generaciones (Figura 6).<sup>13</sup>



**Figura 6.** La obesidad gestacional predispone el riesgo de padecer obesidad durante la infancia en neonatos. LGA (grandes para la edad gestacional), OW/OB: sobrepeso/obesidad.<sup>38</sup>

#### 4.5. Métodos para evaluar la obesidad

Existen diversos métodos para determinar el grado de obesidad y el contenido de grasa corporal como la medición del espesor de pliegues cutáneos, la bioimpedancia y la tomografía computarizada. Un indicador simple utilizado frecuentemente para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos es el índice de masa corporal (IMC) o índice de Quetelet.<sup>3</sup>

#### Bioimpedancia eléctrica (BIA)

El estudio se basa en la estrecha relación que hay entre las propiedades eléctricas del cuerpo humano, la composición corporal de los diferentes tejidos y del contenido total de agua en el cuerpo. Como todos los métodos indirectos de estimación de la composición corporal, la BIA depende de algunas premisas relativas a las propiedades eléctricas del cuerpo, de su composición y estado de maduración, su nivel de hidratación, la edad, el sexo, la raza y la condición física. La BIA es una técnica simple, rápida y no invasiva que permite la estimación del agua corporal total (ACT) y, por elevación en las constantes de hidratación de los tejidos, se obtiene la masa libre de grasa (MLG) y por derivación, la masa grasa (MG), mediante la simple ecuación basada en dos componentes (MLG kg = peso total kg – MG kg).<sup>16</sup>

### **Tomografía Axial Computarizada (TAC)**

Mediante la reconstrucción de un plano tomográfico por medio de detectores transmitidos a un computador puede determinarse la cantidad de diversos tejidos. El tubo gira alrededor del paciente y los detectores situados en el lado opuesto, recogen la radiación que atraviesa al paciente. Los datos recogidos por los detectores se envían a un ordenador que integra y reconstruye la información obtenida y la presenta como una imagen morfológica en el monitor de televisión.<sup>17</sup>

Dicha información obtenida se expresa en unidades Hounsfield, que van desde – 1.000 a +1.0000. UH, realiza cortes de un grosor determinado, 1 a 20 mm en dirección perpendicular a la posición del paciente.<sup>17</sup>

### **IMC**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) mide el sobrepeso y la obesidad a partir del cálculo del Índice de Masa Corporal (IMC) el cual se obtiene dividiendo el peso de una persona en kilogramos entre el cuadrado de su talla en metros (kg/m<sup>2</sup>) y la circunferencia de la cintura. El IMC constituye una medida poblacional útil y práctica, pues la forma de calcularlo no varía en función del sexo ni de la edad en la población adulta. No obstante, debe considerarse como una guía aproximativa, pues puede no corresponder al mismo grado en diferentes

individuos. De aparente sencillez en el diagnóstico, el sobrepeso y la obesidad no son en realidad una afección fácil de determinar, ya que una persona puede tener un peso elevado junto con una importante masa muscular, o bien tener un peso normal junto a niveles de grasa superiores a los considerados como normales.<sup>3</sup>

La OMS ha propuesto la siguiente clasificación para determinar el estado nutricional de una persona con base en el valor del IMC (Tabla 1), el cual ha demostrado una buena asociación con el grado de adiposidad y con el riesgo de enfermedades crónicas y tiene la ventaja de ser fácil de calcular y de no requerir un estándar de referencia:<sup>3</sup>

**Tabla 1.** Indicador del estado nutricional respecto al IMC.

<b>Categoría</b>	<b>Valor de IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>
<b>Desnutrición</b>	<b>&lt;18.5</b>
Peso normal	18.5-24.9
<b>Sobrepeso</b>	<b>≥25</b>
Obesidad grado I	30-34.9
<b>Obesidad grado II</b>	<b>35-39.9</b>
Obesidad grado III	>40

El IMC ha sido propuesto como base para determinar el peso recomendable durante la gestación por parte del Instituto de Medicina de Estados Unidos (OIM), el cual ha señalado la importancia de determinar el estado nutricional con el que la mujer inicia el embarazo y con base a este se establece el peso recomendable durante la gestación, señalando que a mayor IMC al inicio del embarazo, la ganancia de peso debe ser menor (Tabla 2).<sup>18</sup>

**Tabla 2.** Recomendaciones de la ganancia de peso gestacional en mujeres en edad reproductiva respecto al IMC, según la OIM 2009.

	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Rango del total del aumento de peso (kg)	Tasas de aumento de peso en el 2º y 3er trimestres (rango medio en kg por semana)
<b>Bajo peso</b>	<18.5	12.7-18.1	0.45 (0.45-0.59)
<b>Peso normal</b>	18.5-24.9	11.3-15.9	0.45 (0.36-0.45)
<b>Sobrepeso</b>	25-29.9	6.8-11.3	0.27 (0.23-0.32)
<b>Obesidad (todos los grados)</b>	≥30	5.0-9.1	0.23 (0.18-0.27)

Estos cálculos suponen un aumento de peso de 0.5-2.0 kg en el primer trimestre.

#### 4.6. Factores genéticos de la obesidad

La genética de la obesidad tiene 3 formas de presentación:

- a) Monogénica
- b) Sindromática
- c) Común

Las dos primeras ocurren con una prevalencia <0.01%. La forma monogénica es aquella en la que el fenotipo de obesidad se deriva de cambios mutagénicos en un solo gen como el reportado para el gen de leptina y su receptor, la carboxipeptidasa E, la proteína orexigénica Agouti, el receptor de melanocortina 4, la pro-hormona convertasa 1 y la pro-piomelanocortina.<sup>19</sup>

En cuanto a los desórdenes sindromáticos, existen aproximadamente 30 síndromes y al menos 20 de ellos son causados por anomalías cromosómicas tanto autosómicas como ligadas al cromosoma X, muchos de ellos asociados a retraso mental.<sup>19,20</sup>

Finalmente, la obesidad genética común agrupa todos aquellos casos donde existe un problema multifactorial que tiene como sustrato un desequilibrio entre el consumo y el uso de la energía ingerida que puede deberse a factores ambientales o genéticos ya que se ha observado que existe una asociación

familiar para la adiposidad. Se ha estimado que los valores de heredabilidad del IMC se encuentran entre el 50 y el 70%.<sup>21</sup>

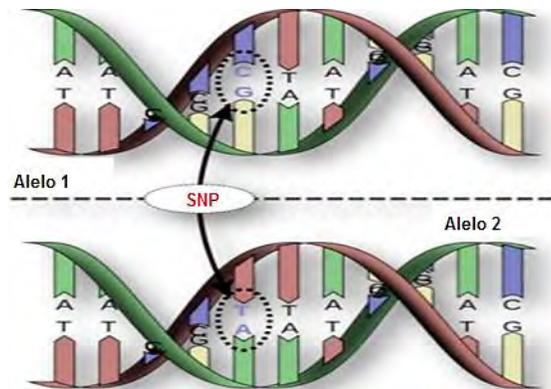
La obesidad común y los fenotipos relacionados con ella tienen un componente genético significativo y existe amplia evidencia de la influencia de múltiples genes en el desarrollo de esta enfermedad. A la fecha se han descrito más de 430 marcadores genéticos o regiones cromosómicas ligadas a rasgos relacionados con la obesidad.<sup>22, 23</sup>

Entre los genes implicados en la etiología de la obesidad se encuentran genes metabólicos, genes que codifican para péptidos que controlan las señales de hambre y saciedad, genes reguladores del gasto energético y genes reguladores del crecimiento y diferenciación de los adipocitos. Por tanto, es muy probable que no exista un solo tipo de obesidad sino varios genotipos con fenotipos similares.<sup>21</sup>

#### **4.6.1. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs)**

Para comprender el papel de la genética en la obesidad se han analizado polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs por sus siglas en inglés “single nucleotide polymorphism”) en estudios de asociación de amplitud genómica (GWAS).<sup>19</sup> Un polimorfismo es considerado como tal cuando la frecuencia del alelo alterado (alelo variante) en la población es superior al 1%.<sup>24</sup>

Los SNP's son variantes del genoma que aparecen por mutaciones en algunos individuos, se transmiten a la descendencia y adquieren cierta frecuencia en la población tras múltiples generaciones (Figura 7). Se ha estimado que hay una variante en cada 1.000 pares de bases de los 3.000 millones que configuran el genoma humano. Los polimorfismos son la base de la evolución y los que se consolidan, bien pueden ser silentes o proporcionar ventajas a los individuos, aunque también pueden contribuir a causar enfermedades.<sup>25</sup>

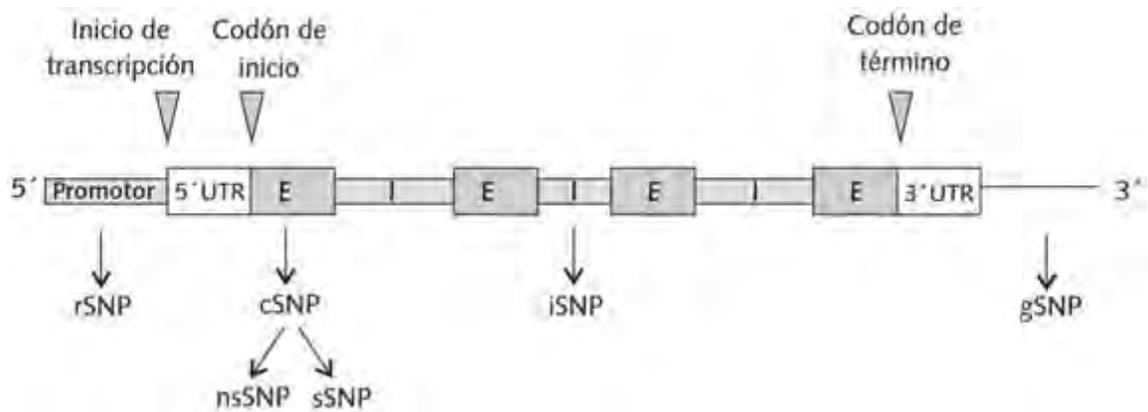


**Figura 7.** Esquema de SNP. La secuencia de nucleótidos es la misma en ambas hebras, el único lugar alterado es donde se produce el SNP (<http://www.viagenefertility.com/Available-PGD-Technologies.php>).

Un SNP se caracteriza porque diferentes individuos presentan un solo nucleótido diferente en una posición concreta del genoma que se denomina locus. A cada posible variante se le denomina alelo.<sup>25</sup> Cada individuo es portador de 2 alelos, uno en cada copia del cromosoma que se heredan del padre y madre de manera independiente. Los individuos con los 2 alelos idénticos se denominan homocigotos y los que tienen diferentes alelos, heterocigotos. El alelo más frecuente es el alelo principal o mejor conocido como “ancestral” o “silvestre” y el alelo menos frecuente se conoce como “variante” o “mutante”.<sup>24</sup>

En la figura 8 se observa la clasificación de los SNP’s funcionales, de acuerdo con su importancia funcional y su localización:<sup>26</sup>

- iSNPs, si están localizados en regiones intrónicas,
- cSNPs en regiones codificantes (exones),
- rSNPs, en regiones reguladoras, y
- gSNPs, localizados en regiones intergenómicas



**Figura 8.** Clasificación de los SNPs de acuerdo a su localización en el genoma (E: exones, I: intrones, UTR: regiones no codificantes).<sup>24</sup>

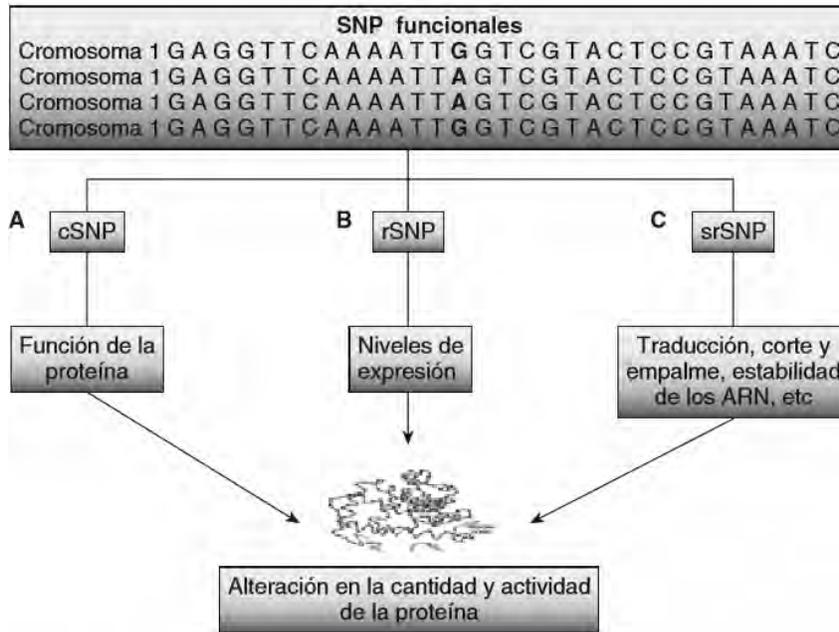
Los cSNPs pueden estar representados por:<sup>27</sup>

- a) SNPs sinónimos (sSNP) o
- b) No sinónimos (nsSNPs)

Los SNP's sinónimos (o silenciosos) no alteran la conformación del gen; sin embargo, pueden tener consecuencias funcionales por algún tipo de mecanismo aún desconocido.<sup>24</sup>

Los SNP's no sinónimos provocan un cambio en un aminoácido afectando directamente la función de la proteína. Muchos investigadores han centrado su atención en estudios de asociación genética en este tipo de variaciones.<sup>24</sup>

Asimismo, existen variaciones funcionales que pueden producir alguna enfermedad o susceptibilidad a ésta sin alterar la conformación del gen. Estas variaciones pueden estar localizadas en la región promotora del gen, influenciando la actividad transcripcional del gen (modulando la unión de factores de transcripción), en intrones (modulando la estabilidad de la proteína), en sitios de "splicing" (sitios donde ocurre la eliminación de intrones y unión de exones) o en regiones intragénicas (Figura 9).<sup>24</sup>



**Figura 9.** Clasificación de los SNPs funcionales: a) cSNP sinónimos (el nucleótido no cambia aminoácido) y no sinónimos (el nucleótido cambia aminoácido) que se encuentran en los exones; b) en rSNP si afectan a la expresión génica, y c) los srSNP si afectan a la estructura y función de los ARNm de genes que sintetizan proteínas.<sup>26</sup>

#### 4.6.1.1. Genotipificación

El progreso en la identificación de secuencias específicas de DNA en los seres humanos se ha logrado con el uso de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *polymerase chain reaction*) desarrollada por Mullis y Faloona en 1983 (Figura 10). Esta técnica hizo posible la obtención de varias copias de un fragmento de DNA y ha contribuido a la comprensión fundamental de la etiología de las enfermedades y a su aplicación práctica en el diagnóstico.<sup>28</sup>



**Figura 10.** Kary B. Mullis, acreedor del Premio Nobel en 1993.<sup>29</sup>

Esta técnica es considerada la más revolucionaria del último cuarto del siglo XX, ya que se consigue copiar millones de veces, en un par de horas, una secuencia predeterminada de DNA, donde la secuencia de interés representa tan sólo una diezmillonésima parte.<sup>29</sup>

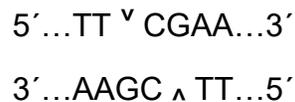
Básicamente, la PCR simula en un tubo el proceso de síntesis de DNA que tiene lugar en la naturaleza amplificando fragmentos de ácidos nucleicos de forma exponencial en horas, el proceso se lleva a cabo de forma cíclica en un termociclador y cada uno de los ciclos consta de tres fases.<sup>30</sup>

1. En la primera fase o fase de desnaturalización, tras la extracción del DNA de la muestra biológica, éste se calienta a 95-98° C durante 30-90 segundos, de tal modo que debido a la sensibilidad del DNA a temperaturas elevadas se rompen los puentes de hidrógeno que mantienen unidas las dos hebras del DNA y éstas se separan.
2. En la fase de acoplamiento los cebadores o iniciadores, que son moléculas de DNA monocatenario previamente diseñadas, se unen al lugar complementario de la hebra del DNA diana desnaturalizado previamente. Esta fase tiene lugar a una temperatura entre 45° y 65° C durante 30-90 segundos y precisa de los iniciadores porque todas las polimerasas necesitan un fragmento de cadena doble de DNA que les indique dónde comenzar a incorporar nucleótidos.
3. Finalmente, una vez acoplados los cebadores al DNA diana, la DNA polimerasa mediante su acción endonucleasa comienza a incorporar los nucleótidos (dNTPs) presentes en la mezcla (incluyendo al ión  $Mg^{2+}$ ) y sintetizando así una copia de cada una de las dos hebras del DNA diana. Esta última fase del proceso tiene lugar a 70-75° C durante 30-180 segundos.
4. El proceso se repite n veces, de tal manera que en condiciones ideales se obtendrían  $2^n$  copias de la región adyacente a la zona complementaria a los cebadores.

Una vez terminada la serie de ciclos es posible detectar e identificar el producto de la reacción por medio de una electroforesis en gel de poliacrilamida.<sup>30, 31</sup>

Para mejorar la eficiencia de la PCR y verificar la calidad del producto de reacción pueden emplearse cortes con endonucleasas de restricción, las cuales son enzimas que escinden moléculas de DNA de doble hélice en sitios determinados por medio del reconocimiento de secuencias específicas.

Es estos casos las enzimas de restricción que se emplean, reconocen secuencias cortas (4-8 pb) que por lo general son palíndromos, y las cortan en una posición determinada de la secuencia, por ejemplo, la enzima de restricción BSP119I, corta el DNA en la siguiente secuencia:<sup>32</sup>



Otra utilidad de las enzimas de restricción es para genotipificar los SNP's con la técnica de RFLP (restriction fragment length polymorphism) en la cual el DNA genómico es tratado con las enzimas generando un patrón único de restricción específico.

### **PCR en tiempo real (RT-PCR)**

La Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real, también conocida como Real Time PCR (RT-PCR) muestra la capacidad de monitorear el progreso de la reacción de PCR a medida que esta ocurre. Los datos son colectados a lo largo del proceso de PCR y no al final.<sup>33</sup>

Este método revolucionó la forma en que se usaba la técnica de PCR para cuantificación de DNA y RNA. El RT-PCR usa moléculas de un "reportero" fluorescente para monitorear la amplificación de productos durante cada ciclo de reacción. Esta técnica combina los pasos de amplificación de DNA y la detección en un único ensayo y evita tener que preparar geles de electroforesis para detectar los productos amplificados.<sup>33</sup>

Un análisis apropiado de los datos elimina la necesidad de realizar pruebas de Southern Blot o secuenciación de DNA para identificación de los amplicones. Su simplicidad, especificidad y sensibilidad junto con su potencial como técnica en aplicaciones futuras y la evolución hacia nuevos conocimientos de la química, además de la confiabilidad en la instrumentación y protocolos mejorados, han hecho del RT-PCT una tecnología altamente competitiva para la detección de DNA y RNA.<sup>33</sup>

Es indispensable la posibilidad de detectar en tiempo real la amplificación de la región del genoma de interés. Para llevar a cabo esta detección existen varios métodos casi todos basados en la utilización de otro fragmento de DNA (sonda) complementario a una parte intermedia del DNA que se desea amplificar.<sup>34</sup>

Las sondas además pueden ser marcadas con diferentes fluoróforos, lo cual permite la detección simultánea de varios productos de amplificación en una misma reacción de PCR (multiplexing), otro método de detección de amplificación es la denominada tecnología TaqMan®.

Durante la RT-PCR con sondas Taqman:

- Cada sonda TaqMan® MGB hibrida específicamente con el nucleótido específico en su secuencia complementaria entre los sitios “sentido” y “retroceso” de los cebadores.

Esta sonda se encuentra unida a una molécula fluorescente y otra molécula que inhibe esta fluorescencia (“quencher o apagador”), de tal forma que sólo cuando la sonda es desplazada de su sitio por acción de la DNA polimerasa, la molécula fluorescente se libera de la acción del “quencher o apagador” y emite fluorescencia al ser iluminada con un láser.<sup>35</sup>

- La cuantificación de la fluorescencia emitida durante cada ciclo será proporcional a la cantidad de DNA que se está amplificando e indica que los alelos están presentes en la muestra

Ventajas:

- Alta sensibilidad y especificidad.
- Permite cuantificar el producto exponencial de una amplificación de DNA
- Puede generar amplicones pequeños (desde 60 pb).
- El proceso completo se realiza en el termociclador lo cual disminuye la posibilidad de contaminación y aumenta el rendimiento.

Desventajas:

- Se debe utilizar DNA como secuencia molde.

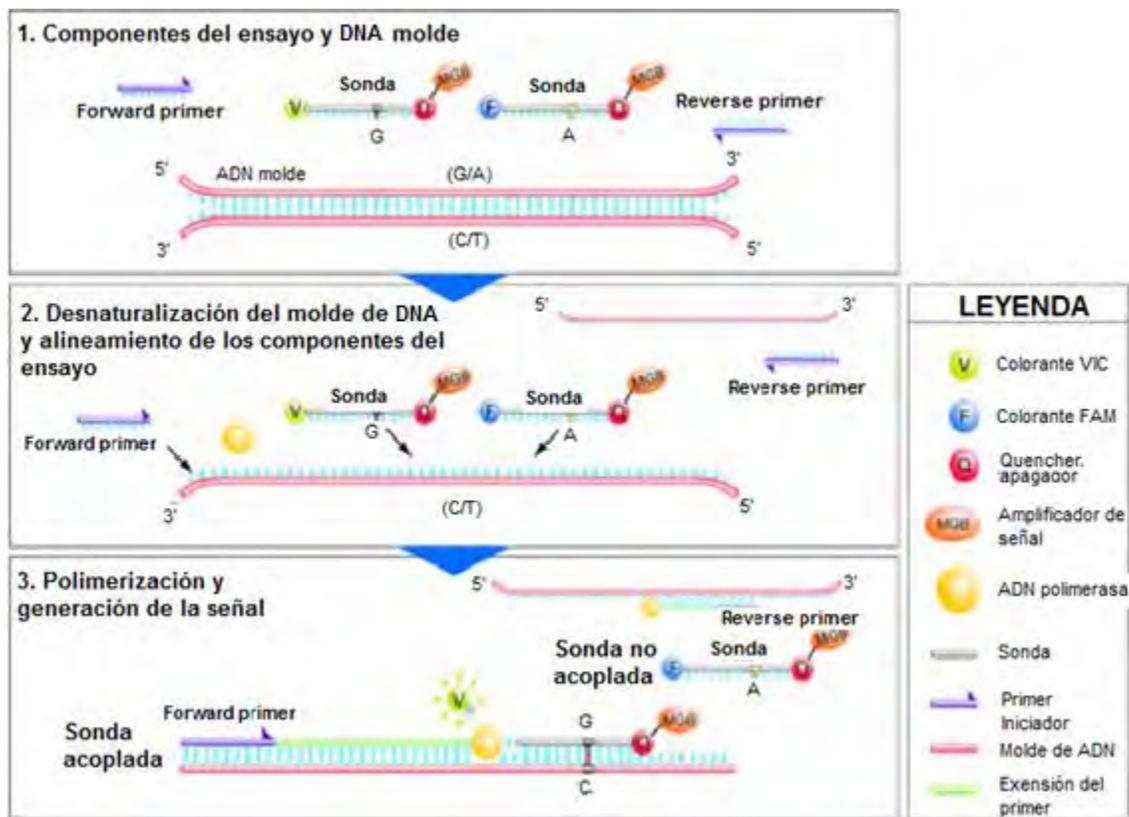
La principal limitación de los marcadores es que, al unirse al total de ácidos nucleicos en la reacción de la PCR, emiten una señal luminosa tanto para productos específicos como para aquellos que no lo son (primer-dimers).<sup>36</sup>

Además de la sonda, se requieren otros reactivos necesarios para la amplificación como:<sup>37</sup>

- a) Un template de DNA, tal como DNA genómico de doble hebra.
- b) Dos secuencias específicas de oligonucleótidos (primers o iniciadores), de aproximadamente 20 nucleótidos de longitud y complementarios a los extremos 3' de cada hebra de la región de DNA que será copiada.
- c) Una enzima: DNA polimerasa termoestable que sintetice copias de DNA, como *Taq* polimerasa.
- d) Una mezcla de 4 desoxinucleótidos: dNTP's
- e) Soluciones amortiguadoras (buffers) que contengan magnesio, el cual es requerido por la *Taq* polimerasa.

Estos reactivos se colocan en un tubo pequeño con un volumen total de 10-50  $\mu$ L, que será la mezcla de PCR.<sup>37</sup>

Para llevar a cabo la detección de cada SNP se emplean dos sondas TaqMan® complementarias a las variantes del SNP, las cuales contienen en su estructura un fluorocromo específico (VIC o FAM), y al unirse a la región donde se encuentra la base complementaria del SNP, por actividad exonucleasa de la Taq polimerasa, la sonda se degrada y se emite la señal fluorescente producida por la reacción. De tal manera que cuando el alelo 1 se une la sonda marcada con el fluorocromo VIC®, el resultado será homocigoto para el alelo 1 y si se une el alelo 2 a la sonda marcada con FAM™ la interpretación será: homocigoto para el alelo 2. En el caso de que se encuentren ambos alelos en la región de interés, se unen ambas sondas (heterocigoto) (Figura 11).

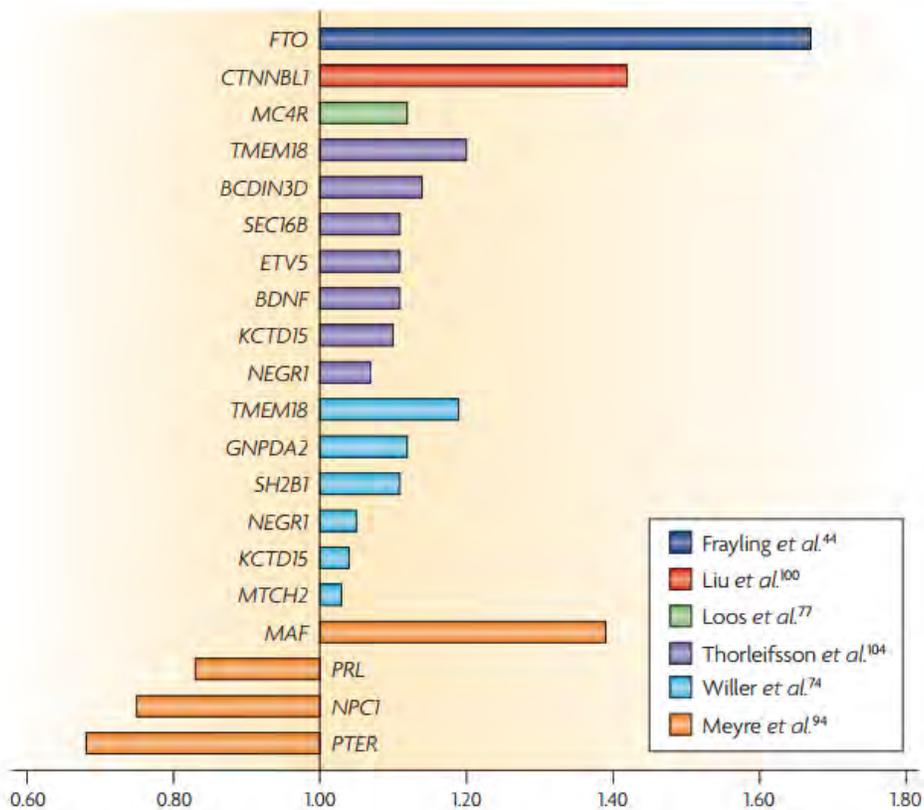


**Figura 11.** Ensayo de PCR en tiempo real mediante el uso de una sonda que emite fluorescencia (ensayos TaqMan®) al ser degradada por la DNA polimerasa durante la amplificación.<sup>38</sup>

#### 4.6.2. Gen FTO

Los estudios de asociación genómica (GWAS) han identificado más de 90 loci que contienen variantes genéticas, muchas en regiones intrónicas, asociadas con la obesidad humana. Las variantes genéticas relacionadas con la obesidad se encuentran en los genes de adiponectina, factores adrenérgicos, leptina y su receptor, receptor de glucocorticoides, receptor del peroxisoma proliferativo activado, proteínas desacoplantes mitocondriales transportadoras de protones y en el gen FTO (Fat Mass and Obesity Associated).<sup>19, 39</sup>

La asociación del gen FTO con la obesidad se identificó en 2007 y es el gen que tiene la mayor asociación con la obesidad, ya que explica del 40-80% de la heredabilidad del IMC (Figura 12).<sup>40</sup>



**Figura 12.** Odds ratios de genes asociados con obesidad en estudios genómicos.<sup>67</sup>

Este gen se encuentra en el brazo largo del cromosoma 16 banda 12 sub-banda 2 (16q12.2) y está formado por nueve exones que abarcan más de 400 kb.<sup>40</sup>

El gen codifica para una desmetilasa y se expresa en tejido adiposo, hipotálamo e hipófisis<sup>41-43</sup> y se ha demostrado que desempeña un papel específico en los precursores de adipocitos influyendo en los procesos iniciales de la cascada de diferenciación.<sup>39</sup>

## **Función**

Las proteínas del gen FTO pertenecen a la familia ADN/ARN metilasa dependiente de  $Fe^{2+}$  y 2-oxoglutarato (2-OG), las cuales catalizan la desmetilación de 3-metilimidina (3-meT) del DNA monosustratado, con producción concomitante de succinato, formaldehído y dióxido de carbono. Se ha observado que dicho gen tiene una mayor afinidad por el RNA que el DNA y una preferencia por la timina o el uracilo, y que esta especificidad del sitio depende de su estructura cristalina <sup>44</sup>, lo que sugiere que FTO tiene un sustrato preferente para la desmetilación de RNA que sobre el DNA. <sup>40, 45</sup>

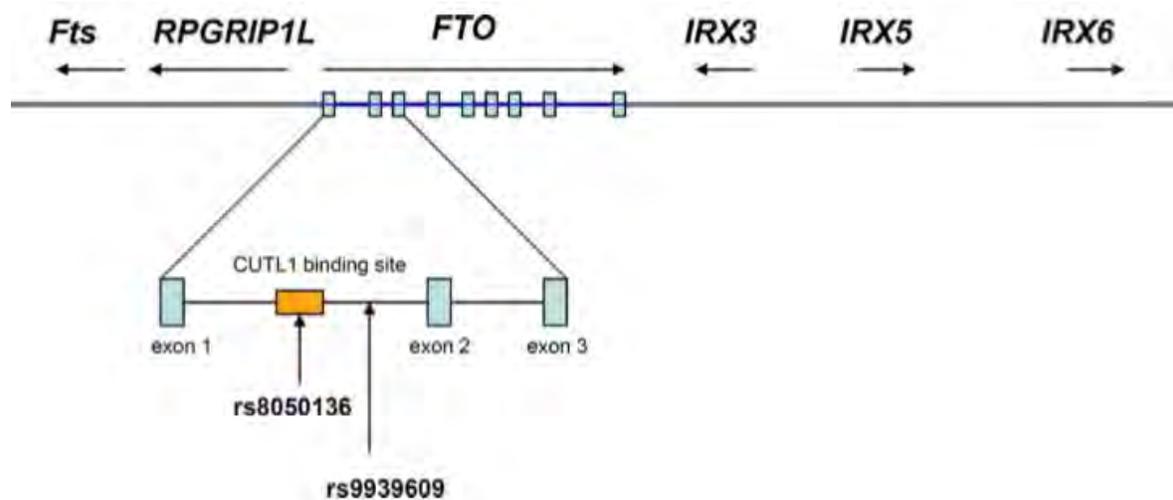
La metilación es un fenómeno fisiológico importante en la regulación de la expresión de los genes en mamíferos, principalmente durante la embriogénesis, y es de vital importancia para mantener el silenciamiento genético con el fin de regular de manera adecuada, la expresión de los genes y asegurar un desarrollo normal del ser humano.<sup>45</sup>

En los estudios iniciales la eliminación o reducción de la actividad del gen FTO en ratones dio como resultado una disminución de la adiposidad y un gasto energético elevado sin impacto en la ingesta de alimentos. Por otra parte, la expresión del gen en ratones condujo a la ingesta de alimentos elevados y adiposidad, sin ningún impacto en el gasto. Se describió que en estos animales el gen FTO se expresaba ampliamente en el cerebro, incluyendo los núcleos hipotalámicos vinculados a la regulación de la ingesta de alimentos. <sup>44</sup>

Posteriormente se describieron diversas variantes del gen FTO asociadas al IMC las cuales se encuentran en el primer y más grande intrón del gen, una región donde la secuencia está muy conservada entre especies.<sup>40</sup> Estas variantes parecen conferir un riesgo hacia la obesidad a través de una alteración en la

sensación de saciedad, una mayor ingesta de energía y mayor almacenamiento de lípidos. El hecho de que los SNPs del gen FTO, asociados a la obesidad se encuentren en el primer intrón del gen, ha llevado a la idea de que regulan los efectos de la obesidad a través de la expresión de los genes proximales a dicho gen en el mismo locus: RPGRIP1L, IRX3, e IRX5.<sup>46-49</sup>

Las variantes más estudiadas han sido la rs8050136 y rs9939609 (Figura 13). En las dos variantes el alelo de riesgo es la adenina (A), dicha base púrica se intercambia por citosina (C) en el rs8050136 y por timina (T) en el rs9939609. En los individuos portadores del alelo A, se ha descrito que en los núcleos cerebrales donde se expresa la proteína que codifica el gen FTO, existe una mayor resistencia a la insulina, así como la preferencia por ingestas hipercalóricas.<sup>4</sup> Asimismo, dichas variantes se asocian fuertemente con cambios en el peso corporal y adiposidad.<sup>21</sup>



**Figura 13.** Organización genómica del gen FTO y sus genes vecinos (Stratigopoulos et al., 2011).

40

La presencia del alelo de riesgo en individuos homocigotos de la variante rs9939609, contribuye a aumentar el peso corporal 3 kg y el riesgo a desarrollar obesidad es de 1.67 veces, mientras que los portadores heterocigotos muestran un aumento de peso de 1.5 kg.<sup>40</sup>

En relación al embarazo, un estudio prospectivo longitudinal realizado por Lawlor DA et al, en el que se analizó a la variante rs9939609 en 10331 embarazadas de la región del Reino Unido mostró asociación del alelo de riesgo con el peso previo al embarazo y la retención de peso en el postparto.<sup>50</sup>

Otro estudio de Gaillard R. evaluó a la variante rs8050136 en 6959 embarazadas de Rotterdam y Países Bajos, y encontró asociación del alelo de riesgo con el sobrepeso (OR: 1.30 IC 95% 1.06-1.58) y obesidad materna (OR: 1.64, IC 95% 1.21-2.23).<sup>51</sup>

#### **4.7. Diabetes Mellitus Gestacional**

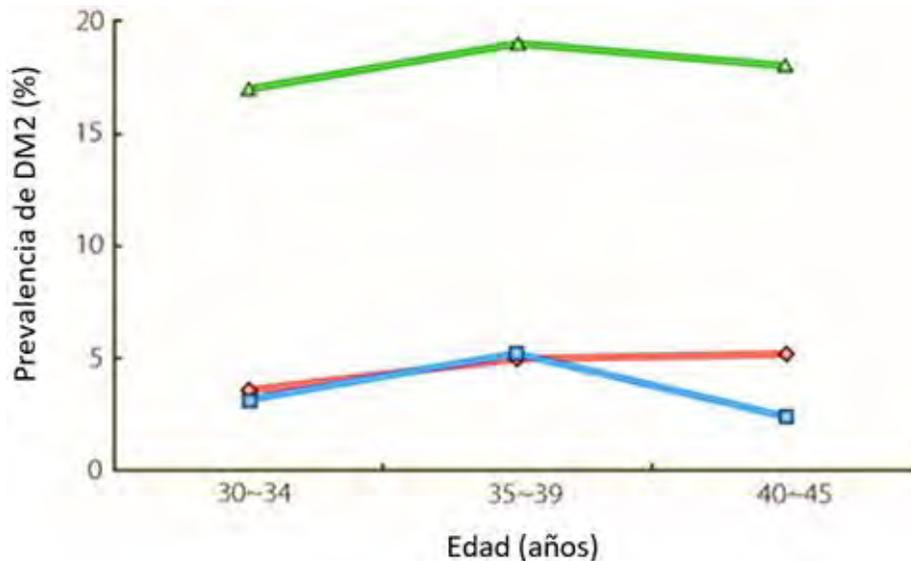
La DMG es una de las complicaciones obstétricas que ha mostrado un mayor incremento en los últimos años en paralelo al incremento de la obesidad. El riesgo de desarrollar este padecimiento aumenta exponencialmente con el aumento del IMC. El riesgo en pacientes con sobrepeso es de 1.97 (IC 95% 1.77-2.19), en mujeres obesas es de 3.01 (IC 95% 2.34-3.87) y en obesidad mórbida es de 5.55 (IC 95% 4.27-7.21).<sup>3</sup>

La DMG se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa con inicio o primer reconocimiento durante el embarazo y no excluye la posibilidad de que sea una intolerancia a la glucosa no reconocida antes del embarazo o a que haya iniciado de manera concomitante con la gestación.<sup>52</sup>

La hiperglucemia ocasionada por la DMG es un factor de riesgo de complicaciones para la madre y el feto. Las complicaciones maternas más frecuentes son hipertensión arterial durante el embarazo, infección de vías urinarias y polihidramnios.<sup>53</sup> En el producto se incrementa el riesgo de muerte fetal intrauterina en las últimas 4 a 8 semanas de gestación.<sup>54</sup>

La mayoría de las mujeres que cursaron con DMG tienen tolerancia normal a la glucosa en el posparto, pero pueden presentar un mayor riesgo de desarrollar DM2 pocos meses después del parto.<sup>54</sup>

Se ha identificado que el 10% de las pacientes presentarán DM2 poco después de concluir la gestación. Posterior a este lapso de tiempo, se ha señalado que el riesgo es de aproximadamente del 70% <sup>52</sup>, en un rango de 5-10% por año. <sup>54</sup> Sin embargo, este riesgo se incrementa cuando hay retención del peso adquirido en el embarazo y/o se incrementa el peso después del embarazo (Figura 14).



**Figura 14.** La prevalencia de DM2 en mujeres con DMG previa ( ▲). Prevalencia de DM2 en mujeres sin DMG, encuesta de 1998 ( ◆). Prevalencia de DM2 en mujeres sin antecedente de DMG encuestadas en 2001 ( ■ ).<sup>55</sup>

Debido a que la DMG y la DM2 son más frecuentes en mujeres obesas se ha sugerido la participación del tejido adiposo a través de la secreción de diversas adipocinas como leptina, adiponectina y citocinas inflamatorias como TNF- $\alpha$  en la etiología de ambos padecimientos. Además, como estas alteraciones son más frecuentes en mujeres genéticamente predispuestas se ha señalado un importante componente genético para su desarrollo.<sup>52, 56</sup>

#### 4.7.1. Gen FTO y DMG

Respecto a la variante rs9939609 del gen FTO se han realizado diversos estudios dentro de los cuales se encuentra el de Huopio H. et al, en el cual participaron 533

mujeres con DMG y 407 embarazadas con TNG de Finlandia mostrando asociación con el desarrollo de DMG (OR: 1.28, IC 95% 1.06-1.54).<sup>57</sup>

Asimismo, Pagán A., en su estudio en la población de Murcia (España) que incluyó a 25 embarazadas con TNG y 45 embarazadas con diagnóstico de DMG, demostró que las madres portadoras del alelo de riesgo tienen 2 veces más probabilidad de desarrollar DMG (OR: 2.17, IC 95% 1.07-4.41).<sup>58</sup>

De igual manera, Lauenborg J. et al observaron asociación del alelo A con el desarrollo de DMG en un estudio que incluyó 283 mujeres danesas con DMG y 2446 con TNG, las frecuencias de dicho alelo fueron del 22.1% en el grupo con DMG y de 17% en TNG (OR: 1.26, IC 95% 1.05-1.51).<sup>59</sup>

En otro estudio, Fabrico SF analizó a 200 mujeres euro-brasileñas con DMG y 200 embarazadas con TNG, y observó que el alelo de riesgo no se asociaba al desarrollo de DMG; la frecuencia del alelo de riesgo en el grupo con DMG fue de 41% y en el grupo con TNG de 40%. Asimismo, evaluó a la variante rs8050136 y observó que tampoco se asoció a DMG, la frecuencia del alelo de riesgo fue de 38% para el grupo con DMG y de 39% para el grupo con TNG.<sup>60</sup>

Adicionalmente, Cho YM reportó que al analizar la variante rs8050136 en 869 mujeres con DMG y 345 con TNG no demostró asociación con DMG (OR: 1.12, IC 95% 0.90-1.40).<sup>61</sup>

Otro estudio que evaluó a la variante rs8050136 en el postparto de DMG fue el realizado por Ekelund M. quién estudió a 793 mujeres (75% europeas y 25% no europeas) y encontró asociación del alelo de riesgo con el riesgo a desarrollar DM2 (OR: 1.56, IC 95% 1.06-2.29); sin embargo, al hacer el ajuste por el IMC la variante no se asoció a DM2 (OR: 1.39, IC 95% 0.91-2.12).<sup>62</sup>

## **5. Planteamiento del problema**

El rápido aumento en la prevalencia del sobrepeso y la obesidad en nuestro país han generado de manera proporcional un aumento de DM2 y DMG. Esto ha

obligado a la obtención de conocimiento de los mecanismos moleculares y fisiológicos que interactúan entre sí para el desarrollo de DM2 y DMG.

La obesidad se considera una enfermedad sistémica, crónica y multifactorial, no exclusiva de países económicamente desarrollados, que involucra a todos los grupos de edad, de distintas etnias, de todas las clases sociales. Es el resultado de la interacción entre la susceptibilidad genética y las características del entorno político y social, ha alcanzado proporciones epidémicas, razón por la que la Organización Mundial de la Salud denomina a la obesidad como la epidemia del siglo XXI.<sup>2</sup>

Entre los genes implicados en la etiología de la obesidad se encuentran genes metabólicos como el gen FTO cuyas variantes rs9939609 y rs8050136 se han asociado a DM2, DMG y al aumento de IMC en distintas poblaciones.<sup>4, 40, 50, 51, 57-59, 63, 64</sup>

Sin embargo, en nuestro país no se ha evaluado la asociación de las diferentes variantes del gen FTO en DMG, la cual es un factor de riesgo para DM2, por cual surge la siguiente pregunta:

¿Existe asociación entre las variantes rs9939609 y rs8050136 del gen FTO y el peso corporal antes, durante y después del embarazo en mujeres con DMG y embarazadas con TNG?

## **6. Hipótesis**

Los alelos de riesgo de las variantes rs9939609 y rs8050136 del gen FTO se presentarán con mayor frecuencia en el grupo de DMG, manifestarán una elevación del peso corporal antes, durante y después del embarazo y un mayor riesgo para el desarrollo de DM2.

## 7. Objetivos

### General

- Determinar la frecuencia de los polimorfismos del gen FTO rs9939609 y rs8050136 en mujeres con DMG y embarazadas con tolerancia normal a la glucosa.

### Específicos

- Determinar la asociación de los SNPs del gen FTO rs9939609 y rs8050136 con el peso corporal antes, durante y después del embarazo.
- Determinar la asociación de los SNPs del gen FTO rs9939609 y rs8050136 con el metabolismo de glucosa en el embarazo y posparto.

## 8. Diseño experimental

a) **Tipo de estudio:** auxiliar.<sup>64</sup>

b) **Población de estudio:** 80 mujeres con DMG y 80 embarazadas con TNG de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Gineco-Obstetricia No. 3 La Raza, IMSS.

c) **Criterios de inclusión:** DMG diagnosticada mediante la prueba de tolerancia oral a la glucosa de 2 h con 75 g de glucosa, los valores de corte de > 5,2 mmol / L en ayunas, > 10,0 mmol /L al 1-h, y > 7,8 mmol / L en 2 h entre las semanas 24-28. Embarazo normotenso y euglucémico para el grupo de embarazo con TNG.

d) **Criterios de exclusión:** mujeres con hipertensión arterial, enfermedad renal, enfermedad hepática, trastornos de la tiroides, o enfermedades crónicas.

e) **Criterios de eliminación:** mujeres que no regresan para ser evaluadas en el seguimiento del estudio.

### f) Metodología

El presente protocolo representa un estudio secundario de un proyecto ya culminado. En este sentido, el estudio se realizó con un banco de DNA de un estudio de cohorte prospectivo registrado y aprobado por el Comité de Ética de Investigación de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Gineco-Obstetricia No. 3 La Raza, IMSS (R-2007-3504-12). Del estudio se obtuvieron muestras de sangre periférica anticoagulada con EDTA de pacientes en ayunas

con DMG o embarazo con TNG en el tercer trimestre de gestación, a las 6 semanas y 6 meses postparto. De estas muestras se extrajo y purificó DNA genómico usando los kits comerciales GFX Genomic Blood DNA Purification (Amersham Biosciences) y se conservaron a -70°C.

Se determinó la concentración de DNA con base al protocolo de uso del NanoDrop (ThermoScientific) en cada una de las muestras Control y de DMG. Después se evaluó la integridad de las muestras mediante electroforesis en gel de agarosa.

Finalmente, la genotipificación de los SNPs rs9939609 y rs8050136 se realizó mediante ensayos TaqMan® (Applied Biosystems), de acuerdo a la Guía de Introducción de Experimentos de Genotipificación de Sistemas de PCR en Tiempo Real.

Este ensayo de genotipificación detecta variantes de una sola secuencia de ácido nucleico, sin cuantificar el blanco. La presencia de dos sondas en cada reacción permite la genotipificación de los dos posibles SNP en la secuencia blanco.

Para cada SNP genotipificado, el ensayo TaqMan® consta de un solo tubo listo para usar, que contiene:

- Dos cebadores específicos de secuencia para amplificar el polimorfismo de interés.
- Dos sondas TaqMan® MGB específicas para la detección del alelo del polimorfismo específico de interés.

Cada sonda alelo-específica TaqMan MGB tiene:

- Un colorante (reportero) en su extremo 5 '
  - El colorante VIC ® está ligado al extremo 5 'de la sonda del alelo 1.
  - El colorante FAM ™ está ligado al extremo 5 'de la sonda del alelo 2.

Para cada ensayo TaqMan® Applied Biosystems Inc (Foster City, CA, USA), se requerirán las siguientes condiciones en cada 1 de los 40 ciclos:

- Desnaturalización de DNA: 95°C durante 15 segundos.

- Alineación de los componentes del ensayo y extensión de la cadena complementaria: 60°C durante 1 minuto.

Los reactivos necesarios en cada pocillo de reacción son:

- 9.5  $\mu\text{L}$  de dilución de DNA (7.5  $\mu\text{L}$  de agua y 2  $\mu\text{L}$  de DNA stock a una concentración de 25 ng/ $\mu\text{L}$ , previamente determinada)
- 10 $\mu\text{L}$  Master mix
- 0.5  $\mu\text{L}$  Taqman

El ensayo se llevó a cabo en el equipo Applied Biosystems StepOnePlus™, utilizando la reacción en cadena de la polimerasa basada en la emisión de fluorescencia detectada por el equipo.

Un punto de recogida de datos o lectura en el instrumento consta de tres fases:

1. Excitación. El instrumento ilumina todos los pocillos de la placa de reacción dentro del instrumento, excitando los fluoróforos en cada reacción.
2. Emisión. Los instrumentos ópticos recogen la fluorescencia residual emitida desde los pozos de la placa de reacción. La imagen resultante que se recogió por el dispositivo se compone sólo de luz, que corresponde a la gama de longitudes de onda de emisión.
3. Colección. El instrumento ensambla una representación digital de la fluorescencia residual recogida durante un intervalo de tiempo fijo. El sistema StepOne™ almacena la imagen fluorescente prima para análisis.

Por último, el software Applied Biosystems StepOnePlus™, algorítmicamente agrupó los datos de la muestra, y asignó un genotipo a las muestras de cada grupo de acuerdo con su posición en la gráfica:

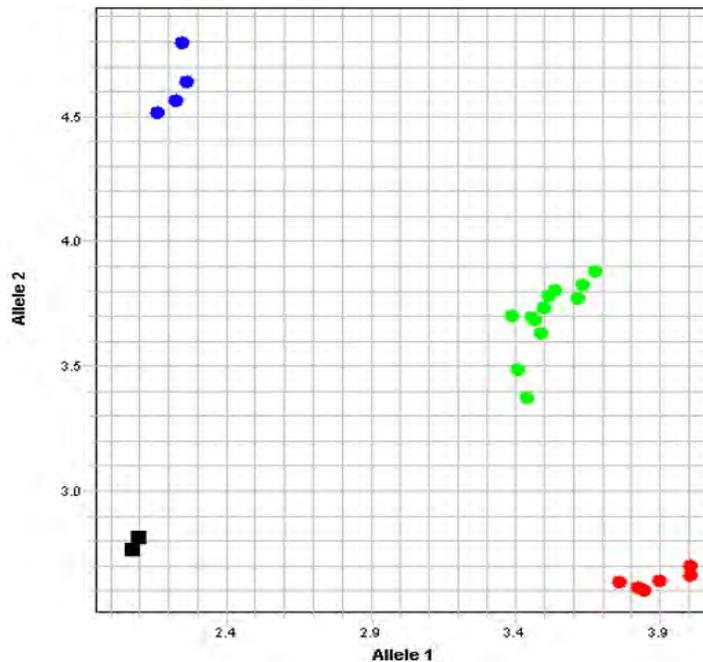


Figura 15. Gráfica de genotipificación del sistema StepOnePlus™.

Un aumento sustancial en la fluorescencia en...	Indica
VIC	Homocigotas (tienen solo el alelo 1)
FAM	Homocigotas (tienen solo el alelo 2)
Ambos	Heterocigotas (tienen ambos alelos)

### Análisis estadístico

Se realizó la prueba de normalidad de los datos con la prueba de Shapiro-Wilk y se encontró que no tenían una distribución normal por lo que los datos fueron expresados con la mediana y rangos intercuartílicos. La comparación de variables cualitativas dicotómicas se hizo con la prueba de  $X^2$  y las variables cuantitativas se compararon entre 2 grupos de estudio con la prueba de U de Mann-Whitney y entre embarazo y posparto con la prueba de Wilcoxon.

La relación entre las variables se evaluó con la correlación de Spearman. Se utilizó el programa IBM SPSS Statistics versión 21. Asimismo, se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg de los genotipos estudiados.

## 9. Resultados

En la tabla 3 se muestran las características antropométricas y bioquímicas del grupo con TNG y del grupo con DMG en el tercer trimestre de gestación. Se observó que la edad, el peso y el IMC previo al embarazo, la historia familiar de diabetes y los niveles de glucosa y triglicéridos fueron significativamente mayores en el grupo con DMG respecto al grupo con TNG; sin embargo, la ganancia de peso y los niveles de colesterol fueron menores en las mujeres con DMG lo que sugiere un adecuado control durante la gestación.

**Tabla 3. Características antropométricas y bioquímicas de los grupos TNG y DMG.**

	TNG n= 80	DMG n=80	P
Edad (años)	25.0(19.0-29.0)	33.5 (28.2-36.0) *	< 0.001
Peso previo al embarazo (kg)	56.0 (56.0-64.0)	72.0 (63.2-80.0) *	< 0.001
IMC previo al embarazo (kg/m <sup>2</sup> )	23.2 (21.5-25.7)	30.2 (27.0-32.9) *	< 0.001
Ganancia de peso gestacional (kg)	8.5 (3.0-10.0)	6.7 (3.0-10.0) *	< 0.05
Historia familiar de diabetes n (%)	16.0 (20.7)	55.0 (66.2) *	< 0.001
Glucosa (mg/dL)	68.3 (62.8-74.6)	99.7 (87.0-122.0) *	< 0.001
Colesterol total (mg/dL)	259.3 (215.7-312.4)	238.2 (216.2-268.8) *	< 0.01
Triglicéridos (mg/dL)	221.7 (169.9-284.6)	286.4 (228.5- 351.4) *	< 0.001

Datos expresados como mediana y rango intercuartílico (25-75%) o n (%)

\*diferencia estadísticamente significativa

### Electroforesis y cuantificación de DNA

Para comprobar la integridad de cada muestra de DNA empleada en la genotipificación de ambos SNPs se realizó una electroforesis en gel de agarosa con las muestras 67, 29, 162 y 148 de mujeres con TNG; y 152, 189, 191 y 142 de embarazadas con DMG (Figura 16). Una vez que se confirmó la intacta preservación de las muestras de DMG y TNG se cuantificó cada muestra para realizar los cálculos necesarios en la genotipificación mediante PCR en tiempo real.



**Figura 16.** Electroforesis en gel de agarosa de muestras de DMG y TNG.

En relación a los dos polimorfismos estudiados, se determinó que se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg:

- rs8050136

Genotipo	# Observado	Genotipo	# Esperado
<b>A/A</b>	1	<b>A/A</b>	1.37
<b>A/C</b>	19	<b>A/C</b>	18.24
<b>C/C</b>	60	<b>C/C</b>	60.37
<b>Total</b>	80	<b>Total</b>	79.99

$$X^2 = \sum (\text{observados} - \text{esperados})^2 / \text{esperados}$$

$$X^2 = 0.1366$$

$X^2$  calculada <  $X^2$  tablas: la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.

- rs9939609

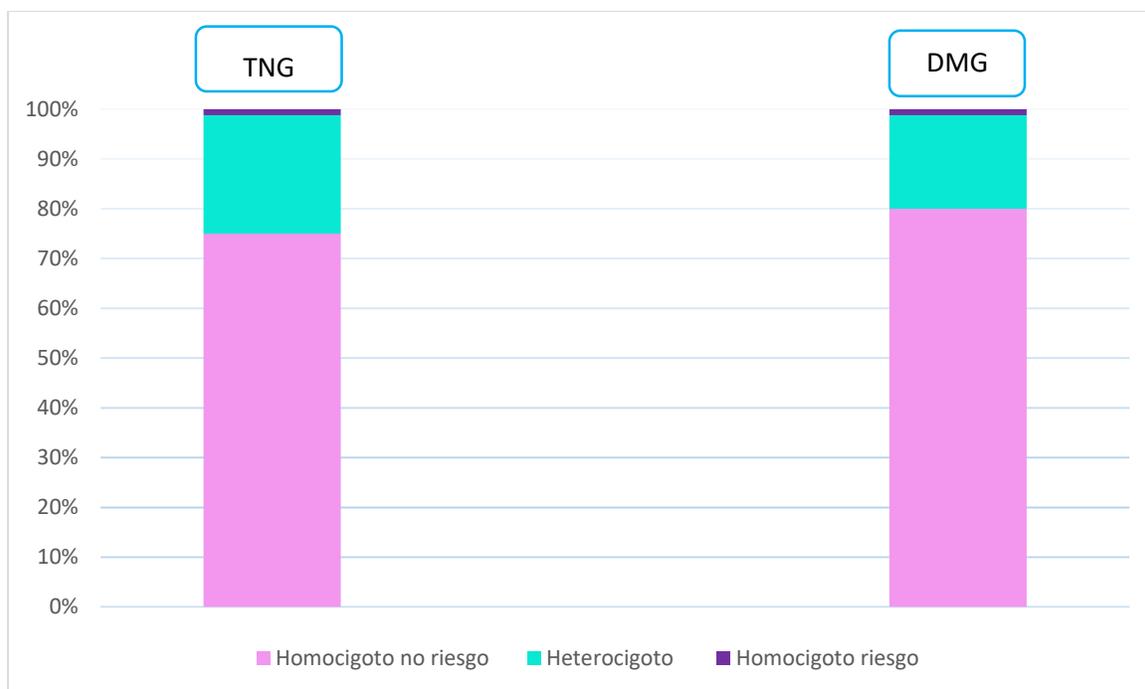
Genotipo	# Observado	Genotipo	# Esperado
<b>A/A</b>	1	<b>A/A</b>	0.88
<b>A/T</b>	15	<b>A/T</b>	15.01
<b>T/T</b>	64	<b>T/T</b>	64.09
<b>Total</b>	80	<b>Total</b>	79.98

$$X^2 = 0.0164$$

Valor de  $X^2$  de tablas: 3.84

$X^2$  calculada <  $X^2$  tablas: la población se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.

La distribución genotípica del grupo con TNG y del grupo con DMG se muestra en la Figura 17 en donde se observa mínimo el porcentaje de frecuencia del alelo de riesgo en ambos grupos de estudio.



**Figura 17.** Distribución genotípica de los SNP's rs8050136 y rs9939609 del gen FTO.

No se encontró diferencia de dicha distribución entre TNG y DMG y se advirtió que los dos polimorfismos evaluados estaban en desequilibrio de unión completo (Tabla 4).

**Tabla 4. Distribución genotípica de los SNPs en TNG y DMG**

Polimorfismo	Genotipo	TNG	DMG	OR(95% CI)	P
<b>FTO rs8050136</b>	CC	60	64	1.35 (0.64-2.85)	0.42
	CA	19	15		
	AA	1	1		
Alelo de riesgo	A				
Frecuencia del alelo de riesgo (%)		25%	20%		
<b>FTO rs9939609</b>	TT	60	64	1.35 (0.64-2.85)	0.42
	TA	19	15		
	AA	1	1		
Alelo de riesgo	A				
Frecuencia del alelo de riesgo (%)		25%	20%		

OR: odds ratios

Debido a la baja frecuencia de individuos homocigotos para el alelo de riesgo se decidió utilizar un modelo dominante y agrupar a los homocigotos del alelo de riesgo con los heterocigotos para compararlos con los homocigotos al alelo de no riesgo (Tabla 5). Tanto en el grupo control como en DMG no se encontró una diferencia significativa entre los grupos.

**Tabla 5. Características antropométricas con base al genotipo de los SNP's del gen FTO en grupo TNG y DMG.**

<b>GRUPO TNG</b>		
<b>FTO rs9939609 rs8050136</b>	<b>TT CC</b>	<b>TA, AA CA, AA</b>
Peso previo al embarazo (kg)	55.0 (50.0-64.0)	56.0 (50.0-60.0)
IMC previo al embarazo (kg/m <sup>2</sup> )	22.9 (20.5-26.8)	23.0 (21.5-23.9)
Ganancia de peso gestacional (kg)	8.0 (4.6-10.7)	8.9 (6.0-10.3)
Glucosa en el embarazo (mg/dL)	66.5 (62.2-72.8)	69.7 (63.5-76.5)
Glucosa en el posparto (mg/dL)	75.3 (68.5-79.4)	71.3 (67.3-78.0)
<b>GRUPO DMG</b>		
<b>FTO rs9939609 rs8050136</b>	<b>TT CC</b>	<b>TA, AA CA, AA</b>
Peso previo al embarazo (kg)	72.0 (60.7-79.7)	72.0 (63.0-81.2)
IMC previo al embarazo (kg/m <sup>2</sup> )	30.0 (27.0-33.0)	30.6 (26.0-32.1)
Ganancia de peso gestacional (kg)	6.0 (2.0-10.0)	9.0 (4.4-13.0)
Glucosa en el embarazo (mg/dL)	101.1 (87.9-123.5)	90.6 (75.8-119.7)
Glucosa en el posparto (mg/dL)	99.1 (83.9-118.9)	109.1 (95.9-126.0)

Datos expresados como mediana y rango intercuartílico (25-75%)

A la evaluación en el posparto de las mujeres con DMG regresaron 26 participantes y se identificó que 16 mujeres tenían glucosa normal (61.5%), 6 presentaban glucosa de ayuno alterada (GAA) (23.0%) y 4 tenían cifras de DM2 (15.5%). Sin embargo, no se encontró relación entre los SNPs (rs9939609 y rs8050136) y la alteración en el metabolismo de glucosa (Tabla 6).

**Tabla 6. Metabolismo de glucosa a las 6 semanas posparto.**

Metabolismo de glucosa (n=26)			
	Normal	GAA	DM2
<b>rs8050136 A/T A/A</b>	4 (15.4%)	1 (3.8%)	0
<b>T/T</b>	12 (46.2%)	5 (19.2%)	4 (15.4%)

## 10. Discusión

La DMG es una de las complicaciones obstétricas que ha mostrado un mayor incremento en los últimos años en paralelo al incremento de la obesidad.<sup>3</sup> La hiperglucemia ocasionada por este padecimiento es un factor de riesgo de complicaciones para la madre y el feto.

Se ha identificado que del total de mujeres que se embarazan en México, el 10% son propensas a desarrollar diabetes gestacional. Sin embargo, si las mujeres embarazadas presentan obesidad y tienen predisposición genética familiar de DM2, el riesgo de que desarrollen diabetes gestacional será hasta de un 45%.<sup>52</sup>

En este estudio se encontró que las mujeres con DMG presentaban mayor peso e IMC previo al embarazo (33.8% tenían sobrepeso y 48.8% tenían obesidad) que las mujeres con TNG (23.8% tenían sobrepeso y 5.0% tenían obesidad), lo cual aunado a una mayor edad y a los antecedentes heredo familiares de DM2 les confirió un mayor riesgo para el desarrollo del padecimiento.

Sin embargo, el peso adquirido durante la gestación fue menor en las mujeres con DMG, cumpliendo con las recomendaciones del OIM, el cual señala que a mayor IMC al inicio del embarazo, la ganancia de peso gestacional debe ser menor. Esto

pudo ser reflejo del manejo nutricional que se le brinda a la paciente con DMG desde el momento del diagnóstico hasta la resolución del embarazo, ya que además sus niveles de colesterol fueron menores.

En relación a las variantes del gen FTO evaluadas en este estudio rs9939609 (cambio del nucleótido A por el nucleótido T) y rs8050136 (cambio del nucleótido A por el nucleótido C) se observó una baja frecuencia del alelo de riesgo en ambos grupos de estudio (25% en TNG y 20% en DMG). Estas frecuencias son similares a las reportadas en mujeres coreanas pero menores a las de mujeres europeas o brasileñas.

Asimismo, no se encontró asociación entre los SNPs y la DMG, al igual que Cho et al.<sup>61</sup> y Fabrico et al.<sup>60</sup>. Sin embargo, estos resultados difieren a los de otros tres estudios realizados en población europea en los que señalan una asociación entre el alelo de riesgo y el riesgo a desarrollar DMG.<sup>50, 57, 58</sup> Es probable que la baja frecuencia del alelo de riesgo en nuestra población además del limitado tamaño de muestra de nuestro estudio pudo haber influido. Se ha sugerido que los efectos de los SNPs del gen FTO solo pueden advertirse en poblaciones con mayor frecuencia del alelo de riesgo.<sup>65</sup>

Algunas variantes genéticas del gen FTO se han relacionado a diversas características antropométricas en poblaciones europeas. Sin embargo, en este estudio no se encontró relación de los SNPs con el peso y el IMC previo al embarazo, a diferencia de Lawlor et al. y Gaillard et al. quienes sí demostraron asociación entre las variantes de riesgo de los SNPs rs9939609 y rs8050136 con el peso e IMC previos al embarazo. A este respecto cabe señalar que diversos estudios realizados en población mexicana únicamente han identificado asociación de los SNPs del gen FTO con la obesidad grado III y ninguna de las participantes de este estudio presentaba ese grado de obesidad.<sup>66</sup>

Las mujeres con DMG tienen mayor riesgo de padecer DM2 a largo plazo que las mujeres que cursan con un embarazo normal, de ahí nuestro interés en evaluarlas a las 6 semanas posparto. Sin embargo, únicamente se logró evaluar a 26 participantes (32.5%) y se identificó que el 61.5% tenían glucosa normal, el 23%

presentaban glucosa de ayuno alterada y el 15.5% tenían cifras de DM2. Al evaluar la relación de los SNPs con el metabolismo de glucosa no se encontró relación. A diferencia de un estudio realizado en población europea en el que se encontró asociación entre el SNP rs8050136 y la DM2 del posparto, no obstante, al hacer el ajuste por el IMC de las participantes disminuyó la asociación.<sup>62</sup>

Algunas limitaciones del estudio son el tamaño de muestra y el considerar únicamente al IMC como una medida de adiposidad, la determinación de la grasa corporal hubiera sido una medición más precisa.

## **11. Conclusiones**

Debido a que se obtuvo un resultado diferente al esperado en relación a la asociación de los SNPs con la DMG y a que la frecuencia del alelo de riesgo es baja es necesario centrarse en ampliar el tamaño de la muestra y además incluir estudios complementarios como bioimpedancia eléctrica antes, durante y después del embarazo, para contar con valores de composición corporal que puedan contribuir a un mejor entendimiento de la relación de los SNPs del gen FTO con la obesidad.

Asimismo, se recomienda hacer mayor énfasis en las evaluaciones posparto de las participantes ya que el 68% de las participantes no regresaron a su evaluación una vez concluido el embarazo.

## **12. Perspectivas**

Ofrecer un seguimiento a las mujeres en edad reproductiva que les permita conocer la importancia del cuidado de su cuerpo y del tipo de consecuencias que genera la obesidad, particularmente después de un embarazo. Realizarles estudios específicos de laboratorio cada 6 meses (perfil de lípidos, niveles de glucosa e insulina y perfil hormonal) así como bioimpedancia, en los que los servicios de salud se apoyen para la determinación de enfermedades relacionadas con la obesidad y DM2.

### 13. Referencias

- 1) Gutiérrez JP, Rivera J, Shamah T, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 (ENSANUT MC 2016). 1ª edición, Instituto Nacional de Salud Pública (MX). México; 2016.
- 2) Davila TJ, Gonzalez IJ, Barrera Cruz A, et al. Panorama de obesidad en México. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2015; 53:240-9.
- 3) González MJ, Juárez LJ, Rodríguez SJ, et al. Obesidad y embarazo. MD 2013; 4:269-275.
- 4) Rodríguez LR, González CM, Victoria SM, et al. Asociación de polimorfismos en el gen FTO con la obesidad mórbida en la población extremeña. Endocrinología y Nutrición. 2010; 57:203–209.
- 5) Klünder KM, Cruz M, Medina BP, et al. Padres con sobrepeso y obesidad y el riesgo de que sus hijos desarrollen obesidad y aumento en los valores de la presión arterial. Bol Med Hosp Infant Mex 2011; 68:438-446.
- 6) Rivera DJ. Obesidad en México: recomendaciones para una política de Estado. 1ª reimpresión. Instituto Nacional de Salud Pública. México; 2003.
- 7) Dixit VD. Adipose-immune interactions during obesity and caloric restriction: reciprocal mechanisms regulating immunity and health span. J Leukoc Biol. 2008; 84:882-892.
- 8) Fausto GJ, Valdez LR, López ZM. Antecedentes históricos sociales de la obesidad en México. Medigraphic Artemeni Isínaea 2006; 2: 91-94.
- 9) Organización Mundial de la Salud (OMS). Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. 57ª Asamblea Mundial de la Salud [serial online] 2002 enero-mayo [citado 22 mayo 2004]. Disponible en [http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA57/A57\\_R17-sp.pdf](http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA57/A57_R17-sp.pdf)
- 10) Shamah LT, Amaya CM, Cuevas NL. Desnutrición y obesidad: doble carga en México. Revista Digital Universitaria. [serial online] 2015;.5. Disponible en: <http://www.revista.unam.mx/vol.16/num5/art34/>
- 11) Organización Mundial de la Salud [Internet], OMS, nota descriptiva no. 311. [citado en junio de 2016]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>

- 12)**Centers for Disease control and Prevention (CDC). Overweight and Obesity. [citado en agosto de 2010], disponible en: <http://www.cdc.gov/obesity/>
- 13)**Rapallo R, Grajeda R. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y la Organización Panamericana de la Salud. Panorama de la seguridad alimentaria y nutricional. America Latina y El Caribe 2016. Santiago, 2017.
- 14)**Deputy NP, Sharma AJ, Kim SY. Gestational weight gain— United States, 2012 and 2013. *MMWR. Perinatol Reprod Hum* 2014; 28:159-166.
- 15)**Hanson M, Gluckman P, y Bustreo F. Obesity and the health of future generations. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. 2016; 12.
- 16)** Alvero CJ, Correas GL, Ronconi M, Fernández VR y Porta MJ. La bioimpedancia eléctrica como método de estimación de la composición corporal: normas prácticas de utilización. *Rev Andal Med Deporte*. 2011; 4:167-174.
- 17)**Revista digital para profesionales de la enseñanza. Principios de la Tomografía Computarizada. ISSN:1989-4023. 2009; 4.
- 18)** Ching WR, Schmidt MI, Hung TW, McIntyre HD, Catalano PM. Clinical management of pregnancy in the obese mother: before conception, during pregnancy, and postpartum. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2016; 12: 1037–1049.
- 19)**Bell CG, Walley AJ, Froguel P. The genetics of human obesity. *Nature Reviews Genetics*. Volume 6, 2005: 221.
- 20)**Tejero MA. Genética de la obesidad. *Bol Med Hosp Infant Mex*. Vol. 65, noviembre-diciembre 2008.
- 21)**Peralta Romero JJ. Identificación de marcadores genéticos asociados a la obesidad infantil. Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía IPN. México 2010.
- 22)**Comuzzie AG and Allison DB. The Search for Human Obesity Genes. *Science*.1998; 280.
- 23)**Pérusse L, Rankinen T, Zuberi A †, et al. The Human Obesity Gene Map: the 2004 update. *Obesity research*. 2005; 3.

- 24)** Carachatea MA. Polimorfismos genéticos: importancia y aplicaciones. Rev. Instituto nacional de enfermedades respiratorias. 2007; 3: 213-21.
- 25)** Iniestaa R, Guinóa E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. Gac Sanit. 2005; 19:333-41.
- 26)** Bello RJ, Alarcón VG, Zárate TC, et al. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas. Gaceta Médica de México. 2013; 149:220-8.
- 27)** Cargill M, Altshuler D, Ireland J, et al. Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. Nature Genetics. 1999; 22:231-238.
- 28)** Chehab FF, Kant YW. Detection of specific DNA sequences by fluorescence amplification: A color complementation assay. Proc. Nati. Acad. Sci. 1989; 86: 9178-9182.
- 29)** Sánchez Rodríguez IP y Saldaña Barrera HA. La Reacción en cadena de la polimerasa a dos décadas de su invención. Ciencia UANL. 2004; 3.
- 30)** Diazaraque R, Pacheco R y Roiz JC. Reacción en cadena de la polimerasa. Fundamentos y aplicación en Medicina Interna. Rev Clin Esp 2002; 202:272-4.
- 31)** Hayashi K. PCR-SSCP: A Simple and Sensitive Method for Detection of Mutations in the Genomic DNA. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1991, 1:34-38.
- 32)** Legorreta MH. Manual de prácticas para el laboratorio de genética clínica parte II. Facultad de Estudios Superiores UNAM. 2009.
- 33)** Rodríguez GM, Rodríguez LW. Métodos fisicoquímicos en Biotecnología, PCR en tiempo real. UNAM. 2006.
- 34)** Ramírez BJ, Vargas AG, Tovilla ZC, Fragoso JM. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas. Gaceta Médica de México 149: 220-228.

- 35)** Lee M.A., Squirrell D.J., Leslie D.L., Brown T. Homogeneous Fluorescent Chemistries. In: Real-Time PCR; An Essential Guide. Horizon Bioscience. 2004.
- 36)** Vinueza BC. PCR en Tiempo Real: la nueva era de la información genética celular (Real Time PCR: the new age of celular genetic information). 2009;10:1-13.
- 37)** Ruiz Godoy Rivera LM. Biología molecular en cáncer. Clínicas oncológicas de Iberoamérica. Planeación y desarrollo editorial. 2008.
- 38)** TaqMan® SNP Genotyping Assays User Guide. Catalog Number 4351379, 4351384, 4351376, 4351382, 4351374, 4351380, 4362691, 4331349, 4332077, 4332072, 4332075, 4332073, and 4332076. 2014; MAN0009593.
- 39)** Laber S. y Cox RD. Commentary: FTO obesity variant circuitry and adipocyte browning in humans. N. Engl. J. Med. 2015; 373, 895–907.
- 40)** Cheung MM, Yeo GSH. FTO biology and obesity: why do a billion of us weigh 3 kg more? Frontiers in Endocrinology Cellular Endocrinology. 2011; 4.
- 41)** Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN. A Common Variant in the FTO Gene Is Associated with Body Mass Index and Predisposes to Childhood and Adult Obesity. Science. 2007; 316: 889–894.
- 42)** Wahlén K, Sjolín E, and Hoffstedt J. The common rs9939609 gene variant of the fat mass and obesity-associated gene FTO is related to fat cell lipolysis. Journal of Lipid Research. 2008.
- 43)** N. Klötting, D. Schleinitz, K. Ruschke, et al. Inverse relationship between obesity and FTO gene expression in visceral adipose tissue in humans. Diabetología. 2008; 51:641–647.
- 44)** Speakman JR. The “Fat Mass and Obesity Related” (FTO) gene: Mechanisms of Impact on Obesity and Energy Balance. Curr Obes Rep. 2015; 4:73–91.
- 45)** Mendoza MO. Los polimorfismos del gen FTO rs9939609, rs1421085, rs17817449 como factor de riesgo para diabetes gestacional. Facultad de Medicina UNAM 2012.

- 46)**Stratigopoulos G, LeDuc CA, Cremona ML, et al. “Cut-like homeobox 1 (CUX1) regulates expression of the fat mass and obesity-associated and retinitis pigmentosa GTPase regulator-interacting protein-1-like (RPGRIP1L) genes and coordinates leptin receptor signaling,” *The Journal of Biological Chemistry*. 2011; 3: 2155–2170.
- 47)**Stratigopoulos G, Carli JFM, O’Day DR, et al. Hypomorphism for RPGRIP1L, a ciliary gene vicinal to the FTO locus, causes increased adiposity in mice. *Cell Metabolism*, 2014; 5: 767–779.
- 48)**Smemo S, Tena JJ, Kim KH, et al. Obesity-associated variants within FTO form long-range functional connections with IRX3. *Nature*. 2014; 7492: 371–375.
- 49)**Claussnitzer M, Dankel SN, Kim KH et al. “FTO obesity variant circuitry and adipocyte browning in humans”. *The New England Journal of Medicine*. 2015; 373: 895–907.
- 50)**Lawlor DA, Fraser A, Macdonald-Wallis C, et al. Maternal and offspring adiposity-related genetic variants and gestational weight gain. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2011; 94:149–55.
- 51)**Gaillard R, Durmus B, Hofman A, et al. Risk Factors and Outcomes of Maternal Obesity and Excessive Weight Gain During Pregnancy. *Obesity*. 2013; 21: 1046-1055.
- 52)**Buchanan TA, Xiang A, Kjos SL, et al. Gestational diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Investigation*. 2005; 115: 485–491.
- 53)**Forsbach G, Tamez PH, Vazquez LJ. Diabetes and pregnancy. *Arch Med Res*. 2005; 36:291-299.
- 54)**Buchanan TA, Xiang A, Kjos SL, et al. What is gestational diabetes? *Diabetes Care*. 2007; 30: 105-11.
- 55)**Cho NH, Jang HC. Better understanding and new insight of genetic risk loci for gestational diabetes mellitus. *Journal of Diabetes Investigation*. 2012; 3: 424–426.
- 56)**Coppack SW. Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. *Proc Nutr Soc*. 2001; 60:349 –356.

- 57)** Huopio H, Cederberg, Vangipurapu J, et al. Association of risk variants for type 2 diabetes and hyperglycemia with gestational diabetes. *European Journal of Endocrinology*. 2013; 169: 291–297.
- 58)** Pagán A, Sabater MM, Olza J, et al. A gene variant in the transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) is associated with an increased risk of gestational diabetes mellitus. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2014; 180: 77–82.
- 59)** Lauenborg J, Grarup N, Damm P, et al. Common Type 2 Diabetes Risk Gene Variants Associate with Gestational Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94:145–150.
- 60)** De Melo SF, Ravanhol FH, Ribeiro dos Santos-Weiss IC. Polymorphisms in FTO and TCF7L2 genes of Euro-Brazilian women with gestational diabetes. *Clinical Biochemistry*. 2015; 48: 1064–1067.
- 61)** Cho YM. 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; 52:253–261
- 62)** Ekelund M. Genetic prediction of postpartum diabetes in women with gestational diabetes mellitus. *Diabetes research and clinical practice*. 2012; 97: 394 – 398.
- 63)** Chauhan G, Tabassum R, Mahajan A, et al. Common variants of FTO and the risk of obesity and type 2 diabetes in Indians. *Journal of Human Genetics*. 2011; 56: 720–726.
- 64)** Hulley SB, Cummings SM, Browner WS, et al. *Diseño de Investigaciones Clínicas*. Lippincott Williams & Wilkins. 3a edición. Philadelphia USA. 2008.
- 65)** Li H, Wu Y, Loos RJ, et al. Variants in the fat mass- and obesity-associated (FTO) gene are not associated with obesity in a Chinese Han population. *Diabetes*. 2008; 57:264-8.
- 66)** Villalobos CM, Flores DM, Villarreal MM, Rodríguez CM, et al. The FTO gene is associated with adulthood obesity in the Mexican population. *Obesity*. 2008; 16: 2296-2301.

**67)**Walley AJ, Asher JE y Froguel P. The genetic contribution to non-syndromic human obesity. *Nature Reviews Genetics*. 2009; 10: 431-442.