



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
FACULTAD DE MEDICINA



**PARTICIPACIÓN DE LOS GENES HNF-1 $\alpha$ , CALPAINA 10,  
PPAR- $\gamma$  Y CALSEQUESTRINA EN LA SUSCEPTIBILIDAD  
PARA DESARROLLAR DIABETES GESTACIONAL EN LA  
POBLACION MEXICANA.**

ELABORADA POR  
DR. RAFAEL PERALTA CLARA

PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN MEDICINA MATERNO  
FETAL

ASESORES DE TESIS  
DR. FERNANDO ESCOBEDO AGUIRRE  
DRA. MARIA TERESA TUSIE LUNA



FEBRERO 2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



## INDICE

<b>ANTECEDENTES.....</b>	<b>Pág. 1</b>
<b>DEFINICIONES.....</b>	<b>3</b>
<b>EPIDEMIOLOGIA.....</b>	<b>4</b>
<b>CLASIFICACION.....</b>	<b>4</b>
<b>FISIOPATOLOGIA.....</b>	<b>9</b>
<b>DIAGNOSTICO.....</b>	<b>14</b>
<b>JUSTIFICACION.....</b>	<b>42</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>44</b>
<b>HIPOTESIS.....</b>	<b>44</b>
<b>METAS.....</b>	<b>45</b>
<b>MATERIAL Y METODOS.....</b>	<b>46</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>53</b>
<b>DISCUSION.....</b>	<b>58</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>61</b>

## **Antecedentes**

La diabetes *mellitus* (DM) figura entre las primeras causas de morbi-mortalidad en países desarrollados y en aquellos en transición epidemiológica como es el caso de México. De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud, la DM afecta al 10.9% de la población (Programa Nacional de la Salud 2001-2006).

Las enfermedades comunes tienen un componente genético complejo en el cual participan múltiples genes y su expresión es influenciada por factores ambientales (Burmeister *et al.*, 1999). Cada uno de los genes que participa en el desarrollo de la enfermedad (genes de susceptibilidad) tiene un efecto parcial y aditivo. Por lo tanto, en la definición del componente genético de las enfermedades comunes es necesario identificar cada uno de los genes implicados y establecer la interacción que existe entre ellos.

La diabetes tipo 2 (DM2) es un padecimiento crónico que afecta el metabolismo de la glucosa. Se caracteriza por alteraciones en la sensibilidad a la insulina aunado a defectos en la secreción de esta hormona. Se estima que 150 millones de personas están afectadas en el mundo (Zimmet *et al.*, 2001). En México, la diabetes se ha convertido en la primera causa de muerte (Aguilar-Salinas *et al.*, 2002). Una característica de esta enfermedad en la población mexicana es su edad de aparición más temprana. Alrededor del 15% de los casos se diagnostican antes de los 40 años (DM2 de inicio temprano) (Aguilar-Salinas *et al.*, 2003) y un número considerable de estos individuos presentan deficiencia en la secreción de insulina. Esto implica que una alta proporción de pacientes en nuestro país presenta un riesgo mayor para el desarrollo de complicaciones crónicas debido a los periodos prolongados de hiperglucemia a los que están expuestos comparados con los pacientes que desarrollan la enfermedad mas tardíamente. Los costos en la calidad de vida, la productividad así como los derivados de la atención médica son extremadamente elevados. El costo socio-económico de esta enfermedad se podría reducir notablemente si se invirtiera en prevención, particularmente a través de un diagnóstico temprano, lo que tendría un efecto en retrasar el desarrollo de

complicaciones crónicas (Organización Mundial de la Salud). Por ello el conocimiento detallado de la etiología genética de este padecimiento es fundamental no sólo para entender el proceso fisiopatológico de esta entidad sino para el diseño de mejores estrategias de diagnóstico temprano y de prevención de complicaciones.

Las enfermedades comunes como la epilepsia, la diabetes mellitus, la enfermedad coronaria y distintas enfermedades autoinmunes tienen un origen genético.

En muchos casos el componente es de origen poligénico. Además muchas de estas enfermedades son genéticamente heterogéneas, esto es, distintos genes de susceptibilidad son responsables de una misma enfermedad.

Las enfermedades monogénicas por el contrario, corresponden a las ocasionadas por la alteración de un solo gen.

El término locus se refiere a una posición definida de una secuencia de ADN determinada en un cromosoma. Si la mencionada secuencia corresponde a un gen, hablaremos de un locus genético. Los organismos diploides, poseen dos formas iguales de cada cromosoma autosómico. En estos, los diferentes loci pueden estar ocupados en posiciones equivalentes por secuencias o formas génicas distintas. Un individuo diploide solo puede presentar dos alelos para cada locus, pero un locus puede presentar varios alelos. Si dos alelos respectivos de ambos cromosomas homólogos son idénticos, se trata de un genotipo homocigoto para dicho locus, si son distintos, es un genotipo heterocigoto.

**Herencia autosómica dominante.** En los padecimientos con herencia autosómica dominante los heterocigotos padecen la enfermedad, con lo que la presencia de una sola copia del alelo alterado es suficiente para que la enfermedad se manifieste. Los homocigotos pueden estar gravemente afectados o ser indistinguibles de los heterocigotos.

Criterios que definen un proceso de herencia dominante:

- a) Individuos enfermos con padre o madre enfermos.
- b) Ambos sexos tienen el mismo riesgo de padecer el defecto genético y transmitirlo a la descendencia.
- c) Cuando un afectado con pareja sana de la población general tiene un riesgo de tener 50% de hijos afectados.
- d) Los hijos normales de una pareja en donde uno de los miembros padece el defecto, no lo transmitirán a su descendencia.

**Herencia autosómica recesiva.** En los padecimientos autosómicos recesivos los homocigotos manifiestan la enfermedad y los padres de los individuos enfermos son portadores heterocigotos, fenotípicamente normales. El 25% de los hijos de una pareja portadora serán enfermos y el 75% fenotípicamente sanos.

**Herencia poligénica.** Desempeña un papel fundamental en enfermedades que afectan a la población. Estas incluyen defectos del nacimiento, coronariopatías, diabetes, hipertensión arterial y algunos trastornos psiquiátricos. Se trata de muchos loci, no necesariamente ligados y que contribuyen cada uno de ellos con pequeñas acciones, de forma aditiva en el desarrollo de un fenotipo determinado.

## Definiciones

**Diabetes Mellitus:** es un grupo de padecimientos que tienen en común la alteración del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, caracterizado por hiperglucemia, ocasionado por la deficiencia absoluta o relativa de la acción de la insulina a nivel celular y que producen como complicaciones alteraciones macro y microvasculares específicas por aterosclerosis acelerada y otras complicaciones secundarias.

**Diabetes gestacional:** cualquier grado de intolerancia a los carbohidratos que ocasiona alteración en el metabolismo energético y que se detecta por primera

vez durante el embarazo, independientemente de que requiera o no insulina y de que persista después del parto.

## 2.2 Epidemiología

La transformación en el perfil epidemiológico en las últimas décadas ha condicionado un incremento notable en defunciones por enfermedades crónicas degenerativas, de este grupo la DM se considera actualmente un problema de salud pública por su incremento como causa directa o subyacente de mortalidad que ha ascendido del 4º lugar en 1996 hasta el 2º lugar en los últimos años (Informe estadístico de mortalidad DGEI/SA).

El 90 % de los embarazos que cursan con diabetes son complicados por diabetes gestacional<sup>(5)</sup> (DG). La incidencia de DG a nivel mundial varía entre 1–14 % y es mucho más elevada en algunas poblaciones con alta prevalencia de DM2 ( ). En la población Mexicana se estima que persiste entre 1.6 – 12% <sup>(2,4)</sup>. Alrededor del 60% de las mujeres caucásicas padecerán DM2 dentro de los 15 años posteriores al diagnóstico, mientras que se estima que 50% de mujeres México-Americanas padecerá DM2 en los 5 primeros años después del diagnóstico de DG. <sup>(6)</sup>

En el servicio de Medicina Materno Fetal del Hospital 20 de Noviembre, un centro de atención de tercer nivel, la DG es la primera causa de hospitalización y consulta, y la segunda patología de referencia con una frecuencia de **25-30%**

## 2.3. Clasificación

Tradicionalmente se clasificaba a las diabéticas embarazadas de acuerdo con lo propuesto por Priscila White a finales de los años 40', esta clasificación ha sufrido diversas modificaciones y se basa en la duración de la enfermedad así como

en las anomalías anatómicas específicas existentes secundarias a la misma. En su momento se consideró pronóstica e incluso se utilizó para decidir el momento de interrumpir la gestación. En la tabla 2.1 se muestra con una de las últimas modificaciones.

**Tabla 2.1. Clasificación modificada de White de diabetes y embarazo**

Clase	Edad de Inicio (años)	Duración (años)	Enfermedad Vascular	Requiere insulina de insulina
<b>Diabetes gestacional</b>				
A1	Cualquiera	Cualquiera	No	No
A2	Cualquiera	Cualquiera	No	Si
<b>Diabetes pregestacional</b>				
B	>20	<10	No	Si
C	10-19	10-19	No	Si
D	<10	>20	Retinopatía benigna O hipertensión	Si
F	Cualquiera	Cualquiera	Nefropatía	Si
R	Cualquiera	Cualquiera	Retinopatía proliferativa	Si
T	Cualquiera	Cualquiera	Embarazo postransplante Renal	Si
H	Cualquiera	Cualquiera	Cardiopatía isquémica	Si

Otros dos sistemas de clasificación que se utilizaron fueron la anatómica simplificada propuesta por Pedowitz en 1964, en donde se reunió la clasificación de White en dos grupos; I. el grupo favorable, que contenía pacientes sin evidencia de cambios vasculares, sin tomar en cuenta la edad de aparición o la duración de la enfermedad. El grupo II, o desfavorable, que consistió en pacientes con cambios vasculares, también independientemente de la edad de inicio o

duración del proceso y la propuesta por Pederson, que es una clasificación funcional simplificada, en la cual relacionó los indicadores pronósticos con el mal resultado fetal/ neonatal<sup>(7)</sup>.

En el año de 1997 el Comité de Expertos en Diagnóstico y Clasificación de la Diabetes Mellitus publicaron una clasificación tomando en consideración los factores etiológicos de la diabetes incluyendo ya en un rubro independiente a la

diabetes gestacional. En esta se evidencian dos hechos, el primero es que la diabetes constituye en realidad un síndrome clínico que puede obedecer a distintas causas genéticas y el segundo es que existen tanto formas primarias como secundarias de la enfermedad. Las formas primarias son las que no se relacionan con otra alteración, es decir, son el resultado de una susceptibilidad individual determinada genéticamente. Estas formas primarias corresponden a diabetes tipo 1 y 2. (Tabla 2.2)

## **Tabla 2.2. Clasificación etiológica de Diabetes Mellitas**

### **I. Diabetes Mellitus tipo 1.**

- A. Autoinmune.
- B. Idiopática.

### **II. Diabetes Mellitus tipo 2.**

### **III. Otros tipos específicos.**

- A. Defectos genéticos de las células  $\beta$ .
  - 1. Cromosoma 12, HNF  $-1-\alpha$  (antes MODY 3)
  - 2. Cromosoma 7, glucocinasa (antes MODY 2)
  - 3. Cromosoma 20, HNF-4- $\alpha$  (antes MODY 1)
  - 4. DNA mitocondrial
  - 5. Otros
- B. Defectos genéticos en la acción de la insulina
  - 1. Resistencia a las insulina tipo A
  - 2. Leprechaunismo
  - 3. Síndrome de Rabson- Mendenhall
  - 4. Diabetes lipoatrófica
  - 5. Otros
- C. Enfermedades del páncreas exócrino
  - 1. Pancreatitis
  - 2. Traumatismo/pancreatectomía
  - 3. Neoplasia
  - 4. Fibrosis quística
  - 5. Hemocromatosis
  - 6. Pancreatopatía fibrocalculosa
  - 7. Otros
- D. Endocrinopatías
  - 1. Acromegalia

2. Síndrome de Cushing
3. Glucagoma
4. Feocromocitoma
5. Hipertiroidismo
6. Somatostatina
7. Aldosteronoma
8. Otros

E. Inducida por fármacos o sustancias químicas.

1. Vacor
2. Pentamidina
3. Ácido nicotínico
4. Glucocorticoides
5. Hormonas tiroideas
6. Diazóxido
7. Agonistas beta adrenérgicos
8. Tiacidas
9. Dillantin
10. Interferón  $\alpha$
11. Otros

F. Infecciones

1. Rubéola congénita
2. Citomegalovirus
3. Otros

G. Formas poco comunes de diabetes inmunológica

1. Síndrome del "hombre tieso"
2. Anticuerpos antirreceptor de insulina
3. Otros

H. Otros síndromes genéticos asociados en ocasiones a la diabetes

1. Síndrome de Down
2. Síndrome de Klinefelter

3. Síndrome de Turner
4. Síndrome de Wolfram
5. Ataxia de Friedreich
6. Corea de Huntington
7. Síndrome de Lawrence –Moon- Beidl
8. Distrofia miotónica
9. Porfiria
10. Síndrome de Prader- Willi
11. Otros

#### **IV. Diabetes gestacional**

---

**Fuente:** Diabetes Care Vol. 20 No 7 July 1997

#### **Fisiopatología**

En las primeras semanas de la gestación los niveles crecientes de estradiol y progesterona estimulan las células  $\beta$  del páncreas materno, de tal manera que existe hipertrofia de las mismas con niveles mayores de insulina en la sangre materna, como consecuencia, la producción de glucosa por el hígado disminuye, así en el principio se observa tendencia a la hipoglucemia, entonces las hormonas maternas interactúan con el fin de incrementar el depósito de grasas, disminuyendo el gasto energético y retrasando la depuración de la glucosa, al mismo tiempo que aumentan los requerimientos energéticos además de incrementar las concentraciones de hormonas gluconeogénicas maternas.

Conforme la gestación avanza, se elevan progresivamente los niveles de somatomatotropina corionica (hGC), hormona proteica con propiedades biológicas semejantes a la de la hormona de crecimiento, principal efector contra-insulinico. El cortisol tiene gran efecto diabetógeno y alcanza su pico máximo a la semana 26 de la gestación, la progesterona tiene propiedades

antiinsulinicas y alcanza su máximo niveles a la semana 32<sup>(8)</sup>. Al elevarse las concentraciones de prolactina y cortisol, inicia una etapa de resistencia a la insulina con gran tendencia a la lipólisis en ayuno para proporcionar energía sobre todo a la madre y reservar glucosa para el feto; en el postprandio hay dificultad para utilizar glucosa pese a las cantidades crecientes de insulina. Se resumen en las tablas 2.3 y 2.4 <sup>(9)</sup> efectos de las hormonas gestacionales sobre los carbohidratos.

**Tabla 2.3. Metabolismo de los carbohidratos antes de la semana 20**

Cambio Hormonal	Efecto	Cambio metabólico
<ul style="list-style-type: none"> <li>□ Estrógenos y progesterona</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>□ Deposito de glucógeno</li> <li>↓Producción de glucosa hepática</li> <li>□ utilización periférica de la glucosa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Anabólica</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Hiperplasia de células β</li> <li>□ secreción de insulina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>↓Rápida de glicemia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>□ esteroides sexuales</li> <li>Hiperinsulinemia</li> </ul>

**Tabla 2.4. Metabolismo de los carbohidratos entre la semana 20 – 40**

Cambio Hormonal	Efecto	Cambio metabólico
<ul style="list-style-type: none"> <li>□ hCG</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Efecto “diabetogeno”</li> <li>↓tolerancia a la glucosa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aceleración del anabolismo durante los alimentos</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>□ Prolactina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Resistencia a la insulina</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Inanición acelerada</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>□ Cortisol γ</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>↓ Reservas de glucógeno hepático</li> <li>□ Glucólisis</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Asegura glucosa y aminoácidos al feto</li> </ul>

## **Hormonas pancreáticas en el embarazo**

La resistencia a la insulina es una característica del embarazo, en diversos estudios se ha demostrado que la mujer embarazada secreta mayor cantidad de insulina como respuesta a una carga de glucosa oral, y una disminución discreta en la tolerancia a los carbohidratos en comparación con la mujer no embarazada, lo que traduce una disminución en la sensibilidad a la insulina.

Con la técnica de “pinzas euglucémicas” se encontró una reducción en la sensibilidad de la insulina de 33 a 56% en el 3er trimestre de la gestación en mujeres sanas y a través de otras técnicas se observó disminución de hasta 70%, lo que confirma la magnitud y evolución de la resistencia a la insulina durante el embarazo<sup>(6)</sup>

Jul y Holst compararon las respuestas a 50 gr. de glucosa administrados por vía oral en la mitad y final de la gestación con las que se producen en el puerperio en condiciones estándar, las concentraciones séricas de glucosa en ayuno permanecieron relativamente constantes durante toda la gestación normal, mientras que las concentraciones plasmáticas de insulina en ayuno aumentaron en el último trimestre. Tras una carga de glucosa oral se observó que las concentraciones séricas permanecen en valores normales para las mujeres no embarazadas. En cambio se observó mayor respuesta a la insulina a medida que el embarazo progresa.

En las pacientes que cursan con DG la concentración en respuesta a la carga de glucosa se elevó tres desviaciones estándar por encima de las mujeres no embarazadas 1 y 2 horas después de la prueba. Por otro lado, la insulina plasmática sólo aumentó proporcionalmente con la concentración sanguínea de la glucosa y no se incrementó como en la gestación normal. De igual manera Fisher y cols. mostraron que las curvas de respuesta media de la insulina durante la perfusión constante de glucosa eran uniformemente inferiores en su grupo de diabéticas gestacionales. Así, la etapa más precoz de la diabetes parece manifestarse por una insuficiencia del aumento de la respuesta de las células  $\beta$  del páncreas a un estímulo glucémico.

Por lo tanto, la diabetes gestacional se traduce en una incapacidad progresivamente severa del páncreas para producir insulina en respuesta a una carga de glucosa así como en una reducción en la eficiencia de dicha hormona. La severidad de la diabetes se relaciona directamente con el grado de disfunción de la célula  $\beta$  pancreática. La enfermedad entonces, aparece como un estado insulinodeficiente “desenmascarado” por la acción antiinsulínica de las hormonas gestacionales<sup>(7)</sup>

**Tabla 2.5. Potencial diabetógeno de las hormonas del embarazo**

HORMONA	PICO MÁXIMO (SEMANAS)	POTENCIAL DIABETOGENO
Prolactina	10	ligero
Estradiol	26	Muy ligero
HCS	26	Moderado
Cortisol	26	Muy fuerte
Progesterona	32	Fuerte

Fuente: Diabetes Metab. Rev. 12:287- 308.1996

Nuevos factores descritos para el equilibrio energético en el embarazo

### **Factor de necrosis tumoral $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )**

Es una citosina producida por monocitos, macrófagos, células T, neutrofilos, fibroblastos y adipositos. Se ha encontrado correlación positiva entre la concentración de TNF $\alpha$ , el índice de masa corporal e hiperinsulinemia en humanos y animales obesos. La administración de TNF  $\alpha$  produce aumento en la resistencia a la insulina en la rata y células del músculo estriado humano.

Catalano y cols. informaron de los cambios en la sensibilidad a insulina en embarazos tempranos, de 22 a 24 semanas, hasta el tardío (34-36 semanas) que tienen relación con TNF  $\alpha$ . Hubo un incremento significativo del 25% que se correlacionó con el cambio en porcentaje de grasa corporal de las etapas tardías del embarazo, concluyendo que las investigaciones apoyan la importancia del TNF  $\alpha$  como contribuyente a la disminución en la sensibilidad de la insulina durante la gestación.

### **Leptina**

Es una hormona polipeptídica que se produce en tejido adiposo, puede inhibir la ingestión de alimentos y aumentar el gasto de energía al actuar sobre el hipotálamo. La concentración circulante de leptina se correlaciona con la concentración de insulina en ayuno y el porcentaje de grasa corporal. Esto lo hace un buen marcador de obesidad y de resistencia a la insulina. Las cifras plasmáticas de leptina se encuentran muy aumentadas en embarazadas en comparación con las que no lo están. Masuzaki y cols encontraron que las concentraciones plasmáticas se encuentran muy elevadas en el 2º y 3er trimestre, disminuyendo significativamente 24 horas posteriores al alumbramiento. En diversas investigaciones se ha encontrado que las cifras de leptina en sangre de cordón tuvieron correlación positiva con el peso al nacer, el índice ponderal, la talla y la circunferencia cefálica. Así la leptina puede tener un papel importante en el crecimiento fetal y el metabolismo materno de la glucosa<sup>(10)</sup>.

### **Transportadores de glucosa**

La captación de glucosa estimulada por insulina en células ocurre a través de una familia de proteínas de membrana que comparten similitud significativa en su secuencia, denominadas GLUT1 a GLUT4. La distribución tisular de esos transportadores de glucosa es específico. El GLUT4, transportador de glucosa

sensible a insulina se expresa de manera exclusiva en músculo estriado, miocardio y tejido adiposo, en tanto que la expresión de GLUT1 es relativamente baja en esos tejidos. En condiciones basales, GLUT4 pasa por ciclos, lentamente entre la membrana plasmática y uno o más compartimientos intracelulares, con la mayor parte del transportador ubicado en compartimientos vesiculares del interior de la célula. Después de la estimulación por insulina, aumenta la velocidad de exocitosis de vesículas de GLUT4 y disminuye el proceso de endocitosis. Así, el cambio de las vesículas GLUT4 estimulado por insulina produce un aumento de GLUT4 sobre la superficie celular e incrementa así la captación de glucosa.

El sistema de transporte de glucosa es importante en la regulación de la captación de glucosa estimulada por insulina en tejidos sensibles a la hormona. A diferencia de lo que sucede en músculo estriado, estudios de tejido adiposo humano han encontrado que la expresión de la proteína GLUT4 estaba disminuida en embarazadas y que la disminución era más importante en mujeres con DG. La insulina induce translocación de GLUT4 de microsomas de baja densidad a membranas plasmáticas en controles, pero no altera la distribución subcelular en pacientes con DG, lo que produce una mayor secreción de insulina y un mejor control de glucemia. Los mecanismos para la expresión y distribución alterada de GLUT4 en la resistencia a la insulina inducida por el embarazo no son claros, pero pudieran vincularse con hiperinsulinemia debido a que los sujetos obesos insulinoresistentes muestran cambios similares.

## **Diagnóstico**

Existe una considerable variación con respecto a los criterios para el diagnóstico de DG. El reconocimiento clínico de la diabetes es importante no sólo para la atención inmediata de la madre y el feto sino también por el riesgo de la madre a desarrollar DM2 años después.

Así, existen pruebas de detección o escrutinio y pruebas diagnósticas. Las primeras identifican un grupo en riesgo alto de algún trastorno particular y en las restantes se identifican aquellas personas que en realidad tienen el trastorno.

## **PRUEBAS DE TAMIZAJE PARA DG**

La prueba de detección oportuna más temprana y sencilla es la elaboración de una adecuada historia clínica, propuesta por primera vez en la década de 1940. Posteriormente se observó que los individuos con factores de riesgo, como antecedentes familiares, la presencia de glucosuria durante el embarazo y una prueba de tolerancia a la glucosa anormal, tenían mayor riesgo de mortalidad perinatal. Con el paso de los años se fueron agregando otros factores como hijo macrosómico, antecedente de DG, edad gestacional mayor a 25 años, peso pregestacional mayor de 67.5 Kg, óbito previo, etc..

### **Tamiz de glucosa**

Antes de 1994, el Colegio Americano de Ginecólogos y Obstetras recomendaba hacer una prueba con carga de 50 gr a todas las mujeres de más de 30 años y a las más jóvenes que tenían factores de riesgo. Sin embargo se observó que esta prueba no reflejaba beneficios obvios en la población general. Posteriormente este criterio se modificó para aplicar la prueba de tamiz a los grupos de riesgo alto.

Recientemente el Comité de Expertos sobre Diagnóstico y Clasificación de Diabetes y la Sociedad Americana de Diabetes, consideró que no es necesario aplicar la prueba de forma universal en aquellas mujeres que cumplan con los siguientes criterios: 1) menores de 25 años, 2) sin sobrepeso 3) sin antecedentes de diabetes en familiares línea directa, 4) que no pertenezcan a grupos étnicos americanos, latinos, asiáticos o afro americanos<sup>(8)</sup>.

Según encuestas en diversos años, casi todos los miembros del Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos (ACOG) realizan el Tamiz de manera universal.

Tomando en cuenta la carga génica y los hábitos alimenticios de la población mexicana, es necesario contar con una prueba universal para nuestras pacientes. La propuesta es realizar el tamiz de 50 gramos de glucosa promueve

una gran oportunidad de diagnóstico perinatal para evitar complicaciones a corto y largo plazo para la madre y el feto (8).

#### Requisitos de la prueba

Se recomienda su realización a toda embarazada que se encuentre entre la semana 24 y 28 de la gestación para una mayor sensibilidad del estudio.

No es necesario el ayuno, ni una hora específica para la determinación de glucemia poscarga, no requiere de preparación y sólo requiere integridad de la vía enteral para la adecuada absorción de la carga de glucosa(11).

#### Metodología.

Glucemia en ayuno en sangre venosa (menor a 95 mg/dl), ingesta de 50gr de glucosa anhidra disuelta en 200 ml de agua potable, y toma de glucemia venosa central a la hora postcarga(11).

#### Interpretación de la prueba.

Originalmente O' Sullivan y colaboradores valoraron la prueba de 50 gr. con un umbral de 130 mg./dl. realizado en sangre venosa entera y con técnica de Nelson Somogyi con una sensibilidad de 80% y especificidad de 90 %, cuando los laboratorios cambian la metodología de sangre venosa entera a plasma venoso y la técnica de Nelson Somogyi a métodos enzimáticos; el valor de 130 mg/dl se modificó agregando 14% para compensar el uso de plasma que daría una cifra de 148 mg /dl, en tanto que al restar 5 mg. antes de añadir el 14% daría una cifra de 143 mg./dl. como umbral con análisis enzimáticos daría 143 mg./dl.

Dos importantes estudios demostraron que 10% de las pacientes con DG cuyas determinaciones de glucosa en plasma por métodos enzimáticos variaron entre 130 y 139 mg/dl. De tal manera que si se elige el umbral para tamiz de 130 mg./dl la sensibilidad aumentará 10% así como el número de curvas diagnósticas a realizar, de 14 % a 23% de la población(4,10).

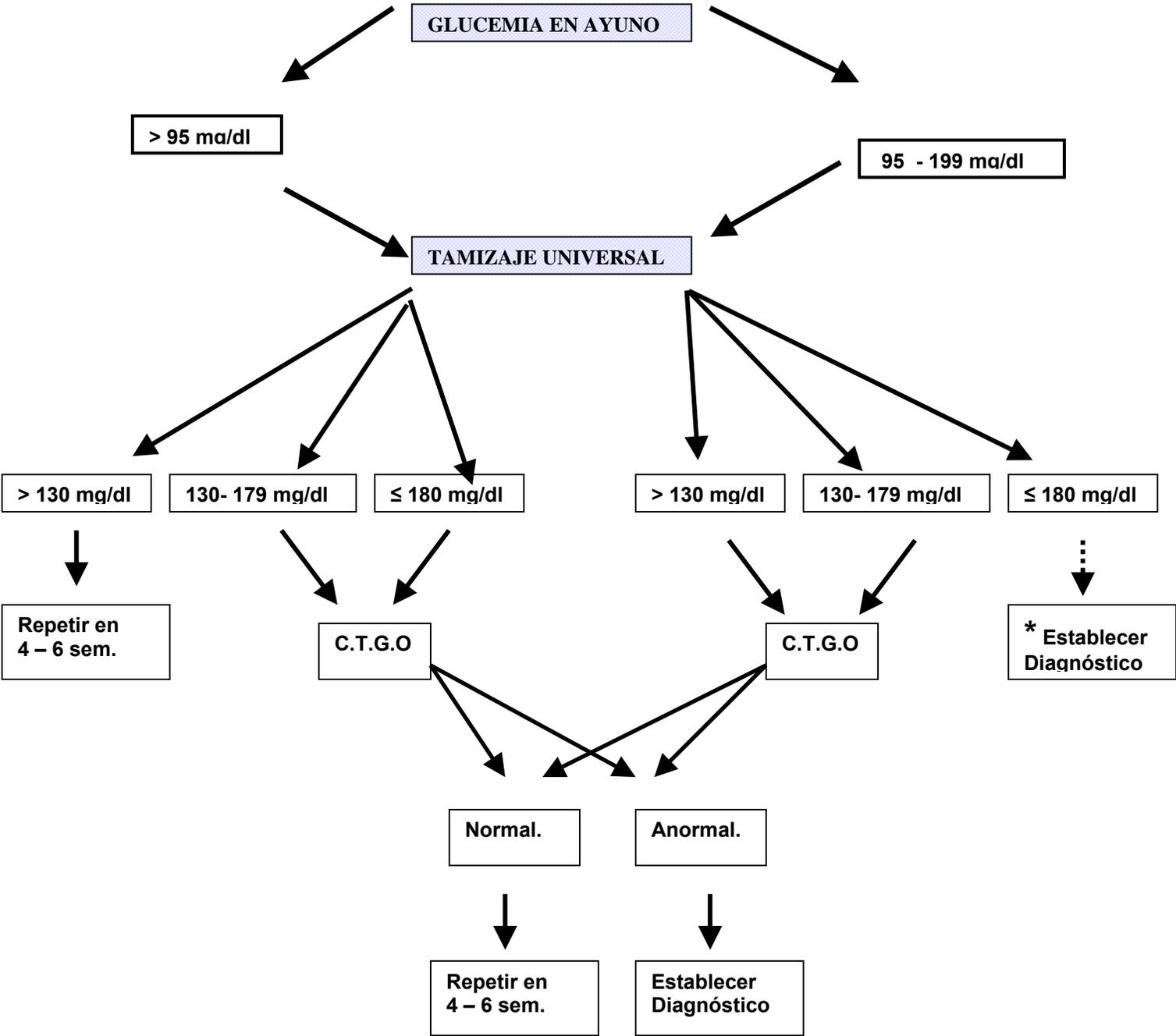
140 Mg./dl.

Sensibilidad 80%  
Especificidad 90%

130 Mg./dl.

Sensibilidad 90%  
Especificidad 85%

### ALGORITMO PARA REALIZACIÓN DE PRUEBAS DIAGNOSTICAS



Aun cuando se reconoce que la prueba tamiz no es diagnóstica existen un punto de controversia el cual se basa en que los dos valores, tanto ayuno como tamiz se encuentren alterados, basados en los criterios de Carpenter el valor en ayuno mayor o igual a 95mg/dl y 180 Mg./dl. a la hora postcarga de 100 gr de glucosa anhidra se considera criterio diagnóstico de DG porque si con una carga de 50 gr y sin preparación la paciente mostró dichos resultados es muy probable que con carga de 100 gr y preparación, los resultados sean semejantes.

Existen diversos reportes en la literatura acerca de este hallazgo; sin embargo ninguno es convincente. Por ejemplo; a) Carpenter y Coustan estudian 381 pacientes concluyendo que solo el 5% de pacientes con tamiz arriba de 183 mg/dl no tendrá diabetes gestacional<sup>(12)</sup> b) Lorraine y cols al estudiar 512 pacientes encontrando un valor predictivo positivo de 57% con tamiz  $\geq$  a 185 mg/dl y Valor predictivo positivo de 69% con tamiz  $>$  199 mg/dl<sup>(13)</sup>.

## **OTRAS PRUEBAS DE TAMIZAJE**

Se ha intentado el uso de otras pruebas sin lograr superar al tamiz algunas se describen enseguida:

1) Prueba de detección con desayuno mixto que mezcla carbohidratos, grasas y proteínas que constituyen una dieta normal, se valoró la respuesta de glucosa plasmática dos horas después de un desayuno de 600 cal. Con umbrales de 120 a 140 mg/dl. Se han reportado datos limitados acerca del método.

2) Glucosuria. debido al aumento en índice de filtración glomerular y una disminución en la reabsorción tubular, el 50% de las embarazadas normales presenta glucosuria en algún momento de la gestación así pues no es un buen método para discriminar la población con probable diabetes.

3) Proteínas plasmáticas glucosiladas. No es un parámetro útil para descartar diabetes gestacional ya que existen valores confusos entre la población normal y la diabética.

4) Fructosamina. Se basa en que las cetoaminas resultados de la glucosilación de las proteínas plasmáticas se comportan como agentes reductores en solución alcalina. Los niveles de fructosamina refleja el control glucémico en los 7 a 21 días previos, la desventaja es que no se encuentran métodos bien estandarizados así como valores específicos por lo que se realiza más frecuentemente la hemoglobina glucosilada.

5) Hemoglobina glucosilada. Las proteínas sufren modificación no enzimática post sintética que produce la unión de la glucosa a diversos aminoácidos de forma lenta e irreversible proceso al que se conoce como glucosilación. La cantidad de hemoglobina que se glucosila depende de la concentración de glucosa integrada durante el tiempo de exposición. Debido a que el tiempo de vida media del eritrocito es de 120 días el parámetro refleja la concentración media de glucosa en los 120 días previos, sin embargo dado el costo y que solo se realiza en sitios específicos se reserva su cuantificación para la valoración del control metabólico.

La Hemoglobina glucosilada ( $HbA_{1c}$ ) proporciona un valor pronóstico para malformaciones fetales mayores. Así se ha encontrado que a un valor igual o menor de 8.5%\* la tasa de malformaciones es de 3.4% sin embargo cifras mayores de 9.5% \*\* se han encontrado una tasa de hasta 22% durante el primer trimestre (11).

## **PRUEBAS DIAGNOSTICAS**

### **Pruebas de tolerancia a la glucosa.**

Tienen por objetivo establecer la capacidad del sistema endocrino para manejar una dosis fija de glucosa administrada por vía oral o intravenosa en condiciones estándar.

#### **A) VIA ORAL**

La prueba de tolerancia a la glucosa es una prueba que permite establecer la respuesta insulínica frente a un estímulo fisiológico por glucosa, la absorción de glucosa en el intestino desencadena liberación de insulina (preformada por las células beta del páncreas) en cantidad suficiente para cubrir las necesidades, es decir; aumentar la captación de la hexosa por los tejidos, en especial por el hígado. En el sujeto normal rara vez sobrepasa los 150 mg/dl y las cifras se recobran generalmente antes de las dos horas. La desventaja del estudio es que incluye un factor que no guarda relación con la respuesta insulínica y es la velocidad de absorción en el tubo digestivo.

**Requisitos:** Para este tipo de curvas se requieren preparación 72 horas previas al estudio con dieta de 150 gr de carbohidratos<sup>(8)</sup> se debe contar con ayuno de 8 a 14 horas, realizarse entre las 7 y 9 a.m. debido a los pulsos que presentan las hormonas del embarazo, debe de realizarse la actividad física normales, se debe identificar patología agregada que modifique la curva como; la acromegalia, síndrome de Cushing, insuficiencia renal y cirrosis hepática, descartar la presencia de foco infeccioso, evitar la ingestión de medicamentos que alteren la prueba (Alcohol, tiacidas, furosemida, clortalidona, antidepresores triciclicos, antiinflamatorios esteroideos y hormonas tiroideas. Durante el estudio la paciente debe estar en reposo, sentada, sin fumar ni ingerir café <sup>(8)</sup>.

**Metodología:** Se usa una carga de dextrosa deshidratada sintética (glucosa anhidra) a una dosis de 1.75 g / Kg. de peso real y disolver en un líquido de prueba (generalmente agua potable) de ser posible conviene que la concentración del líquido no pase de 25 gr por 100 ml pues la absorción de glucosa es de tipo isotónico<sup>(15)</sup>.

No se recomienda el uso de azúcar comercial ni solución dextrosa al 50% debido a que la primera es un disacárido (sacarosa), formado por una  $\alpha$ -D-Glucosa y  $\beta$  - D-Fructosa, por lo que la carga no contiene de forma neta el 100% de glucosa, también se sabe que la absorción de la fructosa es menor, así mismo se invierte energía para desdoblar los enlaces del disacárido. La dextrosa al 50% es una solución hipertónica que no permitirá el adecuado transporte al intestino delgado y se eliminara en gran proporción.

Se obtiene sangre venosa en ayuno, a la hora, dos y tres horas posterior a la carga de glucosa anhidra. Las muestras deben ser procesadas en con técnica enzimática en un lapso no mayor de 4 horas.

#### Indicaciones

1. Tamiz metabólico anormal
2. Pacientes con antecedente de diabetes gestacional en embarazos previos por la posibilidad de recurrencia en 50%. \*

\* ver pagina 12.

#### Interpretación de la prueba.

Los criterios diagnósticos más utilizados se basan en el trabajo de O'Sullivan y Mahan, quienes realizaron pruebas de tolerancia a la glucosa oral con carga de 100 gr a 752 embarazadas, en etapas del 2º y 3er trimestre, calcularon medias y desviaciones estándar de las cuatro cifras; en ayuno, una, dos y tres horas posteriores a carga de glucosa. Y se aplicaron diversos umbrales. Cuando se incluyeron en el análisis de los umbrales a un grupo de 1333 embarazadas, en 1013 pacientes que habían sido estudiadas 8 años previos, las cifras medias

más dos desviaciones estándar proporcionaron umbrales más eficaces para predicción de diabetes posterior, hasta entonces se usaron los siguientes criterios redondeados (ayuno 90 mg/dl, 1 hr. 165 mg/dl, 2 hr. 145 mg/dl, 3 hr. 125 mg/dl ) A finales de la década de los 70 cuando los laboratorios cambiaron el uso de sangre entera por plasma y conociendo que los valores de glucosa en sangre entera son 14% más elevados en 1979 el National Diabetes Data Group (NDDG) ajustó los criterios de O'Sullivan Así mismo la American Diabetes Association y ACOG considerando las siguientes cifras ayuno 105 mg/dl, 1 hr. 190 mg/dl, 2 hr. 165 mg/dl, 3 hr. 145 mg/dl.

En 1982 se propuso un conjunto alternativo de umbrales diagnósticos basados también en los criterios de O'Sullivan considerando el cambio de técnica a métodos enzimáticos para glicemia. Carpenter y Coustan restaron 5 mg/dl a cada una de las cifras no redondeadas de O'Sullivan y agregaron 14% para compensar el cambio de glucosa en sangre venosa entera al nivel plasmático las cifras redondeadas fueron ayuno 95 mg/dl, 1hr. 180 mg/dl, 2hr. 155 mg/dl, 3 hrs. 140 mg/dl.

Para descifrar cuales serian los mejores parámetros (ambos basados en cifras originales de O'Sullivan.) Sack y colaboradores realizaron un estudio donde analizaron muestras paralelas encontrando que los derivaciones de NDDG estaban por arriba del 95% de los intervalos de confianza en cada punto después de la carga de glucosa, Mientras que los valores de Carpenter y Coustan siempre estuvieron dentro de los limites de confianza. Así en 1998 en la Fourth Internacional Workshop – Conference on Gestational Diabetes se recomendó el uso de los criterios de Carpenter y Constan (4,10,14).

**Tabla 2.6. Criterios diagnósticos de Diabetes Gestacional**

Glicemia	O'Sullivan y col 1973 ▲	NDDG 1979 ◇	Carpenter y col 1982 ■
Ayuno	90 Mg/ 100 ml	105 Mg/100ml	95 Mg/100 ml
1 hr.	165 Mg/100 ml	190 Mg/100 ml	180 Mg/100 ml
2 hr.	145 Mg/100 ml	165 Mg/100 ml	155 Mg/100 ml
3 hr.	125 Mg/100 ml	145 Mg/100 ml	140 Mg/100 ml

▲ Muestra de sangre total

◇ Muestra de plasma o suero

■ Corrección de sangre total a plasma o suero, uso de métodos enzimático

Los criterios utilizados en la población del Centro Medico Nacional “20 de Noviembre” son los de Carpenter y Coustan.

Para integrar el diagnostico de diabetes gestacional se requiere dos o más valores alterados (iguales o mayores).

En caso de tener una cifra alterada existe controversia ya que algunos autores recomiendan repetir la curva en un lapso de 2 a 4 semanas. Se han encontrado en algunos estudios que el 36% de las pacientes a las que se repite la curva resultan con dos valores alterados, Según algunos otros autores informan que la paciente con un solo valor alterado, tienen riesgo de morbilidad perinatal semejante a la de un paciente con diagnostico establecido de diabetes. A las mujeres con un solo valor se les ha nombrado como intolerantes a los carbohidratos, debido a que no son normales pero tampoco cumplen con los criterios de diabetes gestacional por lo que se sugiere se les de vigilancia y tratamiento como si fueran diabéticas gestacionales. En la experiencia del servicio se ha encontrado que las pacientes con un valor alterado tienen un comportamiento metabólico muy semejante al de las pacientes con dos valores alterados, también se encuentran con la misma frecuencia retraso de madurez pulmonar en estos fetos. El hecho de repetir la curva de tolerancia a la glucosa

retrasa en gran medida el diagnóstico, situación que en los embarazos del tercer trimestre es de suma importancia para poder incidir sobre las complicaciones fetales principalmente, de tal forma que nuestro servicio con un valor alterado de la curva de tolerancia a la glucosa se emite diagnóstico de Intolerancia a los carbohidratos y se proporciona manejo de paciente con diabetes gestacional.

## **B) VIA INTRAVENOSA**

Se realizan en los casos que la absorción intestinal se encuentre limitada como en síndrome de mal absorción, enfermedad de Addison, hipopituitarismo.

**Requisitos.** Son los mismos que los descritos para la curva de tolerancia por vía oral. Durante el estudio la paciente debe estar en reposo y de preferencia acostada.

**Metodología.** Se aplica por vía intravenosa, en un lapso de 4 minutos, 50 ml de glucosa estéril al 50% (a dosis de 0.33 gr/ Kg) A los dos minutos de iniciada la aplicación se inicia cronómetro para tomar muestras de sangre capilar cada 10 minutos durante 60 a 90 minutos.

**Interpretación de la prueba.** Los resultados se expresan por el método de Hamilton y Stein, es decir como disminución porcentual de la glicemia cada minuto (K. En pacientes normales, la disminución es exponencial, y las cifras de glicemia, graficadas en papel semilogarítmico contra el tiempo, dan una línea prácticamente recta.

$$K = \frac{0.693}{T^{1/2}} \times 100 \text{ (por } 100 / \text{ min.)}$$

En pacientes normales K es mayor de 1.1, en diabéticas se obtienen valores entre 0.2 y menos 0.9.

## Diagnóstico de Diabetes sin embarazo

En la revisión realizada por el Fourth International Workshop-Conferencia realizado el 14 de Marzo de 1997 en Chicago Illinois se realizan modificaciones a los criterios previamente emitidos por el Grupo Nacional de Diabetes y la OMS y consideran tres posibles formas de establecer diagnóstico de diabetes cada una de ellas debe confirmarse en un día subsiguiente<sup>(14)</sup>.

1. Síntomas característicos de diabetes (poliuria, polidipsia, polifagia, pérdida de peso) Concentración plasmática de glucosa igual o mayor de 200 mg/dl en una muestra aleatoria en sangre. Una muestra aleatoria puede ser la que se obtiene en cualquier momento del día sin importar la hora del último alimento.
2. Glucemia en ayuno igual o mayor de 126 mg/dl, con un ayuno de por lo menos 8 horas.
3. Glucemia en ayuno menor del valor diagnóstico, pero un valor de glucosa plasmática igual o mayor de 200 mg/dl 2 horas posteriores a la ingesta de una carga de 75 gr de glucosa anhidra<sup>(5)</sup>.

Para el criterio 3 se requiere la realización de una curva de tolerancia a la glucosa (que fuera del embarazo se recomienda sea con carga de 75 gr), si se cumplen cualquiera de los dos primeros criterios no es necesario realizar. Para establecer el diagnóstico de diabetes si se presenta un solo criterio es necesario observar ese mismo criterio o cualquiera de los otros dos por lo menos otro día<sup>(5)</sup>

### **Anormalidad de la glicemia en ayuno e intolerancia a la glucosa.**

Se reconoce un grupo de individuos que por su concentración de glucosa no cumplen con los criterios para el diagnóstico de diabetes, pero cuyos valores son demasiado altos para considerarlos normales. Así, actualmente se reconocen fase evolutiva durante la historia natural de la diabetes; a) regulación normal de la glucosa b) anomalía en la glucosa en ayuno o intolerancia a la glucosa

c) Diabetes Mellitus. La euglicemia es la característica más importante de la fase de “regulación normal de glucosa” y se observa tanto en ayuno como después de administrar carga de glucosa. A diferencia de la primera fase, la hiperglicemia es el marcador de las siguientes dos fases.

En la fase que sigue a la normoglicemia puede observarse una concentración plasmática de glucosa en ayuno intermedia y a esto se le llama “anormalidad de la glucosa en ayuno” o intolerancia a la glucosa (“anormalidad de la tolerancia a la glucosa”). La intolerancia a la glucosa se manifiesta al administrar una carga de glucosa y traduce serios defectos en el sistema que regula la homeostasis de la hexosa.

En la fase de Diabetes mellitus pueden distinguirse tres etapas: en la primera no se requiere insulina, en la segunda se necesita insulina para lograr un buen control metabólico y en la tercera la insulina es indispensable para la homeostasis del paciente. Todos los tipos de diabetes pueden pasar por las tres fases evolutivas (Ver figura 1.1) e incluso llegar hasta la etapa de diabetes mellitus que requiere insulina para un buen control glucémico, pero sólo los individuos con diabetes 1 alcanzan la etapa en la que se requiere insulina para sobrevivir<sup>(5)</sup>.

**Figura 2.1 Fases evolutivas de la historia natural de la diabetes.**

Estradiol	NORMOGLICEMIA	HIPERGLICEMIA		
	REGULACION NORMAL DE LA GLUCOSA	INTOLERANCIA A LA GLUCOSA	DIABETES MELLITUS	
Tipos			No requiere Insulina	Requiere Insulina Requiere insulina para sobrevivir
TIPO 1	←————→	←————→	←————→	←————→
TIPO 2	←————→	←————→	←————→	
OTROS TIPOS	←————→	←————→	←————→	
DIABETES GESTACIONAL	←————→	←————→	←————→	

En base a la concentración de glicemia en ayuno se identifican tres grupos:

1. **Glicemia normal:** Concentración plasmática de glucosa menor a 110 mg/dl.
2. **Glicemia anormal:** Concentración de glucosa en ayuno igual o mayor de 110mg/dl, pero menor de 126 mg/dl.
3. **Diabetes mellitus:** Concentración plasmática de glicemia igual o mayor de 126mg/dl<sup>(5)</sup>

### Reclasificación de Diabetes en el puerperio

Se realiza una curva de tolerancia a la glucosa oral de 4–6 semanas posterior a la resolución del embarazo. Con una dieta de preparación con mínimo consumo de 150 gr de carbohidratos 72 horas previas al estudio, los requisitos son los mismos que se solicitan en la curva de pacientes embarazadas y la carga que se administra es de 75 gr con glicemia a las 2 horas y en ayuno. Se sugieren los criterios emitidos por la American Diabetes Association. En 1997. (Tabla2.7)<sup>(16)</sup>

**Tabla 2.7. Criterios de la ADA para diabetes sin embarazo con curva de tolerancia a la glucosa oral.**

	<b>AYUNO (mg/dl)</b>	<b>2 Hr. Post carga de 75 gr. (mg/dl)</b>
Diabetes mellitus	≥126	≥200
Anormalidad de glicemia en ayuno	≥110 <126	-----
Intolerancia a la glucosa	-----	≥140,<200
Normal	<110	<140

## **MANEJO**

El principal objetivo del tratamiento en la paciente con diabetes y embarazo es mantener niveles normales de glucosa las 24 horas al día para disminuir las complicaciones tanto maternas como fetales.

Los parámetros a mantener es que los niveles de glicemia no sobrepasen los 120 mg/dl debido que aun cuando no se manifieste sintomatología materna estos valores persistentes son suficientes para producir daño en el embrión, feto o recién nacido, también es necesario que la paciente no curse con ayunos prolongados para evitar las hipoglucemia y por tanto desencadenar vías alternas para la producción de energía como es la cetogénesis y que puede ser neurotóxica en el feto.

## **DIETA**

El incremento ponderal durante la gestación refleja el crecimiento de tejidos tanto maternos como fetales. Las recomendaciones dietéticas dependerán del rango de peso materno manejado antes del embarazo o bien del índice de masa corporal IMC ( estimación matemática; I.M.C.=  $\text{Peso real} / \text{talla}^2$ )<sup>(9)</sup>.

La OMS estima que el costo energético total del embarazo es de 83,000 calorías con incremento ponderal medio de 13.2 Kg. Ver Tabla 2.8 <sup>(11)</sup>.

**Tabla 2.8. Costo energético del embarazo**

	<b>PESO (Kg)</b>	<b>COSTO DE ENERGIA (Kcal.)</b>
Feto	3.5	8300
Placenta	0.6	700
Útero, líquidos, mamas	5.0	3000
Grasa materna	4.0	40 000
Tasa metabólica basal	--	31 000
<b>TOTAL</b>	<b>13.2</b>	<b>83 000</b>

Para conservar el aumento de peso cerca de lo ideal respecto al índice de masa corporal antes del embarazo, durante la gestación se espera que la mujer con IMC normal gane de 11.5 a 16 Kg. y aquellas con bajo IMC ganen 12.5 – 18 Kg. mientras que las que tienen sobrepeso ganen 7 a 11 Kg.<sup>(18)</sup>. (Ver Tabla 2.9). El incremento ponderal se ha medido por calorimetría total, el gasto energético requerido durante el embarazo demostrándose variaciones individuales del costo energético. En 1989 la RDA (Recommended Dietary Allowances) sugieren agregar 300 cal en el 2º y 3er trimestre por el costo energético incrementado a estas edades gestacionales <sup>(9)</sup>

**Tabla 2.9. Requerimientos calóricos de acuerdo a I.M.C.**

<b>I.M.C.</b>	<b>Calorías recomendadas</b>	
	BAJO: IMC <19.8	35 Cal
	MEDIO: IMC 19.8-26.0	30 Cal.
	ALTO IMC > 26.0	25 Cal.

### Calculo de dieta.

Existen gran variedad de esquemas para el calculo de dieta y sus fracciones, el que se menciona a continuación es el manejo en el servicio de Medicina Materno Fetal del CMN 20 de Noviembre. La dieta se instala una vez realizado el diagnóstico de Diabetes o intolerancia a los carbohidratos, se calcula de acuerdo al IMC ( Ver tabla 2.9). con un índice bajo, medio o alto se administran 25, 30 o 35 calorías respectivamente por Kg de peso ideal (talla cm. –105), Se incrementan 300 cal por trimestre (en el 2º y 3º) , se fracciona en quintos con dos colaciones que corresponden al 20 % de las calorías totales, 2/5 en el desayuno, 1/5 en la comida y 2/5 en la cena con intervalo máximo de ayuno de 8 horas entre la 2ª colación y el desayuno, se realizan modificaciones horarias o calóricas de acuerdo a la actividad física de la paciente y al comportamiento metabólico que presente.

Se recomienda que el total de calorías se fraccione en 50-60 de carbohidratos de preferencia complejos en gran proporción y altos en contenido de fibra. El 20% de calorías diarias se reserva a proteínas y 30% a grasas de preferencia de origen vegetal, para evitar la elevación de colesterol (4)

Treinta minutos previos a los alimentos principales (desayuno, comida y cena) se aconseja suministrar de 20 – 30 gr. de fibra que tienen por función: las solubles; poseen efecto metabólico, reducen la glicemia postprandial, disminuyen las LDL y mejoran la sensibilidad a la insulina, las insolubles; aumentan el bolo fecal. Los productos comerciales contienen la mezcla de ambas (17).

Se aconseja no administrar menos de 1500 calorías.

### **INSULINA**

Existen en la literatura varios esquemas de tratamiento con insulina en pacientes con DG, sin embargo no existe uno ideal. Enseguida se mencionaran algunos criterios reportados en la literatura y las propuestas de manejo en nuestro servicio.

- El objetivo principal del tratamiento con insulina es simular la secreción plasmática normal ante el estímulo de ingesta de alimentos, y lograr mantener euglucemia durante las 24 horas del día.
- La aplicación de insulina debe corresponder con el régimen alimenticio y ajustarse de acuerdo al control metabólico, se aplicara 30 minutos antes de los tres alimentos fuertes.
- Se utilizan insulinas lo menos antigénicas durante la gestación, preferentemente la humana.
- Existe gran controversia así como incongruencia en los diversos centros al iniciar insulina y esta debe apegarse a un monitoreo previo de glucometrias pre y postprandiales (2 hr.) a los principales alimentos y a las 2 a.m., determinación con tiras reactivas de cetonuria el tiempo de monitoreo y de inicio varía debido a que primero se deben hacer ajustes a dieta individualizando a cada paciente en sus ciclos de mayor actividad, supervisión de la cantidad de calorías ingeridas, y del tipo de carbohidratos utilizados en la preparación de las dietas, adiestramiento y concientización de la dieta y la importancia de la misma a la paciente.
- Una vez supervisadas todas las variantes si la paciente persiste con glucometrias preprandiales mayores de 95 mg/dl y postprandiales mayores de 120 mg/dl. (Fourth International Workshop on Gestational Diabetes)<sub>(10)</sub>

#### Calculo de Insulina

1. Se aplica esquema de insulina de acción rápida de acuerdo a requerimientos:

120-150 mg/dl.....	2 U.I.
151-200 mg/dl.....	4 U.I.
201-250 mg/dl.....	6 U.I.
251 o más. ....	8 U.I.

2. Se Cuantifican los requerimientos promedio de Insulina de acción rápida en 72 horas.
3. Se inicia con el 50 % del total de Insulina requerida, fraccionándola y usando Insulina NPH( neutral protamine Hagedorn), e insulina de acción rápida

Dosis matutina	{	<p>2/3 NPH</p> <p>1/3 RAPIDA</p>
----------------	---	----------------------------------

Dosis vespertina	{	<p>1/2 NPH</p> <p>1/2 RAPIDA</p>
------------------	---	----------------------------------

4. Se realizan ajustes de acuerdo a la observación obtenida de 72 hrs. De monitoreo con glucometrias y cetonurias, considerando inicio de acción efecto máximo, duración (Tabla.2.10)

**Tabla 2.10 Insulinas más utilizadas en el embarazo.**

TIPO DE INSULINA	VIA	INICIO DE ACCION	EFECTO MÁXIMO	DURACION
Acción rápida	SC	30 min.	1- 3 hrs.	5-8 hrs.
(regular)	IV	5 min.	5 min.	15 min.
Acción Intermedia				
NPH	SC	60 min.	2-8 hrs.	18-20 hrs.

5. Finalmente se debe contemplar las variables que modifican la absorción subcutánea de la insulina como; Los sitios de aplicación deben ser rotatorios, preferentemente en el abdomen adecuada temperatura y vascularidad en el sitio de la inyección, modificaciones químicas como los aditivos de protamina y zinc (5,4).

6. En la literatura se reporta frecuentemente uso de esquema a requerimientos a partir de 150 mg /dl sin embargo conocemos que cifras entre 120 a 150 son suficientes para tener repercusión fetal o materna por lo que en servicio se usa el esquema antes mencionada con buenos resultados hasta el momento. Así mismo se menciona el inicio de esquema de insulina de acuerdo a peso ideal en rangos entre 0.1 a 0.6 U.I. (4) de peso ideal, con lo cual se ha observado que las pacientes inician con dosis mayores que las requeridas conduciendo en muchas ocasiones hipoglucemias frecuentes.

## VIGILANCIA PRENATAL

La vigilancia prenatal será minuciosa con valoración integral de la patología agregada y los factores de riesgo asociados, desde el momento del diagnóstico se realiza un monitoreo metabólico, adiestramiento dietético así como la realización de exámenes de laboratorio y gabinete que manifiesten la aparición de enfermedades secundarias a daño en la micro y la macrocirculación.

Así, es necesario solicitar HbA<sub>1c</sub> para evaluación de posibles malformaciones fetales y conocer el reflejo retrospectivo de la glicemia. Si el diagnóstico se realiza en el 2º trimestre se puede solicitar Alfa-feto proteína sérica materna de forma individual o como parte del triple marcador con una sensibilidad de 80% para espina bífida y 90% para anencefalia. El ultrasonido en cualquier etapa del diagnóstico es una herramienta de suma importancia, en un reporte de Gómez y cols. Refieren detección de malformaciones fetales mayores con una sensibilidad de 67% y especificidad de 100% con valor predictivo positivo de 100% y negativo de 91% (que varía dependiendo de la experiencia del

observador), así también es posible la valoración de translucencia nucal entre semana 10 y 14 de la gestación, deben ser valoradas la función renal con índice de filtración glomerular, fondo de ojo, electrocardiograma, y manejo integral e interdisciplinario (11).

**Tabla 2.11 Vigilancia prenatal**

<p><b>MOMENTO DEL DIAGNOSTICO</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Monitoreo metabólico</li> <li>• Adiestramiento dietético</li> <li>• HbA<sub>1c</sub></li> <li>• Estudios básicos</li> <li>• Valoración de función renal</li> <li>• Cultivos</li> <li>• Ultrasonido</li> <li>• Exploración de fondo del ojo</li> <li>• Electrocardiograma</li> </ul>	<p><b>PRIMER TRIMESTRE</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Monitoreo metabólico</li> <li>• Ultrasonido- Traslucencia nucal</li> <li>• HbA<sub>1c</sub></li> </ul>
	<p><b>SEGUNDO TRIMESTRE</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Monitoreo metabólico, incremento calórico</li> <li>• HbA<sub>1c</sub></li> <li>• Estudios básicos, función renal, cultivos</li> <li>• Ultrasonido- Marcadores USG, fetometría, Líquido amniótico.</li> <li>• Cuadruple marcador- Alfafetoproteína</li> <li>• Electrocardiograma</li> </ul>
	<p><b>TERCER TRIMESTRE</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Monitoreo metabólico, incremento calórico</li> <li>• HbA<sub>1c</sub></li> <li>• Estudios básicos, función renal, cultivos</li> <li>• Ultrasonido- fetometría, Crecimiento, Líquido amniótico, búsqueda malformaciones cardiacas.</li> <li>• Velocimetría Doppler</li> <li>• Cardiotocografía cada 72 hrs. (semana 32)</li> <li>• Pruebas de madurez fetal (semana 36 perfil de fosfolípidos completo)</li> </ul>

## **Polimorfismos de un solo nucleótido SNPs como herramienta para la definición del componente genético de las enfermedades comunes**

Los SNPs (polimorfismos de un solo nucleótido) son el tipo de variación de secuencia más frecuente en el genoma. Un SNP se define como un *locus* génico constituido por cuando menos dos alelos, uno de ellos con una frecuencia mayor al 1%, diferentes entre si por el cambio de una base por otra en una posición determinada en el genoma (e.g. T ó G). Los SNPs son generados por mutaciones y se heredan de forma dominante o codominante. Es decir, se heredarán a los descendientes del individuo donde se produjo la mutación. Un SNP de origen reciente se produjo hace pocas generaciones y estará presente sólo en un número reducido de individuos por lo que será poco frecuente. Por el contrario, un SNP que se generó hace mucho tiempo, estará distribuido en un número mayor de individuos y por lo tanto su hallazgo será más frecuente en la población general.

El estudio de SNPs se ha convertido en una de las herramientas más útiles para analizar la diversidad genómica en humanos. Alrededor del 20% del total de SNPs son compartidos por todas las poblaciones (los SNPs más antiguos). Esto significa que si se busca analizar la asociación de SNPs y enfermedad o la asociación entre SNPs y respuesta a un determinado fármaco, los resultados variarán en las distintas poblaciones.

A través del proyecto del genoma humano se han identificado alrededor de  $1.5 \times 10^6$  SNPs a lo largo del genoma (The International SNP Map Working Group, 2001). Se postula que estos polimorfismos determinan en gran medida la susceptibilidad o el riesgo a desarrollar distintas enfermedades comunes como la diabetes, la obesidad, la enfermedad cardiovascular o la hipertensión arterial entre los distintos individuos (Ohnishi *et al.*, 2000; Haluska *et al.*, 1999 , Altshuler *et al.*, 2000a). Es posible entonces estudiar la asociación entre distintos polimorfismos y fenotipos específicos (diabetes, hipertensión, etc.) a través del estudio sistemático de SNPs a lo largo del genoma, particularmente aquellos intragénicos o cercanos a distintos genes candidatos.

Debido a la gran heterogeneidad genética de estas enfermedades entre distintos grupos étnicos (e.g. la participación de distintos genes y combinaciones en las distintas poblaciones) aunado a la gran diversidad étnica de nuestra población es necesaria la búsqueda intencionada de SNPs asociados a estas patologías en la población mexicana.

Al igual que otros marcadores genéticos la informatividad de los SNPs depende de su grado de polimorfismo y heterocigocidad. En términos generales los SNPs son poco polimórficos siendo en su mayoría bialélicos. Por otro lado, la heterocigocidad de cada SNP (las frecuencias relativas de los alelos) puede variar en cada grupo étnico. Por lo tanto para obtener una mayor informatividad de estos marcadores se analiza un grupo de SNPs en un intervalo y se consideran como haplotipos (Reich *et al.*, 2001). El estudio de haplotipos de SNPs a lo largo de un segmento cromosómico definido puede ser más informativo para identificar asociaciones con un determinado fenotipo o enfermedad.

### **Diabetes poligénica.**

#### **Diabetes tipo 1.**

La diabetes tipo 1 siempre se asocia a una deficiencia absoluta de insulina. La diabetes tipo 1 A (anteriormente denominada DM insulino dependiente o diabetes juvenil) resulta de la destrucción autoinmune de las células beta del páncreas. La evidencia de la autoinmunidad se demuestra por la presencia de uno o más autoanticuerpos (Ac) para los islotes pancreáticos. Los Ac para las células de los islotes (ICAS) fueron descritos por primera vez en los años 70 (citoplasmáticos). En los años 80 se descubrieron los auto anticuerpos para la insulina (IAAS) y posteriormente se descubrieron los autoanticuerpos para la descarboxilasa del ácido glutámico (GADA) y los autoanticuerpos asociados a insulinoma 2 (IA-ZAS) actualmente solo es posible efectuar la determinación de ICAS y GADA en la práctica médica, en virtud de que los IAAS y los IA-2A aún se utilizan únicamente para fines de investigación.

Los anticuerpos contra las células de los islotes (citoplasmáticos) no parecen desempeñar un papel en la etiología de la destrucción de las células  $\beta$ . Al comienzo de la diabetes tipo 1, de 70 al 80% de los pacientes son positivos para ICAS. Los anticuerpos contra los islotes frecuentemente declinan después del diagnóstico y no más del 5 al 10% de los pacientes con diabetes tipo 1 presenta positividad para ICAS 10 años después. La frecuencia de ICAS en la población general es baja y oscila entre el 0.1 y el 0.3%.

Los autoanticuerpos contra la insulina fueron reportados por vez primera en 1983. Estos anticuerpos deben ser determinados de manera previa a la administración exógena de insulina, debido a que la administración de esta durante cinco a siete días origina resultados positivos. Feeney et al comunicaron que los IAAS estuvieron presentes en 90% de niños menores a 5 años de edad, en 71% de niños entre 5 a 10 años de edad, y en el 50% de los 10 a 15 años de edad.

Los autoanticuerpos para GADA son más persistentes que los ICAS después del diagnóstico.

Los autoanticuerpos asociados a insulinoma 2 son detectados en aproximadamente 60% o más en casos de diabetes tipo 1 recientemente diagnosticada. Su frecuencia en la población general oscila del 2 al 3%.

La presencia de uno o más de estos Ac. Sugieren de manera significativa un proceso autoinmune que conduce a la deficiencia de células  $\beta$ .

La destrucción autoinmune de células  $\beta$  tiene múltiples predisposiciones genéticas y también guarda relación con factores ambientales aun no completamente definidos. Debe enfatizarse que la presencia de de obesidad no excluye el diagnóstico de diabetes tipo 1A. Por otra parte, los pacientes con diabetes tipo 1, también presentan susceptibilidad para el desarrollo de otros trastornos autoinmunes como la enfermedad de Graves, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Addison, enfermedad celiaca, esclerosis múltiple, artritis reumatoide juvenil, síndrome de rubéola congénita y anemia perniciosa.

Algunas formas de diabetes tipo 1 no tienen una causa conocida. Corresponde a pacientes que tienen insulinopenia permanente y no tienen anticuerpos contra los

islotos pancreáticos. Por ejemplo, únicamente 47% de pacientes de raza negra y diabetes tipo 1 de inicio reciente tienen ICAS positivos, lo que sugiere que una considerable proporción de estos pacientes no tienen un componente autoinmune. A este tipo de diabetes se le clasifica como diabetes atípica. A esta forma de diabetes se le conoce también como “**diabetes flatbush**”. Estos pacientes usualmente tienen hiperglicemia y cursan con cetoacidosis de manera más frecuente que los pacientes con diabetes tipo 2. este tipo de diabetes al parecer es trastorno **autosómico dominante**.

Es conveniente señalar que los niveles de insulina sérica (péptido C) no constituyen un buen elemento diagnóstico para la diabetes tipo 1. Lo anterior obedece a que en fases iniciales de la diabetes tipo 1, especialmente en la diabetes autoinmune latente del adulto (LADA) existe secreción de insulina endógena y puede ser cuantificada durante meses y ocasionalmente durante años después de haber efectuado el diagnóstico <sup>(13-16)</sup>.

## **Diabetes tipo 2**

Diversos estudios en distintos grupos étnicos han reportado asociación de variaciones en los genes MODY con las formas más comunes (poligénicas) de DM2 (Malecki *et al.*, 1999; Triggs-Raine *et al.*, 2002; Hani *et al.*, 1998, Sakurai *et al.*, 2000 MacFarlane *et al.*, 1999). Una de las líneas de investigación de nuestro grupo está enfocada en definir la contribución de los genes MODY en la etiología de la DT2 de aparición temprana en pacientes mexicanos ya sea con un efecto dominante, o como alelos de susceptibilidad. Resultados preliminares en un estudio caso-control en una muestra de 80 pacientes y 100 controles muestran evidencia de un haplotipo de 3 SNPs en el exón 7 del gen HNF-1 $\alpha$  asociado significativamente al riesgo a desarrollar DM2 de aparición temprana en nuestra población ( $p = 1 \times 10^{-3}$ ) (OR = 2.88, con un intervalo de confianza del 99% de 1.24 – 6.67). Asimismo los datos sugieren que este haplotipo está presente en un mismo alelo (en cis). La confirmación del papel de este haplotipo de susceptibilidad requiere la validación de los resultados en una muestra mayor o el

análisis de marcadores genéticos para evaluar estratificación poblacional con el objeto de eliminar la posibilidad de un pareo inadecuado de etnicidad entre los pacientes y los controles (Siddiqui *et al.*, 2003).

Esta propuesta contempla evaluar la participación de este haplotipo de riesgo en conjunto con polimorfismos y haplotipos de otros tres genes vinculados a la susceptibilidad al desarrollo de DM2 (PPAR $\gamma$ , calpaína-10 y calsequestrina-1) en pacientes con diabetes tipo 2 de inicio temprano, así como su posible relación con la presencia de obesidad, el requerimiento de insulina o la presencia de complicaciones.

## **DIABETES MONOGENICA.**

### **Diabetes tipo MODY.**

Este tipo de diabetes se caracteriza por presentar un patrón de herencia autosómico dominante y un inicio del padecimiento antes de los 25 años. Se le conoce como diabetes tipo MODY por sus siglas en inglés: Maturity-onset diabetes of the young. Los pacientes MODY presentan diabetes mellitus no cetónica y disminución en la secreción de insulina. En algunos pacientes también se han identificado defectos mínimos en la acción de insulina (Fajans y cols., 2001).

Los pacientes con diabetes tipo MODY presentan un defecto primario en la función de las células  $\beta$  del páncreas, esto puede resultar por mutaciones en uno de al menos seis genes diferentes. Uno de ellos codifica para la enzima glucolítica glucocinasa (hexocinasa IV, MODY 2) y los otros cinco codifican para proteínas con función de factores de transcripción: factor nuclear del hepatocito 4 $\alpha$  o HNF4 $\alpha$  (MODY 1), factor nuclear del hepatocito 1 $\alpha$  o HNF-1 $\alpha$ , (MODY 3), factor nuclear del hepatocito 1 $\beta$  o HNF 1 $\beta$  (MODY 5), factor promotor de insulina 1 o IPF1 (MODY4), y el factor de diferenciación neurogenica 1 o NeuroD1/BETA2 (MODY 6) (Fajans y cols., 2001, Owen y Hattersley, 2001, Gómez y Roopa, 2003).

## **PPAR- $\gamma$ y el papel de la variante alélica P12A como alelo de susceptibilidad en el desarrollo de la DM2**

Los receptores activados por el proliferador de peroxisomas (PPARs) son miembros de la superfamilia de receptores de hormonas nucleares. Hay tres tipos de PPARs: PPAR-alfa, PPAR-delta y PPAR-gamma (PPAR $\gamma$ ). PPAR $\gamma$  induce la transcripción de genes involucrados en el metabolismo de la glucosa, el transporte de ácidos grasos, la diferenciación de adipocitos y la inflamación (Auwers, 1999; Kliewer *et al*, 1998). Esta proteína funciona como complejo heterodimérico con RXR y puede ser activado sinérgicamente por agonistas de PPAR $\gamma$  como las tiazolidinadionas (TZD) y ligandos específicos de RXR (Mukherjee *et al*, 1997). El gen de PPAR $\gamma$  consta de 100 kb y está compuesto de 9 exones. PPAR $\gamma$  existe en dos isoformas de la proteína que se crean por el uso de promotor alternativo y el empalme alternativo en el extremo 5' del gen; PPAR $\gamma$ 2 contiene 30 aminoácidos adicionales en el extremo NH2 a diferencia de PPAR $\gamma$ 1 (Spigelman, 1998; Elbrecht *et al*, 1998).

Muchos tejidos expresan niveles bajos de PPAR $\gamma$ 1, mientras que PPAR $\gamma$ 2 se expresa exclusivamente en tejido adiposo, donde sus niveles de expresión son elevados. Ambas isoformas (PPAR- $\gamma$ 1 y PPAR- $\gamma$ 2) son expresados en el tejido adiposo (Vidal-Puig *et al*, 1997; Auboeuf *et al*, 1997; Lefebvre *et al*, 1998). En este tejido no parece haber ninguna diferencia en las capacidad transcripcional de las dos isoformas en la expresión de genes blancos inducidos por ligandos o en la diferenciación del adipocito inducido por ligando (Werman *et al*, 1997). Adicionalmente, se demostró que PPAR $\gamma$  es capaz de activar la transcripción en forma no dependiente del ligando y que la insulina potencia esta actividad (Werman *et al*, 1997).

PPAR $\gamma$  es uno de los genes más intensamente estudiados en cuanto a su papel como gen de susceptibilidad para el desarrollo de obesidad y DM2. Variantes raras del gen PPAR $\gamma$  pueden producir resistencia a insulina y diabetes. La variante P115Q ha sido asociada con obesidad, mientras que las variantes V290M y P467L

se han asociados con resistencia severa a la insulina y diabetes. La variante frecuente P12A de PPAR $\gamma$  se ha relacionado como alelo de susceptibilidad en desarrollo de obesidad y DM2 en distintas poblaciones (Deeb *et al*, 1998; Altshuler *et al*, 2000; Hegele *et al*, 2000), y como alelo de protección en el desarrollo de nefropatía diabética (Stefan-Martin *et al*, 2002). La posición de este aminoácido está dentro del dominio de PPAR- $\gamma$ 2 involucrada la activación independiente de ligando (Werman *et al*, 1997). Estudios in vitro muestran que el alelo A12 de PPAR $\gamma$  muestra una disminución en la afinidad de unión al elemento promotor de PPAR y por ende, la capacidad de transactivación in vitro y también se le ha asociado a una reducción de la adipogénesis inducida por TZD (Masugi *et al*, 2000).

### **Calpaína-10 y su papel en la susceptibilidad al desarrollo de la DM2**

La calpaína-10 es una proteína que participa en cascadas de señalización intracelular y se ha asociado específicamente al fenómeno de muerte celular programada (apoptosis) de la célula  $\beta$  pancreática. La calpaína-10 se expresa en todos los tejidos, sin embargo existen al menos 8 variantes proteicas (isoformas) en distintos tejidos. Existen múltiples variantes génicas de CAPN-10 relacionadas a la susceptibilidad para el desarrollo de DM2.

Algunas variaciones de secuencia como la SNP-44 y SNP-43 alteraran probablemente la expresión del gen. En la población México-americana un variante alélica de CAPN-10 con un haplotipo específico que comprende los SNP-43, 19 y 63 incrementa el riesgo a desarrollar la enfermedad alrededor de tres veces y explica el 14% del riesgo a manifestar DM2 en esta población (Horikawa *et al*, 2000). Recientemente en colaboración con el grupo del Dr. Graeme Bell reportamos la participación de un haplotipo diferente relacionado al riesgo de manifestar DM2 en pacientes mestizos mexicanos (Del Bosque *et al*, 2004). De manera similar, variantes génicas de CAPN-10 se asocian a un incremento en el riesgo a manifestar la enfermedad en población caucásica europea y americana así como en la población de origen africano-americano, sin embargo en estas

poblaciones, variantes de secuencia en este gen incrementan el riesgo entre 1.2 y tres veces (Lynn *et al*, 2002).

El gen de la calsecuestrina (*CASQ1*), cuyo producto es una proteína que se expresa en músculo y regula indirectamente la expresión de GLUT-4.

En población menonita se reportó que en *CASQ1*, el SNP rs2275703 en intrón 4 y el SNP rs617698 en intrón 2 estuvieron asociados a riesgo de desarrollo de DMT2, con un valor de  $p=0.008$  y de  $p=0.04$ , respectivamente.

Otro estudio realizado en población europea caucásica, un haplotipo de 6 SNP's (4 localizados en el intrón 2) estuvo asociado a riesgo de desarrollo de DMT2 ( $p=0.008$ )

Tres de los SNP's reportados como asociados a DMT2 en los estudios anteriormente mencionados (SNP's 2351, rs3747623 y rs617698), fueron analizados por nuestro grupo de trabajo en población mexicana con DMT2, concluyendo que no había asociación de estos SNP's a riesgo de desarrollarlo en población mexicana (Das y cols., 2004).

## **JUSTIFICACION.**

La diabetes mellitus tipo 2 es el tipo más frecuente de diabetes en todo el mundo representando más del 95% del total de casos. En México se reporta una prevalencia de DM2 del 8.2% al 10.9% en la población de más de 20 años. Hasta la fecha se considera como la 3<sup>a</sup> causa de muerte con una tasa 15.5 defunciones por cada 100,000 habitantes.

La OMS reportó en 1995 una prevalencia de DMT2 en el adulto a nivel mundial de 4% y estimó que la cifra se incrementará a un 5.4% para el año 2025. En México se estima una prevalencia de DM T2 del 2.3% para el mismo año. La mayor prevalencia puede ocurrir en países en desarrollo, con mayor afectación en mujeres que en hombres.

El riesgo de padecer DM2 es mayor en ciertas poblaciones del mundo, como es el caso de los indios Pima en Arizona que tienen la más alta prevalencia y que se encuentra hasta en un 50% en los adultos.

Las consecuencias clínicas más frecuentes con pacientes diabéticos son complicaciones crónicas, como: retinopatía y neuropatía que ocasionan incapacidad permanente como ceguera o amputación de miembros inferiores principalmente. Incluso la muerte puede ser secundaria a insuficiencia renal crónica.

La prevalencia mundial de la diabetes gestacional (DG) oscila entre el 1 y 4% con más de 136,000 casos anualmente. En México la cifras no se conocen si n embargo en la ciudad de Monterrey Nuevo León, Forsbach y colaboradores reportaron una incidencia de 4.3% en 693 embarazadas.

Las mujeres con mayor riesgo de padecer DG son aquellas con algún grado de obesidad, edad mayor de 25 años al momento del embarazo, con historia familiar con algún grado de intolerancia a los carbohidratos e ingesta de alimentos ricos en grasas.

En la DG existen complicaciones materno fetales que pueden aumentar la tasa de mortalidad materna y/o fetal.

Datos epidemiológicos y fisiopatológicos sugieren un vínculo estrecho de la DG con DM2. Se han identificado diversos genes para el desarrollo de DMT2 como la presencia del gen HNF-1 $\alpha$  (factor nuclear del hepatocito), PPAR- $\gamma$  (proliferador de peroxisomas), calpaina-10 y calsequestrina 1 con DM2.

Por lo anterior, proponemos el estudio de estos genes, como posibles genes de susceptibilidad para el desarrollo de la DG.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

La diabetes complica aproximadamente el 3% de todos los embarazos. Se ha propuesto que la DG es una forma de diabetes latente en la que el estrés diabetogénico del embarazo revela la intolerancia a la glucosa por primera vez. Las mujeres hispanas y asiáticas parecen tener riesgo mayor de desarrollar DG por ser poblaciones con alta prevalencia de DM2.

La diabetes gestacional al igual que la diabetes no insulino dependiente es una enfermedad multifactorial poligénica. Los genes involucrados en el desarrollo de esta enfermedad tienen efecto parcial, en donde ninguno de ellos es suficiente para que esta se desarrolle.

El reconocimiento de la participación de estos genes en el desarrollo de DG en nuestra población, permitirá promover medidas para el diagnóstico temprano y de prevención para reducir riesgos perinatales y gastos de atención médica.

## **HIPOTESIS.**

Conociendo la participación de los genes HNF-1 $\alpha$ , PPAR- $\gamma$ , la calpaína-10, así como la calsequestrina-1 en la etiología de la DM2 es posible que estos genes puedan participar en la etiología de la diabetes gestacional en la población mexicana.

## **METAS**

### **OBJETIVO PRINCIPAL.**

Determinar la contribución de distintas variantes genéticas (SNPs) de los genes del HNF-1 $\alpha$ , PPAR- $\gamma$ , Calpaína-10 y de la CASQ-1 como posibles alelos de susceptibilidad en el desarrollo de DG en pacientes mexicanas.

### **OBJETIVOS PARTICULARES.**

1. Genotipificación del haplotipo de 3 polimorfismos (SNP) en el exón 7 del gen HNF-1 $\alpha$  en pacientes con DG y en controles.
2. Genotipificación de SNP 19 en un gen de la Calpaína 10.
3. Genotipificación del SNP P12A del gen PPAR $\gamma$ .
4. Genotipificación de 2 SNPs del gen de la CASQ-1 previamente vinculados al riesgo de desarrollar DM2 en población caucásica.
5. Análisis de los subgrupos de pacientes de acuerdo a la edad, presencia o no de obesidad y antecedentes heredofamiliares.
6. Establecer si existen diferencias significativas entre las frecuencias de estos polimorfismos de manera aislada o como haplotipos entre pacientes y controles.

## **MATERIAL Y METODO.**

### **POBLACION DE ESTUDIO.**

1. Grupo de estudio:

123 pacientes embarazadas con diagnóstico de DG atendidas en el servicio de Medicina Materno Fetal del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" del ISSSTE en la ciudad de México durante el periodo comprendido entre Marzo del 2005 y enero del 2006.

2. Grupo control:

100 pacientes sin antecedentes de DM2 o DG, con una determinación de glucosa en sangre en ayuno normal.

### **TIPO DE ESTUDIO.**

1. Experimental.
2. Comparativo
3. Prospectivo.
4. Transversal.

## **CRITERIOS DE INCLUSION.**

- a. Pacientes embarazadas de cualquier edad con diagnóstico de DG que acepten participar en el estudio y firmen la hoja de consentimiento informado.
- b. Para el grupo control se incluirán a mujeres embarazadas de cualquier edad con tamiz y curva de glucosa dentro de parámetros normales realizada entre la semana 24-28 de la gestación, con o sin
- c. antecedentes heredo-familiares de primer grado de DM2 y sin antecedentes de DG.

## **CRITERIOS DE EXCLUSION.**

- a. Pacientes embarazadas con diagnóstico de Diabetes Mellitus tipo 1 y tipo 2.
- b. Pacientes que no acepten participar en el estudio.

## **PROCEDIMIENTO.**

### **Tamiz de glucosa 50 gr.**

No se requiere de preparación de la paciente y *consiste en:*

Toma de sangre periférica en ayuno.

Administración de una carga oral de glucosa de 50 gr.

Se realiza otra toma de glucemia central 60 minutos después de la toma de glucosa oral.

Si el resultado de la glucosa a la hora es igual o mayor a 130 mg/dl se realiza curva de tolerancia a la glucosa oral.

### **Curva de tolerancia a la glucosa oral.**

Requiere de una preparación de 3 días previos a la prueba con una dieta que contenga mínimo 150 gr de carbohidratos al día (en este centro hospitalario de ajuste a 3000 cal por día). En este tiempo no deben consumirse medicamentos, tabaco y con una actividad física normal.

El día de la prueba se toman muestras de sangre periférica en ayuno, se administra una carga oral de 100 gr de glucosa y posteriormente se determina glucemia a los 60,120 y 180 minutos.

### **Procesamiento de las muestras biológicas.**

La colección de las muestras sanguíneas se llevó a cabo en el Servicio de Medicina Materno Fetal del CMN "20 de Noviembre" ISSSTE y la determinación de los polimorfismos para cada uno de los genes propuestos se realizó en la Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, bajo la dirección de la Dra. Ma. Teresa Tusié Luna.

### **Extracción de DNA.**

Se obtuvieron 20 ml de sangre total con EDTA como anticoagulante de las pacientes seleccionadas y de los controles.

El aislamiento del DNA se realizará por medio de lisis hipotónica de eritrocitos a partir de sangre total, digestión con proteinasa K del botón linfocitario, seguido por extracción con fenol-cloroformo según el método descrito por Schneeberger *et al* (1992). Los DNAs genómicos se almacenarán a 4 °C. se homogeniza por 30 segundos y se centrifuga 12000 rpm/min. Se decanta todo el sobrenadante y al

pellet se le adiciona 180 ml de buffer TE y se incuba a 55° C por 10 min, se adiciona 20 ml de NaCl 5M y se mezcla vigorosamente antes de agregar 1 ml de etanol absoluto frío. Se mezcla y centrifuga a 12000 rpm/min, se decanta el sobrenadante y el paquete de DNA se seca en el speedvac por 20 min, finalmente el pellet se suspende en 200 ml de buffer TE y se incuba a 55°C toda la noche agitándose periódicamente para disolver el DNA. Para conocer la concentración del DNA, tomar una alícuota de 4 ml de DNA recién disuelto y disolverlo en 996 ml de agua y leer en espectro a 260 nm.

### **Genotipificación de polimorfismos.**

Los distintos polimorfismos se tipificaron a través de diversas metodologías a partir de la amplificación selectiva por PCR del gen y exón particular (calpaína-10, PPAR $\gamma$  o HNF-1 $\alpha$ ) utilizando oligonucleótidos específicos. Para el gen PPAR $\gamma$  se amplifica un fragmento de 270 pb utilizando un primer mutagénico y analizando los productos a través del corte con la enzima de restricción BstU-I. Cuatro de los polimorfismos de calpaína-10 y los polimorfismos del exón 7 de HNF-1 $\alpha$  se analizan por secuenciación directa. Los 5 SNPs del gen de la calsequestrina-1 se analizarán utilizando sondas Taqman. El SNP-19 del gen de la calpaína-10 y la determinación de secuencias a Alu se analizan por amplificación y determinación del tamaño del fragmento a través de corrimiento electroforético (Del Bosque *et al.*, 2004).

El DNA se obtendrá usando la técnica con fenol <sup>(63)</sup>. Técnicas de PCR-SSCP (de las siglas single strand conformation polymorphism) y de secuenciación directa, como a continuación se describe.

## Técnica de PCR-SSCP

Este método se ha utilizado para la detección de mutaciones debido a su simplicidad y versatilidad. En este método la región de interés es amplificada por PCR a partir de DNA genómico seguido de una desnaturalización, con la finalidad

de formar hebra únicas, para posteriormente analizarlas por corrimiento electroforético en un gel de poliacrilamida no desnaturalizante (91,92). Las mutaciones son detectadas por diferencias de movilidad de las hebras de DNA entre los controles y las muestras a analizar. Esta técnica se utilizará para buscar cambios de migración en algunos de los exones y región exón-intrón del gen HNF-1 $\alpha$ .

Las condiciones para la amplificación por PCR de cada uno de los exones de los genes serán las siguientes: temperatura de desnaturalización 95°C durante 10 min y 94°C por 30 segundos, la elongación 72°C por 30 segundos, y 35 ciclos y un ciclo final de extensión a 72 °C por 10 minutos. La temperatura de alineamiento corresponde a cada par de oligonucleótidos utilizados para cada uno de los exones de los genes (ver cuadro 6 y 7). La mezcla para la PCR en un volumen total de 25 microlitos contiene: 2.5 ul de Buffer 10x , 0.5 nM MgCl<sub>2</sub>, 2.5 nM de cada dNTP (A,T,G), 0.2mM de dCTP, 100 ng de cada oligonucleotido, 1U fr Taq polimerasa , 100 ng de DNA genómico y 1 uCi de alfa-<sup>32</sup>P-dCTP.

De los amplicones marcados se tomaron 2 ul de cada muestra y se mezclan con 48 ul de una solución de 0.1% de NaDodSO<sub>4</sub> y 10 nM de EDTA (solución desnaturalizante), posteriormente se tomaron 10 ul de esta dilución para mezclarlas con 10 ul de una solución de formamida al 95%, 20 mM de EDTA, 0.05% de azul de bromofenol y 0.05% de cianol xileno, las mezclas se desnaturalizan a 95° C durante 5 minutos y se cargan 2 ul en un gel de poliacrilamida al 5%, con y sin glicerol al 10%, corriéndose con un buffer Tris-Borato -EDTA 1x a 4 Y 8 watts respectivamente durante toda la noche y a temperatura ambiente.

Para poder establecer la presencia de cambios de migración se analizarán simultáneamente 20 muestras de individuos controles en el mismo gel. Después de la electroforesis el gel será transferido a un papel Whatman 3M y se secará durante 1 hora en un secador de geles se contactará con una placa de autoradiografía Kodak a  $-70^{\circ}$  C, para permitir la observación indirecta de los productos de PCR desnaturalizados después de 24 hrs. de exposición. Las muestras en donde se observen migraciones anómalas serán analizadas por secuenciación directa de acuerdo al método descrito en el apartado de secuenciación automatizada de electroforesis capilar Applied Biosystems (3100 Genec analyzer) y el cual se detalla a continuación.

### **Secuenciación automatizada**

Para la secuenciación automatizada primero se realiza una primera amplificación por PCR de las muestras objetivo, las condiciones para esta son específicas para cada uno de los exones de HNF-1 $\alpha$ . La temperatura de desnaturalización de elongación y la de alineamiento son las mismas que se utilizaron para la PCR utilizada en el análisis PCR-SSCP, al igual que el numero de ciclos (tabla 4 y 5), con la salvedad que no se utiliza marca radioactiva. Los productos de la PCR son purificados con columnas QIAGEN (QIAquick PCR purification Kits catálogo No. 28106) como especifica el manual. Los amplicones purificados, se utilizan para una segunda reacción de PCR, en la cual se incorpora a los nuevos amplicones nucleótidos fluorescentes incluidos en el kit Big Dye. Este reactivo tiene incluida la enzima AmpliTaq. Los productos son cargados en el capilar del secuenciador, en el cual al ser inducidos por una rayo laser presentan fluorescencia y dependiendo de la estructura química del marcador (R6G para A, ROX para C, R110 para G y TAMRA para T), crean una cierta intensidad medida por el software de la computadora formando gráficos que darán lugar a un electroferograma. Para esta segunda reacción es necesario el oligonucleotido sentido o antisentido, según la

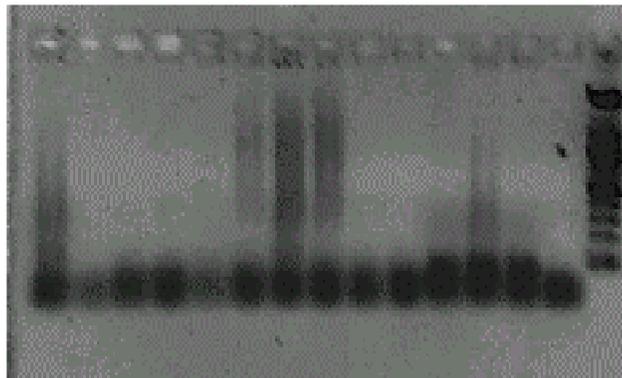
hebra que quiera ser secuenciada. Las condiciones de la PCR para la incorporación de los nucleótidos marcados son las siguientes: 2 microlitros del

reactivo BigDye, 3 microlitros de Buffer 5X, 1 microlitro de oligonucleotido, 1 microlitro de amplicon purificado y agua c.b.p. 20 microlitro. Como ultimo paso realizamos una segunda purificación de los nuevos productos de PCR , para esta purificación se utilizaron columnas CentriSep. Estos amplicones purificados se secan por 10 minutos en un Speedy Vac y por ultimo, se suspenden en una solución de Hi-Di formamida y se desnaturalizan a 96 C durante 2 minutos cargándose inmediatamente en el secuestrador.

Posterior a esto se realizo el análisis de los electroferogramas de las pacientes comparándolos con las de los controles además de las secuencias de ambos genes obtenidas de la base de datos del Gen Bank.

Se realizaron secuenciación de de aquellas muestras que presentaron migración anormal con respecto a los controles en la técnica de PCR SSCP (Figura 1).

Los exones 4 y 7 de HNF-1 $\alpha$  de las 75 muestras de DNA de las muestras don DG fueron analizados directamente por secuenciación. Lo anterior debido a que estudios previos en nuestro grupo identificaron mutaciones en estos 2 exones en una población mexicana con diabetes de aparición temprana <sup>(67)</sup>.



**Figura 1.**

## RESULTADOS.

Se estudiaron 123 pacientes de entre 21 y 50 años de edad con una edad promedio de 36 años de las cuales el 42.4% se consideraron como de edad materna avanzada ya que sobrepasaban los 35 años, no se encontraron adolescentes.

Se obtuvieron entre 4 y 12 % del total de pacientes con índice de masa corporal (IMC) mayor a 26 (obesidad) dependiendo del grupo problema.

En cuanto a los antecedentes familiares de diabetes se encontró que hasta en un 86% de los pacientes tenían por lo menos un familiar en línea directa con DM2.

	<b>HNF-1<math>\alpha</math></b>	<b>Calpaína 10</b>	<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	<b>CASQ-1</b>
<b>PROMEDIO EDAD</b>	36	33	33	34
<b>I.M.C. PACIENTES OBESAS</b>	9	6	6	12
<b>ANT. FAMILIARES</b>	65	81	81	71
<b>TOTAL PACIENTES</b>	75	123	123	94

En cuanto al análisis genotípico se han analizado el polimorfismo de inserción SNP-19 del gen de la calpaina-10 en 123 pacientes con DG y en un grupo control de 68 mujeres. Para el polimorfismo de PPAR $\gamma$  se han analizado un total de 75 pacientes y 68 sujetos control.

Para ambos polimorfismos tanto el grupo de pacientes como el control mostraron mantener el equilibrio Hardy-Weinberg lo que sugiere que no existen errores de genotipificación o sesgo en la conformación de ambos grupos.

En la tabla 1 se muestran las frecuencias genotípicas obtenidas para el SNP-19 en el grupo de pacientes de DG y el grupo control así como el estimado de OR (odds ratio) con los intervalos de confianza y los valores de significancia obtenidos.

En la tabla 2 se muestran las frecuencias genotípicas obtenidas para el polimorfismo P12A en el gen PPAR $\gamma$  en los dos grupos de estudio, el estimado de OR con los intervalos de confianza obtenidos así como los valores de significancia.

**TABLA 1. Frecuencias genotípicas obtenidas para el SNP-19 del gen de Calpaina-10**

Genotipo	DG	Controles	OR	P
2R/2R	13/123	31/68	1.66 (0.4-0.8)	0.47
2R/3R	70/123	32/68	1.53 (0.7-3.34)	0.28
3R/3R	40/123	5/68	0.53(0.241.19)	0.12

**TABLA 2. Frecuencias genotípicas obtenidas para el polimorfismo P12A del gen PPAR $\gamma$ .**

Genotipo	DG	Controles	OR	P
PP	7/75	8/68	0.72(0.28-1.88)	0.5
PA	42/75	37/68	1.04(0.58-1.89)	0.87
AA	26/75	23/68	1.08(0.58-2.01)	0.79

En el análisis de los exones del gen HNF-1 $\alpha$  se identificaron polimorfismos en los fragmentos correspondientes a los exones 1(L17L), 4(G288G), 7(LL459L, N487S, IVS7nt+7G>A) y 8(T515T). Estos cambios de secuencia fueron observados tanto en pacientes como en controles con frecuencias distintas. Todos estos polimorfismos ya han sido reportados en otras poblaciones <sup>(68)</sup>.

Algunos de los polimorfismos identificados en el gen HNF-1 $\alpha$  podrían estar relacionados a la susceptibilidad para el desarrollo de diabetes, particularmente los encontrados en el exón 7, el cambio N487S que resulta de un cambio de aminoácido. Otra posibilidad es que algunos de estos polimorfismos se encontrara cosegregando con otro cambio de secuencia en el mismo gen (e.g. en la región promotora) y por lo tanto fuera unicamente un marcador de asociación. Esto se conoce como desequilibrio de ligamiento. Por lo tanto, se hizo un análisis de la frecuencia alélica de los tres polimorfismos identificados en el exón 7 del gen HNF-1 $\alpha$ , con respecto a un numero igual de controles.

En la tabla 3 se describe el número de pacientes y controles con cada uno de los polimorfismos identificados y en la tabla 4 su frecuencia alélica.

Este análisis no mostró una diferencia estadísticamente significativa en el número de pacientes portadoras del polimorfismo L459L, N487S y IVS7ntG>A con respecto a los controles ( $p=0.2$ ,  $p=0.9$  y  $p=0.9$  respectivamente).

También en el análisis, tomando en cuenta la frecuencia alélica, no mostró una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.2$ ,  $p=0.9$  y  $p=1$  respectivamente).

Con lo anterior se concluye que los polimorfismos L459L, N487S e IVS7nt+7g>A de forma aislada no parecen participar en el desarrollo de la enfermedad (tabla 4).

**TABLA 3. Análisis de los polimorfismos L459L, N487S e IVSnt+7G>A del exón 7 de HNF-1 $\alpha$  en muestras de pacientes y controles.**

Localización	Cambio nucleotídico	Efecto	No. de pacientes con el cambio	No. de controles con el cambio	P
Codon 459	C/C	L	20	32	0.2
	C/T	L/L	39	31	
	T/T	L	16	12	
Codon 487	G/G	N	26	28	0.9
	A/G	N/S	39	37	
	A/A	S	10	10	
1501+7G>A	G/G	IVSnt+7G>A	26	27	0.9
	A/G		41	39	
	A/A		8	9	

El análisis estadístico no muestra una diferencia estadísticamente significativa entre las mujeres con DG con respecto a los controles.

**TABLA 4. Frecuencias alélicas en los polimorfismos L459L, N487S e IVS7nt+7G>A.**

Localización	Cambio nucleotídico	Efecto	Designación	Frecuencia	alélica
				DG	Controles
Codon 459	C/T	L(CTG)>L(TTG)	L459L	T, 0.47	T, 0.37
Codon 487	A/G	N(AAC)>S(GAC)	N487S	A, 0.39	A, 0.38
1501+7G>A	G/A	IVS7ntG/A	1501+7G>A	A, 0.38	A, 0.38

La frecuencia de cada base nucleotídica fue determinada en mujeres con DG (n=75) y en mujeres no relacionadas a la enfermedad (n=75). El diagnóstico de DG se realizó como se especifica en metodología. No existe diferencia significativa en la frecuencia alélica de los polimorfismos L459L, N487S Y 1501+7G>A: p=0.2, p=0.9 Y p=1 respectivamente.

El análisis estadístico de los haplotipos más frecuentes formados por los polimorfismos L459L, N487S Y 1501+7G>A se realizó en 75 mujeres con DG vs 75 mujeres controles. No se observaron diferencias estadísticas significativas (tabla 5).

**TABLA 5. Análisis de los haplotipos más frecuentes en mujeres con DG y controles considerando los polimorfismos L459L, N487 Y 1501+7G>A.**

Haplotipos	Pacientes	Controles	P
C/T459,G/A487, G/A1501+7G>A	30	27	>0.5
C/C459, A/A487, G/G1501+7G>A	14	24	0.1
T/T459, A/A487, A/A1501+7G>A	7	8	0.9
C/T459, G/G487, G/G1501+7G>A	5	3	>0.5

El análisis estadístico de los haplotipos más frecuentes formados por los polimorfismos L459L, N487S Y 1501+7G>A se realizó en 75 mujeres con DG vs 75 mujeres controles. No se observaron diferencias estadísticas significativas.

## **DISCUSION**

Un porcentaje importante de nuestras pacientes está considerado como de edad materna avanzada (43.6%) entre los 35 a 39 años, así como con obesidad (44.4%), ambos factores mencionados en la literatura como de riesgo para el desarrollo de la diabetes gestacional <sup>(69)</sup>.

Se sabe de la importancia de contar con antecedentes de familiares directos para diabetes mellitus como factor de riesgo para el desarrollo de DG. Del total de pacientes se encontraron que entre el 65 y 80% tenían al menos un familiar de línea directa con diabetes mellitus tipo 2.

En cuanto a la curva de reclasificación se encontró que en un 6.8% de las pacientes estuvo alterada, por lo que se clasificaron como diabéticas tipo 2, lo que coincide con la literatura mundial.

El total de pacientes diagnosticados tanto por tamiz como con curva de tolerancia a la glucosa oral, coinciden con los porcentajes mencionados en la literatura de acuerdo a los parámetros de Carpenter.

Existen pocos reportes en la literatura donde se analiza la participación del gen HNF-1 $\alpha$  en pacientes con DG. Es particularmente significativo que en la población de pacientes mexicanas estudiadas no se encontraran mutaciones. Todos los cambios identificados corresponden a polimorfismos, ninguno de los cuales parece participar en la susceptibilidad a desarrollar DG en nuestra población. En población alemana por ejemplo, la frecuencia de mutaciones en este gen es de aproximadamente 17%, mientras que en población suiza la frecuencia es del 1.5%. En nuestro estudio se identificó una sola paciente con el cambio G574S en el gen del HNF-1 $\alpha$ , un cambio previamente descrito como un polimorfismo. Este polimorfismo sin embargo tuvo una frecuencia muy baja (1.3%) ya que se

identificó en una sola paciente, por lo tanto no corresponde a un alelo de susceptibilidad común en la población mexicana.

Con lo que respecta a los otros polimorfismos identificados en el gen HNF-1 $\alpha$ , comprobamos que ninguno de estos participan en la susceptibilidad al desarrollo de la enfermedad no solo de forma individual, sino considerando también los haplotipos. Los tres polimorfismos encontrados en el exón 7 se han descrito en población caucásica y no se han relacionado al desarrollo de DG en esa población (68).

Es importante mencionar que el proyecto plantea la búsqueda de asociación a polimorfismos específicos o bien a haplotipos particulares en el caso del gen de la calpaina-10. En el caso del gen Calpaina-10 no parece estar asociado al desarrollo de DG en comparación con la DMT2 que posiblemente si se demuestre en conjunto con otros polimorfismos.

Así también el polimorfismo de PPAR $\gamma$ , P12A vinculado previamente al riesgo e manifestar DM2 y obesidad en distintas poblaciones de origen caucásico, en este estudio no se muestra asociación significativa. Cabe señalar que aun no se completa la tipificación del total de las muestras (pacientes y controles) y por lo tanto no es posible analizar los datos en cuanto al riesgo de manifestar DG en pacientes con y sin obesidad. Una vez concluido el estudio y de no confirmarse asociación se descartaría el papel de estos genes en la susceptibilidad de desarrollar DG en población mestiza mexicana.

Por ejemplo, dos de los polimorfismos en el gen de la Calpaína 10 asociados al riesgo a manifestar DM2 en población México-americana o mexicana mestiza, no parecen participar en el riesgo a desarrollar DG en la misma población. Por lo tanto, es necesario el diseño de estudios de mapeo genómico que nos permitan identificar los genes implicados en el desarrollo de la DG en la población mexicana.

Los datos para el estudio de los genes de CASQ 1 por el momento no se tienen tipificados los genes involucrados ya que la muestra tanto de paciente como de controles es insuficiente.

Los datos preliminares mostrados en este trabajo hacen evidente las diferencias genéticas que involucran a los distintos subtipos de diabetes.

Es indispensable continuar con esta línea de investigación, ya que la DG es la principal alteración metabólica y motivo de ingreso a unidades de medicina materno fetal con una elevada morbimortalidad perinatal. Es conveniente completar el total de pacientes y controles para obtener los resultados, además de incluir pacientes de todas las edades y de diferente condición social, con la colaboración de diferentes unidades hospitalarias.

Los datos preliminares del presente estudio hacen evidente la heterogeneidad genética subyacente a los diferentes subtipos de diabetes.

Los cuidados prenatales así como la educación para la salud permitirán disminuir la morbimortalidad en pacientes con DG.

## BIBLIOGRAFIA

1. Cabero Roura LI, Riesgo elevado obstétrico. Cap. 7 Diabetes y gestación, Edit. Masson. Barcelona España. 1996. Pág. 169, 170.
2. Rivera Rueda Ma, Bolaños Ancona R. " Hijo de madre diabética". Rev. De Perinatología, Vol. 13 No. 4 Oct-Dic 1998. Pág. 2.
3. Peel J. A historial review of diabetes and pregnancy. J Obstet Gynaecol Br Comm 1972; 79:385.
4. Fiorelli R. S, Alfaro R. Complicaciones médicas en el embarazo. Cap. 17 Diabetes mellitus en el embarazo, Edit. Mc Graw-Hill Interamericana. México D.F.1996. Pags; 155,159,162,169, 170.
5. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 20 (7):pags; 11888,1191. 1997.
6. Lerman Garber. Atención integral del paciente diabético. Cap. 2 Clasificación y diagnóstico de la Diabetes Mellitus, Cap. 28 Diabetes gestacional y la paciente diabética embarazada. Edit. Mc Graw – Hill Interamericana. D.F. 2a edición 1998. Pags; 18,297,298. 1998.
7. Satish C. Hertz R. Enfermedades endocrinas. Cap. 21 Diabetes en el embarazo. Edit. Interamericana. pags; 277, 302,303,304. 1991.
8. Darcy B. Garbe S. Gestational diabetes, detection, management and implications. Clin. Diabetes 16(1): Pags; 187, 189, 190. 1998.
9. Hollingsworth D. Pregnancy, diabetes and birth, a management guide. Caps: 4, 5,14 y 21. Edit. Williams and Wilkins. 2a edición. Baltimore USA. 1991. pags; 28,29,33,34,106 y 228.
10. Catalano P. Diabetes y embarazo. Edit. Mc Graw- Hill Interamericana. Philadelphia USA. Clinicas Obstetricas y ginecologicas. Vol 1/200 Pags;29,79,80,81,92,94,101,120,121,123,131.
11. Reece E. Diabetes durante el embarazo. Edit. Mc Graw –Hill Interamericana.Philadelphia USA. Clínicas de Ginecología y Obstetricia, Temas actuales. Vol 1/1996, Pags; 15,54,119.
12. Carpenter M. And Coustan. Criteria for screenin test for gestational diabetes. Am J Ostet Gynecol 144:Pag.768, 1982.

Evaluación de los genes HNF-1 $\alpha$ , PPAR- $\gamma$ , Calpaina-10 y calsequestrina en la susceptibilidad para desarrollar diabetes gestacional en la población mexicana.

13. Lorreine C. Atilano, et al. Alternative methods of diagnosing gestational diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181 :Pag. 1159.
14. Boyd E. Coustan. The organizing committee. Summary and recommendations of the fourth international Workshop-Conference on gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*, Vol. 21, supp 2, Augs 1998. Pags; B161 y B163.
15. Lynch M.J. Mellar. Métodos de laboratorio. Cap. Química Patológica. Edit. Interamericana. México 1972. Pag. 438.
16. Conway D. And Langer. Effects of new criteria for type 2 diabetes on the rate of postpartum glucose intolerance in women with gestational diabetes. *Am J Ostet Gynecol* 199; 181 Pag 111.
17. González de Agüero Laborda R. Fabre Gonzalez. Nutrición y dietética durante el embarazo. Edit, Masson 1996. Barcelona España. Pag 201.
18. Kyler J. Prevención y tratamiento de la diabetes y sus complicaciones. Clínicas medicas de Norteamérica. Vol. 4/1998. Pags. 769-772.
19. Aguilar-Salinas CA, Rojas R, Gómez-Pérez FJ, García E, Valles V, Rios-Torres JM, Franco A, Olaíz G, Sepúlveda J, Rull JA, Early onset type 2 diabetes in a Mexican, population-based, nation-wide survey. *Am. J. Med.* (2002) 113: 569-574.
20. Aguilar-Salinas CA, Velázquez-Monroy O, Gómez- Pérez FJ, González-Chávez A, Lara-Esqueda A, Molina-Cuevas V, Rull-Rodrigo J, Tapia-Conyer R, For the ENSA 2000 Group Characteristics of the patients with type 2 diabetes in Mexico: results from a large population-based, nation wide survey. *Diabetes Care* (2003) 26: 2021-2026.
21. Altshuler D, Hirschhorn JN, Klannemark M, Lindgren CM, Vohl MC, Nemesh J, Lane CR, Schaffner SF, bolk S, Brewer C, Tuomi T, Gaudet D, Hudson TJ, Daly M, Groop L, Lander ES. The common PPAR $\gamma$ Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nature Genetics* (2000a) 26:76-80.
22. Auboeuf D, Rieusset J, Fajas L, Vallier P, Frering V, Riou JP, Staels B, Auwerx J, Laville M, Vidal H: Tissue distribution and quantification of the expression of mRNAs of peroxisome proliferator-activated receptors and liver X receptor in humans: no alteration in adipose tissue of obese and NIDDM patients. *Diabetes* (1997) 46:1319–1327.

Evaluación de los genes HNF-1 $\alpha$ , PPAR- $\gamma$ , Calpaina-10 y calsequestrina en la susceptibilidad para desarrollar diabetes gestacional en la población mexicana.

23. Auwerx J. PPAR $\gamma$ , the ultimate thrifty gene. *Diabetología* (1999) 42:1033-1049.
24. Burmeister M. Basic concepts in the study of diseases with complex genetics. *Biol Psychiatry* (1999) 45:522-532.
25. Deeb SS, Fajas L, Nemoto M et al. A pro12ala substitution in PPAR-gamma-2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nature Genet* (1998) 20:284-287.
26. Del Bosque-Plata L, García-García E, Ramírez-Jiménez S, Cabello-Villegas J, Riba L, Gomez-León A, Vega-Hernandez G, Mendoza-Morfin F, Curiel-Perez O, Tusié-Luna MT, Analysis of the glucokinase gene in Mexican families displaying early-onset non-insulin dependent diabetes mellitus including MODY families. *Am. J. Med. Genet.* (1997) 72: 387-393.
27. Del Bosque-Plata L, Aguilar-Salinas CA, Tusié-Luna MT, Ramírez-Jiménez S, Rodríguez-Torres M, Erika Ramírez E, Velasco ML, Ramírez-Silva A, Gómez-Pérez F, Hanis CL, Cox NJ, Bell GI. Association of Variation in Calpain-10 with Type 2 Diabetes Mellitus in a Mexican Population *Molecular Genetics and Metabolism* (2004) 81:122-126.
28. Doria A, Yang Y, Malecki M, Scotti S, Dreyfus J, O'Keefee C, Orban T, Waram JH and Krolewski AS, Phenotypic Characteristics of Early-Onset Autosomal-Dominant Type 2 Diabetes unlinked to known MODY Genes. *Diabetes Care* (1999) 22(2): 253-261.
29. Elbein S: Perspective: The search for genes for type 2 diabetes in the post-genome era. *Endocrinology* (2002) 143(6): 2012-2018.
30. Elbrecht A, Chen Y, Cullinan CA, Hayes N, Leibowitz MD, Moller DE, Berger J: Molecular cloning, expression and characterization of human peroxisome proliferator activated receptors 1 and 2. *Biochem Biophys Res Commun* ( 1996) 224:431-437.
31. Froguel P, Zouali H, Vionnet N, Velho G, Vaxillaire M, Sun F, Lesage S, Stoffel M, Takeda J, Passa P, Permutt A, Beckman JS, Bell GI, Cohen D, Familial hyperglycemia due to mutations in glucokinase: definition of a subtype of diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* (1993) 328: 697-702.
32. Halushka, M.K. Han, J.B., Bentley, K., Hsie, L., Shen, N., Weder, A., Cooper, R., Lipshutz, R., and Chakravarti, A. Patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for blood pressure homeostasis. *Nature Genetics*. (1999) 22:239-247.

33. Hani EH, Suaud L, Boutin P, Chevre JC, Durand E, Philippi A, Demenais F, Vionnet N, Furuta H, Velho G, Bell GI, Laine B, Froguel P, A missense mutation in hepatocyte nuclear factor-4 alpha, resulting in a reduced transactivation activity, in human late-onset non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* (1998) 101: 521-526.
34. Hegele RA, Cao H, Harris SB, Zimman B, Hanley AJG, Anderson CM. Peroxisome proliferators-activated receptor-gamma2 P12A and type 2 diabetes in Canadian Oji-Cree. *J. Clin Endocrinol Metab* (2000) 85: 2014-2019.
35. Herrmann Stefan-Martin, Ringel Jens, Wang Ji-Guang, Staessen Juan A. and Brand Eva. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$ 2 Polymorphism Pro12Ala is Associated With Nephropathy in Type 2 Diabetes. *Diabetes* (2002) 51: 2653-2657.
36. Horikawa Y, Iwasaki N, Hara M, Furuta H, Hinokio Y, Cockburn BN, Lindner T, Yamagata K, Ogata M, Tomonaga O, Kuroki H, Kasahara T, Iwamoto Y, Bell GI, Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1 beta gene (TCF2) associated with MODY. *Nat. Genet.* (1997) 17: 384-385.
37. Horikawa Y, Oda N, Cox NJ, Li X, Orho-Melander M, Hara M, Hinokio Y, Lindner TH, Mashima H, Schwarz PE, del Bosque-Plata L, Horikawa Y, Oda Y, Yoshiuchi I, Colilla S, Polonsky KS, Wei S, Concannon P, Iwasaki N, Schulze J, Baier LJ, Bogardus C, Groop L, Boerwinkle E, Hanis CL, Bell GI. Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* (2000) 26: 163-175.
38. Kliewer SA, Willson TM. The nuclear receptor PPAR gamma-bigger than fat. *Curr Opin Genet Dev.* (1998) 8: 576-581.
39. Kong A, Cox NJ. Allele-sharing models: LOD scores and accurate linkage tests. *Am J Hum Genet.* (1997) 61(5):1179-1188.
40. Lefebvre A, Laville M, Vega N, Riou JP, van Gaal L, Auwerx J, Vidal H: Depot specific differences in adipose tissue gene expression in lean and obese subjects. *Diabetes* (1998) 47:98-103.
41. Macfarlane WM, Frayling TM, Ellard S, Evans JC, Allen LI, Bulman MP, Ayres S, Shepherd M, Clark P, Millward A, Demaine A, Wilkin T, Doherty K, Hattersley AT, Missense mutations in the insulin promoter factor-1 gene predispose to type 2 diabetes. *J. Clin. Invest.* (1999) 104: R33-9.

42. Malecki MT, Jhala US, Antonellis A, Fields L, Doria A, Orban T, Saad M, Warram JH., Montminy M, Krolewski AS, Mutations in NEUROD1 are associated with the development of type 2 diabetes mellitus. *Nat. Genet.* (1999) 23: 323-328.
43. Mukherjee R, et al. Sensitization of diabetic and obese mice to insulin by retinoid X receptor agonists. *Nature* (1997) 386: 407-410.
44. Masugi J, Tamori Y, Mori H, Koike T, Kasuga M. Inhibitory effect of a proline-to-alanine substitution at codon 12 of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  2 on thiazolidinedione-induced adipogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* (2000) 268:178-182.
45. Ohnishi, Y., Tanaka, T., Yamada, R., Suematsu, K., Minami, M., Fujii, K., Hoki, N., Kodama, K., Nagata, S., Hatashi, T., Kinoshita, N., Sato, H., Sato, H., Kuzuya, T., Takeda, H., Hori, M., and Nakamura, Y. Identification of 187 single nucleotide polymorphisms (SNPs) among 41 candidate genes for ischaemic heart disease in the Japanese population. *Hum Genet.* (2000) 106:288-292.
46. Reich DE, Cargill M, Bolk S, Ireland J, Sabeti PC, Richter DJ, Lavery T, Kouyoumjian R, Farhadian SF, Ward R, Lander E. Linkage disequilibrium in the human genome. *Nature* (2001) 411: 199-204.
47. Sakurai K, Seki N, Fujii R, Yagui K, Tokuyama Y, Shimada F, Makino H, Suzuki Y, Hashimoto N, Saito Y, Egashira T, Matsui K, Kanatsuka A, Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4 $\alpha$  gene in Japanese with non-insulin-dependent diabetes: a nucleotide substitution in the polypyrimidine tract of intron 1b. *Horm. Metab. Res.* (2000) 32: 316-320.
48. Shearman AM, Karasik D, Gruenthal KM, Demissie S, Cupples LA, Housman DE, Kiel DP. Estrogen receptor Beta polymorphisms are associated with bone mass in women and men: the framingham study. *J Bone Miner Res* (2004) 19:773-81.
49. Siddiqui A, Kerb R, Weale ME, Brinkmann U, Smith A, Goldstein DB, Wood NW, Sisodiya SM. Association of multidrug resistance in epilepsy with a polymorphism in the drug-transporter gene ABCB1. *N Engl J Med.* (2003) 348(15):1442-8.
50. Spiegelman BM: PPAR- $\gamma$ : adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes* (1998) 47:507-514.
51. Spielman R, McGinnis R, Ewens W: Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and Insulin-Dependent Diabetes Mellitus (IDDM). *Am. J. Hum. Genet.* (1993) 52: 506-516.

Evaluación de los genes HNF-1 $\alpha$ , PPAR- $\gamma$ , Calpaina-10 y calsequestrina en la susceptibilidad para desarrollar diabetes gestacional en la población mexicana.

52. Stoffers DA, Ferrer J, Clarke WL., Habener JF, Early-onset type- II diabetes (MODY4) linked to IPF-1. *Nat. Genet.* (1997) 17: 138-139.
53. The International SNP Map Working Group. A map of human genome Sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* (2001) 409: 928-932.
54. Yamagata K, Furuta H, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Cox NJ, Fajans SS, Signorini S, Stoffel M, Bell GI, Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4 alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY1). *Nature* (1996) 384: 458-460.
55. Triggs-Raine BL, Kirkpatrick RD, Kelly SL, Norquay LD, Cattini PA, Yamagata K, Hanley AJ, Zinman B, Harris SB, Barrett PH, Hegele RA, HNF-1alpha G319S, a transactivation-deficient mutant, is associated with altered dynamics of diabetes onset in an Oji-Cree community. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* (2002) 99: 4614-4619.
56. Velho G, Robert JJ, Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY): Genetic and Clinical Characteristics. *Horm. Res.* (2002) 57: 29-33.
57. Vidal-Puig AJ, Considine RV, Jimenez-Linan M, Werman A, Pories WJ, Caro JF, Flier JS: Peroxisome proliferator-activated receptor gene expression in human tissues: effects of obesity, weight loss, and regulation by insulin and glucocorticoids. *J Clin Invest* (1997) 99:2416–2422.
58. Werman A, Hollenberg A, Solanes G, Bjorbaek C, Vidal-Puig AJ, Flier JS: Ligand-independent activation domain in the N-terminus of peroxisome proliferator-activated receptor : differential activity of PPA R -1 and -2 isoforms and influence of insulin. *J Biol Chem* (1997) 272:20230–20235.
59. Yamagata K, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Furuta H, Vaxillaire M, Shoutham L, Cox RD, Lahtrop GM, Boriraj VV, Chen X, Cox NJ, Oda Y, Yano H, Le Beau MM, Yamada S, Nishigori H, Takeda J, Fajans SS, Hattersley AT, Iwasaki N, Hansen T, Pedersen O, Polonski KS, Turner RC, Velho G, Chèvre JC, Froguel P, Bell GI, Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1 alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY3). *Nature* (1996) 384: 455-458.
60. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J, Global and social implications of the diabetic epidemic. *Nature* (2001) 414: 782-787.