



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EVALUACIÓN DE LA MUTACIÓN T130I DEL GEN
HNF4 A Y A45T DEL GEN NEUROD1/BETA2 EN
DIABETES GESTACIONAL.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA-BIÓLOGA

P R E S E N T A :

NADIA VERA PARRALES



MÉXICO D. F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Dra. María de los Ángeles Granados Silvestre.

VOCAL: Dra. María Guadalupe Ortiz López.

SECRETARIO: Dra. Marta Alicia Menjívar Iraheta.

SUPLENTE 1: Dra. Sobeida Sánchez Nieto.

SUPLENTE 2: Dra. Nora Andrea Gutiérrez Nájera

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio 202 edificio F, Facultad de Química y Laboratorio de Endocrinología Molecular, Hospital Juárez de México (Convenio UNAM y HJM).

ASESOR: Dra. Marta Alicia Menjívar Iraheta. _____

SUSTENTANTE: Nadia Vera PARRALES. _____



Agradecimientos.

*El principio y el fin de todas las cosas
residen en el corazón del hombre.
Tolstoi.*

Este trabajo lo quiero dedicar con todo mi afecto a las personas que siempre me han apoyado incondicionalmente. Muchas gracias por las enseñanzas que me brindaron, cariño y paciencia.

Particularmente:

- *A mis padres: **Irma Parrales Vega**, por demostrarme que siempre se tiene que luchar por lo que se desea, que nada es imposible y que la mejor recompensa es la vida misma. **Francisco S. Vera Gutiérrez**, gracias por enseñarme que en la vida no todo es digno de tomarse en serio y que a veces hay que tocar el suelo para tener la oportunidad de ascender. A ambos gracias por su paciencia, cariño, apoyo incondicional, por existir.*
- *A mi hermana **Diana** y a mis sobrinos **Tristán** y **Dahlia**. Por ayudarme a nunca perder la capacidad de sorprenderme y sobre todo por las inmensas alegrías compartidas.*
- *A mis tíos: **Oliva**, por los momentos compartidos y las enseñanzas. **Dolores**, **Leticia** y **Sergio**, por impulsarme a seguir adelante.*
- ***Francisco R. Canales Ruiz**. Tú eres la prueba fehaciente de que todo pasa por algo, fui muy afortunada en conocerte, y lo soy más al compartir la mayoría de mis alegrías contigo. Gracias, han sido los mejores años en mi vida.*
- *A mis incondicionales “hermanas” **Gabriela González** y **Wilma Campos**, por el apoyo, cariño y todas las buenas experiencias, todo lo que hemos aprendido juntas no lo cambiaría por nada.*



Vera PARRALES Nadia.

- *A mis primos, en especial a Susana, Jonathan, Penélope y Edgar por los buenos momentos compartidos.*
- ***Dra. Marta Menjívar**, por brindarme la dicha de trabajar con usted, por las enseñanzas y los consejos.*
- ***Dra. Guadalupe Ortiz**, por darme su apoyo para realizar esta tesis y ofrecerme su amistad sincera.*
- ***Dra. Ma. De Los Ángeles Granados**, gracias por todas las atenciones, ayuda y consejos tanto en lo profesional como en la vida misma.*
- ***La fundación de asistencia privada Alberto y Dolores Andrade, I.A.P**, gracias por confiar siempre en mi, ayudarme y apoyarme en los momentos difíciles.*
- *A los que me han alentado a seguir siempre adelante: **Alfredo Jiménez L, Óscar Iván Luqueño, Paulina Méndez, Yazmín Salazar, Roxana Hermoso, Memo Velázquez, Yuribi Lucena, Juan Voutssas, Montserrat Pérez, Ángeles Flores, Alejandra Herrera, Lluvia De Gante, etc.***
- *A mis amigos y compañeros del laboratorio 202 y Hospital Juárez de México: **Roxana Gutiérrez, Adriana Trejo, Náyade Montero, Helena García, Agustín Vega, Ana Martínez, Itzel Benítez Cervantes y Jorge I. Pérez Rincón,***
- *Y a todos los que siempre me ofrecieron una mano amiga en los momentos difíciles.. ¡MIL GRACIAS!*

*Índice.*

Índice de figuras.	7
Índice de diagramas	8
Índice de tablas.	8
Índice gráficas.	9
Abreviaturas.	10
Glosario.	11
Capítulo I. Introducción	17
Capítulo II. Planteamiento del problema.	19
Capítulo III. Fisiología del páncreas y sus funciones.	20
Capítulo IV. Insulina y sus efectos metabólicos.	22
Capítulo V. Diabetes mellitus.	30
Capítulo VI. Diabetes mellitus gestacional.	35
Capítulo VII. Factores genéticos que predisponen al desarrollo de la DMG.	59
Capítulo VIII Factores de transcripción.	63
Capítulo IX. Objetivos.	78
Capítulo X. Hipótesis.	78
Capítulo XI. Justificación.	79
Capítulo XII. Material y métodos.	80
Capítulo XIII. Resultados.	99
Capítulo XIV. Discusión de resultados.	108
Capítulo. XV Conclusiones.	118



ANEXO I. Carta consentimiento aplicada a las embarazadas del Hospital Juárez de México.	119
ANEXO II. Cuestionario aplicado a las embarazadas del Hospital Juárez de México.	120
ANEXO III. Formato para la entrega de los resultados bioquímicos de las pacientes del Hospital Juárez de México.	121
ANEXO IV. Secuenciación de las muestras empleadas como control positivo en el RFLP.	122
Bibliografía.	126



Índice de figuras.

- Figura 1. Células que conforman al páncreas y su distribución.
- Figura 2. Proinsulina humana.
- Figura 3. Etapas que involucran la maduración de la insulina.
- Figura 4. Fases de la secreción de la insulina.
- Figura 5. Procesos que intervienen en la secreción de la insulina.
- Figura 6. Interacción de la insulina con su receptor y efectos de esta hormona.
- Figura 7. Principales causas de mortalidad en México, 2005.
- Figura 8. Prevalencia de diabetes gestacional.
- Figura 9. CTGO en una persona normal y en una persona diabética.
- Figura 10. Estructura general de los receptores hormonales nucleares.
- Figura 11. El gen de *HNF4 A* codifica para nueve isoformas.
- Figura 12. Estructura del gen *HNF 4 A* y localización de las mutaciones encontradas.
- Figura 13. Muestra las mutaciones encontradas en la secuencia codante asociada *MODY1*, sólo la mutación en heterocigoto se ha identificado.
- Figura 14. *NeuroD1* codifica para un factor de transcripción clase B hélice-loop-hélice básico (bHLH)
- Figura 15. Morfología del islote y muerte celular en el páncreas de *NeuroD*-null.
- Figura 16. *NeuroD* ha sido implicado en la regulación del gen de *SUR1*, el cual conforma el canal de potasio junto con *Kir6.1*. Cuando se cierra este canal de potasio, se abre el canal de calcio y se aumenta el nivel intracelular de calcio.
- Figura 17. Estructura del gen *NeuroD1* y posiciones de los polimorfismos.



- Figura 18. Mecanismos de corte de las enzimas de restricción.
- Figura 19. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) preparativo del exón 4 de *HNF4A* para el estudio de la mutación T130.
- Figura 20. Productos de la digestión del PCR preparativo con la enzima Sfu I.
- Figura 21. PCR preparativo del exón 2 de *NeuroD1/beta*.
- Figura 22. Productos de la digestión del PCR preparativo con la enzima MwoI

Índice de diagramas.

- Diagrama 1. Resumen esquemático del efecto transgeracional de la diabetes materna durante el embarazo.
- Diagrama 2. Resumen esquemático del efecto transgeracional de la mala nutrición materno/fetal

Índice de tablas.

- Tabla 1. Acción de la insulina en diferentes tejidos.
- Tabla 2. Comparación de los métodos para el diagnóstico de DMG, así como los valores límites para una eficiente detección.
- Tabla 3. Valores establecidos en la NOM-015-SSA2-1994 para realizar el tamiz de glucosa en mujeres embarazadas.
- Tabla 4. Valores máximos para la CTGO empleados en el Hospital Juárez de México. Dos o más valores iguales o superiores al punto de corte son necesarios para el diagnóstico.
- Tabla 5. Clasificación de White de la diabetes. Modificada por Hare en 1989.
- Tabla 6. Factores de transcripción relacionados con el desarrollo de diabetes tipo MODY.



- Tabla 7. Factores de transcripción que controlan el desarrollo pancreático y la función de las células beta.
- Tabla 8. Comparación entre los parámetros obtenidos del grupo control y de las pacientes mediante t de student.
- Tabla 9. Genotipo y distribución alélica de la variación T130I de *HNF4 A* y A45T de *NeuroD1/beta2*.
- Tabla 10. Peso de los bebés al momento de nacer del grupo control y de las pacientes.

Índice de gráficas.

- Gráfica 1. Comparación del promedio \pm DS de la concentración de glucosa en ayuno, del grupo DMG y el grupo control.
- Gráfica 2. Promedios de la concentración de glucosa obtenidos en la CTGO del grupo con DMG y el grupo control.
- Gráfica 3. Perfil de lípidos de pacientes con DMG y controles. $p > 0.05$ con IC 95% para el colesterol total y para triglicéridos.
- Gráfica 4. Comparación del promedio \pm DS de ácido úrico entre el grupo DMG y el grupo control .
- Gráfica 5. Evaluación renal mediante valores séricos de creatinina y urea.
- Gráfica 6. Promedios de la concentración de glucosa obtenidos en la CTGO de los diferentes genotipos.



Abreviaturas.

ADA	Asociación Americana de Diabetes.
ADN	Ácido desoxirribonucleico.
ADP	Adenosin difosfato.
ARN	Ácido ribonucleico.
ATP	Adenosin trifosfato.
CTGO	Curva de Tolerancia a la Glucosa Oral.
DM	Diabetes mellitus.
DMG	Diabetes mellitus gestacional.
DMT1	Diabetes mellitus tipo 1.
DMT2	Diabetes mellitus tipo 2.
ENSA	Encuesta Nacional de Salud
GLUT	Transportadores de glucosa, sensibles a insulina.
IGF	Factores de Crecimiento Parecidos a la Insulina.
IMC	Índice de Masa Corporal.
INSP	Instituto Nacional de Salud Pública.
IRS	Sustratos Receptores de Insulina.
MODY	Maturity-Onset Diabetes of the Young.
NDDG	National Diabetes Data Group.
OMS	Organización mundial de la salud.



Glosario.

- *Alelo, formas alternativas de un gen en un mismo locus.
- *Aminoácido, monómero que al unirse covalentemente mediante el enlace peptídico forma cadenas polipeptídicas.
- *Autosomas, cromosomas diferentes a los cromosomas sexuales. En seres humanos existen 22 pares de autosomas.
- *Carácter autosomal dominante, fenotipo que se expresa en condición heterocigoto.
- *Cetoacidosis, complicación aguda, por deficiencia casi absoluta de la secreción de insulina y de la hiperglucemia que de ahí resulta. Tal situación conduce al catabolismo de las grasas como fuente de energía, produciendo la formación de cuerpos cetónicos, lo cual se manifiesta como acidosis metabólica. Esta condición puede ser precipitada por estrés, infecciones, otras enfermedades, alimentación inadecuada o la omisión del tratamiento.
- *Cetosis, acumulación de cuerpos cetónicos, en los tejidos y líquidos corporales.
- *Detección o tamizaje, búsqueda activa de personas con diabetes no diagnosticada, o bien con alteración de la glucosa.
- *Diabetes, enfermedad sistémica, crónico-degenerativa, de carácter heterogéneo, con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales, y que se caracteriza por hiperglucemia crónica debido a la deficiencia en la producción o acción de la insulina, lo que afecta al metabolismo intermedio de los hidratos de carbono, proteínas y grasas.



*Diabetes gestacional (DMG), es un trastorno en el cual se detecta una resistencia a la insulina ocasionando un nivel elevado de glucosa en sangre; se presenta por vez primera durante el embarazo de una mujer sin diagnóstico previo de diabetes.

*Diabetes Tipo 1, al tipo de diabetes en la que existe destrucción de células beta del páncreas, generalmente con deficiencia absoluta de insulina.

*Diabetes tipo 2, al tipo de diabetes en la que hay capacidad residual de secreción de insulina, pero sus niveles no superan la resistencia a la insulina concomitante, insuficiencia relativa de secreción de insulina o cuando coexisten ambas posibilidades y aparece la hiperglucemia.

*DNA, ácido desoxiribonucleico. Polímero formado por la unión covalente de nucleótidos. Un nucleótido (Adenina, Timina, Guanina, Citosina), un azúcar (2' deoxiribosa) y un fosfato.

*Dominancia, se refiere a la relación entre un par de alelos. El alelo dominante es aquel cuyo fenotipo se expresa en los heterocigotos. El alelo recesivo es aquel cuya expresión se enmascara en el heterocigoto.

*Factores transcripcionales, son proteínas específicas que requieren cada una de las RNA polimerasas eucariontes para el inicio de la transcripción. Cada polimerasa utiliza un conjunto específico de factores de transcripción.

*Factor de riesgo, al atributo o exposición de una persona, una población o el medio, que están asociados a la probabilidad de la ocurrencia de un evento.



*Fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLP). Son uno de los marcadores moleculares de mayor utilización en mejoramiento genético. Para obtener un patrón de RFLP se debe aislar DNA, se digiere con enzimas de restricción y se analizan.

*Glucotoxicidad, hiperglucemia que inhibe la acción periférica de la insulina y su producción por parte de las células beta.

*Hiperglucemia en ayuno, a la elevación de la glucosa por arriba de lo normal (>110 mg/dl), durante el periodo de ayuno. Puede referirse a la glucosa alterada en ayuno, o a la hiperglucemia compatible con diabetes, dependiendo de las concentraciones de glucosa según los criterios especificados en la NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria para quedar como Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes.

*Hiperplasia, aumento de tamaño de un órgano de un tejido, provocado debido a que sus células han aumentado en número. Puede producirse en los tejidos cuyas células se pueden multiplicar

*Hipertrofia, un aumento del tamaño de un órgano cuando se debe al aumento correlativo en el tamaño de las células que lo forman; de esta manera el órgano hipertrofiado tiene células mayores, y no nuevas.

*Hipoglucemia, niveles bajos de azúcar en la sangre; algunas veces se le llama reacción a la insulina y ocurre cuando el azúcar en la sangre baja en exceso.



*Homocigoto: Se refiere a la existencia de alelos iguales en un locus. Por ejemplo son homocigotos los genotipos V V y v v, denominándose homocigotos dominantes y recesivos respectivamente.

*Índice de Masa Corporal o índice de Quetelet, al peso corporal en kilogramos, dividido entre la estatura en metros elevada al cuadrado (kg/m^2).

*Individuo en riesgo, a la persona con uno o varios factores para llegar a desarrollar diabetes.

*Material genético, moléculas informacionales que presentan la capacidad de autoduplicarse y de expresar la información que contienen en la síntesis de polipéptidos específicos. En células eucariotas y procariotas el material genético es DNA de doble hebra

* Microalbuminuria, a la excreción urinaria de albúmina, entre 20 y 200 $\mu\text{g}/\text{min}$, o bien de 30 a 300 mg durante 24 horas en más de una ocasión, en un paciente sin traumatismo o infección renal, y fuera del periodo menstrual.

*Mutación, cambio en el material genético.

*Mutación por sustitución de par de bases, cambio en un gen relacionado con el cambio de un par de bases por otro.

*Nefropatía diabética, complicación tardía de la diabetes. Se refiere al daño predominantemente de tipo glomerular, con compromiso intersticial; frecuentemente se añade daño por hipertensión arterial.



*Neuropatía diabética, neuropatía somática que afecta los nervios sensitivos y motores voluntarios y puede corresponder a un daño difuso (polineuropatía) o localizado en un nervio (mononeuropatía). La neuropatía autonómica (visceral) se manifiesta por diarrea, gastroparesia, vejiga neurogénica, disfunción eréctil e hipotensión ortostática, entre otras complicaciones.

*Primer, es una secuencia oligonucleotídica corta necesaria para iniciar la replicación del DNA.

*Peso corporal, de acuerdo con el IMC, se clasifica de la siguiente manera: IMC >18 y <25 , peso recomendable; IMC >25 y <27 , sobrepeso; IMC >27 , obesidad (kg/m^2).

* Polimorfismos de un único nucleótido (SNPs). Es el tipo de polimorfismo más común en el genoma humano, y se refiere a la diferencia en un solo par de bases de un gen, con respecto al mismo gen en otro individuo. Los SNPs son estables y en promedio se encuentran cada 1000 pb en el genoma. Aquellos incluidos en secuencias codificadoras se llaman cSNPs y pueden ser utilizados como marcadores de enfermedades.

*Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), es un método *in vitro* para la amplificación enzimática de secuencias específicas de DNA. Utiliza iniciadores y la DNA polimerasa Taq. La secuencia de DNA se amplifica 10^6 veces.

*Retinopatía diabética, cuando en la retina existe compromiso de los vasos pequeños, incluyendo los capilares, con aumento de la permeabilidad, que permite la salida de lípidos formando exudados duros, obstrucción de vasos con infartos, produciéndose los exudados blandos. Puede haber ruptura de vasos, causando microhemorragias; la formación de nuevos por hipoxia puede condicionar hemorragias masivas.



*Síndrome metabólico, a las diversas manifestaciones y entidades con una característica común: resistencia a la insulina. Dentro de estas entidades se encuentran: HTA, obesidad, dislipidemia, hiperuricemia, diabetes o intolerancia a la glucosa, elevación de fibrinógeno, microalbuminuria, elevación del factor de von Willebrand, elevación de ferritina.

*Termociclador, instrumento que permite ejecutar en forma automatizada la técnica de PCR. Mediante la aplicación de ciclos térmicos secuenciales ocurre la desnaturalización, hibridación y síntesis de DNA.

*Wild-type o tipo silvestre, se refiere al alelo "normal", aquel que predomina en la población.



CÁPITULO I.

Introducción.

La diabetes afecta actualmente a más de 194 millones de personas en el mundo y se espera que alcance los 333 millones en 2025.¹ La mayoría de los casos se presentan en países en vías de desarrollo.

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) representa la primera causa de muerte en México, y se estima que esta enfermedad afecta al 10.9% de la población entre 20 y 69 años según la Encuesta Nacional de Salud (ENSA).² Alrededor del 30% de los individuos afectados desconoce que la padece.

Una proporción importante de personas desarrolla la enfermedad antes de los 45 años de edad. Anteriormente, esta enfermedad se presentaba primordialmente en personas adultas mayores, pero en la actualidad afecta a personas cada vez más jóvenes, por lo que al vivir más años con las complicaciones que genera la diabetes, disminuye su calidad de vida.

Se estima que en México la diabetes es la primera causa de ceguera adquirida en edad productiva³, también es la primera causa de amputaciones no traumáticas de miembros inferiores y de insuficiencia renal crónica. Esto representa un gasto importante tanto para el paciente, como para el sector salud. El Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) estima un gasto anual de más de 3 mil millones de pesos destinado al tratamiento de la DMT2. Por lo cual es de suma importancia que se

¹ <http://mexico.pmfarma.com/noticias/noti.asp?ref=1359>

² Olaiz G, Rojas R, Barquera S, Shamah T, Aguilar C, Cravioto P, et al. Encuesta Nacional de Salud 2000 Tomo 2. La salud de los adultos. Cuernavaca, Morelos. México: Instituto de Salud Pública; 2003.

³ <http://special.radioextremo.com/Salud/1717.html>



planeen estrategias para realizar acciones preventivas y evitar la gran incidencia de esta enfermedad o al menos retrasar su aparición.

Se ha demostrado que la diabetes es una de las pocas enfermedades que afectan más a mujeres que a hombres. En 2003, tres mil 799 personas murieron por diabetes, de las cuales poco más de dos mil fueron mujeres⁴.

Un antecedente de la DMT2 en ciertas mujeres es la diabetes mellitus gestacional (DMG). La DMG es una forma de intolerancia a la glucosa de grado variable que se diagnostica por primera vez en algunas mujeres durante el embarazo. La DMG posee una prevalencia del 10% después del parto y la tasa de incidencia es de 5% a 10% por año después del diagnóstico.

La prevalencia de la DMG en diferentes poblaciones oscila entre el 0.15% al 15%, en México el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes de la Secretaría de Salud, estableció una prevalencia de 19.7% de la DMG. Debido a que en la mayoría de los casos la DMG en México evoluciona a DMT2 hasta en un 50.4%, el estudiar esta enfermedad mantiene un gran potencial para el estudio de la patogénesis de la DMT2.

La DMG al igual que la DMT2 es enfermedad poligénicas y multifactoriales. Por lo que el realizar un estudio genético puede contribuir significativamente a comprender la etiopatogenia de la enfermedad y a pronosticar tempranamente a las personas más susceptibles a padecerla.

A nivel molecular, se han realizado estudios que evalúan mutaciones y polimorfismos en los genes que codifican para los factores de transcripción relacionados con el desarrollo y función de las células beta del páncreas, ya que las personas que presenten estas modificaciones son más susceptibles a desarrollar DMT2.

⁴ <http://www.eatlas.idf.org/webdata/docs/Atlas%202003-Extracto.pdf>



CAPÍTULO II.

Planteamiento del problema.

El presente trabajo se enfoca específicamente en la búsqueda de las mutaciones T130I del gen *HNF4A* y en el polimorfismo A45T del gen de *NeuroD1/beta2* en pacientes con DMG.

En la población mexicana se ha encontrado una alta frecuencia de la mutación T130I del gen *HNF4A*, el cual está implicado en la homeostasis de la glucosa en las células beta pancreáticas y el hígado. Además regula la expresión de genes relacionados con el metabolismo de la glucosa y la secreción de insulina.

Por otra parte la mutación A45T del gen de *NeuroD1/beta2*, se ha asociado a la aparición temprana de DT2. *NeuroD1/beta2* es un gen que está implicado en el desarrollo de las células beta pancreáticas.

Por lo que evaluar estas mutaciones nos aportará mayor información para poder implementar acciones preventivas en pro de retrasar la aparición de la DMT2, e incluso poder evitarla.

CAPÍTULO III.

Fisiología del páncreas y sus funciones ⁵.

El páncreas está situado en el abdomen superior, detrás del estómago, entre el bazo y el duodeno. Tiene un peso aproximado de 80 gramos. Es una glándula mixta que está constituida principalmente por dos tipos de tejidos:

1.- Los acinos, que secretan el jugo pancreático dentro del duodeno, ayudando a la digestión de las grasas y las proteínas por las enzimas que ahí van contenidas. 2.- Las células que conforman los islotes de Langerhans, que secretan hormonas como la insulina, glucagón, entre otras, directamente a la sangre. (**Figura 1**).

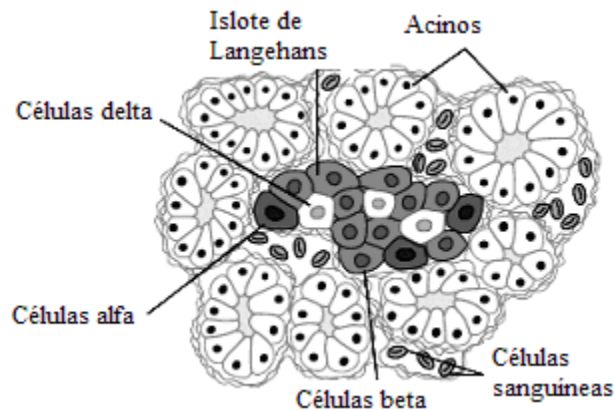


Figura 1. Células que conforman al páncreas y su distribución ⁵.

El páncreas humano posee de 1 a 2 millones de islotes de Langerhans, cada uno de 0.3 milímetros de diámetro, organizado alrededor de pequeños capilares dentro de los cuales secreta sus hormonas.

⁵ Guyton & Hall: Textbook of Medical Physiology. UNIT XIV Endocrinology and Reproduction. 961. Edición 11.



El islote de Langerhans está compuesto de cuatro tipos de células principalmente. Las células beta constituyen un 60% de todas las células de los islotes, se localizan en la parte central de cada islote y secretan insulina y amilina. Las células alfa constituyen alrededor de 25% del total y secretan glucagón. Las células delta constituyen alrededor de 10% del total y secretan somatostatina.

Además existe al menos otro tipo de células, las células PP, que están presentes en pequeñas cantidades en los islotes y secreta una hormona llamada polipéptido pancreático.

Existe una interrelación entre estos tipos de células en los islotes de Langerhans; por ejemplo, la insulina inhibe la secreción de glucagón, la amilina inhibe la secreción de insulina, y la somatostatina inhibe la secreción de insulina y glucagón.



CAPÍTULO IV.

Insulina y sus efectos metabólicos.^{5,6}

La insulina fue aislada del páncreas por primera vez en 1922 por Banting y Best. En la actualidad se emplea insulina humana recombinante para la terapéutica de la diabetes. La insulina tiene grandes efectos en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos. Se sabe que pacientes con diabetes prolongada, presentan una disminución en la capacidad para sintetizar proteínas, que conduce a la pérdida de los tejidos, así como muchos otros trastornos en la función de la célula. La función de la insulina es regular la concentración de glucosa tanto en ayuno como en alimentación. La secreción de esta hormona se regula con los alimentos, hormonas gastrointestinales, hormonas pancreáticas y neurotransmisores del sistema nervioso autónomo.

Las sustancias que favorecen la secreción de insulina son: la glucosa, los aminoácidos, los ácidos grasos y cuerpos cetónicos. Los agonistas de los receptores beta 2 adrenérgicos y estímulos del nervio vago. Los factores que inhiben la secreción de la insulina son la estimulación de los receptores alfa 2 adrenérgicos. La hipoxia, hipotermia, inervación quirúrgica o quemaduras graves, activan al sistema nervioso autónomo por el estímulo de los receptores alfa 2 adrenérgicos.

La insulina humana es una proteína pequeña que tiene un peso molecular de 5808 kDa (**Figura 2**). Esta compuesta de dos cadenas de aminoácidos la A y la B con 21 y 30 aminoácidos respectivamente. Estas cadenas están conectadas entre sí por 2 puentes disulfuro intercatenarios conectados A7 con B7, y A20 con B19, y un puente disulfuro intracatenario en la cadena A en los

⁶ Stephen N.Davis y Daryl K. Granner. Capítulo 60 Insulina, fármacos hipoglucemiantes orales y propiedades farmacológicas del páncreas endocrino. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Novena edición. Editorial McGraw-Hill vol.2 México 1996. pp 1581-1613.

residuos de los aminoácidos 6 y 11. Cuando las dos cadenas de aminoácidos que se separan, la actividad funcional de la molécula de insulina se pierde.

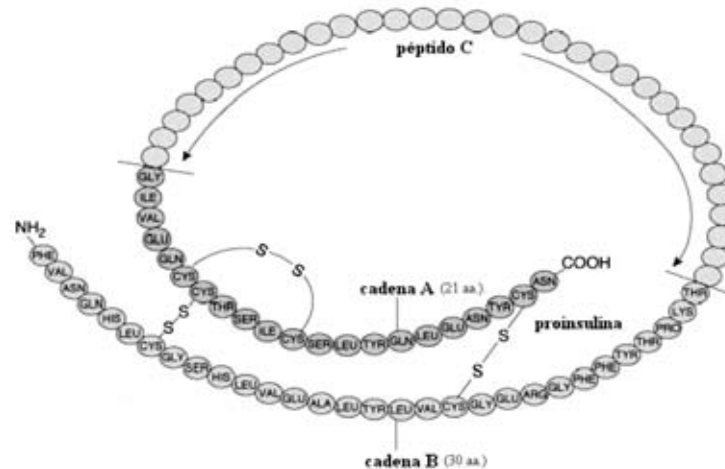


Figura 2. Proinsulina humana ².

La insulina se sintetiza en las células beta (**Figura 3**) mediante la traducción del ARN mensajero por los ribosomas en el retículo endoplásmico para formar la preproinsulina (110 aminoácidos). Esta primera preprohormona tiene un peso molecular de aproximadamente 11500 kDa, la cual se escinde en el retículo endoplasmático para formar la proinsulina que posee un peso molecular de aproximadamente 9000 kDa. La mayor parte se escinde en el aparato de Golgi para formar la insulina y fragmentos de péptido C antes de ser empaquetada en los gránulos secretores. La transformación de proinsulina a insulina se realiza por la acción de dos endopeptidasas dependientes de calcio (PC2 y PC3), que se encuentran en los gránulos de las células de los islotes y otras células neuroendocrinas.

Los tejidos blancos de importancia para la regulación de la glucosa por la insulina son el hígado, músculo y grasa. Las acciones anabólicas de la insulina comprenden la estimulación, uso y

almacenamiento intracelular de la glucosa, aminoácidos y ácidos grasos. Además, bloquea los efectos catabólicos como la desintegración de glucógeno, grasa y proteína.

Cuando la insulina es secretada en la sangre circula casi en su totalidad en una forma libre. Tiene una vida media plasmática de 6 minutos, de modo que es principalmente eliminada de la circulación dentro de 10 a 15 minutos. A excepción de la parte de insulina que se combina con los receptores de las células diana, el resto se degrada por la enzima insulina. La hormona se elimina principalmente en el hígado y en menor medida en los riñones, los músculos y en los tejidos. La eliminación rápida de la insulina del plasma es importante por las otras funciones que esta hormona posee.

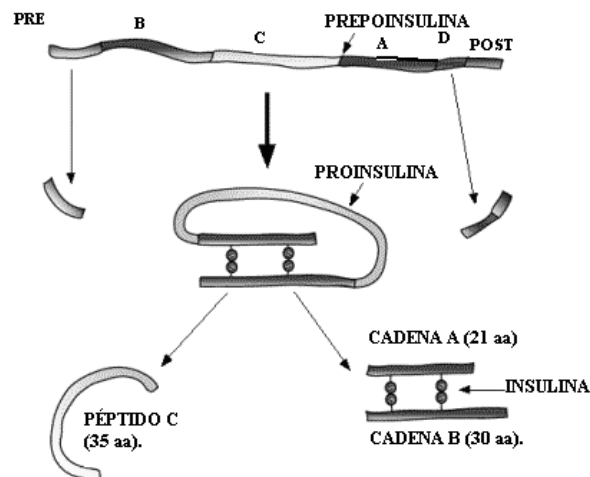


Figura 3. Etapas que involucran la maduración de la insulina ⁷.

La insulina es miembro de una familia de péptidos relacionados, denominados Factores de Crecimiento Parecidos a la Insulina (IGF), existiendo una relación estructural principalmente con la proinsulina, por lo que la insulina y los IGF pueden compartir los receptores, aunque se pueden unir con poca afinidad.

⁷ <http://escuela.med.puc.cl/publ/TemasMedicinaInterna/imagenes/insulina1.gif>

La secreción de la insulina es bifásica (**Figura 4**) cuando es desencadenada por glucosa: la primera fase alcanza un máximo después de uno a dos minutos y es de corta duración, en tanto que la segunda fase tiene un inicio tardío pero de duración más prolongada. Esta secreción es además de tipo pulsátil. El carácter bifásico y pulsátil hace más efectiva la acción hipoglucemiante de la insulina liberada. La primera fase, se inicia a los pocos minutos de haber consumido alimento. Es en esta fase cuando el páncreas libera una cantidad de insulina que viene determinado por el consumo previo de hidratos de carbono, es decir, por la cantidad que se haya aportado de estos en las comidas anteriores. En la segunda fase se libera insulina entre 75 y 90 minutos después de comer. El organismo sabrá reconocer si la primera liberación de insulina ha sido suficiente para procesar los carbohidratos consumidos.

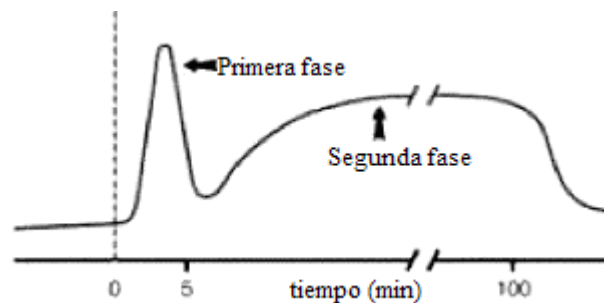


Figura 4. Fases de la secreción de la insulina ⁸.

El exceso de los carbohidratos se almacena como glucógeno, principalmente en el hígado y los músculos. Los carbohidratos que no pueden ser almacenados como glucógeno, se convierten bajo el estímulo de la insulina en lípidos que se almacenan en el tejido adiposo. La insulina también tiene un efecto para promover la captación de aminoácidos de las células y convertirlos en proteínas.

La glucosa entra en la célula beta mediante transporte facilitado mediado por GLUT 2 (**Figura 5**). La glucocinasa detecta a la glucosa y la fosforila, esta enzima se encuentra únicamente

⁸ <http://www.uchsc.edu/misc/diabetes/oxch2fig5.png>



en las células y tejidos que participan en la regulación del metabolismo de la glucosa (hígado y las células beta del páncreas).

La secreción de la insulina depende del calcio intracelular, pues influye como secretagogo de esta hormona. La glucocinasa modifica la proporción de ATP y ADP, con lo que se inhibe el canal de potasio sensible al ATP, provocando la despolarización la célula beta. Esto ocasiona que de manera compensatoria el canal de calcio dependiente de voltaje permite la entrada de calcio a la célula beta

La insulina se une a las superficies localizadas en las regiones N-terminal y C-terminal de la subunidad alfa de su receptor. El receptor de insulina (**Figura 6**) es una combinación de cuatro subunidades unidas por puentes disulfuro: dos subunidades alfa (de 135 kDa) que están totalmente fuera de la membrana de la célula y dos subunidades beta (de 95 kDa) transmembranales, que sobresalen en el citoplasma celular. La insulina se une a las subunidades alfa en el exterior de la célula, y debido a los acoplamientos con las subunidades beta, estas últimas se autofosforilan. La autofosforilación de las subunidades beta activa una tirosinasa local que se autofosforila, la cual ocasiona la fosforilación de múltiples enzimas incluyendo al grupo denominado Sustratos Receptores de Insulina (IRS). Otros tipos de IRS son expresados en diferentes tipos de tejidos. De este modo, la insulina dirige la maquinaria intracelular metabólica para producir los efectos deseados en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas.

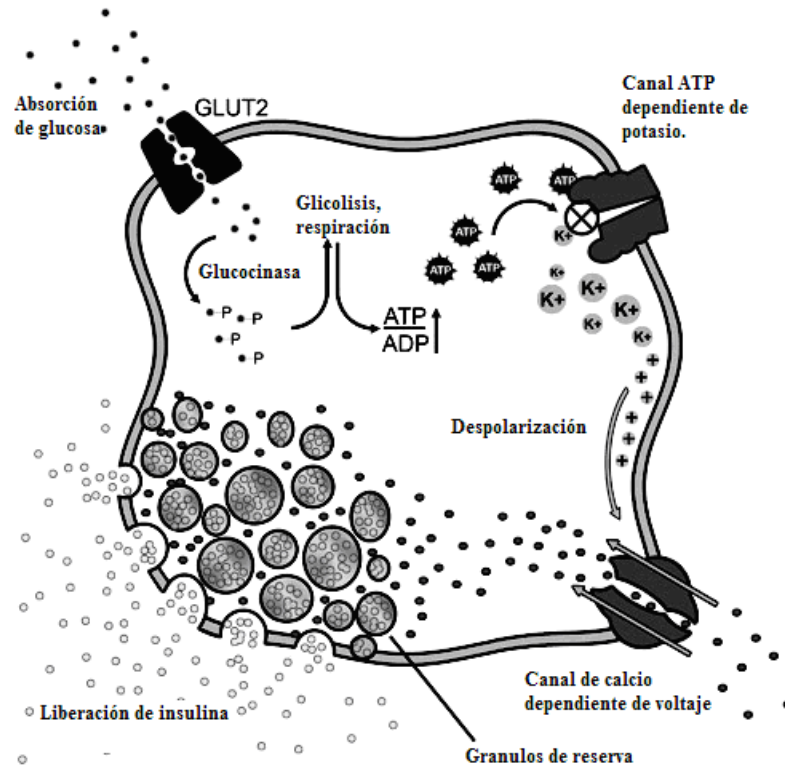


Figura 5. Procesos que intervienen en la secreción de la insulina^{9,10}.

Los efectos finales por el estímulo de insulina son (**Tabla 1**):

- 1) Unos segundos después de que la insulina se une a sus receptores de membrana, un 80% de las células del cuerpo aumentan considerablemente su respuesta a la glucosa. Principalmente en las células del músculo y tejido adiposo, al contrario de las neuronas del cerebro. La glucosa aumenta su transporte dentro de las células, mediante la fosforilación y se transforma en un sustrato para el metabolismo de los carbohidratos. El transporte incrementado de la glucosa, es resultado del desplazamiento de múltiples vesículas intracelulares a las membranas de célula; estas vesículas llevan en sus propias membranas múltiples transportadores de glucosa, que se unen a la membrana celular y facilitan la captura de la glucosa por parte de las células. Cuando la insulina ya

⁹ <http://www.betacell.org/images/CMS/insulin-secretion-w500.jpg>

¹⁰ <http://www.betacell.org/images/CMS/insulin-secretion-w500.jpg>

no está disponible, estas vesículas se internalizan de 3 a 5 minutos para ser usadas una y otra vez, o se degradan.

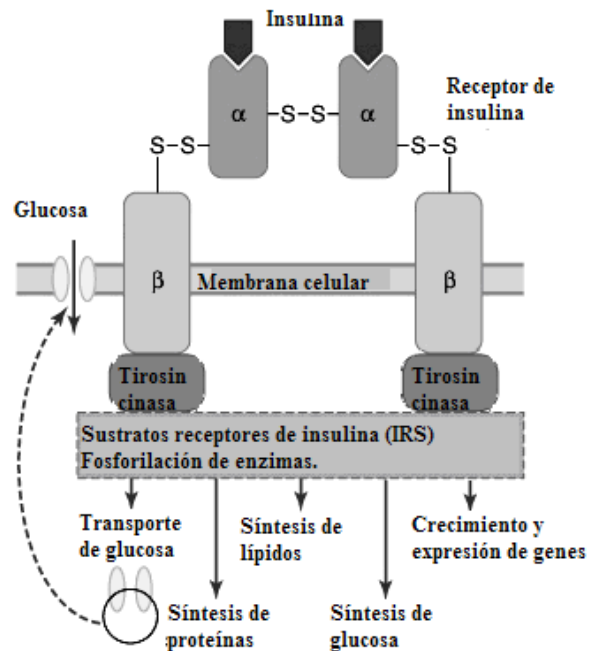


Figura 6. Interacción de la insulina con su receptor y efectos de esta hormona ¹¹.

- 2) La membrana de la célula se hace más permeable a muchos de los aminoácidos, iones de potasio e iones de fosfato, causando un transporte aumentado de estas sustancias en la célula.
- 3) Los efectos lentos ocurren de los 10 a 15 minutos siguientes para cambiar los niveles de actividad de más enzimas intracelulares metabólicas. Estos efectos resultan principalmente de los cambios de estados de fosforilación de las enzimas.
- 4) Muchos efectos lentos siguen ocurriendo durante horas e incluso varios días. Ellos son resultado del cambio en el rango de traducción de ARN mensajero en los ribosomas para formar nuevas proteínas. Y aún más lentos se dan los cambios en la transcripción de ADN en el núcleo de

¹¹ Guyton & Hall : Textbook of Medical Physiology UNIT XIV Endocrinology and Reproduction. 962. Edición 11. www.studentsconsult.com.



célula. De este modo, la insulina regula la mayor parte de la maquinaria celular enzimática para alcanzar sus objetivos metabólicos.

Tabla 1. Acción de la insulina en diferentes tejidos ^{5,9}.

Célula diana.	Acción de la insulina.
Músculo.	<ul style="list-style-type: none">• Estimula captación de glucosa y conversión en glucógeno.• Activa enzimas importantes para la glucólisis.• Estimula captación de aminoácidos y síntesis de proteínas.• Inhibe enzimas que median el catabolismo de proteínas y glucógeno.
Tejido adiposo.	<ul style="list-style-type: none">• Captación de glucosa por los adipocitos.• Estimula la lipogénesis.• Inhibe catabolismo de triglicéridos.• Inhibe la producción de ATP a partir de los lípidos.
Hígado.	<ul style="list-style-type: none">• Estimula glucogénesis.• Inhibe glucogenólisis y gluconeogénesis.
Otras células.	<ul style="list-style-type: none">• Actúa como factor de crecimiento de la glándula mamaria durante el embarazo y la lactancia.



CAPITULO V.

Diabetes Mellitus.

Clasificación realizada por el comité de expertos de la Asociación americana de diabetes (ADA) y a la Organización Mundial de la Salud (OMS), de acuerdo a las causas de la enfermedad¹².

I. Diabetes mellitus tipo 1.

- A. Diabetes mediada por procesos autoinmunes
 - Está causada por un proceso autoinmune que destruye la célula beta pancreática.
 - Se pueden detectar autoanticuerpos en el 85-90% de los pacientes en los que se detecta hiperglucemia por primera vez.
- B. Diabetes idiopática
 - Forma de la enfermedad cuya causa es desconocida.

II. Diabetes mellitus tipo 2.

- Puede presentarse por una resistencia a la insulina acompañada de una deficiencia relativa en su producción pancreática.

III. Diabetes gestacional .

IV. Otros tipos específicos de diabetes.

A. Defectos genéticos de la función de la célula beta.

Cromosoma 12, HNF-1 alfa (antes MODY 3)
Cromosoma 7, glucocinasa (antes MODY 2)
Cromosoma 20, HNF-4 alfa (antes MODY 1)
DNA mitocondrial
Otras

B. Defectos genéticos en la acción de la insulina.

¹² The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on The Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2000; 23: S4-S19.



Resistencia insulínica tipo A
Leprechaunismo
Síndrome de Rabson-Mendenhall
Diabetes lipoatrófica
Otras

C. Enfermedades del páncreas exocrino.

Pancreatitis
Traumatismo/pancreatectomía
Neoplasia
Fibrosis quística
Hemocromatosis
Pancreatopatía fibrocalculosa
Otras

D. Endocrinopatías.

Acromegalia.
Síndrome de Cushing
Glucagonoma
Feocromocitoma
Hipertiroidismo
Somatostinoma
Aldosteronoma
Otras

E. Inducida por químicos o drogas.

Vacor
Pentamidina
Ácido nicotínico
Glucocorticoides
Hormonas tiroideas
Diazóxido
Agonistas beta-adrenérgicos
Tiazidas
Dilantin
Alfa-interferón
Otras

F. Infecciones.

Rubeola congénita
Citomegalovirus
Otras

G. Formas no comunes de diabetes mediada por fenómenos inmunes.



Síndrome de "stiff-man"
Anticuerpos anti-receptor de insulina
Otras

H. Otros síndromes genéticos asociados a veces con diabetes.

Síndrome de Down
Síndrome de Klinefelter
Síndrome de Turner
Síndrome de Wolframs
Ataxia de Friedreich
Corea de Huntington
Síndrome de Laurence Moon Beidl
Distrofia miotónica
Porfiria
Síndrome de Prader Willi
Otros.

La diabetes mellitus tipo 1 (DMT1), afecta de 5% al 10% del total de los casos. Se trata de una destrucción autoinmune de las células beta del páncreas, la cual conduce a la deficiencia de insulina y se diagnostica comúnmente en niños y jóvenes.

La diabetes mellitus (DMT2) es un trastorno crónico en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y lípidos. Esta enfermedad se caracteriza por una hiperglicemia debida a que las células beta del páncreas no producen una cantidad suficiente de insulina o a la resistencia que se puede presentar a esta hormona, provocando que los valores sanguíneos de glucosa no se mantengan dentro de los intervalos normales de 70-100 mg/dL.¹³ En México el número de personas con diabetes fluctúa entre los 6.5 y los 10 millones, se estima que de este gran total, 2 millones de personas no han sido diagnosticadas. La DMT2 representa la primera causa de muerte en nuestro país, mostrando un incremento sostenido durante las últimas décadas. (**Figura 7**).

¹³ Richard M Watanabe; Mary Helen Black; Anny H Xiang; Hooman Allayee; et al Genetics of Gestational Diabetes Mellitus and Type 2 Diabetes. Diabetes Care; Jul 2007; 30, ProQuest Medical Library pg. S134.

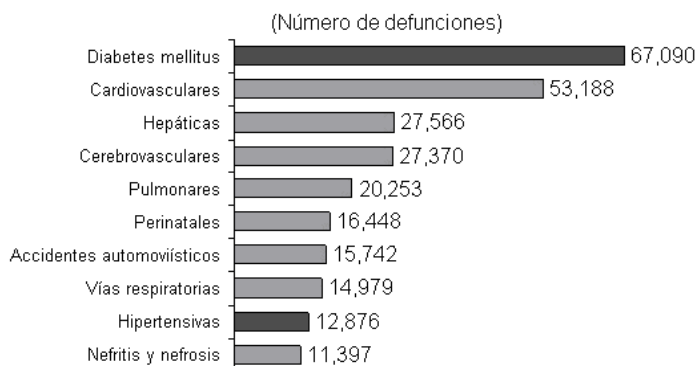


Figura 7. Principales causas de mortalidad en México, 2005 ¹⁴.

La prevalencia de la DMT2 en la población mexicana es de 10.7% en personas entre 20 y 69 años, lo que refiere un poco más del doble comparado con la población mundial que según la OMS estima en un 5%.

Una proporción importante de personas desarrollan la enfermedad antes de los 45 años de edad, situación que debe ser evitada, ya que los costos económicos asociados al tratamiento representan una grave carga para los servicios de salud y para los pacientes debido a las complicaciones propias de la enfermedad.²

La Secretaría de Salud en México, informó en mayo del 2007, que el tratamiento de la diabetes representa el 34% del presupuesto de los servicios sociales del país. Asimismo, mencionó que los costos indirectos y directos para el tratamiento de la enfermedad son de 330 y 100 millones de dólares anuales, respectivamente. Principales complicaciones en las personas que padecen DMT2¹⁵:

- a) Enfermedad cardíaca y derrame cerebral.

¹⁴ Elaborado por la Dirección General de Estudios sobre Consumo de la Profeco, con datos del Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS) 2005.

¹⁵ Michael J Fowler Diabetes: Magnitude and Mechanisms Clinical Diabetes; Winter 2007; 25, 1; Academic Research Library pg. 25



- b) Presión arterial alta.
- c) Nefropatía diabética.
- d) Retinopatía diabética.
- e) Neuropatía diabética.
- f) Amputaciones debido al pie diabético.
- g) Enfermedad dental.
- h) Complicaciones durante el embarazo.
- i) Disfunción sexual, etc.

Personas que corren con mayor riesgo de adquirir DMT2.

- a) Las personas con tolerancia anormal a la glucosa y/o alteración de la glucosa en ayuno.
- b) Las personas mayores de 45 años.
- c) Las personas con antecedentes de diabetes en su familia.
- d) Las personas que no hacen ejercicio regularmente.
- e) Las personas con hipertensión arterial (mayor a 140/90), dislipidemias (colesterol HDL menor a 35 mg/dL, triglicéridos mayor a 200 mg/dL) y a los pacientes con cardiopatía isquémica, insuficiencia vascular cerebral, o insuficiencia arterial de miembros inferiores.
- f) Ciertos grupos étnicos o raciales.
- g) Tabaquismo
- h) La urbanización es generalmente relacionada a grandes cambios en el estilo de vida, como son la alimentación, la actividad física, así como un incremento en la obesidad, la cual puede incrementar el riesgo de intolerancia a la glucosa y DMT 2.
- i) Las mujeres que han padecido diabetes gestacional o que han tenido un bebé de más de 4 kilos de peso al nacer.



CAPÍTULO VI.

Diabetes mellitus gestacional.

Durante el embarazo se presentan grandes cambios tanto fisiológicos, anatómicos y metabólicos con la finalidad de sobrellevarlo adecuadamente y proveer los requerimientos adecuados para el feto. Los cambios que ocurren son el resultado de la demanda de ciertos requisitos para el crecimiento del feto y la placenta, además de la preparación de la madre para el alumbramiento. A diferencia de los lactantes, cuya dieta consiste en una mezcla compleja de hidratos de carbono, grasas y proteínas, la del feto se compone principalmente de glucosa, junto con una cantidad suficiente de aminoácidos con la finalidad de cubrir el requerimiento de nitrógeno para la síntesis proteica¹⁶. Los que presentan mayores carencias son el hierro requerido para la eritropoyesis fetal y el ácido fólico para la síntesis de ácidos nucleicos y aminoácidos.

Se presenta un incremento en la secreción de hormonas sexuales femeninas, que favorecerán el desarrollo normal del embarazo. Así el estrógeno aumenta 10 veces y la progesterona 30 veces. La secreción hormonal aumentada y el crecimiento fetal provocan cambios sistémicos, fisiológicos y físicos. Entre los cambios sistemáticos se encuentran el cardiovascular, respiratorio, hematológico, renal, gastrointestinal, endocrino y el genitourinario.

Los cambios endocrinológicos más importantes que se presentan en las embarazadas son los referidos a las hormonas sexuales femeninas, estrógeno, progesterona y gonadotropina humana son secretadas principalmente por la placenta. Estas hormonas son responsables de la mayoría de los cambios fisiológicos durante el embarazo. Además existe también un incremento de tiroxina, esteroides y niveles de insulina. La glándula tiroidea aumenta de tamaño alrededor de un 50%. Se

¹⁶ Russell Paul T. Embarazo y función renal. Capítulo 35. Kaplan, L.A., Pesce, A.J. Química clínica técnicas de laboratorio. Patología y métodos de análisis. Editorial Médica Panamericana, 1990. 811-36.



aumenta el nivel de tiroides unido a globulina en suero y de tiroxina debido a la secreción placentaria de tirotrópica coriónica (una hormona específica que estimula la tiroides). Los niveles de corticoesteroides se incrementan moderadamente. Existe un aumento 2 veces de aldosterona y 3 veces en los niveles de cortisona. Estrógeno y progesterona son antagonistas de la insulina y el aumento de estas hormonas provoca una resistencia por lo que la insulina se eleva en las embarazadas para compensar esta resistencia.

Las embarazadas atraviesan un proceso que dura de 38 a 40 semanas a partir del día de la fecundación. El embarazo se divide en tres trimestres, llamamos primer trimestre de la semanas 1 a la 12, segundo trimestre de la semanas 13 a la 24 y tercer trimestre de la semana 25 hasta el parto.

La DMG es una forma de intolerancia a la glucosa de grado variable que se diagnostica por primera vez en algunas mujeres durante el embarazo¹⁷. Se caracteriza por la insuficiencia de la célula beta pancreática para contrarrestar la resistencia normal a la insulina que se genera durante el embarazo, debido a las hormonas placentarias¹⁸.

La DMG por lo regular desaparece después del parto y por ello se considera un periodo de anormalidad condicionado por la gestación¹⁹. Pero si se detecta por vez primera la hiperglicemia en el primer trimestre, se deduce que la paciente ya era diabética previamente y no lo sabía, por que la

¹⁷ Satish C Kalhan. Protein metabolism in pregnancy. Am J Clin Nutr 2000;71(suppl):1249S–55S. Printed in USA, 2000 American Society for Clinical Nutrition.

¹⁸ Buchanan T. A, Xiang A, Kjos S. L., Watanabe R. D. What is gestational diabetes? Diabetes Care: Jul 2007; 30 ProQuest Medical Library. Pg S105.

¹⁹ Lakshmanan Suresh, BDS,a and Lida Radfar, DDS, MS. Pregnancy and lactation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2004;97:672-82.



resistencia a la insulina se presenta a partir del segundo trimestre. Cuando se detecta una hiperglicemia a partir de la semana 13 se diagnostica DMG.

Epidemiología.

Se ha estimado que la prevalencia de la DM es del 10% después del parto habiendo tenido DMG, con un rango de incidencia de 5 a 10% por año.

La prevalencia de la DMG en diferentes poblaciones oscila entre el 0.15 y el 15% (**Figura 8**), estas variaciones dependen de las diferencias en cuanto a la zonas geográficas y a las poblaciones étnicas. En un estudio realizado en los Ángeles California se encontró que existe una incidencia del 12.8% en mujeres México-estadounidenses. En México existen reportes que van desde un 3.9% hasta un 6% de frecuencia de DMG en dos ciudades distintas^{20,21}, sin embargo, el Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes” de la Secretaría de Salud, estableció una prevalencia de 19.7% de la DMG²². Sin embargo, sería necesario realizar un estudio formal en todos los lugares donde se atiende el control prenatal, ya que esta enfermedad puede ser asintomática durante el embarazo y no detectarse si no se realizan las pruebas pertinentes²³.

²⁰ Forsbach G., Contreras-Soto JJ., Fong G., Flores G., Moreno O., Prevalence of gestational diabetes and macrosomic newborns in a Mexican population. *Diabetes Care*, 1988; 11:235-8.

²¹ Tamez Pérez HE., Rodríguez Ayala M., Treviño Hernández M., Espinosa Campos J., Salas Galindo Luis R., Barquet Barquet J., Paez Jiménez F., Experiencia con un programa de escrutinio de diabetes gestacional. *Rev Inv Clin*, 1993; 45:453-6.

²² *La Jornada*. Lunes 4 de diciembre de 2006.

²³ Claus Kuhl. Etiology and pathogenesis of gestational diabetes. *Diabetes Care*: Aug 1998; 21, ProQuest Medical Library pg B19.



Referencia	Ciudad	N° sujetos	Prevalencia de DG (%)
<i>Lind 1983</i>	Newcastle	-	0,15
<i>Csaba 1986</i>	Pecs	6604	0,96
<i>Macaffé y Beischer 1974</i>	Melbourne	1000	1
<i>Chen 1972</i>	New York	1269	1,1
<i>Furhmann 1986</i>	Karlsburg	2510	1,1
<i>Stangenberg 1984</i>	Estocolmo	-	1,3
<i>Beard 1980</i>	Londres	3317	1,5
<i>Lavin 1985</i>	Ohio	2077	1,5
<i>Guttorm 1975</i>	Copenhague	514	1,7
<i>Hadden 1980</i>	Belfast	30300	2,2
<i>Freinkel 1985</i>	Chicago	8300	2,4
<i>O'Sullivan 1975</i>	Boston	725	2,5
<i>Merkatz 1980</i>	Cleveland	2225	3,1
<i>Jovanovic 1986</i>	New York	300	3,2
<i>Carpenter y Coustan 1982</i>	New Haven	381	3,4
<i>Sutherland 1984</i>	Aberdeen	-	4
<i>Steinhart 1997</i>	Shiprock	3988	4,5
<i>Siribaddana 1998</i>	Sri Lanka	721	5,5
<i>Sketekj 1986</i>	Ljubljana	306	5,6
<i>Meyer 1996</i>	Chicago	329	6,1
<i>Coelingh Bennink 1977</i>	Utrecht	5876	8,5
<i>Martí Colomer 1999</i>	Valencia	1039	8,66
<i>Weiss 1986</i>	Graz	4090	8,8
<i>Irsigler 1986</i>	Wien	1172	11,4
<i>Mestman 1971</i>	Los Angeles	658	12,3
<i>Corcoy 1989</i>	Barcelona	2278	14,3

Figura 8. Prevalencia de diabetes gestacional²⁴.

En el caso de México, todas las mexicanas deberían realizarse las pruebas de escrutinio correspondientes, pues pertenecen a un grupo étnico de riesgo por a la alta prevalencia de la DMT2 en nuestro país.

²⁴ Albareda i Riera Ma. Mercé. Diabetes gestacional: Riesgo de desarrollar diabetes mellitus y factores de riesgo cardiovascular a medio plazo.



Etiopatogenia²⁵.

La patogénesis de la DMG se desconoce. Sin embargo se sabe que existen cambios en la acción de la insulina durante el embarazo debido a la adaptación del metabolismo materno, con la finalidad de favorecer la disposición de nutrientes para el desarrollo feto. En todas las embarazadas se establece un estado de resistencia a la insulina, lo que genera una mayor producción de esta hormona para contrarrestar dicha resistencia. Sin embargo, las células beta del páncreas podrían estar lesionadas y ser insuficientes para compensar esta demanda, lo que desencadenaría la hiperglucemia durante el embarazo.

En el estudio de la etiopatogenia se encuentran dos factores que provocan la diabetes gestacional, los extrapancreáticos y en intrapancreáticos.

1) Factores extrapancreáticos.

***Hormonas durante la gestación**

La placenta desempeña un papel fundamental en el embarazo. Tiene la capacidad de modular el transporte de nutrientes entre la madre y el feto, eliminar los productos de desecho fetal a la corriente sanguínea materna y regular los suministros metabólicos maternos mediante la producción de hormonas y corticoides, que son lipolíticos y antagonistas de la insulina, facilitando las adaptaciones metabólicas en las diferentes etapas de gestación.

Los cambios en la resistencia a la insulina durante el embarazo se relacionan con la concentración creciente de las hormonas placentarias. Estas hormonas desaparecen inmediatamente

²⁵ Hernández Valencia M, Zárate Arturo. Conceptos recientes en la etiopatogenia de la diabetes gestacional. Ginecol Obstet. Méx 2005; 73:371-7.



después del parto. La placenta tiene una importante función endocrina; secreta numerosas hormonas esteroideas y peptídicas, que actúan localmente y las principales son:²⁶

*Gonadotropina coriónica humana (GCH) es una hormona peptídico estructural y funcional semejante a la hormona luteinizante. Después de la implantación del óvulo, se comienza a secretar y llega a su máximo en la semana 10 de gestación. Actúa sobre el cuerpo lúteo y tiene un papel fundamental para su conservación durante el tercer trimestre del embarazo. Estimula la secreción de testosterona en el feto varón, provocando la diferenciación gonadal masculina. La concentración de GCH esta anormalmente elevado en embarazos múltiples y en presencia de tumores del tejido placentario.

*Progesterona es producida por el cuerpo lúteo. Después de la octava semana de embarazo, la placenta deja de producir cantidades significativas. Los niveles de esta hormona se incrementan durante el embarazo. Sus efectos son:

- Relajación del músculo uterino, la progesterona inhibe la secreción de prostaglandinas en el miometrio, por lo que disminuye su actividad.
- Relajación del músculo liso en todo el organismo.
- Cambios metabólicos, estimula el apetito y potencia el almacenamiento de grasa corporal.

*La principal fuente de estrógenos es la placenta. El colesterol, necesario para la síntesis de estrógenos en la placenta, procede de la circulación materna. El déficit de estrógenos provoca embarazos prolongados. Los estrógenos tienen la capacidad de:

²⁶ Guyton & Hall: Textbook of Medical Physiology. UNIT XIV Endocrinology and Reproduction. 1010-1037. Edición 11.



- Aumento del flujo sanguíneo hacia el útero y estimulación del crecimiento del miometrio.
- Estimulación del crecimiento mamario, pues los estrógenos estimulan la secreción de la prolactina.
- Potenciación de la retención de agua.
- Estimulación de la producción de receptores de oxitocina.
- Los estrógenos aumentan la cantidad de receptores de insulina, pero hay todo un efecto postreceptor de hormonas de contrarregulación como la progesterona, prolactina, gonadotropina corionica y lactógeno placentario, que inhiben este potencial efecto positivo de los estrógenos.

*Hormona lactógeno placentario (LPH), es una hormona peptídico secretada por la placenta .

Los niveles de LPH se incrementan desde la quinta semana de gestación hasta su término. Tiene un efecto diabetogénico para asegurar que la placenta y el feto tengan un suministro adecuado de la glucosa, ácidos grasos y aminoácidos. Produce los cambios metabólicos:

- Mejora la lipólisis en el tejido adiposo materno, por lo que se reduce la utilización de glucosa materna para suministro de energía del feto, los ácidos grasos que libera, proporcionan la energía necesaria.
- Potencia la transferencia de aminoácidos a través de la placenta.
- Inhibe la secreción de la GH materna.
- Tiene efectos similares a los de la prolactina, estimula el crecimiento y desarrollo de las mamas.



*Relaxina, es una hormona peptídico secretada por el cuerpo lúteo y al final del embarazo por la placenta. Relaja el miometrio y tiene efectos sobre la dilatación cervical durante el parto.

*Prolactina, su secreción aumenta a lo largo del embarazo, y al término de este sus niveles son 20 veces mayores a los normales. Durante el embarazo, la prolactina estimula el crecimiento y el desarrollo de las mamas y regula el metabolismo de las grasas.

*El cortisol, suprime el crecimiento al inhibir la secreción de GH, el exceso de cortisol, conduce a la disminución del crecimiento. Por otro lado, el cortisol inhibe la captación periférica de la glucosa y aumenta la gluconeogénesis y la lipólisis, a través de la reducción del número de receptores de insulina e IRS-1 y además disminuye la fosforilación de IRS-1 y reduce la translocación del GLUT 4.

El metabolismo de los carbohidratos es afectado por la hiperplasia de las células beta del páncreas, aumento en la secreción de la insulina y en la sensibilidad tisular a la misma. Este anabolismo produce un aumento en el depósito de glucógeno tisular, en el consumo de glucosa periférica y un descenso en la gluconeogénesis hepática. Por lo tanto, conforme progresa el embarazo, la glucosa sanguínea materna disminuye y los ácidos grasos libres así como los cuerpos cetónicos se incrementan. Progresivamente va disminuyendo la respuesta insulínica a la glucosa, lo puede ocasionar una hiperglicemia en ayuno, aumentando lípidos plasmáticos, hipoamoniacidemia y una marcada sensibilidad a la inanición²⁷.

La primera mitad el embarazo se caracteriza por depósito materno de grasa como efecto anabólico secundario al aumento en el transporte de glucosa a los adipocitos y al aumento de la

²⁷ Osorio O. José Henry embarazo y metabolismo de los carbohidratos. Revista colombiana de obstetricia y ginecología vol. 54 - 2: 97-106. 2003.



síntesis de lípidos, con la inhibición de la lipólisis e hipertrofia de la célula adiposa. Los almacenes de grasa contribuyen con un cuarto del peso total ganado durante el embarazo, se estima que una mujer incrementa 12.5 kilogramos durante el embarazo (peso del recién nacido: 3,5 kg, incremento peso del útero: 1kg, placenta: 0,5 kg, líquido amniótico: 1kg, incremento peso de los pechos: 0,5 kg, incremento de sangre materna: 1,5 kg, incremento del contenido graso materno: 2 kg, incremento del contenido de agua en la madre: 2 kg).²⁸

En etapas avanzadas del embarazo las altas concentraciones de somatotropina coriónica se oponen a la acción de la insulina y estimulan la lipólisis.

Durante la semana 24 a la 28 de gestación, el metabolismo de los carbohidratos se afecta por el aumento en la producción de somatotropina coriónica humana placentaria, prolactina, cortisol y glucagon. Contribuyendo a una menor tolerancia a la glucosa y mayor resistencia a la insulina por un probable efecto posreceptor, que disminuye las reservas hepáticas de glucógeno y aumenta la gluconeogénesis hepática. En el último trimestre hay un incremento en los triglicéridos plasmáticos por el aumento en las lipoproteínas de muy baja densidad. También se observan incrementos en las concentraciones de colesterol y fosfolípidos durante el embarazo.

Dichos cambios modifican el ambiente intrauterino y el metabolismo sistémico materno durante el embarazo, ya que pueden causar hipoglucemia en el primer trimestre, aumentar los requerimientos de insulina al final del mismo y, por último, condicionar la necesidad de suspender la insulina en el postparto inmediato

La alteración en el metabolismo durante la administración de la insulina al final del embarazo en la mujer obesa es similar al que se observa en la mujer delgada, ya que existe

²⁸ Van Raaij JM. Energy requirements of pregnancy for healthy Dutch women. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 1995 Jul; 6(1) : 7-13. Review.



progresiva disminución de la sensibilidad a la insulina, de la oxidación de carbohidratos y del metabolismo no oxidativo, pero con proporción cinco veces mayor de la oxidación de carbohidratos en la grasa a medida que progresa la gestación. Esto demuestra que el embarazo es un estado de ayuno evolutivo para las células, con aumento en la liberación de ácidos grasos maternos más que de carbohidratos para suplir las necesidades de energía.

*Hormonas del tejido adiposo²⁸

El incremento de ácidos grasos libres relacionado con mayor actividad del receptor activado por el peroxisoma proliferador (PPRA γ) puede condicionar la resistencia a la insulina. De la misma forma, al factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y a la leptina se les atribuye alguna participación en el proceso, puesto que los cambios en la concentración del TNF- α son los factores de predicción más importantes de resistencia a la insulina, ya sea en pacientes embarazadas obesas o en pacientes con peso adecuado durante el embarazo. En ambas puede desencadenarse la diabetes gestacional y el TNF- α tiene concentraciones similares. El TNF- α y la leptina pueden producirse en la placenta y, por lo tanto, desempeñan un papel central en la resistencia a la insulina durante el embarazo.

La leptina es una citocina que tiene un papel en la regulación de energía, función reproductiva y metabolismo de la glucosa. El embarazo es una condición de resistencia a la leptina, porque la leptina inhibe el apetito y en el embarazo esta capacidad de inhibir el apetito está perdida. La leptina también se asocia a resistencia a la insulina porque disminuye la captación de la glucosa inducida por insulina; aumenta la lipólisis y estimula las enzimas lipogénicas del adipocito y disminuye la fosforilación del IRS-1. En el embarazo aumentan los niveles de leptina en un 66%. Se propone que esta hipoleptinemia relativa, aumentarían los factores inflamatorios, porque si bien la leptina tiene un leve efecto inflamatorio, tiene un efecto protector contra una citocina mucho más



inflamatoria que ella que es el TNF- α . Entonces si está disminuida la leptina, el TNF- α actúa con mayor intensidad.

El TNF- α es una citocina que produce resistencia a la insulina: disminuye la captación de glucosa por adipocito; aumenta la lipólisis.

Otras hormonas que también se producen en el tejido adiposo y que interfieren en la acción de la insulina son:

a) La adiponectina, que mejora la sensibilidad a la insulina. En mujeres con DMG se observan concentraciones bajas de adiponectina plasmática en comparación con las embarazadas sin resistencia. Esto es independiente de los antecedentes previos de sensibilidad a la insulina y del grado de obesidad de cada mujer, a lo que se le atribuye proporción del 42% como factor de predicción explicativo de trastorno en la resistencia a la insulina.

b) La resistina, que incrementa esta resistencia a la insulina. La expresión del ARNm de la resistina en la placenta es cuatro veces mayor durante el embarazo a término que al inicio de éste. A pesar de los cambios, la expresión del gen de resistina en el tejido adiposo no cambia significativamente durante el embarazo.

2) *Factores intrapancreáticos.*

*Periodo de lactación

Recientemente se reportó el consumo de ciertos nutrientes en la edad temprana como causa de lesión para las células beta de los islotes pancreáticos, lo cual causa alteraciones en la respuesta y secreción de la insulina ante estados de mayor demanda, como el embarazo. Algunos son la lactación con leche de vaca en edad temprana puede desencadenar el proceso de lesión a los islotes,



así como los alimentos que contienen gluten pueden desencadenan la autoinmunidad y destrucción de los islotes pancreáticos, sobre todo cuando se consumen antes de los seis meses de edad.

*Actividad viral

Estudios retrospectivos sugieren que las enfermedades virales pueden afectar el desarrollo de los islotes, aunque hasta ahora sólo la rubéola congénita se relaciona con el daño de los mismos. Algunas vacunas que se aplican durante la niñez están implicadas en la actual epidemia del trastorno en el metabolismo de los carbohidratos.

*Efecto celular de la insulina

Las señales de insulina incluyen la activación de múltiples vías de comunicación intracelular, por lo que una alteración en cualquiera de las proteínas implicadas en dichas señales puede conducir a un trastorno en el metabolismo de la glucosa.

La afectación en la vía de las señales de la insulina puede ser en los sustratos del receptor de insulina (IRS), ya que la falta del IRS-1 condiciona un grave retraso en el crecimiento fetal intrauterino, con resistencia leve a la insulina. La ausencia del IRS-2 se considera causa de resistencia periférica a la insulina, así como trastorno en el crecimiento de las células beta pancreáticas. Estos hallazgos del IRS-2 muestran la evolución natural de la DMT2. En mujeres con ambiente intrauterino adverso puede alterarse la actividad normal de estas señales que se hace manifiesta en la vida adulta.

Los cambios en las vías de señales de la insulina son los que regulan el metabolismo materno, el cual se encarga de nutrir al feto durante la vida intrauterina. Durante el embarazo, la resistencia a la insulina ayuda en la provisión de sustratos de energía al feto, ya que origina concentraciones elevadas de glucosa y ácidos grasos libres. Sin embargo, la misma resistencia



produce aumento en la secreción de insulina materna. Si la respuesta pancreática materna es inadecuada, en condiciones de mayor demanda de producción de insulina materna, puede desencadenarse la diabetes gestacional.

Otras teorías se han estudiado como la del Origen fetal de la enfermedad en el adulto (Fetal origin of adult disease : FOAD), o El origen del desarrollo de la salud y la enfermedad (developmental origin of Elath and disease: DOHaD)²⁹. Mientras que el genotipo es determinado durante la concepción, el fenotipo es permanentemente modulado por factores externos y empieza en el medio uterino. El desarrollo estructural y funcional puede ser estimulado o inhibido por la condición materna, y puede resultar en deficiencias y enfermedades en al vida adulta.

Estudios en ratas han demostrado que anormalidades en el metabolismo materno como diabetes o una mala nutrición, alteran el desarrollo fetal; alterando la tolerancia a la glucosa en la vida adulta, incluso en generaciones subsecuentes. El feto controla en las últimas semanas de gestación, la homeostasis de la glucosa adaptando la producción y acción de la insulina. El desarrollo de los islotes de Langerhans en el feto de la madre diabética es intensificado, resultando en hipertrofia del páncreas endocrino e hiperplasia de las células beta, mientras también la actividad biosintética de la producción individual celular de insulina aumenta (Aerts et al. ;, 1990). Cuando la diabetes de la madre es moderada y excede sólo en un 20% de la concentración normal de glucosa, la combinación del exceso de glucosa materna y la hiperinsulinemia fetal conduce a una macrosomía fetal y neonatal (**Diagrama 1**). En el caso de que los niveles de glucosa excedidos sean de 20 mmol/ L permanentemente, se provoca una hipertrofia del islote, pero eventualmente se sobre

²⁹ L. Aerts, F.A. Van Assche . Animal evidence for the transgenerational development of diabetes mellitus. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 38 (2006) 894–903



estimula las células beta fetales, las cuales se desorganizan y son incapaces de secretar adecuadamente la insulina. La hiperinsulinemia inicial, se transforma en hipoinsulinemia fetal, con lo que se disminuye el anabolismo y da origen a la microsomía. La diabetes gestacional implica que los fetos de estas embarazadas, tienen una intolerancia a la glucosa (Ktorza et al .; 1990), y así el efecto diabetogénico es transmitido a la siguiente generación, y este efecto solamente es transmitido vía línea materna.

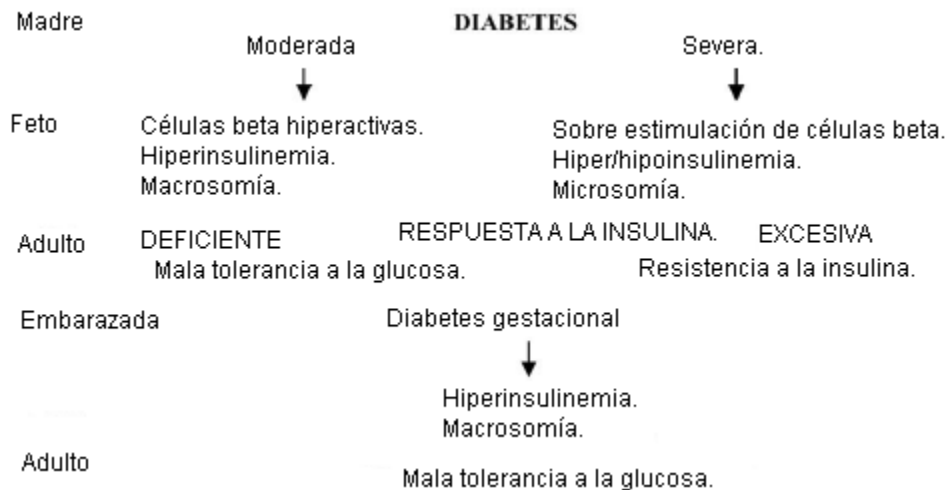


Diagrama 1. Resumen esquemático del efecto transgeneracional de la diabetes materna durante el embarazo.³¹

Estudios epidemiológicos en humanos revelaron, que el peso al nacimiento es significativamente alto en madres con historia familiar de diabetes, con mayor predisposición del lado materno que del paterno y de aquellos que no tienen historia familiar de diabetes. (Savona-Ventra & Chircop, 2002). Hijos de madres diabéticas gestacionales desarrollan una intolerancia a la glucosa, mientras que hijos de madres que ya eran diabéticas antes del embarazo muestran una resistencia temprana a la insulina (Plagemann, Harder, Kohlhoff, Rohde, & Dörner, 1997).

Muchos modelos animales se han empleado para estudiar el impacto de la mala nutrición fetal y la aparición de la intolerancia a la glucosa, con lo que se ha sugerido que el medio



intrauterino de una madre desnutrida (tanto de modo cualitativo como cuantitativo), (**Diagrama 2**) es desfavorable para el desarrollo de su feto, y puede desbalancear el desarrollo de los mecanismos que controlan el metabolismo de la glucosa. El desarrollo de la masa que conforma el páncreas endocrino fetal es deficiente y provoca un crecimiento microsómico. Cuando el hijo se convierte en adulto, las alteraciones en la masa del islote, respuesta a la insulina y sensibilidad son significativas. El desarrollo deficiente del páncreas eventualmente puede resultar en hipoinsulinemia, hiperglicemia (en ayuno), y una intolerancia a la glucosa (Blondeau et al., 1999; Garafano et al., 1998). Cuando estas mujeres se embarazan, no pueden realizar una adaptación eficiente de la masa de los islotes (Blondeau et al., 1999).

Por otro lado, la desnutrición genera un retraso en el crecimiento del feto y desarrollo ineficiente del páncreas endocrino (De Prins & Van Assche, 1982). Las mujeres que crecen con estas deficiencias una vez que se embarazan tienden a ser DMG y sus hijos son macrosómicos. Para esta tercera generación, estudios en ratas en estado adulto revelan que los productos presentan hiperglicemia e hiperinsulinemia basal, una intolerancia a la glucosa, así como resistencia a la insulina (Boloher, Gertz, & Simmons, 2002).

En cuanto a estudios en humanos cuando hay desnutrición, la relación entre el bajo peso al nacimiento y enfermedades que se presentan en adultos, la Internacional Diabetes Federation (IDF, 2002), reconoce que el bajo peso al nacimiento es un factor de riesgo para desarrollar DMT2.

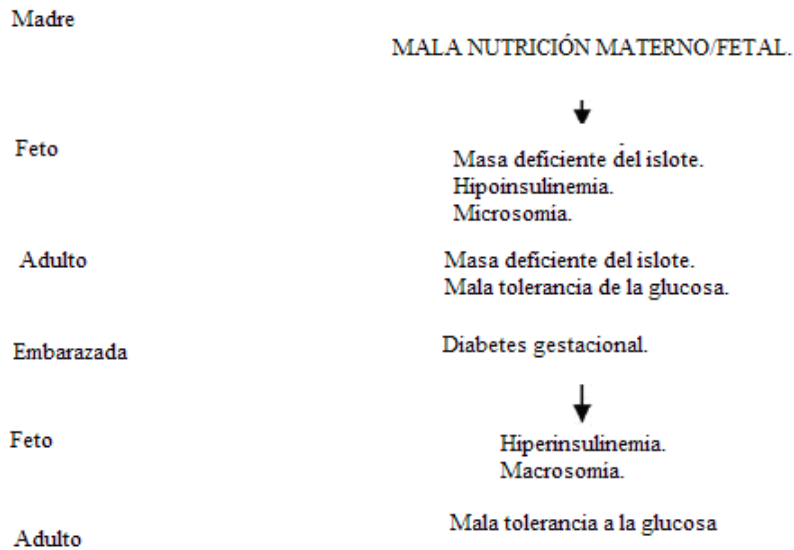


Diagrama 2. Resumen esquemático del efecto transgeneracional de la mala nutrición materno/fetal. ³¹

La detección de DMG en la clínica.

En la actualidad no existe consenso a nivel internacional sobre un criterio diagnóstico por lo que existen varios (**Tabla2**): el empleado por la National Diabetes Data Group, el de la OMS, el de la ADA y variaciones de este último.

El estándar de oro para el diagnóstico de DMG siempre ha sido la curva de tolerancia a la glucosa. Los valores de corte para el diagnóstico siguen el criterio de Sullivan y Mahan que se basaron en sangre venosa, en la actualidad se emplea plasma para la determinar la concentración de glucosa y se han realizado modificaciones en el valor de corte. Dos o más valores son necesarios para el diagnóstico de DMG. El gran problema con el estándar de oro es que no es del todo reproducible (78%). En Europa y Japón se emplea la carga de 75 gramos de glucosa, aunque este método tampoco es del todo reproducible.



En México, se ha establecido que el diagnóstico de la diabetes en el Sector Salud debe apearse a la NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes, donde se emplea la carga de 100 gramos de glucosa.

Tabla 2. Comparación de los métodos para el diagnóstico de DMG, así como los valores límites para una eficiente detección.³⁰

	Ayuno	1 hr.	2hr	3hr.
100 gm OGTT C&C	95 mg/dL or 5.3 mmol/L	180 mg/dL or 10.0 mmol/L	155 mg/dL or 8.6 mmol/L	140 mg/dL or 7.8 mmol/L
100 gm OGTT NDDG	105 mg/dL or 5.8 mmol/L	190 mg/dL or 10.6 mmol/L	165 mg/dL or 9.2 mmol/L	145 mg/dL or 8.0 mmol/L
75 gm OGTT WHO	126 mg/dL or 7.0 mmol/L		140 mg/dL or 7.8 mmol/L	
75 gm OGTT ADA,	95 mg/dL or 5.3 mmol/L	180 mg/dL or 10.0 mmol/L	155 mg/dL or 8.6 mmol/L	
75 gm OGTT CDA	95 mg/dL or 5.3 mmol/L	190 mg/dL or 10.6 mmol/L	160 mg/dL or 8.9 mmol/L	

C&C Carpenter and Coustan; NDDG, National Diabetes Data Group; WHO, World Health Organisation; ADA, American Diabetes Organisation; CDA: Canadian Diabetes Association.

Los tres pasos fundamentales para la detección de la DMG.³¹

- 1) *Análisis del riesgo clínico.*
- 2) *Tamiz de tolerancia a la glucosa.*
- 3) *Prueba de la CTGO.*

El realizar estas pruebas a las embarazadas puede detectar a aquellas que presentan una disfunción crónica o desmejorada de las células beta.

³⁰ <http://www.scielo.cl/fbpe/img/rmc/v134n9/tb09-01.jpg>

³¹ MODIFICACION a la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria para quedar como Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes.



Análisis del riesgo clínico.

Se basa en cuestionar a la mujer en cuanto a su edad, su estilo de vida (si realiza ejercicio), mediciones antropométricas antes del embarazo para determinar si tiene sobrepeso u obesidad ³²:

- a) Edad igual o mayor a 25 años.
- b) Antecedentes obstétricos adversos de causa desconocida (óbito, aborto, polihidramnios, defectos congénitos, parto pretérmino, mortinato, macrosómico, hipoglucemia o hipocalcemia neonatal).
- c) Hiperglucemia aislada.
- d) Antecedentes de infertilidad.
- e) Antecedente de DMG.
- f) Antecedente de DM Familiar. La historia familiar es uno de factores los determinantes de la aparición temprana de la enfermedad. Se ha reportado que es de 4-10 veces mayor la prevalencia que en personas sin ningún familiar de primer grado. ³³
- g) Edad materna avanzada.
- h) Multiparidad.
- i) Sobrepeso (IMC mayor a 25 kg/m²) u obesidad (IMC mayor a 30 kg/m²).
- j) Cuando exista el antecedente de DMG en embarazos previos, se hará directamente la Curva de Tolerancia a la Glucosa Oral (CTGO) antes de la semana 24 del embarazo y no prueba de tamiz.
- k) Si existen factores de riesgo y el embarazo es mayor de 28 semanas, se procederá a realizar directamente CTGO de 3 horas.
- l) Además si pertenece a un grupo étnico ³⁴ de gran riesgo de padecer DM.

Prueba de tamiz o de detección de DMG.

Consiste en la obtención de una muestra sanguínea a los 60 minutos después de la ingestión de 50g de glucosa disuelta en 250 ml de agua, sin importar la hora del día, ni la hora de ingestión de último alimento. Idealmente, debe efectuarse a todas las embarazadas entre las semanas 24 a 28 del embarazo (**Tabla 3**).

³² Esakoff F.T, et al. Screening for gestational diabetes.: Different cut offs for different ethnicities? Am J Obstet Gynec 2005; 193:1040-1044.

³³ Groop L, Forsblom C, Lehtovirta M, Tuorm T, Karanko S, Nissen M, et al. Metabolic consequences of a family history of NIDDM (the Botnia study): evidence of sex-specific parental effects. Diabetes. 1996;45:1585-93.

³⁴ Rosenbloom A, Joe J, Young R, Winter W. Emerging epidemic of type diabetes in youth. Diabetes Care. 1999;22(2):345-54.



En caso de factores de alto riesgo puede y debe efectuarse entre semana 13 a 23 del embarazo. Así como en los casos donde existen factores de riesgo y el embarazo es mayor de 28 semanas, se procede a realizar directamente la CTGO de 3 horas.

Interpretación de la prueba:

Tabla 3. Valores establecidos en la NOM-015-SSA2-1994 para realizar el tamiz de glucosa en mujeres embarazadas.

Corte de glucosa.	Interpretación.
≤ 140 mg/dL (7.8 mmol/L)	Negativa.
≥ 140 mg/dL (7.8 mmol/L)	Positiva.
≥ 180 mg/dL (10 mmol/L)	Hace un diagnóstico de directo de DMG.

Criterios diagnósticos para la Curva de tolerancia a la glucosa oral (CTGO) ³⁵.

Para realizar esta prueba se requiere un ayuno de 8 ó 14 horas, después de llevar una dieta de tres días sin restricciones y con una ingesta mínima de 150 gramos de carbohidratos al día con actividad física ilimitada. Las concentraciones séricas de glucosa durante la CTGO con 100 g de glucosa que se consideran normales son las siguientes, en caso de tener dos o más valores superiores a estos se diagnostica DMG (**Tabla 4 y Figura 9**).

Tabla 4. Valores máximos para la CTGO empleados en el Hospital Juárez de México. Valores máximos para la CTGO empleados en el Hospital Juárez de México. Dos o más valores iguales o superiores al punto de corte son necesarios para el diagnóstico. ²⁸

Diagnóstico de DMG en el embarazo.		
Procedimiento	Corte en los puntos de glucosa	
	Tiempo (h)	mg/dl
100-g, 3-h	Ayuno	105
	1	190
	2	165
	3	145

³⁵ O'Sullivan JB, Mahan CM, Criteria for the oral glucose tolerance test in pregnancy. Diabetes 1964;13:278-285.

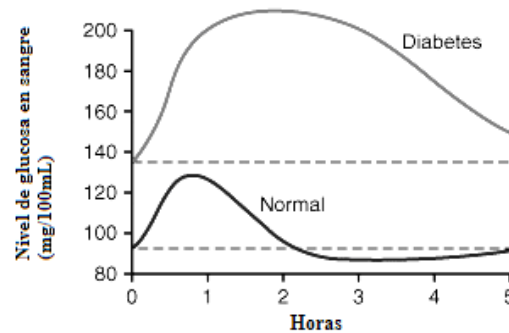


Figura 9. CTGO en una persona normal y en una persona diabética.³⁶

Principales complicaciones presentes en la DMG.³⁷

Complicaciones maternas en la DMG.

*Aumenta la probabilidad de preeclampsia-eclampsia unas cuatro veces. Un 30% de las madres que sufren de diabetes gestacional, cursan con preeclampsia, siendo la primera causa de muerte materna en México. La preeclampsia es una condición específica del embarazo, caracterizada por hipertensión arterial, acompañada de proteinuria, edema o ambos y a veces por anomalías en la coagulación, pruebas de función renal y hepática, pudiendo progresar rápidamente a una fase convulsiva: eclampsia. La preeclampsia ocurre primariamente durante el embarazo y después de la semana 20 de gestación, pudiendo superponerse en una hipertensión crónica preexistente. Su etiología es aún desconocida. Se ha considerado la posibilidad de una placentación defectuosa y como consecuencia de ella, una falla de la adaptación cardiovascular, produciéndose una disminución del gasto cardíaco y volumen plasmático, con aumento de la

³⁶ Guyton & Hall : Textbook of Medical Physiology UNIT XIV Endocrinology and Reproduction. 976. Edición 11. www.studentsconsult.com.

³⁷ Nacer Herrera J, García Huidobro M., Cifuentes Ovalle Lucía. Malformaciones congénitas en hijos de madres con diabetes mellitus gestacional. Revista médica de Chile. 2005.



resistencia vascular periférica. Estos cambios dan lugar a una disminución de la perfusión a nivel placentario, renal, hepático y cerebral.³⁸

* Algunas infecciones bacterianas son más frecuentes en el embarazo con DMG.

* A causa del riesgo que representa tener hiperglicemia crónica, la tasa de cesáreas aumenta.

Complicaciones que pueden presentar los hijos de madres con DMG.

* Defectos congénitos. La probabilidad de que ocurran defectos congénitos es más alta en los bebés de madres diabéticas. Los defectos congénitos generalmente se originan en algún momento durante el primer trimestre del embarazo. La probabilidad de que se presenten es mayor en las mujeres que tienen diabetes preexistente, quienes pueden experimentar cambios en la glucosa de la sangre durante ese período. Los defectos congénitos importantes que pueden presentarse en los hijos de madres diabéticas incluyen:

* Cardíacos y de los vasos sanguíneos relacionados.

* Anomalías del cerebro y la columna vertebral.

* Urinarios y renales.

* Del aparato digestivo.

*Bajo peso al nacer. El feto puede crecer lentamente en el útero debido a una circulación anormal por la hipertensión arterial que puede estar presentando en mujeres con DMG.

*Macrosomía. Se define como un peso al nacimiento por arriba de dos desviaciones estándar del peso promedio normal o como un peso al nacimiento mayor a los 4000 gramos independientemente de la edad gestacional y del peso. La diabetes gestacional contribuye en un

³⁸ Pipkin F. Fortnightly review: the hypertensive disorders of pregnancy. BMJ. 1995;311:609-13.



12% en la macrosomía, el resto es debido a la edad materna, peso materno y multiparidad.³⁹ En México se estima que el 25% de los bebés de madres diabéticas son macrosómicos.¹⁹ Todos los nutrientes que el feto recibe provienen directamente de la sangre de la madre. Si la sangre de la madre tiene demasiada glucosa, el páncreas del feto percibe los niveles altos de glucosa y produce más insulina en un esfuerzo por utilizar esa glucosa. El feto convierte el excedente de glucosa en grasa. Aun cuando la madre tiene diabetes gestacional, el feto puede producir toda la insulina que necesita. La combinación de los niveles altos de glucosa de la madre y de los niveles altos de insulina del feto provoca depósitos grandes de grasa y causa el crecimiento excesivo del feto. Exceptuando el cerebro, la mayor parte de los órganos son afectados por la macrosomía que suele caracterizar, aunque no siempre, al feto de la mujer diabética. Se percibe que la hiperglucemia y la hiperinsulinemia en conjunto aumentan la síntesis de glucógeno, la lipogénesis y la síntesis de proteínas.

*Hipoglucemia en la sangre del bebé inmediatamente después del parto. Debido a que los niveles de glucosa en la sangre de la madre fueron constantemente altos, lo cual provoca un alto nivel de insulina en el sistema circulatorio del feto. Después del parto, el bebé mantiene un nivel alto de insulina, pero ya no tiene el nivel alto de azúcar proveniente de su madre; el resultado es que los niveles de glucosa en la sangre del recién nacido son muy bajos.

*Trastornos respiratorios El exceso de insulina o de glucosa en el sistema del bebé puede retrasar la maduración de los pulmones y provocar dificultades respiratorias. Es más probable que se presente este problema si el bebé nace antes de las 37 semanas de gestación.

³⁹ Catalana PM, Thomas A, Huston-Presley L, Amino SB. Phenotype of infants of mothers with gestational diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30 Suppl 2: S156-60.



Tratamiento.

Debido a las complicaciones antes mencionadas, es importante que las pacientes con DMG normalicen los niveles de glucosa. El tratamiento de elección consiste en una dieta balanceada y/o la aplicación de insulina. El tipo de tratamiento depende la Clasificación de White⁴⁰. Esta clasificación divide a las DM de acuerdo a sus complicaciones (**Tabla 5**).

Dentro de esta clasificación se dividen en dos a las mujeres con DMG:

*Clase A₁: No insulino dependiente. Únicamente se regularán sus valores de glucosa basal mediante la dieta.

* Clase A₂: Insulino dependiente. Requiere tanto la dieta, como la aplicación de insulina para disminuir sus niveles de glucosa.

La dieta se diseña con los nutrientes y calorías necesarias recomendada por la ADA y el Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología (ACOG).

La ADA recomienda una restricción de un 35 a 40% la ingesta de carbohidratos del total de calorías diarias, con la finalidad de disminuir la glucosa materna y evitar las complicaciones maternas y fetales. Para las mujeres con peso normal antes del embarazo, se recomienda una ingesta de 30 a 32 kilocalorías por día. En cambio, las embarazadas con IMC mayor a 30 Kg/m², deben de reducir su ingesta calórica diaria de un 30 a 33%, con lo que consumirán 25 kilocalorías del peso actual por día.⁴¹

⁴⁰ Fuhrmann Reiré. Congenital anomalies: etiology prevention and prenatal diagnosis. In: Jovanovic, Peterson, Furlumann; Diabetes in pregnancy, teratology toxicity and treatment. New York: Praeger, 1986: 51-71.

⁴¹ American Diabetes Association. Gestational Diabetes Mellitas. Diabetes Care 2003; 26 (Suppl. 1.): S43-48.

**Reclasificación de la DMG después del parto.**

Se debe realizar una CTGO de las 6 a las 8 semanas después del parto, pues se ha demostrado que un 70% de las mujeres que tuvieron diabetes gestacional desarrollarán DMT 2 en algún momento de su vida. Por lo que es necesario realizar los estudios pertinentes por lo menos cada año después del diagnóstico de la DMG.⁴²

Tabla 5. Clasificación de White de la diabetes. Modificada por Hare en 1989⁴³.

Clase	Edad de inicio	Duración	Vasculopatía	Necesita insulina
A1	Cualquier	Cualquier	No	No
A2	Cualquier	Cualquier	No	Si
B	Más de 20	Menos de 10	No	Si
C	10 a 19	10 a 19	No	Si
D	Menos 10 ó	Más de 20	Retinopatía benigna o HTA	Si
F	Cualquier	Cualquier	Nefropatía	Si
R	Cualquier	Cualquier	Retinopatía Proliferativa	Si
RF	Cualquier	Cualquier	Neuropatía y Retinopatía Proliferativa	Si
G	Cualquier	Cualquier	Muchas fallas reproductivas	Si
H	Cualquier	Cualquier	Cardiopatía isquémica.	Si
T	Cualquier	Cualquier	Generalizada. Embarazo postransplante renal.	Si

⁴² Sheiner E, et al. Pregnancy outcome of patients with gestacional diabetes mellitus following bariatric surgery. Am J Obstet Gynec 2006;194: 534-538.

⁴³ Fiorelli Rodríguez S. F, Corona R, Izquierdo P. JC, Jiménez Solís G. Capítulo 8. Diabetes mellitus y embarazo. Islas Andrade S., Revilla-Monsalve C, editores. Diabetes mellitus. Tercera edición. México: McGraw-Hill Interamericana pp 89-231.



CÁPITULO VII. Factores genéticos que predisponen al desarrollo de la DMG.

Existen factores tanto ambientales como genéticos que predisponen a las personas a padecer la DMG y DMT2. Los ambientales son factores adquiridos y que pueden ser modificables durante la vida de una persona, se componen principalmente del estrés, sedentarismo, una alimentación no balanceada que genera obesidad, etc.⁴⁴ En cambio los genéticos se basan en la presencia de mutaciones o polimorfismos en ciertos genes que pueden afectar directamente a la homeostasis de la glucosa y generan una susceptibilidad importante a la enfermedad⁴⁵.

Se han realizado estudios genéticos comparando la frecuencia de alelos conocidos asociados con la DM o relacionados con el metabolismo de la glucosa en mujeres que padecieron DMG¹⁴, como: En el gen calpaina-10, el gen receptor de sulfonilurea 1, el gen para el β -3 adrenoreceptor y en genes del DNA mitocondrial, etc.

Con lo que se ha revelado una pequeña pero significativa diferencia estadística entre las embarazadas normales y las que presentan DMG.

Estudios han revelado que defectos en la unión de la insulina a sus receptores en el músculo esquelético, parecen no estar involucrados en la resistencia exagerada a la insulina. Además, se han encontrado alteraciones en la red de señalización de insulina por la anormal localización de los transportadores GLUT4, en músculo esquelético o en el tejido adiposo de mujeres con DMG.⁴⁰

⁴⁴ Cruz Miguel, Montoya Carlos, et al. Polimorfismo de genes relacionados con diabetes tipo 2. Rev. Med IMSS 2002; 40 (2): 113-125. 2001.

⁴⁵ Richard M Watanabe; Mary Helen Black; Anny H Xiang; Hooman Allayee; et al Genetics of Gestational Diabetes Mellitus and Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*; Jul 2007; 30, ProQuest Medical Library pg. S134



La autoinmunidad crónica dirigida a las células beta, es uno de los mecanismos que contribuyen en la aparición de la DMG. Pero la evidencia de esta autoinmunidad se presenta sólo en una minoría de las pacientes.⁴⁶

La diabetes tipo MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young) y la DMG.

La diabetes tipo MODY se caracteriza porque los enfermos debutan con menos de 25 años, y su herencia es autosómica dominante. La mayoría de los genes relacionados con la diabetes tipo MODY codifican para factores de transcripción (**Tabla 6**) que intervienen en el desarrollo y funcionamiento de las células beta pancreáticas, exceptuando glucocinasa. Se caracteriza por una secreción de insulina defectuosa, y a la poca sensibilidad de insulina.⁴⁷

Varios estudios genéticos en las pacientes con DMG, han tratado de enlazar esta enfermedad con las personas que padecen diabetes tipo MODY (Maturity-Onset Diabetes of the Young), puesto que ambos grupos están conformados por lo general a personas jóvenes que en ocasiones no presentan obesidad ni insulino resistencia.³² Se han estudiado ampliamente en DMG ciertas mutaciones y polimorfismos con la finalidad de apreciar si están asociadas con la disfunción en el metabolismo de los carbohidratos.

Mujeres con mutaciones en el gen de glucocinasa o HNF1A casi siempre presentan DMG⁴⁸, y las variaciones más comunes para HNF 4 A, son rs2144908, rs2425637 y rs1885088.⁴⁹

⁴⁶ Shaat N. . Karlsson E. . Lernmark Å. . Ivarsson S. . Lynch K. . Parikh H. . Almgren P. . Berntorp K. . Groop L. Common variants in MODY genes increase the risk of gestational diabetes mellitus. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health* 23(2),85-91 2008

⁴⁷ Irving RR, Mills JL, Choo-Kang EG, Morrison EY, Kulkarni S, Wright-Pascoe R, et al. The burden of gestational diabetes mellitus in Jamaican women with a family history of autosomal dominant type 2 diabetes. *Rev Panam Salud Publica*. 2008;23(2):85–91.

⁴⁸ Stoffel M, Bell KL, Blackburn CL et al (1993) Identification of glucokinase mutations in subjects with gestational diabetes mellitus. *Diabetes* 42:937–940

⁴⁹ Silander K, Mohlke KL, Scott LJ et al (2004) Genetic variation near the hepatocyte nuclear factor-4 alpha gene predicts susceptibility to type 2 diabetes. *Diabetes* 53:1141–1149

Tabla 6. Factores de transcripción relacionados con el desarrollo de diabetes tipo MODY..⁵⁰

Factor de transcripción.	Localización	Funciones.
HNF-4A (factor nuclear de hepatocito 4 α). MODY 1.	20q12q13.1	Miembro de la superfamilia de receptores nucleares de hormonas esteroideas/tiroideas, encargados de la regulación de la expresión de distintos genes en el hígado, riñón, intestino y en islotes pancreáticos, en estos últimos a actividad del gen HNF-4a participa en la regulación de la secreción de insulina en respuesta a la glucosa. La actividad de HNF-4a es esencial en la regulación de la expresión de varios genes involucrados en el metabolismo de la glucosa, ácidos grasos y colesterol.
HNF-1A (factor nuclear de hepatocitos-1 α). MODY 3	12q24.2	Este gen codifica para una proteína que se expresa en el hígado, intestino, estómago, riñón y páncreas. La forma funcional del HNF-1a es un dímero, un homodímero o heterodímero, con la proteína HNF-1beta estructuralmente relacionada que activa la transcripción de distintos genes.
IPF1 (factor promotor del gen de la insulina). MODY 4.	13q12.1	Este gen es importante para la regulación de la transcripción de insulina así como en la organogénesis pancreática.
HNF1b (factor nuclear de hepatocitos 1 beta). MODY 5.	17q21.3.	Se expresa en los islotes pancreáticos y se sugiere que funciona junto a HNF-1a como heterodímero para regular la expresión de distintos genes en distintos tejidos. Tiene un papel importante en el desarrollo endodérmico temprano. Codifica para una proteína estructuralmente muy parecida a HNF1 α en sus dominios de dimerización y unión a DNA, difiere sustancialmente en su región C-terminal.
NeuroD1/ beta2. MODY 6.	2q32	Este gen codifica para una proteína que funciona como regulador del desarrollo pancreático. Es un regulador transcripcional con capacidad de unirse y activar el gen de la insulina, o bien de inducir neurogénesis

⁵⁰ Sánchez-Reyes Leticia, Fanghänel Guillermo, Márquez-Cid Miguel Enrique, Salazar Rocha Rafael, Labastida-Sánchez, Claudia, Solís-Pérez Aarón, Tusie Luna María Teresa Actualización en los diferentes subtipos de diabetes tipo "MODY". Revista de Endocrinología y Nutrición Vol. 9, No. 1 Enero-Marzo 2001 pp 5-11



Estas formas monogénicas de DMG aparecen en una pequeña fracción de los casos totales (10%³²), por lo que se han asociado más a ejemplos de cuando la DM ya estaba presente y que se detecta por vez primera durante el embarazo.¹⁴



CAPÍTULO VIII.

Factores de transcripción.

La transcripción eucariótica esta controlada en varios sitios y por moléculas reguladoras. Para iniciar la transcripción se requiere de un promotor al cual se une la RNA polimerasa. En eucariontes multicelulares tal enzima se une a una secuencia de bases, conocida como secuencia TATA, unos 30 pares de bases arriba del sitio de iniciación de la transcripción. La región promotora también contiene una o más secuencias de 8 a 12 base, conocidas como elementos promotores ascendentes (UPE) a una corta distancia del sitio de unión para RNA polimerasa. Los requerimientos para cualquier producto genético varían dependiendo las condiciones o el estado de desarrollo celular, y la transcripción de cada gen esta cuidadosamente regulada para formar el producto genético sólo en las proporciones requeridas. La regulación puede ocurrir en cualquier paso para la transcripción, incluida la elongación y la terminación.

Los promotores son necesarios para la iniciación exacta y eficaz de la síntesis de RNAm, los intensificadores incrementan la rapidez de la síntesis de RNA después de la iniciación. Un intensificador puede regular un gen en la misma molécula de DNA desde muy largas distancias y puede estar en dirección ascendente o descendente de los promotores que controla.

Se han identificado varias proteínas reguladoras que se unen a DNA; diversas proteínas reguladoras que se unen a DNA son proteínas modulares; esto es, tienen más de una región estructural (dominio) y cada región tiene una función distinta. La “maquinaria general de transcripción” es un complejo de proteínas que se une a la región TATA de promotor cerca del sitio de iniciación de la transcripción. Dicho complejo es necesario para que la RNA polimerasa se una e inicie la transcripción en el sitio adecuado. Otras combinaciones de proteínas reguladoras están



unidas a la regiones intensificadoras o de UPE del promotor, más distantes. Los reguladores pueden ser activadores o represores. Cada activador tiene dominios funcionales incluyendo una región de unión a DNA⁵¹. La unión de proteína puede activar la transcripción para facilitar también la unión de la RNA polimerasa o pasos en el proceso de iniciación, también puede reprimir la transcripción por el bloqueo de la actividad de la polimerasa⁵². La regulación de forma más o menos específica de la síntesis de cada proteína depende de los factores de transcripción.

Un factor de transcripción es una proteína que participa en la regulación de la transcripción del ADN (ácido desoxirribonucleico). Los factores de transcripción pueden actuar reconociendo y uniéndose a secuencias concretas de ADN, uniéndose a otros factores o uniéndose directamente a la ARN polimerasa. Son generalmente específicos para cada clase de genes, reconocen y se unen a secuencias determinadas cerca del sitio de iniciación de la transcripción.

Existen varios factores de transcripción que controlan el desarrollo pancreático y la función de las células beta (**Tabla 3.**). Éstos controlan la capacidad de mantener a las células origen en un estado indiferenciado. También controlan el proceso de desarrollo que permite la formación de las células beta y proveen la programación genética para la función adecuada de las células beta.⁵³

⁵¹ Biología de Ville. Ville Claude, Peral Solomon Elvira, et al. Editorial Interamericana McGraw-Hill. Tercera edición. México 1996.

⁵² Lehninger Principles of Biochemistry. Nelson David L., Cox M. Cuarta edición. Michael. Editorial W.H. Freeman and company New York. EUA 2005.

⁵³ Servitja J. M., Ferrer J. Transcriptional networks controlling pancreatic development and beta cell function. Diabetología (2004) 47:597-613.

**Tabla 7.** Factores de transcripción que controlan el desarrollo pancreático y la función de las células beta.⁵⁴

NOMBRE DEL GEN	SITIO DE EXPRESIÓN PANCREÁTICA Y EMBRIÓNICA.	SITIO DE EXPRESIÓN PANCREÁTICA ADULTA.	FENOTIPO PANCREÁTICO DE MUTANTES NULOS.
<i>Ipf1/Pdx1</i>	En el E8-E10, esta altamente expresado en progenitores pancreáticos. Expresión de alto nivel reaparece en la diferenciación de células beta.	Células beta	La falta de páncreas en mutantes nulos; diabetes debido a una reducida expresión de insulina y de la disfunción de las células beta en células beta mutantes.
<i>Hlxb9</i>	En E8-E9, esta expresado en progenitores pancreáticos, y reaparece en células beta diferenciadoras.	Células beta.	Falta de páncreas dorsal y el páncreas ventral tiene ligeras perturbaciones en la diferenciación de células endocrinas.
<i>Nkx2.2</i>	En un tardío E8-E9, esta expresado en progenitores pancreáticos y después se restringe a células pancreáticas endocrinas.	Células α -, β - y PP.	Un reducido número de células α -, β - y PP., las células beta fallan al expresar insulina.
<i>Nkx6.1</i>	Desde -E9.0-E9.5, está expresado en progenitores tempranos y se restringe a células beta.	Células beta.	Números reducidos de células beta maduras.
<i>Isl1</i>	Esta expresado en células endocrinas tan pronto como ellas aparecen; esto es, desde E9.	En los cuatro tipos diferenciados de células endocrinas.	Diferenciación de células endocrinas ineficiente.
<i>Pax4</i>	A E9.0-E9.5 esta expresado en progenitores pancreáticos.	No expresado o expresado en bajos niveles en páncreas.	Falta de células beta y delta.
<i>Pax6</i>	Desde E9.0-E9.5 está expresado en células endocrinas tan pronto como aparece.	En los cuatro tipos diferenciados de células endocrinas.	Número disminuido de células endocrinas y una expresión reducida hormona-gen.
<i>Neurod</i>	Desde E9.5 esta expresado en células endocrinas.	En los cuatro tipos diferenciados de células endocrinas.	Número reducido de células endocrinas.
<i>Ngn3</i>	Desde E9 esta expresado en progenitores endocrinos.	No expresado	Falta de células endocrinas y una polaridad acinar perturbada.
<i>p48</i>	Desde E9.5, esta expresado en progenitores pancreáticos. Después, se restringe a células exócrinas.	Células exócrinas	Falta de páncreas exócrino; aún se forman células endócrinas pero residen en el bazo.
<i>Mist1</i>	Desde E-13-E14 está expresado en el desarrollo de células acinares.	Sólo en células acinares.	Desorganización del tejido acinar; se desarrollan lesiones pancreáticas con la edad.
<i>Hnf1a</i>	Esta expresado en el desarrollo pancreático, desde al menos E13.5.	Células beta, quizá en otros tipos de células.	Secreción de insulina glucosa-inducida inadecuada.
<i>Hnf3a/Foxa1</i>	Esta expresada en el endodermo temprano; después se restringe a células endocrinas.	En los cuatro tipos diferenciados de células endocrinas.	Expresión reducida del gen glucagón pancreático.
<i>Hnf3b/Foxa2</i>	Esta expresado en el endodermo temprano, progenitores y todo tipo de células pancreáticas a través del desarrollo.	Todos los tipos celulares pancreáticos.	Conformación del endodermo inadecuada, células beta mutates tienen una secreción de insulina mal regulada.
<i>Hnf6</i>	Desde E9 y en adelante, esta expresada en progenitores pancreáticos y en todos los tipos de células pancreáticas a través del desarrollo	Todos los tipos de células pancreáticas.	Número reducido de células endocrinas y una diferenciación retrasada de células endocrinas.

⁵⁴ Edlund Helena. Pancreatic organogenesis —Developmental mechanisms and implications for therapy. Volume 3: 524-32. July 2002. Nature publishing group. www.nature.com/reviews/genetics

**Factor Nuclear Hepático 4A.**

El *HNF 4A* es un gen localizado en el cromosoma 20q12-13, varios estudios han demostrado que existe cierta relación con cambios estructurales del brazo largo del cromosoma 20 con la aparición de DMT2 y se le ha relacionado directamente con la aparición de la diabetes monogénica de aparición temprana Monogenic Diabetes of the Young (MODY 1), tanto en caucásicos como en asiáticos, sugiriendo que hay uno o más loci de susceptibilidad en este cromosoma.⁵⁵ El gen *HNF 4A* codifica para el factor de transcripción nuclear hepático HNF 4A, se expresa en el hígado, islotes pancreáticos, riñón y en el intestino delgado. En el hígado es requerido para la gluconeogénesis normal, mientras que en la célula beta pancreática sirve para la regulación del metabolismo de la glucosa, así como la expresión y secreción de la insulina.

HNF 4A es un miembro de la superfamilia de receptores hormonales nucleares (**Figura 10**), y funciona como un homodímero interactuando con secuencias promotoras de genes, las cuales están reguladas por HNF 4A. En el dominio A/B se encuentra un motivo denominado AF1 y en el dominio E se encuentra el AF2.

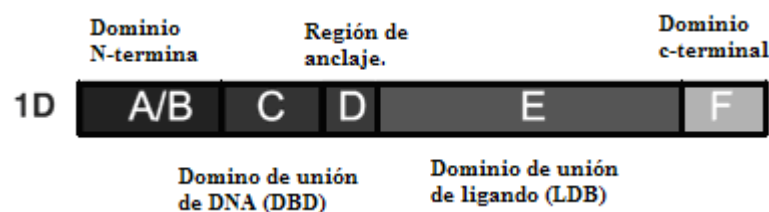


Figura 10. Estructura general de los receptores hormonales nucleares.⁵⁶

⁵⁵Zhu Q, Yamagata K. Et al. T130I mutation en HNF-4A gene is a loss-of-function mutation in hepatocytes and is associated with late-onset Type 2 diabetes mellitus in japanese subjects. *Diabetología* (2003) 46:567-573.

⁵⁶http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/3e/Nuclear_Receptor_Structure.png/800pxNuclear_Receptor_Structure.png&imgrefurl=http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Nuclear_Receptor_Structure.png&h=600&w=800&sz=175&hl=es&start=12&um=1&usg=__IEDdogJBpDqkPnztN4roRtYE0_E=&tbnid=rEEr1egku78RM:&tbnh=107&tbnw=143&prev=/images%3Fq%3Dnuclear%2Breceptor%26um%3D1%26hl%3Des%26rlz%3D1T4ADBS_esMX242MX243



El gen *HNF 4A* tiene un tamaño aproximado de 30 kb, y posee 13 exones. Los exones del 2-10 y los exones alternativos 1a, 1b, 1c y 1d. La transcripción de este gen es iniciada por dos diferentes promotores P1 y P2, localizados este último a 46 Kb río arriba. Este gen codifica para nueve isoformas (**Figura 11**) con varias truncantes en 3'. El promotor P1 específico del hígado, dirige la expresión de los transcritos desde HNF 4A 1 al 6, incluyendo los exones 1a y del 2-10 (HNF 4A 1 al 3) o exones 1a, 1b, y del 2 al 10 (HNF 4A 4 al 6). Los transcritos de HNF 4A del 7 al 9 son expresados del promotor pancreático P2. (**Figura 12**).

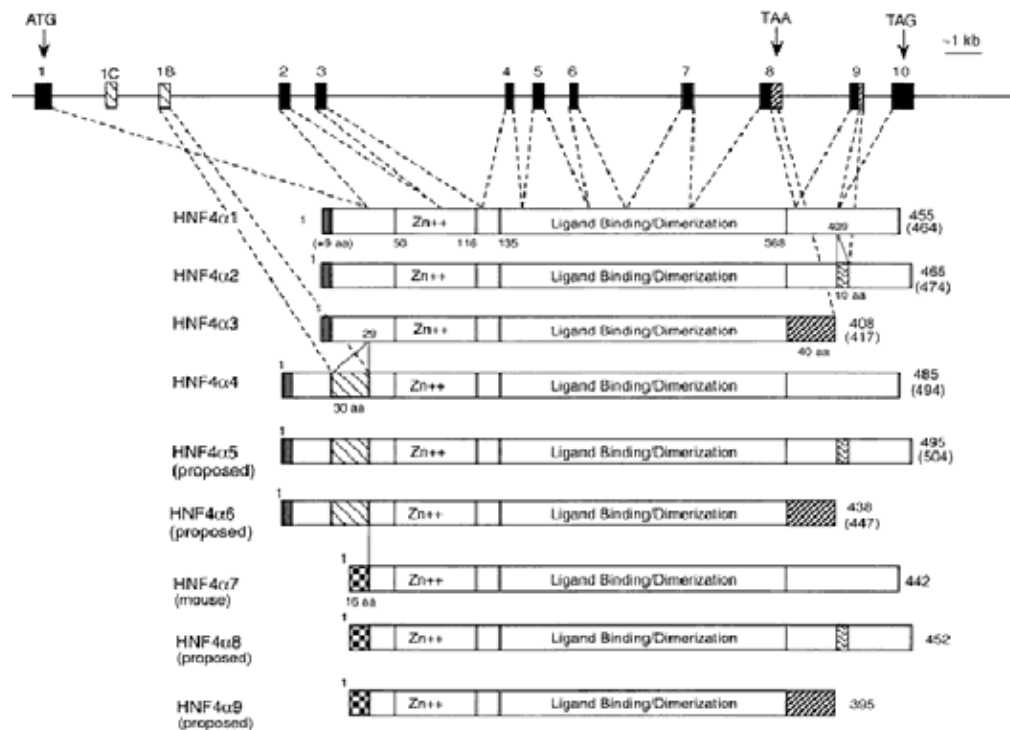


Figura 11. El gen de HNF4 A codifica para nueve isoformas.⁵⁷

⁵⁷http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.sladeklab.ucr.edu/images/hnf41.gif&imgrefurl=http://www.sladeklab.ucr.edu/info.html&h=304&w=400&sz=10&hl=es&start=5&um=1&tbnid=vCCjZgfPhnuf8M:&tbnh=94&tbnw=124&prev=/images%3Fq%3DHNF-4%26um%3D1%26hl%3Des%26rlz%3D1T4ADBS_esMX242MX243%26sa%3DN

HNF4 A tiene un dominio de transactivación dividido en 2 partes, AF1 (aminoácidos 1-24) y AF2 (aminoácidos 128-366). El dominio enlazador de ADN incluye dos dedos de zinc codificados por los codones 51-117 y del dominio de dimerización que abarca los codones 175-360 [Handzopoulou-Cladaras et al., 1997].

En el páncreas HNF 1A activa la transcripción de *HNF 4A* a través del promotor P2, el cual a su vez activa la transcripción de *HNF 1A*.

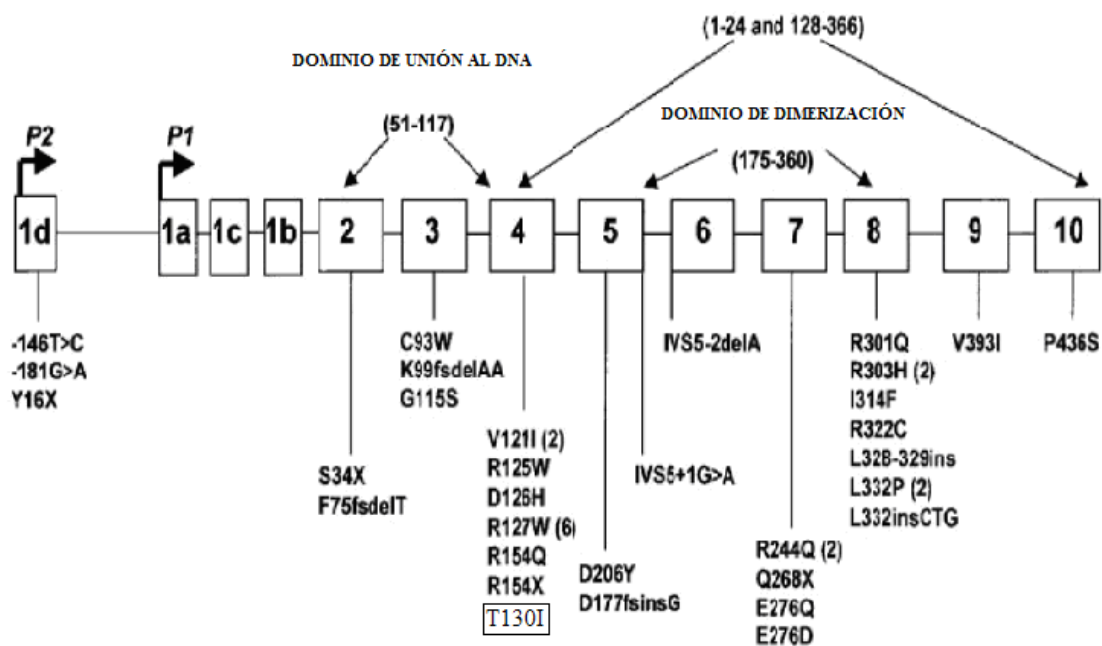


Figura 12. Estructura del gen HNF 4 A y la localización de las mutaciones encontradas.⁵⁸

Mutaciones en genes como *HNF 4A* (factor nuclear hepático 4 α), glucocinasa y *HNF 1A* (factor nuclear hepático 1 α), son determinantes por que regulan el funcionamiento normal de las células beta pancreáticas, que se ve reflejada en una secreción defectuosa de insulina.⁵⁹

⁵⁸ Sian Ellard¹, Kevin Colclough Mutations in the Genes Encoding the Transcription Factors Hepatocyte Nuclear Factor 1 Alpha (HNF1A) and 4 Alpha (HNF4A) in Maturity-Onset Diabetes of the Young. Human mutation 27(9), 854- 869,2006



Mutación T130I del gen *HNF4A*

Mutaciones en los sitios de unión de *HNF4A* se han relacionado directamente con enfermedades humanas con hemofilia y *MODY 1*.

Las variantes de *HNF4A* poco comunes como T130I y V225M, mostraron un decremento en la actividad transcripcional *in vitro*. La mutación T130I se encuentra en el exón 4 del gen *HNF 4A*, y consiste en el cambio de una adenina por una timina en el codón 130, originando una mutación de sentido equivocado (treonina por isoleucina) y que afecta un residuo de la región de unión del DNA en la caja A. La mutación se encuentra en el dominio D, el cual está involucrado en la unión con el DNA. La caja A es importante para la dimerización y alta afinidad en la unión de DNA

El páncreas en ratón se crea tempranamente del día embrionario 8.5 al 9.5 (e8.5 al e9.5). En ratón *HNF4 A* es necesario para la diferenciación de hepatocitos en el desarrollo del hígado, por lo que tiene una función en la conservación del fenotipo hepático en hepatocitos maduros. *HNF4 A* es expresado tempranamente en el desarrollo embrionario en el día 4.5, antes del desarrollo del hígado. La línea germinal de *HNF4 A* knock-out es letal en el ratón en estados tempranos embrionarios y muere en el útero entre el e9.5 y e10.5, además presenta una deficiente gastrulación.^{60, 61, 62}

⁵⁹ Joel F. Habener, Daniel M. Kemp, and Melissa K. Thomas Minireview: Transcriptional Regulation in Pancreatic Development. *Endocrinology* 146(3):1025–1034. 2005 by The Endocrine Society doi: 10.1210/en.2004-1576.

⁶⁰ Grapin-Botton A, Majithia AR, Melton DA (2001) Key events of pancreas formation are triggered in gut endoderm by ectopic expression of pancreatic regulatory genes. *Genes Dev* 15:444–454

⁶¹ Holewa Beatrix, Zapp Dirk, Drewes Thorsten, Senkel Sabine, and Ryffel Gerhart. *HNF4b*, a new gene of the *HNF4* family with distinct activation and expression profiles in oogenesis and embryogenesis of *Xenopus laevis*. *Molecular and cellular biology*. Vol. 17, n°2. Feb. 1997, p. 687–694

⁶² <http://www.sladeklab.ucr.edu/info.html>



Mientras que HNF4A parece ser esencial en el endodermo visceral, puede que no sea tan necesario para las etapas tempranas en el desarrollo del hígado fetal (Li et al., 2000). Aunque en el hígado adulto, HNF4A es requerido para una función apropiada (Hayhurst et al., 2001).

Alrededor de 55 genes blanco se han identificado para HNF4A. Muchos de estos contienen mas de un sitio de unión para HNF4A. Estos genes pueden ser agrupados en muchas categorías, de acuerdo a sus funciones, como, transportador de nutrientes y metabolismo, función inmune, diferenciación en el hígado, factores de crecimiento, etc. Los genes blanco más caracterizados son los involucrados en el transporte de lípidos (por ejemplo los genes de apolipoproteínas) y metabolismo de glucosa.⁵¹

Dentro de las mutaciones en el gen de *HNF4*, muchas se han relacionado con MODY1, pero muchas otras se han clasificado como polimorfismos y no está del todo claro si afectan la función de HNF4A (Figura 13).⁵¹

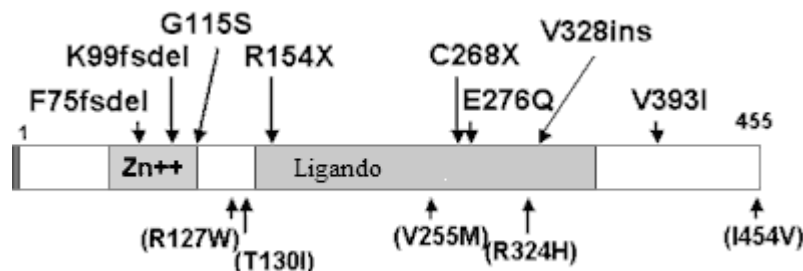


Figure 13. Muestra las mutaciones encontradas en la secuencia codante asociada MODY1, sólo la mutación en heterocigoto se ha identificado.⁵¹

Este tipo de diabetes conforma del 2-5% de todos los subtipos de MODY en Europa (Frayling y cols, 2001). En un estudio danés, la mutación T130I se asoció con la DMT2 (odds ratio=1.26), además se ha asociado con la DMT2 de aparición tardía en la población japonesa.⁴⁴, y



poseer variantes en *HNF 4A*, predispone a la conversión de sujetos intolerantes a la glucosa a DMT2 (Andrulionyte y cols 2006). Estudios en población japonesa señalaron una prevalencia de la mutación T130I de 1.7 y 0.4% en sujetos con DMT2 y controles respectivamente, para la población danesa fue de 4.7% para pacientes y 1.9% para los controles. En el caso de la población mexicana, se reportó una prevalencia de 16.0% para diabéticos de aparición temprana y de 5.6% para el grupo control, siendo la mayor frecuencia reportada en el mundo hasta la fecha, cabe señalar que en este estudio, también se relacionó esta mutación con el desarrollo de nefropatía en los pacientes.⁶³ En población diabética mestiza mexicana, la mutación T130I se ha encontrado con una frecuencia alélicas del 8% (OR= 3.7 CI 95 % 1.10-9.20, p= 0.033). Con lo que se ha establecido que esta mutación es un factor diabetogénico importante dentro de la población mexicana.⁶⁴

NeuroD1/beta2

Fundamentalmente, tres genes conforman la red transcripcional de la diferenciación de la célula beta; *diferenciación neurogenica-1 (NeuroD1/beta2)*, *neurogenina-3 (Neurog3)* y el factor nuclear hepático-1A (*HNF 1A*).⁶⁵

Así, NeuroD1/beta2 participa en el desarrollo normal del islote y en la regulación de la transcripción del gen de insulina. Mutaciones raras en *NeuroD1/beta2* se han caracterizado

⁶³ Menjívar M., Granados-Silvestre M. A., et al. High frequency of T130I mutation of *HNF4A* gene in Mexican patients with early-onset type 2 diabetes. *Clin Genet* 2008;73: 185-187.

⁶⁴ Granados-Silvestre Ma, Ortiz-López Guadalupe, Menjívar Marta. Evaluación de la frecuencia de la mutación T130I del gen *hnf4a* en dos grupos indígenas mexicanos. 2° Congreso Nacional de Química Médica.

⁶⁵ Jackson Alan E., Cassell Paul G., North Bernard V., Vijayaraghavan Shanti, Gelding Susan V., Ramachandran Ambady, Snehalatha Chamukuttan, and Hitman Graham A. Polymorphic Variations in the Neurogenic Differentiation-1, Neurogenin-3, and Hepatocyte Nuclear Factor-1_ Genes Contribute to Glucose Intolerance in a South Indian Population. *DIABETES*, VOL. 53, AUGUST 2004. 2123-25

recientemente con la diabetes monogénica (MODY 6) y sólo un polimorfismo se ha asociado con la secreción alterada del péptido-C en sujetos con DMT2.⁵³

El gen de *NeuroD1/beta2* codifica para un factor de transcripción clase B hélice-loop-hélice básico (bHLH) (**Figura 14**) y se expresa en el páncreas endocrino, intestino y en células del cerebro. Es indispensable para la homeostasis de la glucosa. Los factores de transcripción bHLH están involucrados en el destino de varios tipos de tejidos durante el desarrollo embrionario.⁶⁶

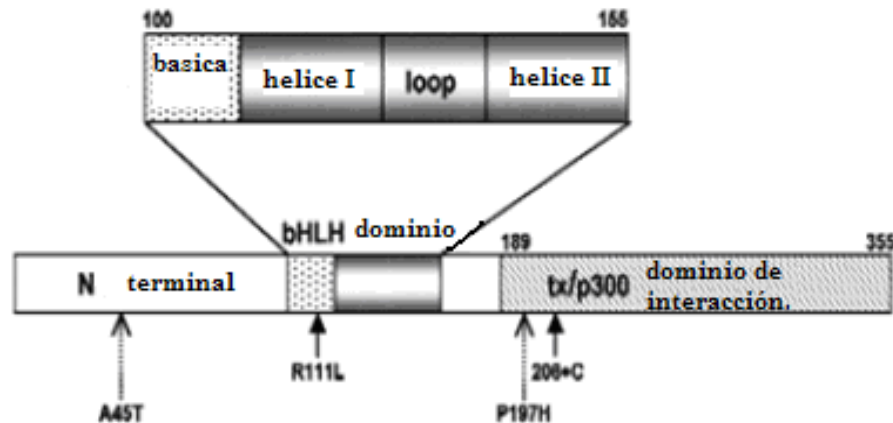


Figura 14. *NeuroD1/beta2* codifica para un factor de transcripción clase B hélice-loop-hélice básico (bHLH).⁶⁷

NeuroD1/beta2 es un gen que está involucrado en la diferenciación temprana de las células endocrinas. Este gen juega un papel crítico para establecer la especificidad de la célula beta y la expresión eficiente del gen de insulina, además se regula mediante el estímulo fisiológico. Estudios *in vivo* confirman la importancia de *NeuroD1/beta2* en el desarrollo pancreático (Naya et al., 1997).

⁶⁶ Ji Hyung Chae, Gretchen H. Stein, and Jacqueline E. Lee. NeuroD: The Predicted and the Surprising Mol. Cells, Vol. 18, No. 3, pp. 271-288. December 2004.

⁶⁷ Malecki I, Maciej T., Jhala Ulupi S., Antonellis Anthony, Fields Liz, Doria Alessandro, Orban Tihamer, Saad Mohammed, Warram James H., Montminy Marc & Krolewski Andrzej S. Mutations in *NEUROD1* are associated with the development of type 2 diabetes mellitus. Nature genetics • volume 23 • november 1999.

En ratón *NeuroD1/beta2* RNAm es por vez primera expresado en el día 9.5, y continúa siendo expresado por las células beta pancreáticas a lo largo del desarrollo. El ratón *NeuroD1/beta2*-null muere a los 5 días después del nacimiento debido a la hiperglicemia severa (Naya et al.,1997). Analizando el páncreas, indica que las células endocrinas fallan al formar los islotes. Mientras que la expresión de todas las cuatro hormonas endocrinas se han detectado en el ratón *NeuroD1/beta2*-null, el nivel total de insulina pancreática es sólo cerca del 5% del nivel normal (Naya et al.,1997). Además empieza una muerte masiva de células beta alrededor de e17.5, la falla en formar los islotes aprecia en el ratón *NeuroD1/beta2*-null (Naya et al.,1997). También existe una reducción en el número de células alfa, aunque no tan significativa como en las células beta (**Figura 15**).

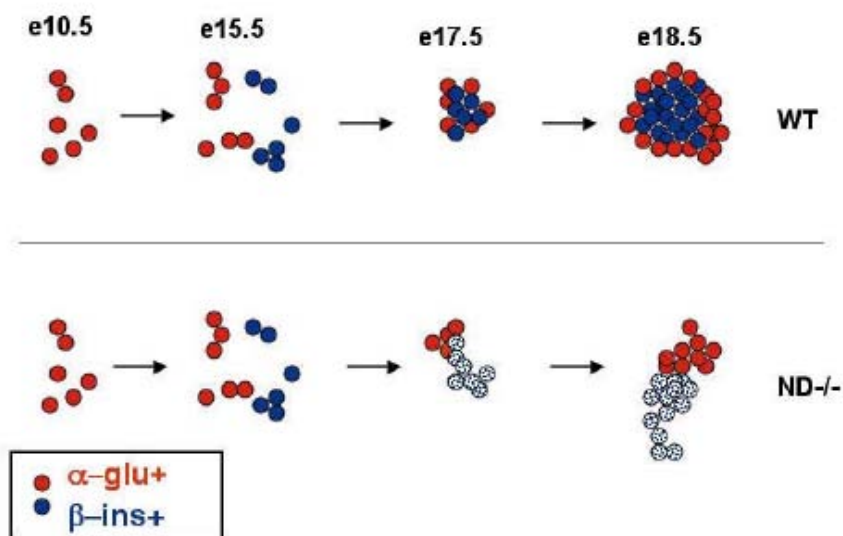


Figura 15. Morfología del islote y muerte celular en el páncreas de *NeuroD1/beta2*-null.

La capacidad de *NeuroD1/beta2* para activar el promotor de insulina se ha demostrado en muchos ensayos de cultivo de celular. *NeuroD1/beta2* también se une y activa el receptor del promotor de sulfunilurea (SUR1), el cual forma un canal de potasio con Kir6.2 (Kim et al., 2002).

Este canal de potasio se cierra en respuesta a la glucosa, el cual activa el canal de calcio, incrementando los niveles del calcio intracelular (**Figura 16**).

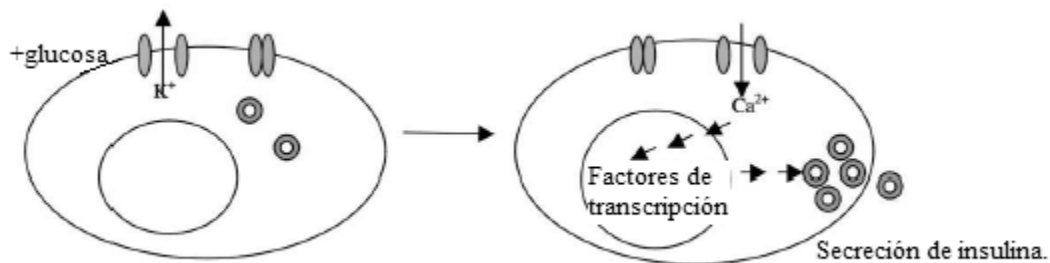


Figura 16. NeuroD1/beta2 ha sido implicado en la regulación del gen de SUR1, el cual conforma el canal de potasio junto con Kir6.1. Cuando se cierra este canal de potasio, se abre el canal de calcio y se aumenta el nivel intracelular de calcio.

Se encuentra el ser humano en el brazo largo del cromosoma 2 (2q32). En humanos este gen esta comprendido de dos exones. El exón 1 no se traduce, y la proteína codificante tiene su origen dentro del exón 2. Los tamaños del exón 1 y 2 son 168 y 2404 pb respectivamente (**Figura 17**). El exón 2 consta de 11 nucleótidos sin traducir al final del 5' y 1325 nucleótidos sin traducir al final de 3'. La predicción de la proteína de NeuroD1/beta2 contiene 356 aminoácidos. El dominio básico de hélice-vuelta-hélice se codifica por los codones 100-156. Tres pares de primers (F1-R1, F2-R2, F3-R3) cubren toda la región codificante del exón 2 y flanquean secuencias que se usaron para el análisis de la mutación.⁶⁷

NeuroD1/beta2 codifica para un factor de transcripción del gen de insulina y del factor de diferenciación neurogénico. Algunos autores han reportado que la unión ineficiente de

NeuroD1/beta2 o el enlace de un polipéptido transcripcional inactivo de NeuroD1/beta2 al promotor blanco en los islotes pancreáticos, permiten el desarrollo de la DMT2.⁶⁸

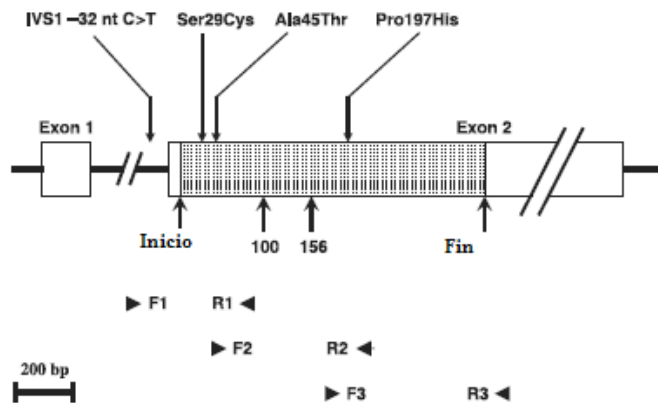


Figura 17. Estructura del gen NeuroD1/beta2 y posiciones de los polimorfismos.⁶⁹

Mutaciones en *NeuroD1/beta2* han sido reportadas en tres familias, además se les han relacionado con el fenotipo clínico de la DMT2 en una familia, por lo cual a *NeuroD1/beta2* se le ha considerado un gen candidato en el estudio genético de la DMT2.

Polimorfismo A45T del gen

Se ha reportado la transición de una guanina (GCC) por una adenina (ACC) en el codón 45, generando el polimorfismo A45T (sustitución de una alanina por una treonina en la región amino

⁶⁸ Vesna BoraskaT₁, Janoš Terzić₁, Veselin Škrabić₂, Tamara Čačev₃, Viljemka Bučević-Popović₄, Marijana Peruzović₁, Anita Markotić₁, Tatijana Zemunik₁ NeuroD1 Gene and Interleukin-18 Gene Polymorphisms in Type 1 Diabetes in Dalmatian Population of Southern Croatia. Basic Science Croat Med J. 2006;47:571-8

⁶⁹ J. V. Sagen, M. E. Baumann†, H. B. Salvesen†§, A. Molven, O. Søvik and P. R. Njølstad. Diagnostic screening of NEUROD1 (MODY6) in subjects with MODY or gestational diabetes mellitus. Diabetes UK. Diabetic Medicine 22 1012–1015



terminal) del gen *NeuroD1/beta2*, aunque la diferencia funcional entre el alelo G y A es desconocida.

Esta mutación se ha asociado con DMT1 en población danesa (Hansen et al., 2000), en población checa (Cinek et al., 2003), y en población japonesa (Iwata et al., 1999; Mochizuki et al., 2002; Yamada et al., 2001). Sin embargo, no se ha asociado en población caucásica de varias ciudades, incluyendo la población francesa (Dupont et al., 1999; Vella et al., 2004). Dos mutaciones se en *NeuroD1/beta2* se han relacionado con el MODY6 en humanos (Malecki et al., 1999). Una es en Arg 111, que es una mutación sin sentido en el dominio de unión del DNA de *NeuroD1/beta2*, que impide la capacidad de unión al DNA. Esta mutación se ha asociado con DMT2 en estado heterocigoto. Una segunda mutación que trunca C-terminal de *NeuroD1/beta2* origina un fenotipo de DMT2 más severo. El C- Terminal de *NeuroD1/beta2*, contiene un dominio de activación transcripcional, que es sujeto a una regulación post-transduccional. Es posible que esta mutación produzca una forma negativa dominante de *NeuroD1/beta2* y que cause el fenotipo severo. La evidencia de estas mutaciones en *NeuroD1/beta2* que están relacionadas tanto en DMT1 como en DMT2, revelan los roles de *NeuroD1/beta2* en islotes maduro.

Para descendientes europeos se ha reportado una prevalencia en el grupo de diabéticos de 20.6% de forma homocigota y 43.3% en forma heterocigota, la prevalencia en los controles fue de 15.9% para homocigotos y 46.0% para heterocigotos (DuPont et al, 1999). Los descendientes de asiáticos tuvieron una prevalencia de 13.4% en forma heterocigota (no se encontró de forma



homocigota) para los pacientes y de los controles un 0.6% de forma homocigota y 23.1 para los heterocigotos. (Jackson et al. 2004)⁷⁰

El primer estudio del polimorfismo A45T en el gen NeuroD1/beta2 en DMG se realizó en Noruega, pero no se encontró asociación con la patología de la DMG por que no se encontró el polimorfismo en el grupo estudiado.⁵⁸

⁷⁰ Fotini K. Kavvoura Æ John P. A. Ioannidis. Ala45Thr polymorphism of the NEUROD1 gene and diabetes susceptibility: a meta-analysis. Hum Genet (2005) 116: 192–199.



CAPÍTULO IX.

Objetivos

➤ Evaluar la frecuencia de la mutación T130I del gen HNF4A y del polimorfismo A45T del gen NeuroD1/beta2, en un grupo de embarazadas que cursen con DMG.

Objetivos específicos.

➤ Establecer una correlación entre los hallazgos moleculares y los parámetros bioquímicos evaluados.

➤ Determinar si existe una asociación significativa entre la frecuencia de la mutación T130I del gen HNF4A y del polimorfismo A45T del gen NeuroD1/beta2, con la aparición de DMG.

CAPÍTULO X.

Hipótesis.

Se espera encontrar en una alta frecuencia la mutación T130I del gen HNF4A y el polimorfismo A45T del gen NeuroD1/beta2 en pacientes que cursan con DMG.



CAPÍTULO XI.

Justificación.

En la actualidad, México tiene un severo problema de salud pública con la DMT2, lo que incrementa los gastos en el sector salud, así como el deterioro en la calidad de vida de quienes la padecen. La DMT2 representa más del 95% de todos los casos de diabetes, y es la principal causa de muerte en México.

La DMG es una patología que afecta a la mujer embarazada y al producto. Al igual que la DM, su frecuencia y morbilidad, así como los trastornos provocados a largo plazo enfatizan la necesidad de encontrar su etiopatogenia para establecer acciones preventivas en las personas susceptibles a padecerla. Hasta el momento no se tienen datos certeros de la prevalencia de la DMG a nivel nacional, sin embargo la Secretaría de Salud estima un 19.7%, frecuencia que se encuentra muy por arriba de lo reportado en otras poblaciones, donde oscila entre 0.15% y el 15%, además se ha estimado que la prevalencia de la DM es del 10% después del parto en aquellas mujeres a las que se les diagnosticó DMG, con un rango de incidencia de 5% a 10% por año.

Dentro de los probables factores para el desarrollo de la DMT2, se encuentran los factores de transcripción, elementos necesarios para la formación, desarrollo y el buen funcionamiento de la célula beta pancreática. Estudios recientes han documentado la participación del gen HNF4A y NeuroD/beta2 en la aparición de DM en población mestiza mexicana, por lo que en este estudio se plantea estudiar, la influencia de la mutación T130I del gen HNF4A y la mutación A45T del gen NeuroD/beta2, en el desarrollo de la DMG en un grupo de mujeres mestizas mexicanas diagnosticadas con DMG.



CAPÍTULO XII.

Material y métodos.

Criterios de inclusión. Este proyecto se realizó en el Hospital Juárez de México de junio de 2007 a enero de 2008. Todas las participantes, consintieron su inclusión en el estudio de manera voluntaria:

*Se les informó del objetivo del protocolo en el que participarían y se obtuvo su autorización mediante una carta consentimiento.

*Se les realizó un cuestionario para recabar datos generales de cada una de ellas.

*Se les hizo la entrega de los resultados de las pruebas bioquímicas.

(Ver ANEXO I, II Y III).

✓ *Controles:* Mujeres de 24-36 semanas de gestación, sin ninguna enfermedad crónica u otra complicación, en las cuales se descartó la DMG por la prueba de tamiz, factores de predisposición o por la CTGO.

✓ *Pacientes:* Mujeres de 24-36 semanas de gestación, a las cuales se les realizó la prueba de tamiz y/o la CTGO, diagnosticándolas como DMG.

Dependiendo el factor de riesgo de la mujer y en que trimestre se encuentre en su primer cita, se realizó la prueba de tamiz o directamente la CTGO.

Toma de sangre periférica a las embarazadas.

Material

- Guantes
- Torundas
- Agujas calibre 20G
- Jeringas de 20 ml
- Tubos para Química sanguínea



- Tubos Falcon de 50ml con 200 μ l de EDTA 0.5 M
- Ligadura

Técnica de extracción

1. El paciente se sienta en una silla con respaldo.
2. Se Registran sus datos generales: nombre completo, edad, género.
3. Rotulación de los tubos.
4. Se le pide al paciente que se descubra uno de los brazos.
5. Se localiza la vena de elección (basílica, media o cubital)
6. Limpiar con una torunda con alcohol, de forma circular de adentro hacia fuera.
7. Colocar la aguja a la jeringa.
8. Colocar la ligadura.
9. Punzar la vena con el bisel de la aguja hacia arriba.
10. Llenar un tubo amarillo y después 3 tubos morados con EDTA (mezclar suavemente los morados).
11. Retirar la ligadura.
12. Sacar la aguja.
13. Colocar una torunda en el sitio de punción y pedir al paciente que doble su brazo hasta que deje sangrar.
14. Quitar la aguja a la jeringa y desecharla en el contenedor de objetos punzocortantes.

Procesamiento de las muestras:

- a) El tubo amarillo con gel separador se centrifuga a 3500 rpm 15 minutos para la obtención del suero, con el cual se realizaron las pruebas bioquímicas.
- b) Los tres tubos con EDTA se separan en 2 tubos falcon aproximadamente 7.5 mL en cada uno para la extracción del ADN.

EVALUACIONES EFECTUADAS EN LAS MUESTRAS DE LAS PACIENTES.

A) Determinaciones Bioquímicas

Determinación de glucosa

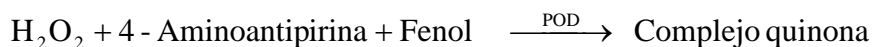
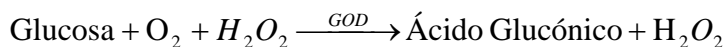
Se empleó el kit Stanbio Glucosa Liquicolor para hacer la determinación cuantitativa de glucosa en suero o plasma.

El método es enzimático-colorimétrico, basado en la técnica de Trinder.

La glucosa es oxidada en presencia de glucosa oxidasa (GOD). El peróxido de Hidrógeno formado reacciona bajo la influencia de peróxidasa (POD) con fenol y 4-aminoantipirina para



formar un complejo rojo-violeta de quinona. La intensidad del color es proporcional a la concentración de glucosa.



	Blanco de reactivo	Estándar (100 mg/dL)	Muestra
Reactivo (mL)	1.0	1.0	1.0
Estándar (mL)	-	0.01	-
Muestra (mL)	-	-	0.01

Se incuban los tubos a 37 °C por 5 minutos o a temperatura ambiente 15-30 °C por 10 minutos. A una longitud de onda de 500nm se determinan las lecturas.

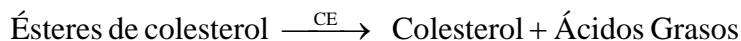
Rango normal 70 – 105 mg/dl

Determinación de colesterol

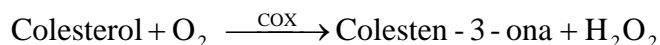
Con el kit Colestat enzimático AA de Wiener lab. Se realizó la determinación cuantitativa de colesterol en suero o plasma.

El método es enzimático-colorimétrico.

- El método se basa en la capacidad de la Colesterol Esterasa (CE) para hidrolizar los ésteres de colesterol, produciendo colesterol libre y ácidos grasos.



- El colesterol libre se oxida en presencia de la Colesterol Oxidasa (COX) para dar colestén-3-ona y peróxido de hidrógeno.





- El peróxido de hidrógeno reacciona con 4-aminofenazona y fenol (contenido en el buffer), en presencia de la Peroxidasa (POD) para formar una quinonimina de color rojo. La intensidad del color rojo final es proporcional a la concentración total de colesterol.



	Blanco de reactivo	Estándar de (100 mg/dL)	Muestra
Reactivo (mL)	1.0	1.0	1.0
Estándar (mL)	-	0.01	-
Muestra (mL)	-	-	0.01

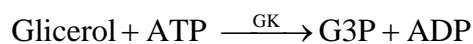
Se incuban los tubos a 37 °C por 5 min. o a temperatura 15-30 °C por 20 minutos. Se determinan las lecturas a una longitud de onda de 505nm

Rango normal 140-200mg/dL

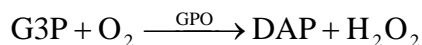
Determinación de triglicéridos.

Se utilizó el kit Stanbio Triglicéridos Liquicolor GPO-PAP para hacer la determinación cuantitativa de triglicéridos en suero o plasma. El método es enzimático-colorimétrico.

- El glicerol y los ácidos grasos se forman en una primera etapa por la acción de la lipasa sobre los triglicéridos.
- El glicerol se fosforila por el adenosin-5'-trifosfato (ATP) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosin-5'-difosfato (ADP) en una reacción catalizada por la glicerol cinasa (GK).

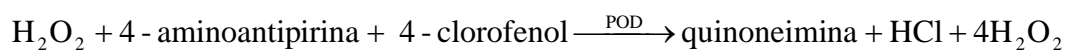


- El G3P es oxidado por la glicerolfosfato oxidasa (GPO) produciendo dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrógeno.





- El peróxido reacciona con 4-aminoantipirina y 4-clorofenol bajo la influencia catalítica de la peroxidasa (POD) para formar una quinoneimina de color rojo.



	Blanco de reactivo	Estándar (200 mg/dL)	Muestra
Reactivo (mL)	1.0	1.0	1.0
Estándar (mL)	-	0.01	-
Muestra (mL)	-	-	0.01

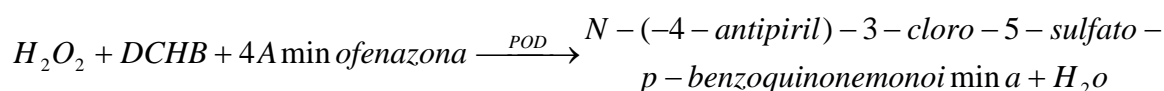
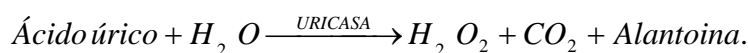
Se incuban los tubos a 37 °C por 5 minutos o a temperatura ambiente 15-30 °C por 10 minutos. Se determinan las lecturas a una longitud de onda de 500nm.

Rango normal 30 – 150 mg/dL.

Determinación de ácido urico.

Se empleó el kit Stanbio LiquiColor de Acido Urico-PAP, para la determinación cuantitativa enzimática colorimétrica de ácido úrico en suero o plasma.

La uricasa actúa sobre el ácido úrico para formar peróxido de hidrógeno y alantoína. El H₂O₂ es leído cuantitativamente por su reacción con el ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzosulfónico (DCHB) en presencia de peroxidasa y 4 aminofenazona, para formar un complejo quinoneimina de color rojo violeta.



	Blanco de reactivo	Estándar	Muestra
Reactivo (mL)	1.0	1.0	1.0
Estándar (mL)	-	0.02	-
Muestra (mL)	-	-	0.02



Se incuban todos los tubos a 37°C por 5 minutos o a temperatura ambiente por 15 minutos.

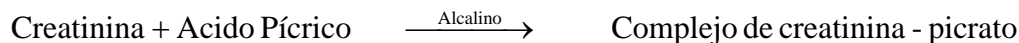
Se lee a 520 nm antes de 15 minutos.

Rango normal en mujeres: 2.4-5.7 mg/dL

Determinación de creatinina.

Se empleo el kit Spinreact de Creatinina-J, para la determinación cuantitativa colorimétrica cinética de creatinina en suero o plasma.

El ensayo de la creatinina esta basado en la reacción de la creatinina con el picrato alcalino descrito por Jaffé. La creatinina reacciona con el picrato alcalino formando un complejo rojizo. El intervalo de tiempo escogido para las lecturas permite eliminar gran parte de las interferencias conocidas del método. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra ensayada.



	Blanco de reactivo	Estándar	Muestra
Reactivo (mL)	1.0	1.0	1.0
Estándar (μL)	-	100	-
Muestra (μL)	-	-	100

Se lee a 492 nm. Mezclar y poner en marcha el cronómetro. Leer la absorbancia (A1) al cabo de 30 segundos y al cabo de 90 segundos (A2) de la adición de la muestra.

Calcular: $\Delta A = A_2 - A_1$.

Para los cálculos: $\text{Patrón} \Delta A \text{ Muestra} \Delta A x 2 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de creatinina en la muestra.}$

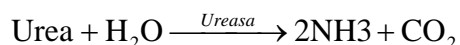
Rango Normal: *Mujeres: 0,6 - 1,1 mg/dL.*

Determinación de urea.

Se emplea el kit Infiniti TM para la determinación cuantitativa cinético UV de ureasa en suero o plasma.

La ureasa cataliza la hidrólisis de la urea, presente en la muestra, en amoníaco (NH₃) y anhídrido carbónico (CO₂).

El amoníaco formado se incorporan al α-cetoglutarato por acción de la glutamato deshidrogenasa (GLDH) con oxidación paralela de NADH a NAD⁺:



La disminución de la concentración de NAD⁺ en el medio es proporcional a la concentración de urea de la muestra ensayada.

	Blanco de reactivo	Estándar	Muestra
Reactivo (mL)	1.0	1.0	1.0
Estándar (μL)	-	10	-
Muestra (μL)	-	-	10

Se lee a 340 nm. Mezclar y leer las absorbancias a los 30 s (A1) y a los 90 s (A2). Calcular:

$$\Delta A = A1 - A2.$$

Para los cálculos: Patrón A(Muestra)A(ΔΔx 50 (Conc. Patrón) = mg/dL de urea en la muestra 10 mg/L urea BUN dividido por 0,466 = 21 mg/L de urea = 0,36 mmol/L urea.

Rango Normal para la urea en suero 15 a 38 mg/dL.



B) Análisis genético molecular.

Extracción del ADN

Reactivos:

- Sacarosa Tritón 2X
- Sacarosa Tritón 1X
- Buffer de Lisis Nuclear
- SDS 10%
- Proteínasa K 5mg/ml
- NaCl saturado
- ETOH 100%
- ETOH 70%
- Buffer TE
- Hipoclorito de Sodio
- Hielera
- Centrífuga refrigerada
- Gradilla para tubos Falcon de 50 ml
- Gradilla para tubos Falcon de 15ml
- Gradilla para tubos eppendorf
- Vasos de precipitado de 250 ml
- Vaso de precipitado de 500ml para decantar
- Pipetas volumétricas de 5ml
- Propipeta
- Micropipetas de 100 y 1000 μ L
- Puntas desechables para micropipetas
- Pipetas Pasteur selladas de la punta
- Tubos Falcon de 15ml
- Tubos eppendorf de 1ml estériles
- Tubos eppendorf de 500 μ L estériles
- Baño María con agitación (60 rpm)
- Baño de Temperatura (37°C)

Preparación de Reactivos:

***Sacarosa Tritón 2X:** Sacarosa 219gr (0.64M)
Tris-Base 2.42gr (0.02M)
MgCl₂ 2.03gr (0.01M)
Tritón 100X 10mL (2%)



Vera Parrales Nadia.

Vaciar todos los reactivos a un vaso de precipitados de 1000 ml y agregar aprox. 800 ml de agua desionizada. Mezclar en el agitador magnético hasta que se homogenice. Ajustar el pH a 7.6. Aforar a 1L. Filtrar con membrana. Almacenar a 4°C.

***Sacarosa Tritón IX:** Tomar un volumen de Sacarosa 2X y agregar un volumen igual de agua desionizada. Mezclar hasta homogenizar. Almacenar a 4°C.

***Buffer Lisis Nuclear:** Tris-Base 1.21gr (10mM)
NaCl₂ 23.4gr (400mM)
Na₂EDTA 0.75gr (2mM)

Vaciar todos los reactivos a un vaso de precipitados de 500 ml y agregar aprox. 300 ml de agua desionizada. Mezclar en el agitador magnético hasta que se homogenice. Aforar a 500ml. Esterilizar en autoclave. Almacenar a Temperatura ambiente

***Proteinasa K 5mg/mL:** Pesar 50mg de la proteinasa (0.050 g). Llevar a 10ml. Mezclar completamente. Hacer alícuotas de 500 µL. Almacenar a -20°C

***NaCl saturado:** Disolver 35grs de NaCl en 100ml de agua desionizada. Solubilizar lo más posible. Almacenar a temperatura ambiente.

***ETOH 70%:** Tomar 70ml del alcohol absoluto (100%) y agregar 30ml de agua desionizada. Mezclar hasta homogenizar. Almacenar a 4°C.

Buffer TE : Tomar 1ml de Tris/HCL 10mM a pH8. Agregar 200µl de EDTA 0.5M a pH8.0 Aforar a 100ml. Almacenar a temperatura ambiente.

Tris/HCl 10mM a pH8.0 : Pesar 30.275g de Tris/HCL. Disolver con 150ml de agua desionizada. Ajustar el pH a 8.0. Aforar a 250ml. Almacenar a temperatura ambiente.

La técnica se realiza en dos partes:

1ª Parte



1. Sacar del congelador los tubos con 10 mL de sangre total (de preferencia sólo 5 por sesión) y permitir que alcancen la temperatura ambiente (la sangre debe estar totalmente descongelada).
2. Mezclar suavemente por inversión y colocar en hielo.
3. Llevar, cada tubo, a un volumen de 35ml con solución sacarosa-tritón 2X fría.
4. Llevar a un volumen final de 50ml con agua desionizada y estéril.
5. Mezclar suavemente por inversión y dejar incubar 10min en hielo (mezclando de vez en cuando).
6. Centrifugar a 2500 rpm durante 20 minutos a 4°C.
7. Decantar el sobrenadante en un recipiente con hipoclorito de sodio y desechar.
8. Lavar el botón que queda con 5 ml de solución sacarosa triton 1X fría.
9. Centrifugar a 2000 rpm durante 15minutos a 4°C.
10. Decantar el sobrenadante en un recipiente con hipoclorito de sodio y desechar. Se debe ver un pellet rosado, si no lavar nuevamente con sacarosa tritón 1X fría. (Si el botón no se utiliza inmediatamente, congelar a -70°C hasta su uso).
11. Agregar 3ml de buffer de lisis nuclear, al pellet, y resuspender con una pipeta pasteur sellada de la punta.
12. Agregar 216µL de SDS al 10%, mezclar suavemente con la pipeta.
13. Agregar 100µL de Proteinasa K (5mg/ml) y mezclar suavemente con la pipeta.
14. Incubar en Baño María a 37°C con agitación suave (25) toda la noche (mín. 8 – 10 hrs).

2ª Parte



15. Transferir toda la muestra a tubos cónicos estériles de 15ml.
16. Agregar 1ml de NaCl saturado y agitar vigorosamente (hay formación de espuma)
17. Centrifugar a 2000rpm durante 15min a 4 °C.
18. Transferir , *con mucho cuidado y con micropipeta*, el sobrenadante a otro tubo cónico de 15ml
19. Agregar un volumen 2 veces igual al de la muestra de ETOH al 100% frío.
20. Mezclar suavemente por inversión (Se observa la hebra de DNA).
21. Sacar el DNA precipitado con una pipeta pasteur sellada de la punta.
22. Lavar el DNA precipitado con ETOH al 70%, dentro de un tubo eppendorf, moviendo suavemente la pipeta.
23. Dejar secar completamente, a temperatura ambiente, el DNA que está adherido en la pipeta pasteur (Con la punta hacia arriba. El DNA seco es transparente).
24. Depositar el DNA en aprox. 200µL de buffer TE en un tubo eppendorf estéril y dejar el tubo, con la pipeta dentro, 20min a 37°C para incorporar la mayor cantidad posible de DNA.
25. Cuantificar el DNA (Lectura esperada de 1.7-2.0)

*Cuantificación de DNA.- Hacer una dilución 1:200 de los 200µL de TE donde está contenido el DNA (5 µL muestra + 995µL de agua desionizada). Mezclar en el vortex 1-2 seg. Leer por duplicado a 260 y 280 nm. *Las preparaciones puras tienen valores de 1.7–2.0*

Amplificación mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa).

Esta técnica es utilizada para amplificar un segmento de DNA específico *in vitro*, utilizando una DNA polimerasa, un templado de DNA genómico y oligonucleótidos específicos que flanquean el segmento a ser amplificado. La reacción consiste en una serie de ciclos:



- 1) Desnaturalización del templado de DNA por medio de una elevación de la temperatura.
- 2) Alineamiento, en el cual los oligonucleótidos se hibridan específicamente con el templado de DNA.
- 3) Polimerización, los oligonucleótidos son extendidos mediante una DNA polimerasa.

Ciclos	T130I	A45T
	95° C, 3 minutos	94° C, 5 minutos
Desnaturalización	95° C, 30 segundos	94° C, 30 segundos
Alineamiento	68° C, 30 segundos	60° C, 30 segundos
Polimerización	72° C, 30 segundos	72° C, 30 segundos
	72° C, 10 minutos	72° C, 10 minutos

Reactivos:

Para amplificar el exón 4 del gen HNF 4 A y la primera parte del exón 2 de NeuroD1 /beta2 los oligonucleótidos empleados se muestran a continuación (**Tabla 4**).

- DNA genómico humano
- Taq polimerasa.
- Master Mix(Buffer con Mg y dNTPs) .
- Super H₂O.
- Termociclador
- Tubos eppendorf de 500 µL para PCR
- Tubos eppendorf de 1ml
- Micropipeta de 10 µL
- Puntas desechables estériles para micropipetas.

Tabla 4. Oligos empleados para la amplificación de las muestras.

HNF 4A		Tamaño del producto
Oligo A	5'-CCACCCCTACTCCATCCCTGT-3'	271 pb.
Oligo B	5'-CCCTCCCGTCAGCTGCTCCA-3'	
NeuroD1 /beta2.		
Oligo A	5'-ACTTTTCGCAAGCATTTGTACAGG-3'	483 pb.
Oligo B	5'-CGCGTTCAGTCCGTGCATGC-3'	

*PROCEDIMIENTO*

1. Hacer la mezcla de reacción, en un tubo eppendorf de 1ml, que debe contener por cada muestra de DNA que se va a procesar:

Super H ₂ O.	c.b.p. 25 μ L
Master Mix.	85mM
Oligo 5' "A"	20mM
Oligo 3' "B"	20mM
Taq polimerasa	2 Unidades

Agregar 24.5 μ L de la mezcla de reacción a cada tubo eppendorf de 500 μ L y 1 μ L de DNA genómico, en su tubo correspondiente.

1. Colocar los tubos con la mezcla de reacción y DNA genómico en el termociclador.
2. Escoger el programa correspondiente al gen HNF4A o el de NeuroD1/beta2 según sea el caso.
3. Dejar que corra el programa de cada gen analizado.
4. Al terminar, realizar una electroforesis para verificar que se haya amplificado el segmento de DNA deseado.

Electroforesis en gel de agarosa

Reactivo:

- Agarosa
- Buffer TBE 1X
- Marcador de 100 pb.
- Bromuro de etidio
- Buffer de carga

Materiales:

- Balanza analítica
- Espátula
- Matraz Erlenmeyer de 250 mL
- Probeta de 100 mL
- Micropipeta de 10 μ L
- Puntas desechable estériles para micropipetas



- Microondas
- Cámara de electroforesis
- Peines
- Fuente de poder
- Transiluminador

PROCEDIMIENTO

1. Debe prepararse suficiente buffer de electroforesis (TBE 1X) para llenar la cámara y preparar el gel.
2. Adicionar la cantidad necesaria de agarosa a una cantidad medida de buffer en un matraz Erlenmeyer.
3. Calentar en el microondas hasta que se disuelva la agarosa
4. Enfriar la solución aproximadamente a 60°C y adicionar el bromuro de etidio (1 µL por cada 50ml) y mezclar completamente.
5. Agregar la solución tibia al molde de la cámara.
6. Dejar que gelifique (30-45 minutos) y retirar el peine.
7. Adicionar el buffer de electroforesis al tanque hasta cubrir el gel aprox. 1mm.
8. Mezclar 5µL de las muestras de DNA con 3 µL de buffer de carga.
9. Cargar lentamente la mezcla en los pozos del gel. (*También debe cargarse un marcador de DNA de tamaño conocido en un extremo*).
10. Tapar la cámara y conectar los electrodos. (*El DNA migra hacia el ánodo, que es el cable rojo*).
11. Aplicar un voltaje de 80V
12. Se corre el gel hasta que los colorantes hayan migrado una distancia apropiada a través del gel.



13. Apagar la corriente y quitar los electrodos.
14. Observar el gel con luz UV

Polimorfismo en los fragmentos de restricción (RFLP).

Una enzima de restricción es aquella que puede reconocer una secuencia característica de nucleótidos dentro de un fragmento de ADN y cortarlo en ese punto al cual se le denomina sitio diana de restricción o en un sitio no muy lejano a este, dependiendo de la enzima. El mecanismo de corte de DNA se realiza a través del rompimiento de dos enlaces fosfodiéster en la doble hebra, dando lugar a dos extremos de DNA, que pueden ser romos o cohesivos (escalonados) (**Figura 18**). Estos últimos tienen tendencia a volver a unirse de modo espontáneo ya que los extremos se pueden unir a otros extremos coincidentes que pueden existir en la cercanía.

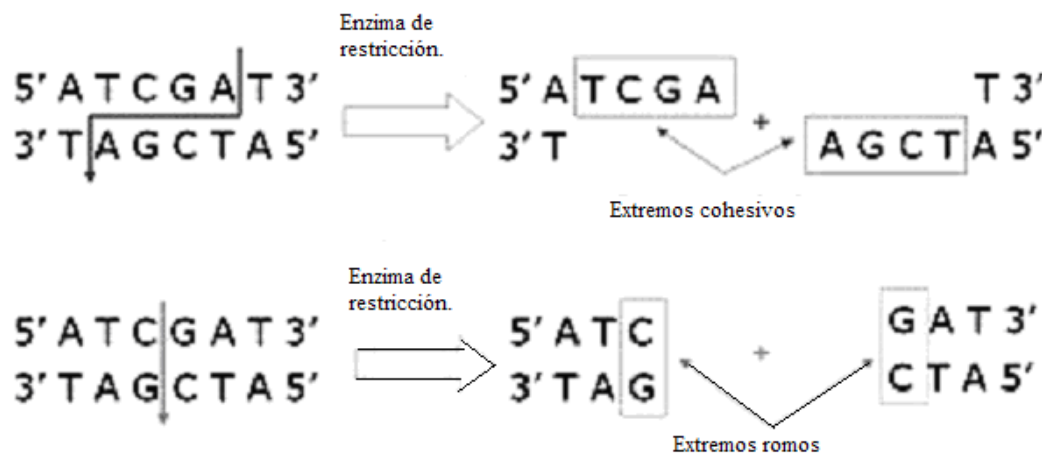


Figura 18. Mecanismos de corte de las enzimas de restricción.

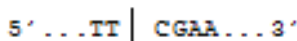


Enzimas de Restricción empleadas en el análisis de la mutación T130I del gen HNF4A y del polimorfismo A45T de NeuroD1/beta2.

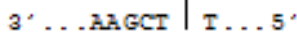
Para nuestro estudio se emplearon las siguientes enzimas de restricción:

* La mutación T130I del gen HNF4A se puede apreciar con la técnica de RFLP empleando la enzima de restricción Sfu I (Asu II), que proviene de *Sphaerotilus species* de Roche con 10 U/ μ L (Número de catálogo 11 243 497 001). Esta endonucleasa efectúa un corte en el producto del PCR si es que encuentra la mutación T130I ofreciendo dos bandas, una de 190 y otra de 81 pb (C/T). Las muestras con solo una banda de 271 pb son negativas a la mutación (C/C tipo silvestre).

T= treonina (ACT).

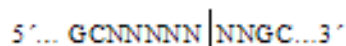


I= Isoleucina (ATT).

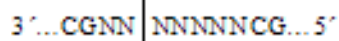


* El polimorfismo A45T del gen NeuroD1/beta2, se puede apreciar con la técnica de RFLP empleando la enzima de restricción MwoI, que proviene de una cepa de *E. coli* que contiene la clona del gen MwoI de *Methanobacterium wolfeii* (DSM 2970), de New England BioLabs con 300 unidades de 5000 U/mL (Número de catálogo R0573L). Esta endonucleasa efectúa un corte en el producto del PCR cuando no encuentra el polimorfismo A45T, es decir la tipo silvestre, ofrece una banda de 214, una de 245 pb (visibles en el gel), y una banda de 24 pb cuando son homocigotos (G/G). Para la variación que se encuentra de manera heterocigota se producen las bandas antes mencionadas y además se aprecia la banda de 483 pb. (G/A). Las muestras con solo una banda de 483 pb presentan el polimorfismo de tipo homocigotos (AA).

A= Alanina (GCC).



T= Treonina (ACC).





Reactivos:

- Enzima de restricción Sfu I para la evaluación de la T130I .
- Enzima de restricción Mwo I para la evaluación de la A45T
- Producto de PCR (5 μ L).
- Marcador de 100 pb.
- Agarosa
- Buffer TBE 1X
- Bromuro de etidio
- Buffer de carga.
- Tubos eppendorf
- Baño maría a 37°C
- Microcentrífuga.
- Balanza analítica
- Espátula
- Matraz Erlenmeyer de 250 mL
- Probeta de 100 mL
- Micropipetas
- Puntas desechable estériles para micropipetas
- Microondas
- Cámara de electroforesis
- Peines
- Fuente de poder
- Transiluminador

1.- Se coloca en un tubo eppendorf de 1 mL las siguientes cantidades por cada muestra.

a) Para la evaluación de la mutación T130I:

Reactivos.	Concentración.
Buffer H	1 μ L 10X
H ₂ O	c.b.p. 7.1 μ L
Sfu I	6 unidades

En tubos eppendorf de 500 μ L se coloca 7.1 μ L de la mezcla de reacción y de cada producto de PCR 5 μ L. Se incuba toda la noche en baño maría a 37°C.

b) Para la evaluación de polimorfismo A45T:

Reactivos.	Concentración.
NEB 10X	2 μ L
H ₂ O	c.b.p. 5 μ L
Mow I	2 unidades.

En tubos eppendorf de 500 μ L se coloca 5.1 μ L de la mezcla de reacción y de cada PCR 5 μ L. Se incuba toda la noche en baño maría a 60°C.



- 2.- Para visualizar los resultados, se prepara un gel al 3% de agarosa.
- 3.- Se sacan los tubos del baño maría y se centrifugan 10 segundos en la microcentrífuga.
- 4.- Se les adiciona 3 μ L de buffer de carga a cada uno.
- 5.- Se carga el gel de agarosa con los 15 μ L de cada tubo y un marcador de peso molecular de 100 pb. Se coloca un control positivo por cada corrida para corroborar que se haya efectuado el corte. (Ver ANEXO IV)
- 6.- Se corre 1 hora a 80 mv.
- 7.- En el transiluminador se observa el gel con luz UV.

Análisis estadístico.

Se realizaron las pruebas estadísticas con ayuda del programa SPSS Inc., Chicago Illinois, United States, versión 13, de donde se obtuvieron las gráficas de caja. Las gráficas de caja están basadas en cuartiles, y mediante las cuales se visualizan un conjunto de datos suministrando información acerca de la mediana y sobre la existencia de datos atípicos. Proporcionan una visión general de la simetría de la distribución de los datos, si la media no se encuentra en el centro del rectángulo en la gráfica, se deduce que la distribución no es simétrica. La normalización de datos se verificó con Kolmogorov-Smirnov antes de realizar cualquier estadística. El análisis de las curvas de tolerancia se efectuó con el programa Graph Pad Prism scientific software versión 4.0.

Se estableció para cada gen la “Ley de Hardy-Weinberg”, también llamada ley del equilibrio genético, conjunto de fórmulas matemáticas que describen cómo la proporción de distintos genes, pueden permanecer igual a lo largo del tiempo en una población numerosa de individuos.



Con la finalidad de calcular la probabilidad de que se desarrolle la enfermedad en personas con los polimorfismos, comparadas con la probabilidad de que no ocurra el evento en personas no expuestas, se empleó la razón de momios. Dependiendo del OR calculado se deduce:

OR<1, La probabilidad de exposición para los casos es menor que la probabilidad de exposiciones para los controles. La exposición se deduce a un factor protector.

OR=1, La probabilidad de exposición es igual entre los casos y controles. La exposición en particular no es un factor de riesgo.

OR>1, La probabilidad de exposición para los casos es mayor que la probabilidad de exposición de los controles. La exposición incrementa el riesgo de padecer la enfermedad (factor de riesgo).



CAPÍTULO XIII.

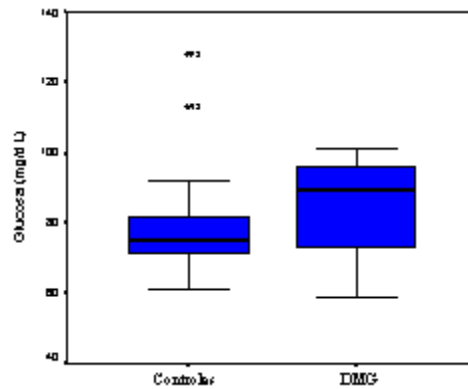
Resultados.

Participaron en este estudio 108 embarazadas, que acudieron durante el período de junio de 2007 a enero de 2008 al servicio de ginecoobstetricia del Hospital Juárez de México, del total de participantes, se incluyeron únicamente 81 en nuestro estudio (55 controles y 26 con diagnóstico de DMG), ya que fueron las que reunían los criterios de inclusión.

Dentro del panel de pruebas bioquímicas que se incluyen en el control prenatal, se encuentran: glucosa en ayuno, urea, creatinina, ácido úrico, colesterol y triglicéridos. Los resultados de estos analitos para las embarazadas reclutadas se muestran a continuación:

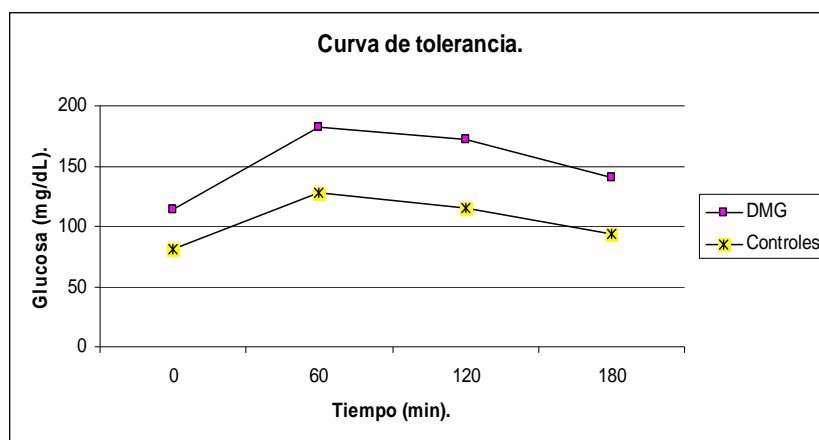
Referente a la homeostasis de la glucosa en ayuno, la concentración de este parámetro para el grupo control, fue en promedio de 77 mg/dL (66-89 mg/dL), y para el grupo de DMG fue de 85 mg/dL (70-100 mg/dL) (**Gráfica 1**). Es interesante notar que, la mayoría de las pacientes no tuvieron valores de glucosa en ayuno mayores a los permisibles por la ADA (70-100mg/dL), aunque estadísticamente, las pacientes mostraron glucemias mayores que el grupo control ($p= 0.013$ IC 95%). En la gráfica de caja para este analito, se encuentran dos valores atípicos a la tendencia mostrada en el grupo control, se incluyeron como controles por que sus valores de glucosa en la prueba de tamiz y la CTGO estuvieron dentro de los parámetros establecidos en la NOM-015-SSA2-1994.

Como prueba de escrutinio para diagnóstico de DMG, se empleó la prueba de tamiz, los valores obtenidos para el grupo control fueron de 110 mg/dL (86-134 mg/dL) y para las pacientes de 178 mg/dL (133-223 mg/dL) a la hora en ambos grupos.



Gráfica 1. Comparación del promedio \pm DS de la concentración de glucosa en ayuno, del grupo DMG y el grupo control.

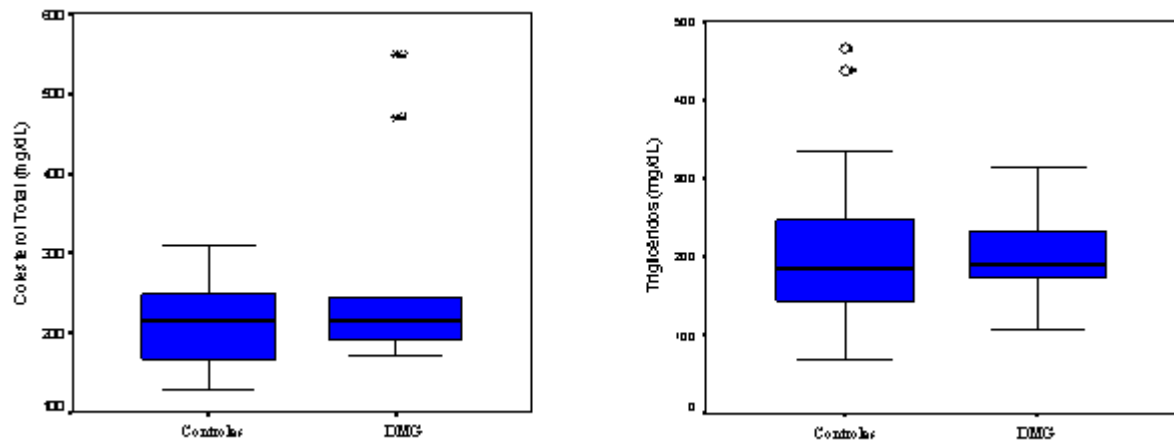
A aquellas pacientes que tuvieron un resultado anormal en la prueba de tamiz se les realizaron una CTGO para hacer un diagnóstico definitivo de la enfermedad. La **Gráfica 2** muestra los valores de glucosa obtenidos cada hora durante tres horas, las embarazadas que presentaron DMG tuvieron problemas para conservar la homeostasis de glucosa, por lo que presentaron concentraciones séricas de glucosa superiores a los valores de referencia en cada punto de la curva realizada.



Gráfica 2. Promedios de la concentración de glucosa obtenidos en la CTGO del grupo con DMG y el grupo control.



Otros analitos que se modificaron durante el embarazo, fueron el colesterol y los triglicéridos. Los valores promedio de colesterol fueron 213 mg/dL (166-259 mg/dL) y 227 mg/dL (130-324 mg/dL) para el grupo control y el DMG respectivamente. En cuanto a los triglicéridos, los valores determinados fueron de 122-296 mg/dL con un promedio de 209 mg/dL en los controles, y para el grupo de DMG de 100-334 mg/dL con un promedio de 217 mg/dL (**Gráfica 3**).



Gráfica 3. Perfil de lípidos de pacientes con DMG y controles. $p > 0.05$ con IC 95% para el colesterol total y para triglicéridos.

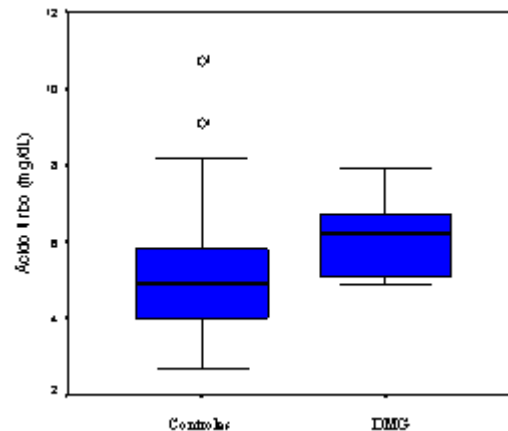
Un factor que se ha relacionado con la aparición de la DMG es la preeclampsia. Mediante la revisión del historial clínico de las embarazadas, se estableció una incidencia de preeclampsia de 12.5% en el grupo control y de 28.0% en el grupo de diabéticas gestacionales.

A los dos grupos en estudio se les determinó la concentración sérica de ácido úrico, como marcador de preeclampsia, aunado a que se conoce que la hiperuricemia es un componente del síndrome metabólico y se correlaciona marcadamente con la resistencia a la insulina y la hipertrigliceridemia.^{72, 73} Los resultados se muestran en la **Gráfica 4**, además se encontró que existe

⁷² Mustaphi R, Gopalan S, Dhaliwal L, Sarkan AK. Hyperuricemia and pregnancy induced hypertension-reappraisal. Indian J Med Sci. 1996;50(3):68-71.



una diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de ácido úrico entre los grupos DGM y control ($p=0.004$, IC 95%).



Gráfica 4. Comparación del promedio \pm DS de ácido úrico entre el grupo DMG y el grupo control.

Como parte integral del manejo de la mujer embarazada se encuentran las pruebas de función renal, es por ello que también se determinó la urea y la creatinina como marcadores de daño renal. Los resultados se presentan en la **Gráfica 5**. Entre ambos grupos no se estableció una diferencia significativa en ninguno de los dos analitos ($p > 0.05$ para creatinina y urea, con IC 95%), lo que indica que todas las embarazadas tienen una función renal adecuada y esto no interfiere en los resultados de nuestro estudio.

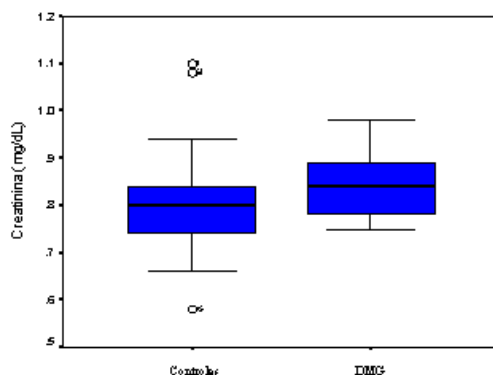
Parámetros antropométricos y datos generales.

La edad juega un papel importante, pues mientras que en el grupo control la edad promedio es de 27 años (20.6-33.4 años), en las DMG es de 30 años (23.2-37.4 años).

⁷³ Fay RA, Bromham DR, Brooks JA, Gebiski VJ. Platelets and uric acid in the prediction of pre-eclampsia. Am J Obstet Gynecol. 1985;152:1038.



Debido a una falta de educación y cultura en México para la prevención de enfermedades, la mayoría de las gestantes no cuentan con datos clínicos previos al embarazo ni durante los primeros meses de este, por lo que, de muchos parámetros no se tiene referencia. Con los datos de la semana 24 a la 36 de gestación se determinó el IMC, (**Tabla 8**) los valores de los controles fueron 28.3 Kg/m² (24.3-32.3 Kg/m²) y los datos de las pacientes 31.8 Kg/m² (26.9- 36.7 Kg/m²), entre estos dos grupos se presenta una diferencia estadísticamente significativa (p=0.0038).



Gráfica 5. Evaluación renal mediante valores séricos de creatinina y urea.

Tabla 8. Comparación entre los parámetros obtenidos del grupo control y de las pacientes mediante t de student.

Parámetro	Controles	DMG	p
Edad	26.5 ± 7.3 años	30.4 ± 7.3 años	0.0328*
Peso	68.3± 11.2 Kg	75.2 ± 13.2 Kg	0.0407 *
Estatura	1.55± 0.07 m	1.55± 0.08 m	0.8898
IMC	28.3 ± 4.0 Kg/m ²	31.8 ± 4.9 Kg/m ²	0.0038*

Resultados moleculares.

a) Evaluación de la mutación T130I del gen *HNF4 A*.

Del ADN obtenido de sangre periférica, se efectuó un PCR preparativo del exón 4 del gen *HNF4A*, obteniéndose un fragmento de 271 pb, la **Figura 19** muestra una fotografía tipo de esta amplificación.

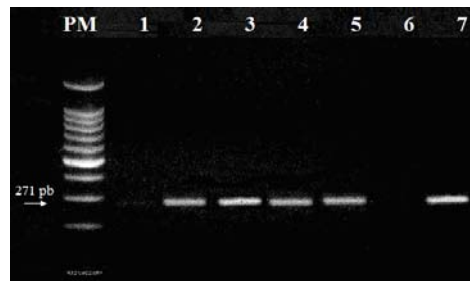


Figura 19. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) preparativo del exón 4 de *HNF4 A* para el estudio de la mutación T130. En el primer carril se encuentra el marcador de 100 pb, en los carriles 2, 3, 4, 5 y 7, se encuentran las muestras amplificadas con un tamaño de 271pb. En el carril 6 esta el control negativo. Gel al 2% de agarosa, 80 mV/ 1 hora.

La mutación T130I del gen *HNF4A* se evaluó por RFLP, mediante el uso de la enzima de restricción *Sfu I*. En la **Figura 20** se muestra una fotografía tipo del corrimiento en gel de agarosa de los productos resultantes de la digestión del PCR preparativo del exón 4 del gen *HNF4A*. Se aprecian dos bandas cuando esta mutación esta presente, una de 190 y otra de 81 pb.

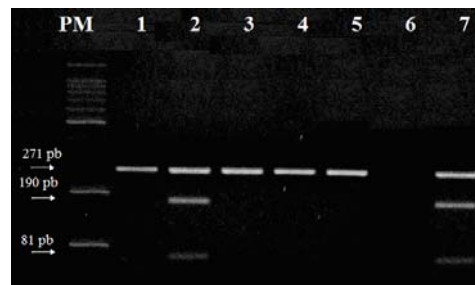


Figura 20. Productos de la digestión del PCR preparativo con la enzima *Sfu I*. En el primer carril se encuentra el marcador de 100 pb. De los carriles 1 al 5 se observan muestras problema, en el carril 6 esta el control negativo y en el último carril está el control positivo para el RFLP. Gel 3% de agarosa. 80 mV/ 1 hora.

b) Evaluación de la mutación A45T del gen *Neuro D1/beta 2*

Del ADN obtenido de sangre periférica se efectuó un PCR del exón 2 (la primera región) del gen *NeuroD1/beta2*, la **Figura 21** muestra una fotografía tipo de esta amplificación, se aprecia una banda de 483 pb.

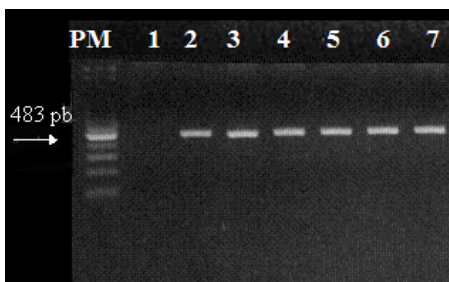


Figura 21. PCR preparativo del exón 2 de *NeuroD1/beta2*. En el primer carril se encuentra el marcador de 100 pb, Del carril 2 al 7 se encuentran las muestras amplificadas con una tamaño de 483 pb, en el carril 1 se encuentra el control negativo. Gel al 2% de agarosa, 80 mV/ 1 hora.

Para la evaluación del polimorfismo la A45T del gen *NeuroD1/beta2*, se empleó RFLP. La **Figura 22** muestra una fotografía tipo del gel, con los productos de PCR del exón 2.1 de *NeuroD1/beta2* digeridos por la enzima *MwoI*. Cuando se tiene el genotipo silvestre, el corte de digestión ofrece las bandas de 245, 214 y 24 pb. Para la variación A45T, de manera heterocigota se producen las bandas antes mencionadas y la banda de 483 pb; de manera homocigota solo se produce la banda de 483 pb debido a que la enzima no reconoce el sitio de restricción.

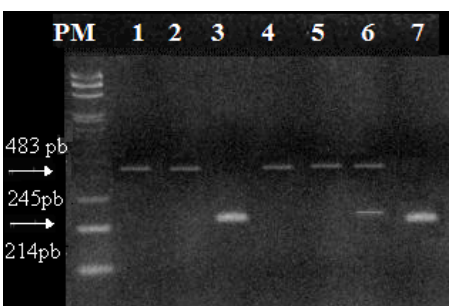


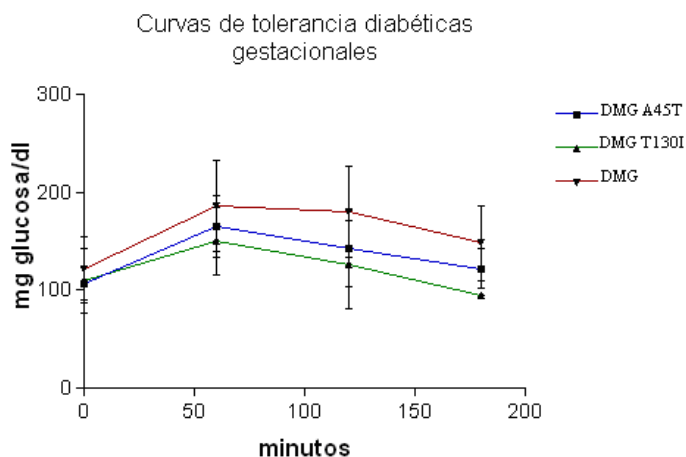
Figura 22. Productos de la digestión del PCR preparativo con la enzima *MwoI*. En el primer carril se encuentra el marcador de 100 pb. De los carriles 1 al 6 se observan muestras problema. En el último carril se encuentra el control positivo para el RFLP. Gel 3% de agarosa. 80 mV/ 1 hora.



Se calculó la frecuencia de la mutación T130I para *HNF 4A* y del polimorfismo A45T para *NeuroD1/beta2* (Tabla 9) y se determinó la razón de momios para cada variante. Ambos genes están en equilibrio de Hardy-Weinberg en la población analizada.

Tabla 9. Genotipo y distribución alélica de la variación T130I de *HNF4 A* y A45T de *NeuroD1/beta2*.

<i>Gen y mutación</i>	<i>Genotipo</i>	<i>Controles n (%)</i>	<i>DMG n(%)</i>	<i>OR (CI 95%)</i>	<i>p</i>
<i>HNF4 A</i> T130I	T/T	87.3	84.6	1.24 [0.33-4.70]	0.74
	T/I	12.7	15.4		
	I/I	0.0	0.0		
<i>NeuroD1/beta2</i> . A45T	A/A	60.0	69.3	0.666 [1.79-0.25]	0.42
	A/T	32.7	30.7		
	T/T	7.3	0		



Gráfica 6. Promedios de la concentración de glucosa obtenidos en la CTGO de los diferentes genotipos.

Con el objetivo de observar la influencia del polimorfismo sobre la respuesta a la carga de glucosa, se clasificó a las embarazadas con DMG de acuerdo a si poseían o no las variantes T130I del gen *HNF 4A* y A45T del gen *NeuroD1/beta2*, la Gráfica 6 muestra la tendencia de la CTGO obtenidas, con una ANOVA se determinó que no existe diferencia estadísticamente significativa entre las curvas.



Vera PARRALES Nadia.

El peso del bebé al nacimiento es un indicador del control de la glucosa de la madre, por lo que también se analizó el peso del producto al nacimiento dependiendo si las madres poseían una u otra variante y si presentaban conjuntamente ambas, los resultados se muestran en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Peso de los bebés al momento de nacer del grupo control y de las pacientes.

	Embarazadas sin los polimorfismos estudiados.	Embarazadas con el polimorfismo T130I del gen <i>HNF4A</i>.	Embarazadas con el polimorfismo A45T de <i>NeuroD1/beta2</i>.	Embarazadas con los dos polimorfismos estudiados.
Controles	3.01 ± 0.57 Kg	2.81 ± 0.75 Kg	2.90 ± 0.80 Kg	2.4 ± 0.36 Kg
DMG	3.32 ± 0.73 Kg	2.86 ± 0.37 Kg	3.61 ± 0.55 Kg	3.13 ± 0.0 Kg



CAPÍTULO XIV.

Discusión.

La DMT2 es la primera causa de mortalidad y morbilidad en México, afecta a más de 10 millones de personas y ocasiona 67 mil defunciones anuales (se estima que en 2012 morirán casi 100 mil mexicanos por esta causa), ésta enfermedad además, provoca un impacto negativo en la economía, debido al costo que genera su atención y al deterioro en la productividad de las personas que la padecen.⁷⁴ Teniendo como base la indudable influencia del factor hereditario en el desarrollo de la enfermedad, se han estudiado varios polimorfismos de un sólo nucleótido (SNP's) en la búsqueda de genes asociados a DMT2. Una estrategia para identificar los genes que contribuyen en la aparición de DMT2, es el estudio caso-control,⁴⁵ donde se analiza la frecuencia de SNP's en diversos genes que codifican para proteínas involucradas en la señalización, producción y secreción de insulina. La diferencia que existe en la frecuencia de ciertos SNP's en el mundo, predice la existencia de haplogrupos específicos en cada población. Debido a que la población mexicana es fruto del mestizaje de caucásicos-españoles, indígenas y africanos⁷⁵, se requieren estudios exclusivos para establecer variantes genéticas de susceptibilidad a DMT2. Por otra parte, la DMG permite el estudio en etapas tempranas de la inadecuada regulación de la glucosa y varios autores la consideran como un factor predictivo de aparición posterior de DMT2, hipertensión arterial, enfermedad vascular, hiperlipidemias y aterosclerosis.^{20, 23, 76} Considerando que existe una alta incidencia de DMT2 después de haber presentado DMG, se ha propuesto que estas enfermedades pudieran compartir la misma etiopatogenia.^{20, 21} Así, el objetivo principal de este trabajo fue evaluar

⁷⁴ <http://www.argonmexico.com/ultimas/10-millones-de-mexicanos-tienen-diabetes.html>

⁷⁵ <http://www.mestizos.net/article49.html>

⁷⁶ Támez Pérez H. E., Rodríguez Ayala M., et al. Experiencia con un programa de escrutinio de diabetes gestacional. *Rev. Invest Clin* 1993; 45:453-6.



si los polimorfismos T130I del gen *HNF 4A*^{55, 63, 64} y A45T del gen *NeuroD1/beta2*,^{66, 67} los cuales se han asociado al desarrollo de la DMT2, tienen un papel en la susceptibilidad al desarrollo de la DMG.

Polimorfismos en el gen *HNF 4A* se han relacionado con la aparición de DMT2.^{46, 77} En este estudio, la prevalencia de la mutación T130I del gen *HNF4A* fue de 12.7 % para el grupo control y 15.4 % para las DMG, (OR= 1.24 [0.33-4.70] IC 95 %, $p= 0.74$). Estudios en población japonesa con DMT2 señalan una prevalencia de la mutación T130I de 0.4% en sujetos controles y 1.7% en pacientes; para la población danesa se ha reportado una frecuencia de 1.9% en los controles y 4.7% para pacientes. En el caso de la población mexicana, la prevalencia que se ha reportado es de 5.6 % para el grupo control y de 16.0 % para DMT2, siendo la mayor frecuencia reportada en el mundo hasta la fecha.^{63, 64} Zhu Q. y colaboradores en el 2003, determinaron que este polimorfismo disminuía en un 46.2% ($p<0.001$) la actividad transcripcional de HNF 4A en células HepG2 (línea celular de hepatoma humano).⁷⁸ Así, las mujeres con este polimorfismo, son portadoras de una mutación que les confiere susceptibilidad al desarrollo de DMT2 y su aparición depende de los factores medioambientales a los que se expongan. Nuestro estudio en embarazadas reveló que la frecuencia de esta mutación fue mayor a lo reportado en otras poblaciones y se sugiere que en México: **1)** las DMG que en un futuro desarrollarán DMT2 podrían ser aquellas con la mutación T130I del gen *HNF4A*, debido a la similitud que existe entre las frecuencias de estos grupos. **2)** Algunas de las embarazadas del grupo control que tuvieron la mutación T130I del gen *HNF4A*, con el efecto aditivo de la edad y la exposición a diferentes factores ambientales podrían desarrollar

⁷⁷ Weedon MN, Owen KR, Shields B et al (2004) Common variants of the hepatocyte nuclear factor-4alpha P2 promoter are associated with type 2 diabetes in the U.K. population. *Diabetes* 53:3002–3006

⁷⁸ Zhu Q., Yamagata K., Miura A., Shihara N., Horikawa Y., Takeda J., Miyagawa J., Matsuzawa Y: T130I mutation in HNF-4 a gene is a loss-of-function mutation in hepatocytes and is associated with late-onset type 2 diabetes mellitus in Japanese subjects. *Diabetología* 46: 567-573, 2003.



DMT2. Es por esto que la frecuencia fue del doble en el grupo de embarazadas control con respecto a lo reportado en mexicanos sanos y se puede sugerir que alrededor del 5.6% permanecerá sin la enfermedad en un futuro.

Otro gen con un papel crítico en la especificidad de la célula beta y la expresión eficiente del gen de insulina es *NeuroD1/beta2*. El polimorfismo A45T del gen *NeuroD1/beta2*, se ha asociado con la aparición de DMT1 y DMT2 en diversas poblaciones.^{66, 67} Los datos de nuestro estudio revelan que la prevalencia para el grupo control fue de 40.0% (32.7% heterocigotos y 7.3% homocigotos), y para el grupo de DMG fue de 30.7% (únicamente en heterocigotos) (OR= 0.666 [1.79-0.25] IC 95%, $p= 0.42$). El primer estudio que se realizó de *NeuroD1/beta2* en DMG fue en Noruega, donde no se encontró el polimorfismo A45T,⁷¹ a diferencia de nuestro estudio donde la prevalencia encontrada fue similar a lo reportado en otras poblaciones para DMT2.⁷⁹ En la población francesa se tuvo 61.9% para el grupo control (46% heterocigotos y 15.9% homocigotos) y 63.9% para los DMT2 (43.3% heterocigotos y 20.6% homocigotos); estudios en Polonia revelaron para sujetos sanos 54.3% (38.9% heterocigotos y 14.5% homocigotos) y para DMT2 61.9% (48% heterocigotos y 13.9% homocigotos); en Dinamarca se ha reportado de 59.8% para el grupo control (41.4% heterocigotos y 18.4% homocigotos) y de 59.3% en DMT2. (44.4% heterocigotos y 14.9% homocigotos). Adicionalmente, nuestro grupo reportó para la población mexicana una prevalencia de 50% en el grupo control (sólo en heterocigotos) y 42% para diabéticos de inicio temprano (18.0% heterocigotos y 24.0% en los homocigotos). Este polimorfismo se encuentra de manera similar en el grupo de los controles y pacientes en las poblaciones antes descritas, pero no se

⁷⁹ Fotini K. Kavvoura Æ John P. A. Ioannidis. Ala45Thr polymorphism of the NEUROD1 gene and diabetes susceptibility: a meta-analysis. Hum Genet (2005) 116: 192–199.



descarta que pudiera causar susceptibilidad a la DMT2 adicionado a otros factores genéticos y ambientales. La razón de momios (OR) para nuestro estudio sugiere que existe cierto efecto protector a DMT2, ya que la probabilidad de padecer la enfermedad es menor en los controles que cuentan con el polimorfismo de manera heterocigota que en los pacientes. Recientes estudios sugieren que la sobre-expresión de *NeuroD1/beta2* induce apoptosis en células transfectadas; la variante tipo silvestre A45 de *NeuroD1/beta2* podría ser más activa que la variante T45, e inducir un nivel mayor de apoptosis en las células beta. En la población japonesa el alelo T45 se ha asociado a la DMT1, mientras que en la población danesa el alelo que se ha asociado es el A45.⁸⁰

Por otra parte, la gráfica de la curva de tolerancia para las pacientes que portaban la mutación T130I de *HNF4 A*, las DMG que presentaron el polimorfismo A45T de *NeuroD1/beta2* y las DMG que no tuvieron las variantes antes mencionadas, muestra que en este último grupo, las pacientes tienen valores de glucosa mayores en cada medición comparadas con los dos primeros grupos (aunque esta diferencia no es estadísticamente significativa). No se descarta que otros polimorfismos relacionados con el metabolismo de carbohidratos y que no han sido evaluados en este estudio puedan estar modificando la respuesta de las pacientes ante una carga oral de glucosa. Con la finalidad de tener mayor certeza en los resultados obtenidos, se recomienda aumentar el número de pacientes.

La programación fetal juega un papel importante en el desarrollo estructural y funcional de varios órganos.²⁹ Estudios epidemiológicos sugieren que el tipo de alimentación pre y postnatal es un factor importante en la etiopatogenia de enfermedades como diabetes, cardiopatías, obesidad,

⁸⁰ Hansen Lars, N. Jensen Jan, Urioste Sandra, et al. No Associations to Late-Onset Type 2 Diabetes but an A45 Allele May Represent a Susceptibility Marker for Type 1 Diabetes Among Danes. *Diabetes*, vol. 49, may 2000 876-878.



entre otras;⁸¹ por lo cual, alteraciones en el estado nutricional de la madre se ven reflejados en el peso de nacimiento del producto. Con esta premisa, se registró el peso de los bebés al nacimiento, para el grupo control se tuvo un peso promedio de 3.01 Kg. [2.44-3.58 kilogramos] y para los hijos de las DMG de 3.39 Kg. [2.72- 4.06 kilogramos]. En los hijos de las DMG, se tuvo un rango mayor en cuanto al peso de nacimiento, esto se relaciona con lo que describe la literatura, dependiendo del grado de descontrol en la glucosa materna y de la producción de insulina del bebé, éste tiende a ser macrosómico o microsómico.²⁹ Con los datos del grupo control se llevó a cabo el análisis de asociación entre la presencia de alguno de los polimorfismos o ambos y el peso al nacimiento. Así, los bebés de madres con la mutación T130I de *HNF4A* junto con el polimorfismo A45T de *NeuroD1/beta2*, tuvieron menor peso que los otros grupos, por lo que podría tratarse de un efecto aditivo de ambas variantes ($p= 0.03$ IC 95%). Debido a que el factor de transcripción *HNF4A* regula la secreción de insulina y *NeuroD1/beta2* es fundamental para la diferenciación de las células beta, en conjunción pueden provocar que el feto crezca en menor proporción. Con la finalidad de analizar mejor este fenómeno en hijos de madres con DMG, se recomienda continuar el estudio y recolectar más pesos de bebés al nacimiento.

Por otro lado, la prevalencia de DMG que se ha reportado en el mundo es de 0.15% hasta 15%. En nuestro estudio, las embarazadas tuvieron una prevalencia de 18.4% (19 embarazadas con DMG de 103 embarazadas), esta cifra es muy cercana a la reportada por el Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes” en 2007 (19.7%) ,²¹ ambos estudios reflejan una alta incidencia de la enfermedad comparada con otras poblaciones. Aunado a esto, en los últimos

⁸¹ J.M. Moreno Villares, J. Dalmau Serra. Alteraciones en la nutrición fetal y efectos a largo plazo: ¿algo más que una hipótesis? *Acta Pediatr Esp* 2001; 59: 573-581



años se ha incrementado el número de casos de DMG y esto concuerda con la elevada incidencia de DMT2 en México.

En cuanto a la historia familiar, un 14.5% de las controles y un 85.7% en las pacientes con DMG tuvieron madres con DMT2, este resultado apoya fuertemente lo reportado en la literatura en donde se informa que el grado de intolerancia a la glucosa que presenten las madres durante el embarazo, puede influir en un futuro a la aparición de la DMG en las hijas.^{29, 33, 39} El padecer DMT2 influye significativamente en los hijos, por lo cual se requiere tomar medidas preventivas antes de que aparezca la enfermedad, y así evitar que se incremente esta pandemia.

Para diferenciar entre las mujeres que presentan DMG y embarazadas con normoglucemia, se empleó la determinación de glucosa en ayuno, la prueba tamiz y/o la CTGO. Los datos obtenidos señalan que los valores de glucosa en ayuno para las pacientes, fueron mayores que las controles (pero dentro de los parámetros que establece la ADA), sin embargo, al someterlas a una carga de glucosa oral a diferencia del grupo control, no pudieron regular la hiperglicemia adecuadamente, lo que puede revelar que existe una disfunción en las células beta pancreáticas en las pacientes (en la acción y/o secreción de la insulina) y no pueden contrarrestar la resistencia a la insulina que se presenta durante el embarazo.

Durante la gestación, la concentración de lípidos plasmáticos aumenta progresivamente al final del primer trimestre y al llegar al término del embarazo es un 40 ó 50% mayor que los niveles detectados en mujeres no embarazadas.¹⁶ Los valores obtenidos en el Hospital Juárez de México, en el grupo control para el colesterol total son de 213 ± 47 mg/dL y para triglicéridos de 209 ± 30 mg/dL,



lo que contrasta en lo reportado por Juárez I. E. y colaboradores⁸² en el año de 1996 en la población mexicana, ya que en ese estudio se reportan valores de colesterol total de 157.1 ± 47 mg/dL y de triglicéridos de 127.0 ± 66 mg/dL en embarazadas sanas. Esto revela que los niveles de lípidos se han incrementado en los últimos años, probablemente por una ingesta mayor de alimentos ricos en grasas. Para descartar una patología en este grupo de embarazadas, se debe hacer una revaloración, y estimar si el incremento en los valores del perfil de lípidos se debió a los cambios metabólicos en el embarazo o refleja una inadecuada alimentación en esta población. Debido a que en años pasados no se hacía formalmente el diagnóstico de la DMG en las embarazadas, no se tienen datos precisos de los cambios en el perfil de lípidos.

Una de las principales complicaciones de la DMG es la preeclampsia, aunque no se ha establecido claramente la relación entre estas dos entidades, algunos estudios han sugerido que comparten una fisiopatología en común, incluyendo la resistencia a la insulina, inflamación crónica y disfunción endotelial, además de que comparten factores de riesgo tales como un IMC elevado y edad avanzada⁸³. Un metabolito que se ha estudiado como marcador de preeclampsia es el ácido úrico³⁵, se sugiere que este pudiera tener un papel causal en el surgimiento de esta complicación por el aumento en el estrés oxidativo y/o a la reducción de la filtración glomerular. En el grupo de DMG un 57.6% de las pacientes tuvieron valores de ácido úrico incrementados, además de una incidencia de preeclampsia de 36.8%. De acuerdo a la OMS la incidencia de preeclampsia en el mundo es de 5% a 10%,⁷⁹ sin embargo, datos en población mexicana del Hospital de Ginecología y Obstetricia

⁸² Juárez IE, Rivera-Silva G, Mejía-Arangure JM, Mercado-Arellano JA, Díaz-Bensussen S. Perfil de lípidos en recién nacidos sanos y su correlación con los niveles de lípidos maternos. *Salud Publica Mex* 1999;41:405-409.

⁸³ Wendland Eliana M. Da Ros, Duncan Bruce B., Bel izán José M. et al. Gestational diabetes and pre-eclampsia: Common Antecedents? *Arq Bras Endocrinol Metab* 2008;52:6



Número 3, Centro Médico “La Raza” del Instituto Mexicano del Seguro Social, reportaron en el año 2000 que de 408 embarazadas, 15.4% tuvieron preeclampsia leve y 37.5% presentaron preeclampsia severa, aunque en este estudio no se relacionó la incidencia de esta complicación con la DMG.⁸⁴ Sin embargo, en Colombia la incidencia reportada fue de 29.0% de preeclampsia en DMG.⁸⁵ Estos hallazgos señalan la importancia de seguir estudiando la etiología de la DMG y la preeclampsia, porque pudieran compartir tanto marcadores bioquímicos como genéticos que favorezcan su diagnóstico temprano y así evitar complicaciones durante el embarazo.

Existe una clasificación propuesta en el Instituto de Medicina (Washington, DC, Estados Unidos), la cual calcula dependiendo del peso previo y la estatura, la cantidad de kilogramos permisibles a ganar durante la gestación⁸⁶, en la población mexicana se recomienda no subir más de doce kilogramos durante la gestación, pero se debería de realizar el cálculo de los kilogramos que se pueden ganar dependiendo el IMC previo al embarazo. Con esta medida preventiva se puede evitar un incremento en la resistencia a la insulina, así como disminuir la probabilidad de presentar complicaciones y generar una reserva energética apropiada para el feto.⁸⁷ Debido a que en el grupo evaluado, la mayoría no contaba con un historial médico previo al embarazo no se tiene el IMC en estado basal, sin embargo, con el peso y estatura de la semana 24 a la 36 de gestación se calculó el IMC de ambos grupos. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa, por lo tanto, se propone que las pacientes con mayor IMC están más predispuestas a padecer DMG. Huidobro y

⁸⁴ Peralta-Pedrero María Luisa, Guzmán-Ibarra María de los Ángeles, Cruz-Avelar Agles, Basavilvazo-Rodríguez Ma. Antonia, Sánchez-Ambríz Silvia, Martínez-García Ma. del Carmen Utilidad para establecer diagnóstico y severidad de los síntomas y signos más frecuentes en la paciente preecláptica. *Gac Méd Méx* Vol.140 No. 5, 2004.

⁸⁵ <http://encolombia.com/medicina/ginecologia/ginecolog53102-revi-predic1.htm>

⁸⁶ Bertoldi Nucci Luciana, Bartholow Duncan Bruce, et al. Assessment of weight gain during pregnancy in general prenatal care services in Brazil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 17(6):1367-1374, nov-dez, 2001. 1367-74.

⁸⁷ <http://www.maternofetal.net/3obesidad.html>



colaboradores (2004),⁸⁸ reportaron en su estudio que el IMC fue significativamente mayor en las mujeres que desarrollaron DMG, tanto en la medición basal (controles= 27,7 \pm 5 Kg y DMG= 24,2 \pm 4,2 Kg), como entre las semanas 24 a 28 (controles= 31,7 \pm 5 Kg y DMG= 27,9 \pm 4,4 Kg, $p=0,0006$) y 32 a 36 (controles= 33,5 \pm 5,1 Kg y DMG= 29,6 \pm 4,7 Kg, $p=0,001$), por lo cual, el IMC se asoció al desarrollo de DMG de la misma forma en que se asocia a la presencia de DMT2 en la población general.

La ADA recomienda se realice una CTGO dos o tres meses después de dar a luz, con la finalidad de reclasificar a las pacientes y descartar DMT2. Sin embargo, no siempre se realiza por que se la paciente ignora la importancia que estos estudios tienen para su salud. Debido a esto, es fundamental implementar estrategias que eviten el aumento de DMT2 en México mediante programas informativos donde se sensibilice a la población acerca del riesgo.

Debido a que los seres humanos compartimos más del 99.9 % de la secuencia de nucleótidos en nuestro genoma y que dentro del 1%, cada individuo tiene cierta predisposición a sufrir distintas enfermedades, el entendimiento de las variaciones del DNA podría aportarnos muchas explicaciones sobre la causa, prevención, diagnóstico y el tratamiento de las enfermedades.⁸⁹ Sin embargo, se debe hacer notar que si bien actualmente hay información fundamentada y creciente respecto de la asociación de SNPs y la susceptibilidad al desarrollo de diabetes, nuevos avances abrirán perspectivas interesantes acerca de la herencia de la diabetes. Como ejemplo de estos avances se tiene el estudio de variantes del número de copias (CNV) que también ha mostrado asociación a

⁸⁸ Huidobro M Andrea, Fulford Anthony, Carrasco P. Elena Incidencia de diabetes gestacional y su relación con obesidad en embarazadas chilenas. Rev Méd Chile 2004; 132: 931-938

⁸⁹ http://www.elcultural.es/version_papel/CIENCIA/4464/El_DNA_y_la_nueva_terapeutica



enfermedades diversas incluida la diabetes.^{90, 91, 92} Por otro lado, el Proyecto 1000 Genomas (en el cual participarán 1000 personas de diferentes poblaciones),⁹³ tiene como objetivo el promover la investigación de las enfermedades humanas y desarrollar un nuevo mapa del genoma humano, el cual permitirá que los investigadores se concentren más rápidamente en las variantes genéticas relacionadas a las enfermedades.

⁹⁰ <http://www.genalia.es/blog/actualidad/agilent-seleccionada-para-un-gran-estudio-de-cnv/>

⁹¹ <http://www.sanger.ac.uk/humgen/cnv/>

⁹² http://www.swissinfo.org/spa/internacional/agencias/detail/Un_nuevo_mapa_genetico_humano_muestra_diferencias_inesperadas.html?siteSect=143&sid=7284850&cKey=1164283951000

⁹³ http://www.spanish.xinhuanet.com/spanish/2008-01/23/content_565373.htm



CAPÍTULO XV.

Conclusiones.

➤ Se encontró una alta frecuencia de los polimorfismos T130I del gen *HNF4A* y A45T del gen *NeuroDI/beta2* en las mujeres embarazadas del Hospital Juárez de México, sugiriendo la presencia de un fondo diabetogénico en la población mexicana que potencialmente puede influir en el desarrollo de la DMG.

➤ Las prevalencias de los polimorfismos T130I del gen *HNF4A* y A45T del gen *NeuroDI/beta2* para la población con DMG fueron similares a las reportadas en la población mexicana con DMG de aparición temprana, lo cual apoya la reconocida participación hereditaria en el desarrollo de la diabetes en personas jóvenes.

➤ Debido a que la población mexicana pertenece a un grupo étnico de alto riesgo para padecer DMG, es importante estudiar los factores que desencadenan esta enfermedad que conduzcan a mejoras en el manejo terapéutico, así como disminución de los efectos negativos sobre la siguiente generación.

Perspectivas.

➤ Ampliar el grupo de estudio y evaluar otros factores genéticos que contribuyan en la susceptibilidad a DMG.

➤ Dar seguimiento a las pacientes y a sus hijos, por lo menos se les debe hacer un estudio anual de glucosa en ayuno, para que de esta manera, se puedan tener datos certeros de los factores que desencadenan la DMG.

➤ Brindar orientación educacional y nutricional para evitar la aparición de DMG en ellas y en sus hijos.



ANEXO I. Carta consentimiento aplicada a las embarazadas del Hospital Juárez de México.



HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO Y LA FACULTAD DE QUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN



CARTA CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR COMO CONTROL SANO EN EL PROYECTO:

"EVALUACIÓN MOLECULAR DE DIABETES GESTACIONAL"

México D.F. _____

A quien corresponde:

Yo, el/la abajo suscrito/a _____ de _____ años de edad, en forma libre y voluntaria acepto participar en el estudio "Evaluación Molecular de Diabetes Gestacional" que se llevará a cabo en el Hospital Juárez de México y la Facultad de Química de la UNAM, cuyo objetivo es identificar los genes responsables de la Diabetes Mellitus en familias mexicanas.

Se me ha informado la importancia del estudio, los motivos, duración y forma en que se llevará a cabo, así como la manera y condiciones en las que se me tomará la muestra de sangre, dándome la oportunidad para hacer preguntas sobre el mismo y estando satisfecho sobre la información y respuestas recibidas.

Firma del Paciente _____ **Expediente** _____

Nombre y firma del Testigo _____

Dirección _____

Nombre y firma del Testigo _____

Dirección _____

Firma del Investigador _____



ANEXO II. Cuestionario aplicado a las embarazadas del Hospital Juárez de México.



HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO
DIVISION DE INVESTIGACION
LABORATORIO DE ENDOCRINOLOGIA MOLECULAR



**CUESTIONARIO PARA EL PROTOCOLO DE
DIABETES MELLITUS GESTACIONAL**

Datos Personales:

Nombre: _____

Edad: _____ sexo: _____ Ocupación: _____

Origen étnico: _____

Dirección: _____

Teléfono particular: _____

Datos de Laboratorio:

Gluc (ayuno) : _____ mg/dl Col. _____ mg/dl Urea _____ Creat _____ mg/dl

Datos adicionales:

Peso actual: _____ Estatura: _____ IMC: _____ Semana de Embarazo _____

Presión Arterial:

Trastornos del Embarazo _____ - No. de hijos _____

Trastornos de anteriores embarazos: _____ **Le han hecho pruebas de glucosa anteriormente**

Observaciones

Toma alcohol: _____ Toma refresco: _____ que refresco toma: _____

Fuma: _____ Cirugías: _____ Ejercicio: _____ Que tipo de ejercicio hace: _____

AHF

Padres sanos? _____

Hermanos sanos? _____

Abuelos paternos o maternos con DM: _____

Tíos, primos con DM? _____

HABITOS ALIMENTARIOS:

OBSERVACIONES:



ANEXO III. Formato para la entrega de los resultados bioquímicos de los pacientes del Hospital Juárez de México.

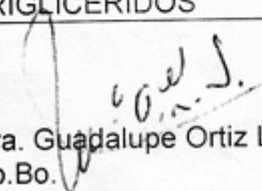


HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

Laboratorio de Endocrinología Molecular

Nombre: Susana Chávez Conde
Edad: 28 años
Sexo: femenino

QUIMICA	RESULTADOS	UNIDADES	VALORES DE REFERENCIA
GLUCOSA	75	mg/dl	70-100
COLESTEROL	196	mg/dl	140-200
TRIGLICERIDOS	320	mg/dl	35-160


Dra. Guadalupe Ortiz López
Vo.Bo.



Bibliografía.

1. <http://mexico.pmfarma.com/noticias/noti.asp?ref=1359>
2. Olaiz G, Rojas R, Barquera S, Shamah T, Aguilar C, Cravioto P, et al. Encuesta Nacional de Salud 2000 Tomo 2. La salud de los adultos. Cuernavaca, Morelos. México: Instituto de Salud Pública; 2003.
3. <http://special.radioextremo.com/Salud/1717.html>
4. <http://www.eatlas.idf.org/webdata/docs/Atlas%202003-Extracto.pdf>
5. Guyton & Hall: Textbook of Medical Physiology. UNIT XIV Endocrinology and Reproduction. 961. Edición 11.
6. Stephen N.Davis y Daryl K. Granner. Capítulo 60 Insulina, fármacos hipoglucemiantes orales y propiedades farmacológicas del páncreas endocrino. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Novena edición. Editorial McGraw-Hill vol.2 México 1996. pp 1581-1613.
7. <http://escuela.med.puc.cl/publ/TemasMedicinaInterna/imagenes/insulina1.gif>
8. <http://www.uchsc.edu/misc/diabetes/oxch2fig5.png>
9. <http://www.betacell.org/images/CMS/insulin-secretion-w500.jpg>
10. <http://www.betacell.org/images/CMS/insulin-secretion-w500.jpg>
11. Guyton & Hall: Textbook of Medical Physiology UNIT XIV Endocrinology and Reproduction. 962. Edición 11. www.studentsconsult.com.
12. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on The Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2000; 23: S4-S19.



13. Richard M Watanabe; Mary Helen Black; Anny H Xiang; Hooman Allayee; et al Genetics of Gestational Diabetes Mellitus and Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*; Jul 2007; 30, ProQuest Medical Library pg. S134.
14. Elaborado por la Dirección General de Estudios sobre Consumo de la Profeco, con datos del Sistema Nacional de Información en Salud (SINAIS) 2005.
15. Michael J Fowler Diabetes: Magnitude and Mechanisms *Clinical Diabetes*; Winter 2007; 25, 1; Academic Research Library pg. 25
16. Russell Paul T. Embarazo y función renal. Capítulo 35. Kaplan, L.A., Pesce, A.J. *Química clínica técnicas de laboratorio. Patología y métodos de análisis.* Editorial Médica Panamericana, 1990. 811-36.
17. Satish C Kalhan. Protein metabolism in pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2000;71(suppl):1249S–55S. Printed in USA, 2000 American Society for Clinical Nutrition.
18. Buchanan T. A, Xiang A, Kjos S. L., Watanabe R. D. What is gestational diabetes? *Diabetes Care*: Jul 2007; 30 ProQuest Medical Library. Pg S105.
19. Lakshmanan Suresh, BDS,a and Lida Radfar, DDS, MS. Pregnancy and lactation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97:672-82.
20. Forsbach G., Contreras-Soto JJ., Fong G., Flores G., Moreno O., Prevalence of gestational diabetes and macrosomic newborns in a Mexican population. *Diabetes Care*, 1988; 11:235-8.
21. Tamez Pérez HE., Rodríguez Ayala M., Treviño Hernández M., Espinosa Campos J., Salas Galindo Luis R., Barquet Barquet J., Paez Jiménez F., Experiencia con un programa de escrutinio de diabetes gestacional. *Rev Inv Clin*, 1993; 45:453-6.
22. La Jornada. Lunes 4 de diciembre de 2006.



23. Claus Kuhl. Etiology and pathogenesis of gestational diabetes. *Diabetes Care*: Aug 1998; 21, ProQuest Medical Library pg B19.
24. Albareda i Riera Ma. Mercé. Diabetes gestacional: Riesgo de desarrollar diabetes mellitus y factores de riesgo cardiovascular a medio plazo.
25. Hernández Valencia M, Zárate Arturo. Conceptos recientes en la etiopatogenia de la diabetes gestacional. *Ginecol Obstet. Méx* 2005; 73:371-7.
26. Guyton & Hall: *Textbook of Medical Physiology*. UNIT XIV Endocrinology and Reproduction. 1010-1037. Edición 11.
27. Osorio O. José Henry embarazo y metabolismo de los carbohidratos. *Revista colombiana de obstetricia y ginecología* vol. 54 - 2: 97-106. 2003.
28. Van Raaij JM. Energy requirements of pregnancy for healthy Dutch women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1995 Jul; 6(1): 7-13. Review.
29. L. Aerts, F.A. Van Assche. Animal evidence for the transgenerational development of diabetes mellitus. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 38 (2006) 894–903
30. <http://www.scielo.cl/fbpe/img/rmc/v134n9/tb09-01.jpg>
31. MODIFICACION a la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria para quedar como Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes.
32. Esakoff F.T, et el. Screening for gestational diabetes: Different cut offs for different ethnicities? *Am J Obstet Gynec* 2005; 193:1040-1044.



33. Groop L, Forsblom C, Lehtovirta M, Tuorm T, Karanko S, Nissen M, et al. Metabolic consequences of a family history of NIDDM (the Botnia study): evidence of sex-specific parental effects. *Diabetes*. 1996; 45:1585–93.
34. Rosenbloom A, Joe J, Young R, Winter W. Emerging epidemic of type diabetes in youth. *Diabetes Care*. 1999; 22(2):345–54.
35. O’Sullivan JB, Mahan CM, Criteria for the oral glucose tolerance test in pregnancy. *Diabetes* 1964; 13:278-285.
36. Guyton & Hall: Textbook of Medical Physiology UNIT XIV Endocrinology and Reproduction. 976. Edición 11. www.studentsconsult.com.
37. ¹ Nacer Herrera J, García Huidobro M., Cifuentes Ovalle Lucía. Malformaciones congénitas en hijos de madres con diabetes mellitus gestacional. *Revista médica de Chile*. 2005.
38. Pipkin F. Fortnightly review: the hypertensive disorders of pregnancy. *BMJ*. 1995; 311:609-13.
39. Catalana PM, Thomas A, Huston-Presley L, Amino SB. Phenotype of infants of mothers with gestational diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30 Supple 2: S156-60.
40. Fuhrmann Reiré. Congenital anomalies: etiology prevention and prenatal diagnosis. In: Jovanovic, Peterson, Furlumann; *Diabetes in pregnancy, teratology toxicity and treatment*. New York: Praeger, 1986: 51-71.
41. American Diabetes Association. Gestational Diabetes Mellitas. *Diabetes Care* 2003; 26 (Suppl. 1.): S43-48.
42. Sheiner E, et al. Pregnancy outcome of patients with gestacional diabetes mellitus following bariatric surgery. *Am J Obstet Gynec* 2006;194: 534-538.



43. Fiorelli Rodríguez S. F, Corona R, Izquierdo P. JC, Jiménez Solís G. Capítulo 8. Diabetes mellitus y embarazo. Islas Andrade S., Revilla-Monsalve C, editores. Diabetes mellitus. Tercera edición. México: McGraw-Hill Interamericana pp 89-231.
44. Cruz Miguel, Montoya Carlos, et al. Polimorfismo de genes relacionados con diabetes tipo 2. Rev. Med IMSS 2002; 40 (2): 113-125. 2001.
45. Richard M Watanabe; Mary Helen Black; Anny H Xiang; Hooman Allayee; et al Genetics of Gestational Diabetes Mellitus and Type 2 Diabetes. Diabetes Care; Jul 2007; 30, ProQuest Medical Library pg. S134
46. Shaat N. . Karlsson E. . Lernmark Å. . Ivarsson S. . Lynch K. . Parikh H. . Almgren P. Berntorp K.. Groop L. Common variants in MODY genes increase the risk of gestational diabetes mellitus. Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health 23(2),85-91 2008
47. Irving RR, Mills JL, Choo-Kang EG, Morrison EY, Kulkarni S, Wright-Pascoe R, et al. The burden of gestational diabetes mellitus in Jamaican women with a family history of autosomal dominant type 2 diabetes. Rev Panam Salud Publica. 2008;23(2):85–91.
48. Stoffel M, Bell KL, Blackburn CL et al (1993) Identification of glucokinase mutations in subjects with gestational diabetes mellitus. Diabetes 42:937–940
49. Silander K, Mohlke KL, Scott LJ et al (2004) Genetic variation near the hepatocyte nuclear factor-4 alpha gene predicts susceptibility to type 2 diabetes. Diabetes 53:1141–1149
50. Sánchez-Reyes Leticia, Fanghänel Guillermo, Márquez-Cid Miguel Enrique, Salazar Rocha Rafael, Labastida-Sánchez, Claudia, Solís-Pérez Aarón, Tusie Luna María Teresa Actualización en los diferentes subtipos de diabetes tipo “MODY”. Revista de Endocrinología y Nutrición Vol. 9, No. 1 Enero-Marzo 2001 pp 5-11



51. Biología de Ville. Ville Claude, Peral Solomon Elvira, et al. Editorial Interamericana McGraw-Hill. Tercera edición. México 1996.
52. Lehninger Principles of Biochemistry. Nelson David L., Cox M. Cuarta edición. Michael. Editorial W.H. Freeman and company New York. EUA 2005.
53. Servitja J. M., Ferrer J. Transcriptional networks controlling pancreatic development and beta cell function. *Diabetología* (2004) 47:597-613.
54. Edlund Helena. Pancreatic organogenesis —Developmental mechanisms and implications for therapy. Volume 3: 524-32. July 2002. Nature publishing group. [Www.nature.com/reviews/genetics](http://www.nature.com/reviews/genetics)
55. Zhu Q, Yamagata K. Et al. T130I mutation en HNF-4A gene is a loss-of-function mutation in hepatocytes and is associated with late-onset Type 2 diabetes mellitus in japanese subjects. *Diabetología* (2003) 46:567-573.
56. http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/3e/Nuclear_Receptor_Structure.png/800pxNuclear_Receptor_Structure.png&imgrefurl=http://commons.wikimedia.org/wiki/Image:Nuclear_Receptor_Structure.png&h=600&w=800&sz=175&hl=es&start=12&um=1&usg=__IEDdogJBpDqkPnztN4roRtYE0_E=&tbnid=rEEr1egku78RM:&tbnh=107&tbnw=143&prev=/images%3Fq%3Dnuclear%2Breceptor%26um%3D1%26hl%3Des%26rlz%3D1T4ADBS_esMX242MX243
57. http://images.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.sladeklab.ucr.edu/images/hnf41.gif&imgrefurl=http://www.sladeklab.ucr.edu/info.html&h=304&w=400&sz=10&hl=es&start=5&um=1&tbnid=vCCjZgfPhnuf8M:&tbnh=94&tbnw=124&prev=/images%3Fq%3DHNF-4%26um%3D1%26hl%3Des%26rlz%3D1T4ADBS_esMX242MX243%26sa%3DN



58. Sian Ellard¹, Kevin Colclough Mutations in the Genes Encoding the Transcription Factors Hepatocyte Nuclear Factor 1 Alpha (HNF1A) and 4 Alpha (HNF4A) in Maturity-Onset Diabetes of the Young. *Human mutation* 27(9), 854- 869,2006
59. Joel F. Habener, Daniel M. Kemp, and Melissa K. Thomas Minireview: Transcriptional Regulation in Pancreatic Development. *Endocrinology* 146(3):1025–1034. 2005 by The Endocrine Societydoi: 10.1210/en.2004-1576.
60. Grapin-Botton A, Majithia AR, Melton DA (2001) Key events of pancreas formation are triggered in gut endoderm by ectopic expression of pancreatic regulatory genes. *Genes Dev* 15:444–454
61. Holewa Beatrix, Zapp Dirk, Drewes Thorsten, Senkel Sabine, and Ryffel Gerhart. HNF4b, a new gene of the HNF4 family with distinct activation and expression profiles in oogenesis and embryogenesis of *Xenopus laevis*. *Molecular and cellular biology*. Vol. 17, n°2. Feb. 1997, p. 687–694
62. <http://www.sladeklab.ucr.edu/info.html>
63. Menjívar M., Granados-Silvestre M. A., et al. High frequency of T130I mutation of HNF4A gene in Mexican patients with early-onset type 2 diabetes. *Clin Genet* 2008;73: 185-187.
64. Granados-Silvestre Ma, Ortiz-López Guadalupe, Menjívar Marta. Evaluación de la frecuencia de la mutación T130I del gen hnf4a en dos grupos indígenas mexicanos. 2° Congreso Nacional de Química Médica.
65. Menjívar M., Granados-Silvestre M. A., et al. High frequency of T130I mutation of HNF4A gene in Mexican patients with early-onset type 2 diabetes. *Clin Genet* 2008;73: 185-187.



66. Jackson Alan E., Cassell Paul G., North Bernard V., Vijayaraghavan Shanti, Gelding Susan V., Ramachandran Ambady, Snehalatha Chamukuttan, and Hitman Graham A. Polymorphic Variations in the Neurogenic Differentiation-1, Neurogenin-3, and Hepatocyte Nuclear Factor-1_γ Genes Contribute to Glucose Intolerance in a South Indian Population. *DIABETES*, VOL. 53, AUGUST 2004. 2123-25
67. Ji Hyung Chae, Gretchen H. Stein, and Jacqueline E. Lee. NeuroD: The Predicted and the Surprising *Mol. Cells*, Vol. 18, No. 3, pp. 271-288. December 2004.
68. Malecki1Maciej T., Jhala Ulupi S., Antonellis Anthony, Fields Liz, Doria Alessandro, Orban Tihamer, Saad Mohammed, Warram James H., Montminy Marc & KrolewskAndrzej S. Mutations in NEUROD1 are associated with the development of type 2 diabetes mellitus. *Nature genetics* • volume 23 • november 1999.
69. Vesna Boraska¹, Janoš Terzić¹, Veselin Škrabić², Tamara Čačev³, Viljemka Bučević-Popović⁴, Marijana Peruzović¹, Anita Markotić¹, Tatijana Zemunik¹ NeuroD1 Gene and Interleukin-18 Gene Polymorphisms in Type 1 Diabetes in Dalmatian Population of Southern Croatia. *Basic Science Croat Med J*. 2006;47:571-8
70. J. V. Sagen, M. E. Baumann[†], H. B. Salvesen^{†§}, A. Molven, O. Søvik and P. R. Njølstad. Diagnostic screening of NEUROD1 (MODY6) in subjects with MODY or gestational diabetes mellitus. *Diabetes UK. Diabetic Medicine* 22 1012–1015
71. Fotini K. Kavvoura Æ John P. A. Ioannidis. Ala45Thr polymorphism of the NEUROD1 gene and diabetes susceptibility: a meta-analysis. *Hum Genet* (2005) 116: 192–199.
72. Mustaphi R, Gopalan S, Dhaliwal L, Sarkan AK. Hyperuricemia and pregnancy induced hypertension-reappraisal. *Indian J Med Sci*. 1996;50(3):68-71.



73. Fay RA, Bromham DR, Brooks JA, Gebski VJ. Platelets and uric acid in the prediction of pre-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1985; 152:1038.
74. <http://www.argonmexico.com/ultimas/10-millones-de-mexicanos-tienen-diabetes.html>
75. <http://www.mestizos.net/article49.html>
76. Támez Pérez H. E., Rodríguez Ayala M., et al. Experiencia con un programa de escrutinio de diabetes gestacional. *Rev. Invest Clin* 1993; 45:453-6.
77. Weedon MN, Owen KR, Shields B et al (2004) Common variants of the hepatocyte nuclear factor-4alpha P2 promoter are associated with type 2 diabetes in the U.K. population. *Diabetes* 53:3002–3006
78. Zhu Q., Yamagata K., Miura A., Shihara N., Horikawa Y., Takeda J., Miyagawa J., Matsuzawa Y: T130I mutation in HNF-4 a gene is a loss-of-function mutation in hepatocytes and is associated with late-onset type 2 diabetes mellitus in Japanese subjects. *Diabetología* 46: 567-573, 2003.
79. Fotini K. Kavvoura Æ John P. A. Ioannidis. Ala45Thr polymorphism of the NEUROD1 gene and diabetes susceptibility: a meta-analysis. *Hum Genet* (2005) 116: 192–199.
80. Hansen Lars, N. Jensen Jan, Urioste Sandra, et al. No Associations to Late-Onset Type 2 Diabetes but an A45 Allele May Represent a Susceptibility Marker for Type 1 Diabetes Among Danes. *Diabetes*, vol. 49, may 2000 876-878.
81. J.M. Moreno Villares, J. Dalmau Serra. Alteraciones en la nutrición fetal y efectos a largo plazo: ¿algo más que una hipótesis? *Acta Pediatr Esp* 2001; 59: 573-581



82. Juárez IE, Rivera-Silva G, Mejía-Arangure JM, Mercado-Arellano JA, Díaz-Bensussen S. Perfil de lípidos en recién nacidos sanos y su correlación con los niveles de lípidos maternos. *Salud Publica Mex* 1999;41:405-409.
83. Wendland Eliana M. Da Ros, Duncan Bruce B., Bel izán José M. et al. Gestational diabetes and pre-eclampsia: Common Antecedents? *Arq Bras Endocrinol Metab* 2008;52:6
84. Peralta-Pedrero María Luisa, Guzmán-Ibarra María de los Ángeles, Cruz-Avelar Agles, Basavilvazo-Rodríguez Ma. Antonia, Sánchez-Ambríz Silvia, Martínez-García Ma. del Carmen Utilidad para establecer diagnóstico y severidad de los síntomas y signos más frecuentes en la paciente preeclámpsica. *Gac Méd Méx* Vol.140 No. 5, 2004.
85. <http://encolombia.com/medicina/ginecologia/ginecolog53102-revi-predic1.htm>
86. Bertoldi Nucci Luciana, Bartholow Duncan Bruce, et al. Assessment of weight gain during pregnancy in general prenatal care services in Brazil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 17(6):1367-1374, nov-dez, 2001. 1367-74.
87. <http://www.maternofetal.net/3obesidad.html>
88. Huidobro M Andrea, Fulford Anthony, Carrasco P. Elena Incidencia de diabetes gestacional y su relación con obesidad en embarazadas chilenas. *Rev Méd Chile* 2004; 132: 931-938
89. http://www.elcultural.es/version_papel/CIENCIA/4464/El_DNA_y_la_nueva_terapeutica
90. <http://www.genalia.es/blog/actualidad/agilent-seleccionada-para-un-gran-estudio-de-cnv/>
91. <http://www.sanger.ac.uk/humgen/cnv/>
92. http://www.swissinfo.org/spa/internacional/agencias/detail/Un_nuevo_mapa_genetico_humano_muestra_diferencias_inesperadas.html?siteSect=143&sid=7284850&cKey=1164283951000



93. http://www.spanish.xinhuanet.com/spanish/2008-01/23/content_565373.htm