



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL



UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD HOSPITAL DE PEDIATRÍA "DR. SILVESTRE  
FRENK FREUND" CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

### TÍTULO

**ESTADO DE METILACIÓN DEL GEN SLC16A11 EN CÉLULAS DE SANGRE DEL CORDÓN  
UMBILICAL DEL RECIÉN NACIDO HIJO DE MADRE CON Y SIN DIABETES  
GESTACIONAL**

### TITULACIÓN OPORTUNA

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

**DR. MANUEL SEVILLA DOMINGO**

Residente de Endocrinología Pediátrica  
No de cuenta UNAM: 30668758-3  
Teléfono: 5548772181  
Correo electrónico: msevilla5@gmail.com

### TUTORES DE TESIS:

**DRA. RITA ANGÉLICA GÓMEZ DÍAZ**

Correo electrónico: ritagomezdiaz@yahoo.com.mx  
Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica. UMAE Hospital de Especialidades.  
CMN SXXI. IMSS. Avenida Cuauhtémoc 330 CP 06720. Tel. 57276900.

**DRA. EULALIA PIEDAD GARRIDO MAGAÑA**

Correo electrónico: garridolulu@hotmail.com  
Jefe del Servicio de Endocrinología Pediátrica. UMAE. Hospital de Pediatría Centro Médico  
Nacional Siglo XXI, IMSS. Tel 5627 6900.

N° DE REGISTRO: 2017-785-067

APROBACIÓN POR COFEPRIS 17 C1 09015006

Ciudad Universitaria, Ciudad de México, Octubre de 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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



Dirección de Prestaciones Médicas  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud  
Comisión Nacional de Investigación Científica  
Comité de Ética en Investigación



Oficio No. 09 B5 61 61 2800/2018/3100

Ciudad de México, a 03 de diciembre de 2018.

**Dra. Rita Angélica Gómez Díaz**  
Investigadora Principal  
Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica  
UMAE Hospital de Especialidades  
Centro Médico Nacional Siglo XXI.  
Presente

En relación al protocolo: "ESTADO DE METILACIÓN DEL GEN SLC16A11 EN CÉLULAS DE SANGRE DEL CORDÓN UMBILICAL DEL RECIÉN NACIDO HIJO DE MADRE CON Y SIN DIABETES GESTACIONAL", con número de registro 2017-785-067, el Comité de Investigación, COFEPRIS CI: 17 CI 09 015 006, revisó y se da por enterado de la inclusión de Manuel Sevilla Domingo como alumno del proyecto.

Sin otro particular, le envío un saludo.

Ateamente

  
**DR. FABIO ABDEL SALAMANCA GOMEZ**  
Presidente del Comité de Investigación

  
MSNN/BB/uh\*  
FACNIC-2017-62

IMSS  
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

Av. SFR - SFR, 4to. Piso, Cuajalajara, Tel. 5311 45 (línea libre) México D.F. Anexo a la Unidad de Congressos  
Calle Pasteur, C.P. 06702, México D.F. Teléfono del Comité de Ética: 5027 6430, Ext. 21211

## ÍNDICE

TÍTULO	4
RESUMEN	5
INTRODUCCIÓN	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
JUSTIFICACIÓN	15
OBJETIVOS	16
HIPÓTESIS	16
MATERIAL Y MÉTODOS	17
ASPECTOS ÉTICOS	34
RESULTADOS	37
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIONES	46
REFERENCIAS	48
ANEXOS	52

## TÍTULO

Estado de metilación del gen SLC16A11 en células de sangre del cordón umbilical del recién nacido hijo de madre con y sin diabetes gestacional

**Presenta:** Dr. Manuel Sevilla Domingo

**Asesores:** Dra. Eulalia Piedad Garrido Magaña / Dra. Rita Gómez Díaz

## PARTICIPANTES ACADÉMICOS

- 
- |   |   |
|---|---|
| 1. Dra. Rita A. Gómez Díaz <sup>1</sup><br>ritagomezdiaz@yahoo.com.mx | 6. Dra. Gabriela Eridani Acevedo Rodríguez <sup>4</sup><br>gaeri05@yahoo.com.mx |
| 2. Dr. Niels H. Wachter Rodarte <sup>1</sup><br>wacherniels@gmail.com | 7. Dr. Víctor Eduardo Hernández Zúñiga <sup>5</sup><br>drvictor@prodigy.com.mx  |
| 3. Dr. Adán Valladares Salgado <sup>2</sup><br>adanval@gmail.com      | 8. Dr. Braulio Quesada Reyna <sup>6</sup><br>Braulio.quesada@imss.gob.mx        |
| 4. Dr. Mauricio Salcedo Vargas <sup>3</sup><br>masava89@gmail.com     | 9. Dra. Luz Angélica Ramírez García <sup>7</sup><br>luz.ramirezgcr@imss.gob.mx  |
| 5. Dra. Edith González Carranza <sup>4</sup><br>edigecca@life.com.ml  | 10. Dr. Leovigildo Mateos Sánchez <sup>8</sup><br>lmateos95@yahoo.com.mx        |

1Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica. UMAE Hospital de Especialidades. CMN SXXI. IMSS. Avenida Cuauhtémoc 330 CP 06720. Tel. 57276900.

2Unidad de Investigación Médica en Bioquímica. UMAE Hospital de Especialidades. CMN SXXI. IMSS. Avenida Cuauhtémoc 330 CP 06720. México D.F. Tel. 57276900 Ext 21780

3Unidad Médica en Investigación Oncológica. UMAE Hospital de Oncología, CMN. SXXI. IMSS Avenida Cuauhtémoc 330 CP 06720. Tel. 57276900

4UMAE Hospital de Gineco-Obstetricia #4: Servicios de Endocrinología, 5Perinatología, 6Tococirugia, 7Pediatria y 8UCIN del Instituto Mexicano del Seguro Social. México D.F. Tel. 56169571

## RESUMEN

**ANTECEDENTES:** Distintos estudios han identificado el ambiente intrauterino como factor regulador en los perfiles de metilación en el ADN del recién nacido (RN). En población mexicana, se ha identificado el gen *SLC16A11* como un factor que aumenta el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 (DT2). No existe a la fecha ningún reporte sobre la expresión y regulación de *SLC16A11* en diabetes gestacional, por lo que es relevante identificar desde las etapas tempranas del desarrollo humano, las modificaciones epigenéticas debidas al estado de hiperglucemia materna. **OBJETIVO:** Determinar el estado de metilación del gen *SLC16A11*, en células de sangre de cordón umbilical de recién nacido hijo de madre con y sin DG. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Se invitó a participar a pacientes embarazadas sometidas a cesárea sin y con DG en el Hospital de Gineco-obstetricia #4 del IMSS. Se extrajo DNA de células de sangre de madres con y sin DG, así como células de sangre de cordón umbilical de los recién nacidos. Se realizó determinación con PCR punto final. Las variables fueron analizadas con la prueba t de student con el programa SPSS. Se consideraron estadísticamente significativos los valores de  $p < 0.05$ . **RESULTADOS** Se encontró metilación en uno de los 68 binomios analizados, perteneciente al grupo control. La somatometría de los recién nacidos no mostró diferencias entre el grupo sin DG vs con DG. Se encontró diferencia en colesterol total  $171.38 \pm 76.58$  mg/dl vs.  $217.3 \pm 47.71$  mg/dl ( $p=0.022$ ), ALT  $10.68 \pm 6.55$  UI/l vs.  $17.58 \pm 12.96$  UI/l ( $p=0.037$ ) y hemoglobina glucosilada  $4.94 \pm 0.83\%$  vs.  $5.44 \pm 0.56\%$   $p=0.027$ . **DISCUSIÓN** La metilación del gen *SLC16A11* es menor a lo reportado en la población general, por lo que podría considerarse haplotipos de riesgo específicos que podrían estudiarse dirigidamente en las pacientes con DG. El binomio que presentó metilación del gen objeto de estudio cuenta con factores de riesgo maternos que pudieran modificar la expresión del gen y por lo tanto su hijo, al nacer, se encontró con peso en percentiles superiores. **CONCLUSIÓN.** Se demostró ausencia de metilación del gen *SLC16A11* en el 99% de las pacientes, encontrándose sólo en uno de los binomios pertenecientes al grupo sin diabetes. No se encontró diferencia en la somatometría corporal de los recién nacidos hijos de madre con y sin diabetes gestacional. Se observó diferencia en las concentraciones de colesterol total, en los grupos de pacientes con y sin diabetes gestacional.

## INTRODUCCIÓN

---

### I. Panorama de la Diabetes Mellitus tipo 2 en México.

México es considerada la nación con mayor sobrepeso y obesidad tanto en niños como en adultos de acuerdo a la Encuesta Nacional de Nutrición, siendo la prevalencia en población adulta del 71.28%<sup>1,2</sup>. Se estima que cerca del 20-25% de la población infantil de América Latina padecen de sobrepeso u obesidad<sup>3</sup>. En México, estas entidades han alcanzado proporciones cercanas a una epidemia, siendo la prevalencia en población infantil de casi el 35%<sup>2</sup>. Estas condiciones se asocian con diferentes entidades clínicas como apnea del sueño, hipercolesterolemia, intolerancia a carbohidratos, resistencia a la insulina, anormalidades en la menstruación y principalmente enfermedades cardio-metabólicas como la diabetes mellitus<sup>4</sup>.

La diabetes tipo 2 (DT2) involucra un grupo heterogéneo de desórdenes, los cuales presentan presentación clínica y progresión variables, caracterizados por hiperglucemia e intolerancia a carbohidratos. En población americana la prevalencia de DT2 es cercana al doble en individuos mexicanos o latinoamericanos. En el 2010 se reporta una prevalencia de diabetes del 14.4%, que estimaría cerca de 7.3 millones de casos a nivel nacional, representando un problema alarmante de salud<sup>5</sup>. Diferentes estudios han realizado cálculos para la proyección en la prevalencia de DT2 en México, sugiriendo que esta podría llegar a ser hasta el 17.6% para el 2030 y hasta del 22.5% para el 2050<sup>6</sup>, colocándonos en el lugar 16º de los países con mayor prevalencia de DM<sup>7</sup>.

### II. Diabetes Gestacional

Se considera que el embarazo es un estado caracterizado por cambios fisiológicos necesarios para un adecuado desarrollo y crecimiento fetal. Durante este proceso se exponen anormalidades metabólicas y/o vasculares secundarias a las adaptaciones fisiológicas<sup>8</sup>.

Una de las anormalidades metabólicas más comunes es la **Diabetes Mellitus gestacional** (DMG), la cual se define como cierto grado de intolerancia a la glucosa que es identificada por primera vez durante el embarazo, (se desarrolla durante el segundo y comienzos del tercer trimestre de gestación).

La epidemia ya comentada de obesidad y diabetes ha llevado a un aumento de pacientes con Diabetes tipo 2 no diagnosticada en mujeres en edad fértil, con un aumento de la incidencia de DT2 en mujeres embarazadas.

De acuerdo a ADA 2018 el diagnóstico se realiza en la semana 24 a 28 de gestación con una carga de 75g de Glucosa vía oral, los requisitos y mecanismos para su interpretación se detallan en la Tabla 1.

La prueba se realiza por la mañana con un ayuno mínimo de 8 horas y se toma como positivo en presencia de uno de los siguientes criterios:

Glucosa en ayuno mayor o igual a 92mg/dL  
Glucosa a 1 hora mayor o igual a 180mg/dL  
Glucosa a las 2 horas mayor o igual a 153mg/dL

**Tabla 1.** Diagnóstico de Diabetes Gestacional ADA 2018

La intolerancia a los carbohidratos es secundaria a los efectos de las hormonas diabetogénicas provenientes de la placenta condicionando hiperglicemias postprandiales y resistencia a la insulina<sup>9</sup>. La DMG se ha asociado con desenlaces adversos para la madre y el recién nacido (RN), dentro de los que predominan el término del embarazo por cesárea, macrosomía, muerte fetal y parto prematuro<sup>10</sup>. En la Tabla 2 se desglosan algunas alteraciones en estos recién nacidos.

Localización	Malformaciones
Sistema nervioso central	Defectos de tubo neural, holoprosencefalia, ausencia del cuerpo calloso, microcefalia, macrocefalia, hidrocefalia
Cardiovascular	Transposición de grandes arterias, defecto septal ventricular o auricular, TF, coartación aórtica, arteria umbilical única, hipoplasia del corazón izquierdo, cardiomegalia
Gastrointestinal	Estenosis pilórica, atresia duodenal, microcolon, malformación anorrectal, Hernias
Músculo-esquelético	Craneosinostosis, anomalías costovertebrales, polisindactilia
Otras	Situs inversus, coloboma, hernia diafragmática, atresia de coanas

**Tabla 2.** Alteraciones encontradas en el recién nacido hijo de madre con diabetes gestacional.

El exponer al feto a condiciones intrauterinas subóptimas se ha identificado como un factor de riesgo para el desarrollo de patologías en la vida futura del RN. La “**Hipótesis de Barker**” o “Hipótesis de los orígenes en el desarrollo de la enfermedad adulta”, sugiere que estímulos adversos durante el desarrollo, que ocurren en periodos sensibles o críticos, conllevan a cambios fisiológicos y/o biológicos permanentes en la vida, a esto se le conoce como programación fetal<sup>11,12</sup>. Se ha visto que alteraciones en la nutrición durante la vida intrauterina y durante los primeros meses de desarrollo se relacionan fuertemente con alteraciones en la secreción de insulina, deficiencia de células beta pancreáticas y predisposición para el desarrollo de DT2 en la vida adulta<sup>13</sup>.

La exposición fetal intrauterina a la diabetes se relaciona con un riesgo aumentado para desarrollar intolerancia a la glucosa y una respuesta secretora de insulina defectuosa, independiente de la predisposición genética para DT2<sup>14</sup>. Recientemente se demostró que tanto en la madre como en el recién nacido el grado de control glucémico afecta los niveles de proinsulina dependiendo del tipo de diabetes y la edad gestacional<sup>15</sup>.

Fisiológicamente, la glucosa materna atraviesa la barrera feto placentaria, desarrollándose un estado de hiperinsulinemia fetal secundario a un aporte excesivo de glucosa. Tanto la hiperglucemia como la hiperinsulinemia pueden condicionar un crecimiento anormal del feto representado como productos macrosómicos o con retardo en el crecimiento, dependiendo del grado de hiperglucemia al cual se hayan expuesto. Así también se han relacionado alteraciones en la organogénesis y angiogénesis. Los hijos de madres que cursaron con algún tipo de diabetes, además de un incremento en la morbilidad perinatal, presentan mayor riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas en la vida adulta como la obesidad y diabetes, que son las principales consecuencias de la exposición hiperglucémica intrauterina, y por tanto aumento en el riesgo de enfermedades cardiovasculares y cáncer<sup>16,17</sup>. Estos cambios y alteraciones pueden ser resultado de una programación mediada por anomalías metabólicas y hormonales, donde la exposición intrauterina a un ambiente diabético, puede resultar en una “programación metabólica fetal”, sugiriendo un modelo de transmisión epigenética de DT2<sup>18</sup>.

### III. Modelo epigenético:

La secuencia primaria del genoma es la base para entender cómo se lee el programa genético, sin embargo, existe una capa de información adicional, **epigenética**, que permite entender cómo se manifiesta en las fases del desarrollo, tejidos y enfermedades.

Por tanto, la **epigenética** se encarga de estudiar los cambios heredables en el ADN que afectan la expresión génica y el fenotipo, pero que no implican cambios en la secuencia de nucleótidos.

La información epigenética se almacena mediante modificaciones químicas en la secuencia de nucleótidos o en las proteínas que empaquetan el genoma, secuencias de ARN no codificantes y factores de transcripción regulatorios. Es el proceso epigenético el que afecta de manera estable la expresión génica mediante mecanismos que no implican alterar la secuencia primaria de nucleótidos.

La cromatina presenta una gran plasticidad debido a modificaciones que se producen en las histonas y el ADN. Estos cambios pueden transmitirse durante una o más generaciones. Los principales cambios epigenéticos que se dan en los mamíferos son la metilación de citosinas y la modificación de histonas<sup>19</sup>.

La **metilación del ADN** evita la unión de factores de transcripción mediante impedimento estérico, provocando *silenciamiento genético*, consiste en la unión no covalente de un grupo metilo a una citosina en la posición 5' para formar 5-metilcitosina (5mC). La S-Adenosil-Metionina es quien dona el grupo metilo en los mamíferos. Este proceso es mediado por la actividad de las enzimas ADN Metiltransferasas (DNMT)<sup>20</sup>. Estas se pueden clasificar en DNMT de mantenimiento, como la DNMT1, las cual copia el patrón de metilación entre generaciones de células durante su replicación, o las DNMT "de Novo", como las DNMT3a o DNMT3b, que son responsables de nuevos sitios de metilación en el ADN<sup>21</sup>.

La distribución de la metilación es aparentemente irregular en el genoma de los mamíferos. Mientras la mayoría de los dinucleótidos citosina-fosfatidil-guanina (CpG) están metilados, aquellas áreas densamente agrupadas de CpG, conocidas como "islas

CpG” (CGIs), regularmente carecen de metilación. Las CGIs se encuentran principalmente asociadas en los promotores, los primeros exones y también hacia los extremos 3'<sup>22</sup>. Cambios en el nivel de metilación de los sitios CpG ubicados en promotores, pueden llevar al silenciamiento o activación de un gen<sup>23</sup>.

#### **IV. Epigenética y su papel en el desarrollo de Diabetes Mellitus**

La metilación del ADN es esencial en el desarrollo fetal temprano, sin embargo las características del medio al que se encuentra expuesto se relaciona con diferentes patrones de metilación en el ADN. El epigenoma, considerado como las modificaciones en los patrones de ADN y en la cromatina, es altamente susceptible a una metilación aberrante debido a la alta tasa de síntesis de ADN y de patrones de metilación de ADN normales en el desarrollo de nuevo tejido<sup>24</sup>. Este tiene la característica de tener una amplia plasticidad, misma que responde a factores intrínsecos y a factores ambientales. Ante esta evidencia, la epigenética es un mecanismo por el cual el ambiente intrauterino durante la gestación se relaciona con la susceptibilidad del recién nacido ante el desarrollo de diferentes patologías durante su vida futura<sup>25</sup>.

Por otro lado, ha sido demostrada *in vitro* una asociación entre los niveles altos de glucosa e insulina, y la actividad de la maquinaria bioquímica de programación epigenética, que puede alterar el balance de metilación celular<sup>26</sup>. Se han identificado variaciones en los patrones de metilación en tejidos de hijos de madres con obesidad y/o DMG<sup>27</sup>. Dentro de estas regiones metiladas diferenciales (DMR), se ha establecido una asociación entre los patrones de metilación de las DMR en IGF2/H19 y la presencia de macrosomía en relación a los niveles de hiperglucemia intrauterina<sup>28</sup>. En relación a la exposición de DMG intrauterina, se han identificado variaciones en los patrones de metilación de diversos genes asociados a condiciones cardiometabólicas como enfermedad hipertensiva, niveles altos de insulina, hipercolesterolemia y aterosclerosis, también puntajes altos de score z del índice de masa corporal (IMC) y mayor circunferencia abdominal, así como niveles altos de leptina y VCAM-1 en los grupos expuestos. Niveles altos de VCAM-1 se han relacionado con la metilación diferencial de PYGO1 y CLN8<sup>29</sup>.

Evidencia adicional de que los factores epigenéticos pueden tener un papel en el desarrollo del ambiente nutricional del embarazo lo apoya un estudio en genes que codifican los transportadores de glucosa de alta afinidad (GLUT1 y GLUT3) en la placenta, mostrando una relación entre la metilación del ADN y la expresión de estos genes, lo cual pudiera tener un impacto en el flujo de glucosa en la circulación materno fetal<sup>30</sup>.

Esto propone una relación entre la exposición a un ambiente diabético intrauterino y la variación de los perfiles de metilación de ADN como factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiometabólicas en la vida infantil y/o adulta a través de una programación fetal del desarrollo y del metabolismo<sup>31</sup>.

Recientemente el consorcio de la Iniciativa Slim en Medicina Genómica para las Américas (SIGMA) para diabetes tipo 2, caracterizó las bases genéticas para la DT2 en la población mexicana y latina, Se analizaron 9.2 millones de polimorfismos de nucleótidos en 8214 mexicanos y latinos 3848 con DM2 y 4366 controles, reportando una nueva y muy fuerte asociación entre el cromosoma 17p13.1, el cual abarca los genes SLC16A11 y SLC16A13 (miembros de la familia de transportadores del ácido mono carboxílico), y un riesgo aumentado para el desarrollo de DT2. Se identificaron 4 polimorfismos de nucleótido simple (SNP) y una mutación silenciosa. Aquellos individuos que portan con este haplotipo fueron identificados por desarrollar DT2 mas tempranamente y con menor IMC en comparación con los no portadores, con una razón de momios (RM) de 1.20(1.0-1.31). También se encontró una relación entre SLC16A11 y diferencias en el metabolismo lipídico, sugiriendo una asociación entre este gen y el metabolismo hepático<sup>32</sup>. Con la finalidad de evaluar si otras variantes genéticas comunes asociadas a DT2 y obesidad (TCF7L2, KCNQ1, MTNR1B, CENTD2 incluyendo el gen SLC16A11) se asocian con el riesgo de presentar diabetes gestacional en nuestra población; encontrando diferencias genéticas en las variantes estudiadas, excepto en las del gen SLC16A11<sup>33</sup>, lo cual sugiere que los factores de riesgo ambiental tienen un rol importante en el desarrollo de diabetes gestacional.

Cada alelo de riesgo para DT2 incrementa el riesgo de enfermedad un 20-25% y el locus aparentemente podría explicar el 20% del incremento en la prevalencia de la DT2 en México (Williams 2014).

Los transportadores de monocarboxilato están definidos por dos grandes secuencias conservadas; pese a las similitudes estructurales, los miembros de la familia *SLC16* mediante el transporte de diferentes sustratos utilizando dos mecanismos diferentes: (Tabla 3)

- **Categoría I:** Los miembros *SLC16* de la primera clase, transporta ácidos monocarboxílicos simples como lactato, piruvato y cuerpos cetónicos mediante un mecanismo acoplado a protones. Todos ellos interactúan con la Basigina (BSG) y la EMBigina (EMB), dos proteínas chaperonas importantes para la localización a los receptores de membrana.
- **Categoría II:** Los miembros *SLC16* de la segunda clase, utilizan un mecanismo acoplado a proteínas que transportan monocarboxilatos largos e hidrofóbicos como la triyodotironina y tiroxina (T3 y T4 respectivamente), a través de difusión facilitada (Halestrap 2013)
- **No categorizadas:** Existe una subcategoría que incluye a todos aquellos *SLC* los cuales no se ha definido exactamente su mecanismo de acción, algunos presentan mecanismos más similares con alguna de las categorías antes mencionadas, como el *SLC16A9* que se ha visto que participa en el transporte de carnitina mediante un mecanismo independiente al transporte de protones, Dentro de esta familia se encuentra el *SLC16A11* que se expresa en algunos tejidos como tiroides, hígado y glándulas salivales, el rol en estos tejidos no ha sido determinado. La disrupción de *SLC16A11* en los hepatocitos humanos se han asociado con cambios en el metabolismo de ácidos grasos en pacientes con DT2.

<b>Categoría</b>	<b>Miembros de la familia</b>	<b>Sustratos primarios</b>	<b>Mecanismo</b>
I	SLC16A1 SLC16A3 SLC16A7	Piruvato, lactato, cuerpos cetónicos	Acoplado a H+ Chaperonas BSG EMB
	SLC16A8	Lactato	
II	SLC16A2	Hormonas T3 y T4	Difusión facilitada
	SLC16A10	Aminoácidos aromáticos	
No categorizadas	SLC6A6	B Hidroxibutirato	??
	SLC16A9	Carnitina	No acoplado a H+
	SLC16A4 SLC16A5 SLC16A11, SLC16A12, SLC16A13, SLC16A14	??	??

**Tabla 3.** Categorización de los miembros de la familia SLC16 de acuerdo a sustratos y mecanismo de acción (Adaptado de Halestrap 2013).

Por lo anterior, es de nuestro interés evaluar el estado de metilación del gen SLC16A11 desde las etapas tempranas del desarrollo humano, debido al estado de hiperglucemia materna, en células de sangre de cordón umbilical de recién nacido hijo de madre con y sin diabetes gestacional.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

---

Los hábitos de alimentación en nuestra población han cambiado. El sobrepeso y la obesidad condicionan a modificaciones en la estructura de genes, debido a la adición en el carbono 5' del anillo pirimidínico de la citosina, que participan en el metabolismo de los carbohidratos, alterando su expresión en el espacio y tiempo y favoreciendo el desarrollo de diabetes tipo 2. El aumento en la prevalencia de la obesidad y diabetes en niños y adultos en nuestro país nos obliga a identificar las alteraciones genéticas y no genéticas que ocurren en el genoma y aplicar estas técnicas en el desarrollo de estrategias de prevención y tratamiento farmacológico, para revertir las alteraciones.

El enfoque actual para la identificación de factores de riesgo genético de las poblaciones, en el desarrollo de las enfermedades complejas como la DT2, han sido los polimorfismos de un solo nucleótido, que han identificado variantes en algunos genes con riesgos en las diferentes poblaciones para el desarrollo de diabetes. Dentro de los factores de riesgo no genético, las modificaciones epigenéticas y particularmente la metilación en las regiones promotoras de los genes, puede ser la vía mediante la cual las células responden a los estímulos ambientales.

La comparación del estado de metilación del gen *SLC16A11* en células de sangre del cordón umbilical entre el hijo de madre con diabetes gestacional y el hijo de madre sin diabetes durante el embarazo, es un buen modelo de estudio que nos permitirá identificar las modificaciones epigenéticas, más tempranas, debidas al estado de hiperglucemia materna.

Derivado de lo anterior se plantea la siguiente **pregunta de investigación:**

¿Es diferente el estado de metilación del gen *SLC16A11* en células de sangre del cordón umbilical del recién nacido hijo de madre con diabetes gestacional comparado con el hijo de madre sin diabetes?

---

## JUSTIFICACIÓN

---

La prevalencia de diabetes registra un aumento en todo el mundo. El recién nacido hijo de madres con diabetes gestacional adquiere mayor riesgo a desarrollar enfermedades cardiometabólicas en la vida adulta. Se ha visto una fuerte relación entre la presencia de 4 SNP presentes en *SLC16A11* y un riesgo aumentado en el desarrollo de DT2 en la población mexicana, por lo que es importante identificar si existen modificaciones epigenéticas, desde las etapas tempranas del desarrollo humano, debido al estado de hiperglucemia materna.

El estudio de los perfiles de metilación en el genoma, se ha abordado poco en nuestro país. Es importante conocer cómo y en qué momento se da la regulación de la expresión génica, a través de mecanismos no genéticos, de las vías metabólicas, para entender la fisiopatología de dichas enfermedades

La trascendencia del presente estudio radica en que a la fecha no existen estudios que comparen el estado de metilación del gen *SLC16A11* en células de sangre del cordón umbilical entre el hijo de madre con diabetes gestacional y el hijo de madre sin diabetes durante el embarazo, siendo este un buen modelo de estudio que nos permitirá identificar las modificaciones epigenéticas, más tempranas, debidas al estado de hiperglucemia materna.

## HIPÓTESIS

---

1. El estado de metilación del gen *SLC16A11* en células de sangre del cordón umbilical es diferente en el recién nacido hijo de madre con diabetes gestacional comparado con el hijo de madre sin diabetes gestacional.
2. El recién nacido hijo de madre con diabetes gestacional presentará un mayor peso, talla y perímetro cefálico comparado con el recién nacido hijo de madre sin diabetes gestacional
3. Las madres con diabetes gestacional que no presenten metilación del gen *SLC16A11*, presentarán mayor incidencia de dislipidemias y alteraciones bioquímicas respecto a aquellas que no presenten metilación del gen.

## OBJETIVOS

---

**Objetivo general:** Determinar el estado de metilación del gen *SLC16A11*, en células de sangre de cordón umbilical de recién nacido hijo de madre con y sin diabetes gestacional.

### Objetivos específicos

1. Comparar el estado de metilación del gen *SLC16A11* en células de sangre del cordón umbilical de recién nacido hijo de madre con diabetes gestacional vs células de sangre del cordón umbilical de recién nacido hijo de madres sin diabetes.
2. Identificar el estado de metilación del gen *SLC16A11* en células del cordón umbilical del recién nacido y las medidas antropométricas al nacimiento (peso y longitud y perímetro cefálico) en células de sangre del cordón umbilical de recién nacido hijo de madre con diabetes gestacional vs células de sangre del cordón umbilical de recién nacido hijo de madres sin diabetes entre los grupos de estudio.
3. Identificar la diferencia entre el estado de metilación del gen *SLC16A11* en células del cordón umbilical del recién nacido y los parámetros bioquímicos metabólicos (glucosa, creatinina, ácido úrico, transaminasas, perfil de lípidos y hemoglobina glucosilada) entre los grupos de estudio.

## MATERIAL Y MÉTODOLÓGÍA

---

- **Diseño del estudio:**
  - o Transversal
  - o Analítico
  - o Prospectivo
  - o Observacional
- **Tipo de estudio:** Casos y controles
- Previa aceptación y firma del consentimiento informado, se incluyeron a recién nacidos hijos de madre con diabetes gestacional y recién nacidos de madres sin diabetes durante el embarazo, diagnosticada de acuerdo con los criterios de la Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés)<sup>9</sup>.
- **Universo de trabajo:** Las muestras de sangre del cordón umbilical de recién nacidos hijos de madre con diabetes gestacional y sin diabetes durante el embarazo, fueron obtenidas de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital de Gineco Obstetricia No. 4 del IMSS.

El proyecto se realizará en dos fases:

- **Estudio piloto:** En el cual se evaluarán 34 binomios del grupo con Diabetes gestacional y 34 binomios del grupo sin diabetes gestacional. En ellos se realizó tanto análisis de los parámetros bioquímicos maternos así como el análisis de DNA de sangre del cordón umbilical en el Laboratorio de Oncología Genómica, UIMEO de la UMAE Hospital de Oncología, CMN SXXI.
  - Posteriormente de acuerdo con los resultados se determinará factibilidad y cálculo del tamaño de muestra mediante fórmula Schlesselman para estudio de casos y controles.
- **Criterios de inclusión**
  - Recién nacidos hijos de madre con y sin diabetes gestacional que estén programadas para cesárea independientemente de la causa.
  - Madres con embarazos de término únicos o múltiples.
  - Madres mayores de 18 años de edad.

- **Criterios de Exclusión**

- Recién nacidos hijos de madres con diabetes tipo 1, tipo 2, Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) u otros tipos de diabetes.
- Recién nacido obtenido por parto vía vaginal.
- Recién nacido con Apgar menor de 6 al minuto.
- Recién nacidos con cordón umbilical corto, en quienes no sea posible obtener la muestra sanguínea.
- Recién nacidos con datos clínicos de sepsis.
- Líquido amniótico teñido de meconio.
- Cualquier otra condición que a juicio del médico se consideró como riesgo para el recién nacido.
- Embarazadas con historia de enfermedad hipertensiva del embarazo, así como enfermedad renal crónica o creatinina sérica mayor a 1.5 mg/dl.
- Embarazadas con enfermedad hepática, insuficiencia cardíaca, arritmia o cardiomiopatía.
- Tabaquismo en el embarazo.
- Embarazadas que cursaron con corioamnioitis al momento del nacimiento, o ruptura prematura de membranas.
- Embarazadas que recibieron esteroides 24 horas previas al nacimiento.
- Complicaciones graves durante la atención del trabajo de parto (cetoacidosis diabética, coma, choque hipovolémico que ameritara la administración de concentrado eritrocitario).

- **Criterios de eliminación**

- Muestras con material escaso o insuficiente para llevar a cabo el estudio de metilación.
- Errores en la recolección o procesamiento de la muestra.

## **Variables:**

### **Clasificación metodológica:**

1. **Variable independiente:** Hijo de madre con y sin diabetes gestacional
2. **Variable dependiente:** Estado de metilación del gen *SLC16A11* en células de sangre de cordón umbilical del recién nacido
3. **Variables de confusión:** Grado de control de la glucosa (evaluado por HbA1c) de la madre con diabetes gestacional

**Variables a medir en la madre:**

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Escala de medición</b>	<b>Unidad de medición</b>
<b>Edad</b>	Número de años, meses o días cumplidos al momento del estudio	Número de años cumplidos al momento del estudio	Cuantitativa	Discreta	Años
<b>Peso</b>	Masa por acción de la aceleración de la gravedad que experimenta un cuerpo	Kg de masa de la madre documentadas antes del embarazo y al momento de la cesárea	Cuantitativa	Continúa	Kg
<b>HbA1C</b>	La hemoglobina consiste de Hb A que constituye el 97%, Hb A2 el 2.5% y Hb F el 0.5%. La Hb A contiene un número menor de Hb (Hb1a, Hb1b y Hb1c) conocida como HbA1. La glucosilación o glucación no enzimática de la valina N-terminal de la cadena beta de	Grado de control metabólico del paciente diabético en los últimos 2 a 3 meses previos a la toma de la muestra. Valor normal: 4.1 a 5.7 %	Cuantitativa	Continua	%

	<p>HbA forma la HbA1c que ocurre en el eritrocito dependiendo de la concentración de glucosa durante los 120 días de vida media del eritrocito. La medición de HbA1c refleja el grado de control metabólico del paciente diabético en los últimos 2 a 3 meses previos a la toma de la muestra.</p> <p>Valor normal: 4.1 a 5.7 %</p>				
<b>Estado de metilación</b>	<p>La metilación del ADN en dinucleótidos es uno de los mecanismos epigenéticos implicados en la regulación de la expresión génica. Es de vital importancia para mantener el silenciamiento génico, alteraciones en ella están implicadas en algunas enfermedades humanas.</p> <p>Es de nuestro interés determinar el estado de metilación del gen <i>SLC16A11</i></p>	<p>Metilación de citocinas en DNA del gen <i>SLC16A11</i></p>	<p>Cualitativa</p>	<p>Nominal</p>	<p>Dicotómica: Presente / Ausente</p>

	- <b>Método de medición:</b> Técnica de bisulfito de Na				
<b>Glucosa en suero</b>	<p>La prueba de glucosa sérica en ayuno evalúa de modo aproximado la capacidad del cuerpo para regular el metabolismo de la misma y proporciona información respecto a la existencia de anormalidades a este nivel.</p> <p><b>Método de medición:</b> La enzima glucooxidasa cataliza la oxidación de glucosa a gluconato y peróxido de hidrógeno. La determinación de glucosa se efectúa mediante el método de Trinder.</p> <p><b>Valores normales:</b> 60-99mg/dl</p>	Concentración de glucosa sérica en ayuno medida por método de glucosa oxidasa	Cuantitativa	Continua	Mg/dl
<b>Urea en suero</b>	<p>La concentración sanguínea de amoniaco es producto final del ciclo de la urea y depende de la circulación hepática. En pacientes sin patología a este nivel puede elevarse la urea en el contexto de</p>	Concentración de urea en suero	Cuantitativa	Continua	Mg/dl

	<p>una dieta elevada en proteínas. La elevación en el nitrógeno ureico sérico no implica necesariamente daño renal, puesto que la deshidratación puede llevar a concentraciones de nitrógeno ureico tan altas como 600 mg/L.</p> <p><b>Método de medición:</b> La ureasa cataliza la hidrólisis de la urea dando amonio y CO<sub>2</sub>. El amonio formado se valora mediante una reacción enzimática (glutamato deshidrogenasa), la disminución de la absorbancia frente al tiempo es proporcional a la concentración de urea.</p> <p><b>Valores normales:</b> 15-45mg/dl</p>				
<p><b>Creatinina en suero</b></p>	<p>La creatinina es un producto final del metabolismo muscular. Se origina a partir de la creatina por pérdida de una molécula de agua. A su vez, la creatina se produce</p>	<p>Concentración de creatinina en suero</p>	<p>Cuantitativa</p>	<p>Continua</p>	<p>Mg/dl</p>

	<p>por hidrólisis del fosfato de creatina, por acción de la creatinfosfokinasa (CPK).</p> <p><b>Método de medición:</b> fotometría es la descrita por Jaffe, basada en el color anaranjado que se produce al reaccionar la creatinina con el picrato alcalino</p> <p><b>Valores normales:</b> 0.7-1.4mg/dl</p>				
<b>Colesterol total</b>	<p>El colesterol es una sustancia hidrófoba que se sintetiza en el hígado, suprarrenales, testículo, riñón y pulmón. El exceso de carbohidratos y proteínas de la dieta se utiliza para producir moléculas de acetato, que posteriormente sirven para producir colesterol y ácidos grasos. Los lípidos endógenos que genera el hígado son transportados posteriormente en forma de lipoproteínas. El colesterol es un constituyente primario de las</p>	<p>Medición de colesterol total en suero y lipoproteínas de alta y baja densidad: HDL y LDL</p>	Cuantitativa	Continua	Mg/dl

	<p>lipoproteínas de baja densidad (LDL), y se encuentra en lipoproteínas de alta densidad (HDL) y en las de muy baja densidad (VLDL).</p> <p><b>Método de medición:</b> La colesterol esterasa hidroliza los ésteres de colesterol presentes en la muestra y en una posterior oxidación enzimática mediante la colesterol oxidasa se forma H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y colestero. El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se valora por la reacción Trinder, formando una quinonimina cuya coloración, es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra.</p> <p><b>Valores normales:</b> Menores a 200mg/dl</p>				
<b>Triglicéridos</b>	<p>Los triglicéridos están constituidos por glicerol y ácidos grasos. Estos forman parte de las 5 clases de</p>	<p>Medición de concentración de triglicéridos en</p>	<p>Cuantitativa</p>	<p>Continua</p>	<p>Mg/dl</p>

	<p>lipoproteínas que transportan a los lípidos en el plasma:                      Quilomicrones (constituidos casi totalmente por triglicéridos dietéticos); lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL); lipoproteínas de densidad intermedia (IDL); lipoproteínas de baja densidad (LDL), y lipoproteínas de alta densidad (HDL)</p> <p><b>Método de medición:</b> Los triglicéridos son hidrolizados enzimáticamente a glicerol, el cual, mediante Glicerol cinasa y Glicerol-P-oxidasa, libera el peróxido de hidrógeno que se valora mediante la reacción de Trinder</p> <p><b>Valores normales:</b> Menores a 150mg/dl</p>	suero			
<b>Ácido úrico en suero</b>	<p>El ácido úrico es el metabolito final del catabolismo de las bases púricas y su elevación está asociada</p>	<p>Medición de concentración de ácido úrico en</p>	Cuantitativa	Continua	Mg/dl

	<p>a padecimientos como gota o alteraciones en la excreción renal.</p> <p><b>Método de medición:</b> El ácido úrico es oxidado por la uricasa a alantoína y peróxido de hidrógeno</p> <p><b>Valores normales:</b> 2.5-6.0mg/dl</p>	suero			
<p><b>Transaminasa glutámico oxalacética y glutámico pirúvica</b></p> <p><b>TGO (AST)</b></p> <p><b>TGP (ALT)</b></p>	<p>Las transaminasas AST y ALT catalizan la conversión de aspartato y alanina a oxaloacetato y piruvato respectivamente. En el hígado se encuentran los niveles más altos de ALT, mientras que la AST se encuentra presente en el corazón, músculo esquelético e hígado en cantidades similares. Son marcadores de daño hepatocelular, necrosis hepática aguda pero también se elevan en el infarto del miocardio, infarto renal, distrofia muscular progresiva, etc.</p> <p><b>Método de medición:</b> Se mide la actividad de la aspartato</p>	Medición de concentración de transaminasas en suero AST y ALT	Cuantitativa	Continua	Ui/l

	aminotransferasa y alanino aminotransferasa mediante un método cinético enzimático. <b>Valores normales:</b> TGO 16-31U/L y TGP 18-32U/L				
--	--	--	--	--	--

**Tabla 4.** Definición y clasificación de las variables a medir en las madres de ambos grupos

**Variables a medir en el recién nacido.**

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Tipo de variable</b>	<b>Escala de medición</b>	<b>Unidad de medición</b>
<b>Peso</b>	<p>Valoración en gramos de la masa corporal del neonato, considerada dentro de la primera hora de vida.</p> <p>Clasificable como peso bajo, peso adecuado o peso alto para edad gestacional, según tablas de Battaglia y Lubchenco</p>	<p>Valoración en gramos de la masa corporal del neonato, considerada dentro de la primera hora de vida</p>	Cualitativa	Ordinal	<p>Peso bajo, peso adecuado o peso alto para edad gestacional,</p>
<b>Longitud</b>	<p>Esta medición es equivalente a la estatura en niños más grandes. Es la distancia tomada en posición decúbito dorsal, en el plano horizontal, desde el vertex o punto más alto del cráneo hasta los pies del neonato en ángulo de 90°, con extensión máxima.</p> <p>Valor normal: De acuerdo a edad gestacional y peso al nacer</p>	<p>Es la distancia tomada en posición decúbito dorsal, en el plano horizontal, desde el vertex o punto más alto del cráneo hasta los pies del neonato en ángulo de</p>	Cuantitativa	Discreta	Centímetros

		90°, con extensión máxima.			
<b>Perímetro cefálico</b>	Medición de la circunferencia de la cabeza desde pasando por la glabella hasta el occipucio.	Medición de la circunferencia de la cabeza desde pasando por la glabella hasta el occipucio.	Cuantitativa	Continúa	Centímetros
<b>Edad gestacional</b>	Edad determinada mediante la escala Capurro: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pretérmino: Todo recién nacido antes de la semana 37 de gestación.</li> <li>- De término: El recién nacido entre las semanas 37 y 42 de gestación.</li> <li>- Postérmino: Recién nacido después de 42 semanas de gestación.</li> </ul>	Edad determinada mediante la escala Capurro: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pretérmino</li> <li>- De término</li> <li>- Postérmino</li> </ul>	Cualitativa	Ordinal	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pretérmino</li> <li>- De término</li> <li>- Postérmino</li> </ul>

**Tabla 5.** Definición y clasificación de las variables a medir en los recién nacidos de ambos grupos

## Metodología:

### I. Toma de las muestras:

1. A las aceptantes, se les otorgó una cita para evaluar cada caso, así como un número de identificación para seguimiento hasta el final de su embarazo.
2. El tesista procedió a solicitar firma de consentimiento bajo información y llenado de hoja de recolección de datos sobre antecedentes heredofamiliares y maternos.
3. Se identificaron dos grupos: Embarazadas con diabetes gestacional y embarazadas sin diabetes, diagnosticadas de acuerdo con los criterios de la Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés)<sup>9</sup> en el periodo comprendido del 1 de marzo de 2018 al 31 de julio del 2019.
4. **Extracción de muestra sanguínea previo a la cesárea:** Las pacientes que fueron programadas para obtención del producto vía cesárea, al momento de canalizar la vena antecubital para la aplicación de venoclisis se tomó una muestra de 3 mL de sangre periférica con EDTA y 4 mL de sangre sin anticoagulante con una jeringa estéril desechable para la determinación de parámetros bioquímicos.
5. Inmediatamente después del nacimiento, una vez que se entregó el recién nacido al médico pediatra, el tesista identificó la vena umbilical del cordón y se tomó una muestra de sangre del cordón de 10 mL en 2 tubos con EDTA, bajo técnica estéril. Previa realización de maniobras habituales de reanimación neonatal y estabilización del recién nacido, se procedió a tomar la somatometría corporal del recién nacido que incluyó la medición de la longitud corporal (realizada sobre una superficie horizontal plana, con cinta métrica milimétrica de fibra de vidrio no expandible desde la corona hasta el talón), peso sin ropa (expresado en gramos en báscula electrónica), y perímetro cefálico. A continuación, se determinó la edad gestacional según sistema de valoración de Capurro y finalmente se clasificó como recién nacido con peso adecuado, peso bajo o peso alto para edad gestacional según tablas de Battaglia y Lubchenco<sup>36</sup>.
6. Se procedió a concentrar los datos en la hoja de recolección de datos (Anexo 2).

- II. **Extracción DNA:** El aislamiento del DNA, se realizó por el método basado en la separación en columnas de sílica (Qiagen, Chatsworth, CA, USA). La pureza y concentración se determinó en el nanoespectrofotómetro a 260/280 nm, y la integridad mediante electroforesis en geles de agarosa al 0.9%. Posteriormente, se hicieron alícuotas del DNA y se congelaron a  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su uso.
  
- III. **Determinación del estado de metilación del gen *SLC16A11*:** La determinación de la metilación, se realizó por medio de la técnica de bisulfito de sodio, en la cual brevemente, el DNA purificado fue tratado con el kit de metilación Zymo EZ DNA Methylation-Gold™ Kit (Bio-Rad Co.), siguiendo las indicaciones del proveedor. Los reactivos de este kit permiten convertir las citosinas no metiladas en uracilo más rápido que los kits y reactivos de bisulfito utilizados habitualmente permitiendo el estudio en un mayor número de muestras en menos tiempo. Una vez tratadas, las muestras fueron sometidas a secuenciación automatizada de ácidos nucleicos y así determinar los sitios metilables.
  
- IV. **Cuantificación de los parámetros bioquímicos:** La glucosa se cuantificó por el método de la glucosa oxidasa con el equipo ILab 650 (IL-Werfen México) y la HbA1c por medio de HPLC (Bio-Rad México), se realizarán en la UIM bioquímica
  
- V. **Análisis estadístico:** Los datos antropométricos y bioquímicos se expresaron en media y DE. La diferencia entre los variables del estudio, entre los recién nacidos con y sin antecedentes de diabetes, fueron analizados con la prueba “t” de Student, con el programa SPSS. Se realizó una correlación de Pearson pareada para el estado de metilación, entre los grupos. Para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos del estado de metilación del gen *SLC16A11* se  $\chi^2$ . Para evaluar la asociación entre el estado de metilación del gen *SLC16A11* en células del cordón umbilical del recién nacido y las variables (medidas antropométricas como peso y longitud) entre los

grupos de estudio se obtuvo la razón de momios con un intervalo de confianza de 95%. Se considerarán estadísticamente significativos los valores de  $p < 0.05$

## **ASPECTOS ÉTICOS**

---

Las embarazadas que acudieron por primera vez a la UMAE Hospital de Gineco Obstetricia #4 “Luis Castelazo Ayala”, del IMSS que por sus criterios de inclusión se consideradas candidatas a participar en el estudio fueron invitadas a una plática para explicarles el estudio. Esta actividad fue realizada por el tesista.

Las madres que aceptaron participar, se les invitó a firmar la carta de consentimiento informado y se les otorgó seguimiento hasta el final de su embarazo.

Se le explicó el riesgo y las molestias que ocasionó la punción en la toma de muestra de sangre periférica a la madre. El recién nacido fue sometido a ningún riesgo ya que la muestra se tomó del cordón umbilical. En el alumbramiento del recién nacido, se realizó pinzamiento del cordón umbilical (se colocan pinzas entre el ombligo del recién nacido y la placenta), y es de donde se toma la muestra de sangre venosa con una jeringa de 10ml dependiendo que tan corto o largo sea el cordón del recién nacido es la cantidad de sangre que se obtuvo. De manera que no existe ningún riesgo, en relación a la extracción de la sangre del cordón.

Los padres como tutores legales del recién nacido fueron los encargados de definir lo que representa mayor beneficio para el recién nacido, por ello fueron informados del objetivo del proyecto, de su trascendencia y de sus beneficios. Se les solicitó el consentimiento informado de participación en el proyecto, el cual es de aplicación hoy en día en pediatría, y tuvo su expresión legal en la Ley 41/2002, básica reguladora de la autonomía del paciente. Se mantendrá una actitud basada en el cuidado integral del recién nacido y su familia, desde el respeto de la intimidad de los padres y a sus preferencias. No podemos olvidar que en el caso del recién nacido los padres deciden sobre un ser vinculado a ellos y dependiente, pero con derechos propios, uno de ellos es el de recibir atención adecuada, que garantice su salud en la medida de lo posible, siendo obligación de los profesionales el garantizar que se tomaran todas las medidas oportunas para el bienestar del recién nacido. El mejor procedimiento para evitar conflictos se logrará estableciendo una relación adecuada con los padres. Una relación de confianza desde el respeto y la escucha hacia ellos, en la que el profesional solicitó

a los padres el consentimiento para las actuaciones relacionadas con el recién nacido y entrega de resultados. Previamente recibieron información adecuada (suficiente y en términos accesibles), siendo responsable el médico que tomará las muestras de la información que se recolectará. La información contenida en los cuestionarios y la derivada de los estudios de laboratorio y genéticos, fue protegida mediante claves que sólo el investigador principal conocerá.

Esta tesis se apega al reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación, cumple con la declaración de Helsinki de 2013, sus enmiendas y con las normas internacionales para las buenas prácticas en la investigación clínica. Para la realización del mismo, se sometió para su aprobación a la Comisión Nacional de Investigación Científica.

Esta tesis, no brindó ningún beneficio directo e inmediato a los participantes pero contribuirá en el estudio de la fisiopatología enfermedad.

Como el consentimiento informado lo obtuvo el tesista, se estimó que no había influencia indebida para obtener su aprobación.

Resguardo de las muestras: Al aceptar participar en el estudio las madres autorizaron que las muestras sean guardadas a  $-80^{\circ}\text{C}$ , por un tiempo no mayor de 10 años, el responsable del proyecto, se compromete a que las muestras sean utilizadas sólo con fines de investigación.

Se aprobó por comité de Ética con folio de aprobación: **2017-785-067** y aprobación por COFEPRIS **17 C1 09015006**

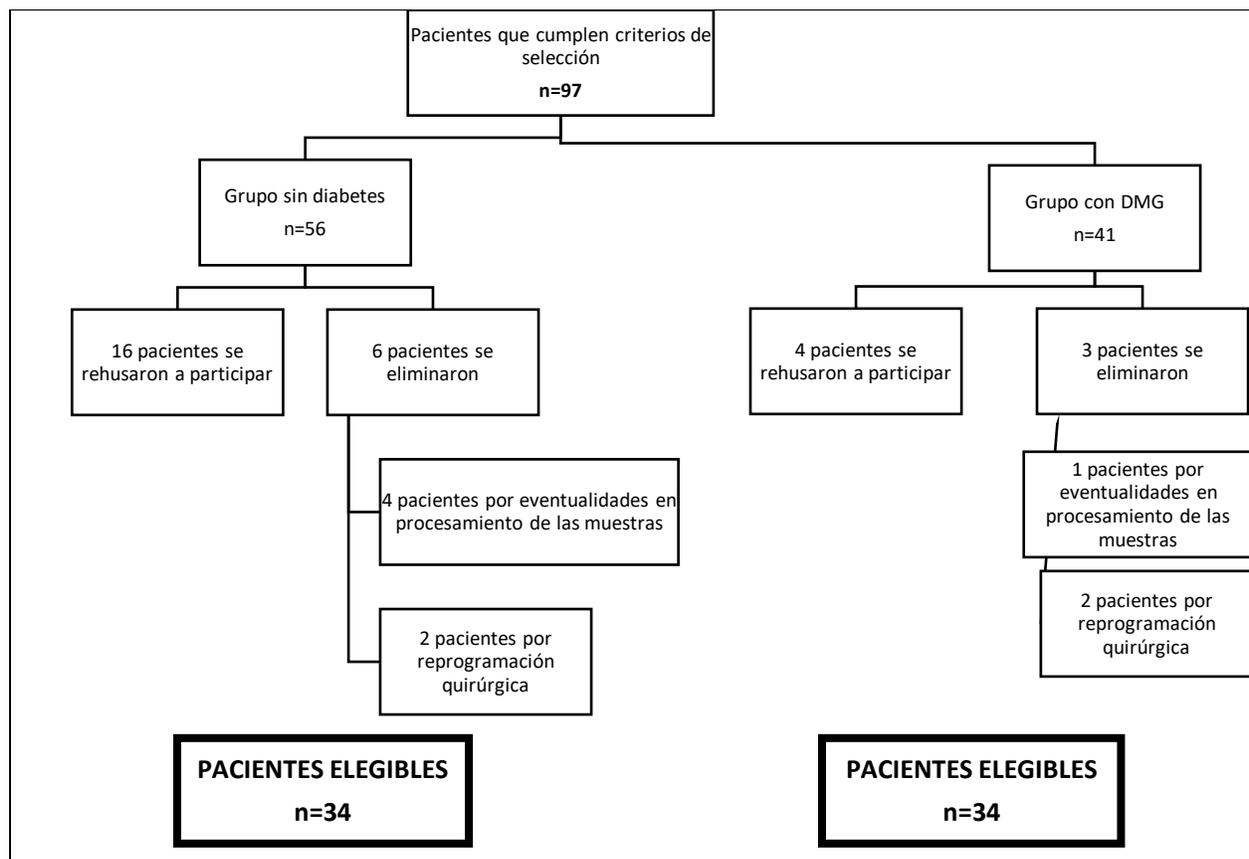
## **FACTIBILIDAD Y RECURSOS**

---

Se contó con la infraestructura y el servicio de tococirugía de la UMAE Hospital de Gineco-Obstetricia "Luis Castelazo Ayala" por semana atienden por lo menos 8 partos de madres con diabetes gestacional y aproximadamente 70 partos de madres sin diabetes. Para el material del estudio se obtuvo apoyo financiero del Fondo de Investigación en Salud del IMSS con número: FIS/IMSS/PROT/G 17-211756

## RESULTADOS

Para el estudio piloto se realizó selección de pacientes en un periodo de quince meses, en total se seleccionaron 97 pacientes que cumplían criterios de inclusión de las cuales se dividieron 56 pacientes al grupo sin diabetes y 41 pacientes con diabetes gestacional. 16 pacientes del grupo control y 4 del grupo con DMG se rehusaron a participar. Se eliminaron 6 pacientes del grupo control, 4 de ellos por eventualidades en el procesamiento de las muestras y 3 por reprogramación quirúrgica. Del grupo DMG se eliminaron 3 pacientes, uno por eventualidades en el procesamiento de las muestras y 2 por reprogramación quirúrgica. Finalmente se integraron ambos grupos con 34 pacientes cada uno. Lo anterior se detalla en la figura siguiente.



**Figura 1.** Formación y selección de las pacientes candidatas en ambos grupos de estudio.

En cuanto a las características demográficas de las madres participantes ambas cuentan con una mediana de 30 años en el grupo sin diabetes gestacional vs 31 años

en el grupo con diabetes gestacional. Asimismo la mediana de las gestas fue similar con 2 gestas.

Respecto al estado nutricional de las madres, se evaluó mediante IMC al inicio del embarazo vs IMC al momento del desenlace obstétrico. Al inicio del embarazo la media del IMC fue de  $26.35 \pm 3.39$  vs  $29.736 \pm 4.65$ , siendo mayor desde el inicio en el grupo con diabetes gestacional pero sin significancia ( $p=0.209$ ), asimismo se observó el mismo comportamiento en cuanto al IMC al momento del parto con medias  $30.69 \pm 3.21$  vs  $33.01 \pm 4.48$  ( $p=0.141$ ). El resto de los datos puede observarse en la Tabla 6.

Población (n=68)	Sin DMG (n=34) Media±DE	Con DMG (n=34) Media±DE	Valor de p
*Edad (años)	30 (18-46)	31 (22-43)	0.210
**Número de gestas	2 (1-6)	2 (1-5)	0.95
Peso materno pregestacional (kg)	64.8±10.07	73.78±14.55	0.363
Peso materno al momento del parto (kg)	74.6±9.26	81.93±13.73	0.071
Talla materna (cm)	1.55±0.57	1.57±0.69	0.357
IMC materno pregestacional (kg/m <sup>2</sup> )	26.35±3.39	29.736±4.65	0.209
IMC materno al momento del parto (kg/m <sup>2</sup> )	30.69±3.21	33.01±4.48	0.141

\*U de Mannwithney se expresan en mediana (min y max) \*\* Chi cuadrada se expresan frecuencias simples y porcentaje

**Tabla 6.** Características de las madres de los grupos sin y con DMG

Población (n=68)	Sin DMG (n=34)	Con DMG (n=34)	Valor de p
AHF Diabetes mellitus	18 (52.9%)	28 (82.4%)	0.022
AHF Hipertensión arterial	18 (52.9%)	18 (52.9%)	0.789
AHF Dislipidemias	6 (17.6%)	9 (26.5%)	0.458
AHF Síndrome metabólico	2 (5.9%)	8 (23.5%)	0.052
AHF Infarto agudo al miocardio	3 (8.8%)	7 (20.6%)	0.268

Chi cuadrada se expresan frecuencias simples y porcentaje

**Tabla 7.** Definición y clasificación de las variables a medir en las madres de ambos grupos

Como parte de la historia clínica se interrogó a las madres respecto a la presencia de antecedentes hereditarios y familiares en familiares de primer y segundo grado de enfermedades como Diabetes mellitus, hipertensión arterial, dislipidemia, síndrome

metabólico e infarto agudo al miocardio. En cuanto a los antecedentes de diabetes mellitus se encontró una frecuencia de 52.9% vs 82.4% observándose diferencia en ambos grupos ( $p=0.22$ ); no así en el resto de los antecedentes comentados como se puede observar en la Tabla 7.

En los recién nacidos la edad gestacional calculada por Capurro con mediana de 38.5 (32-40) vs.38 (37-41) ( $p=0.834$ ). Respecto a la distribución por sexo, en el grupo de pacientes sin diabetes se encontró una mayor proporción de recién nacidos el sexo femenino 59% vs. 50%. Posterior a la reanimación habitual de los recién nacidos se obtuvo una mediana de Apgar al minuto de 8 y a los 5 minutos de 9 en ambos grupos.

Población (n=68)	Sin DMG (n=34)	Con DMG (n=34)	Valor de p
*Edad gestacional por Capurro (SDG)	38.5 (32-40)	38 (37-41)	0.834
Sexo del RN	Masculino (14) 41% Femenino (20) 59%	Masculino (17) 50% Femenino (17) 50%	N/A
Peso al nacer (g)	2960±535	3099±399	0.163
Longitud al nacer (cm)	48.6±2.6	48.75±1.41	0.77
Perímetro cefálico (cm)	34.38±1.58	34.68±1.15	0.146
Peso para la edad gestacional	PEG (1) 2.9% AEG (28) 82.4% GEG (5) 14.7%	AEG (26) 76.5% GEG (8) 23.5%	N/A
*Apgar al minuto	8 (7-9)	8.5 (7-9)	0.133
*Apgar a los 5 minutos	9 (8-9)	9 (8-9)	0.145

\*U de Mannwithney se expresan en mediana (min y max)

**Tabla 7.** Características somatométricas de los recién nacidos de los grupos sin y con DMG para valoración de la metilación del gen SLC16A11.

En la somatometría corporal del recién nacido no se observaron diferencias entre ambos grupos en el peso al nacer Grupo sin DMG: 2960±535g vs. Grupo DMG: 3099±399g ( $p=0.163$ ), longitud 48.6±2.6cm vs. 48.75±1.41cm  $p=0.77$  y el perímetro cefálico 34.38±1.58cm vs. 34.68±1.15cm  $p=0.146$ . Respecto al diagnóstico de acuerdo al peso para la edad gestacional de acuerdo con tablas de Battaglia y Lubchenco se encontró una mayor proporción de pacientes con peso adecuado para la edad gestacional 82.4% vs 76.5% y en el grupo de pacientes con diabetes gestacional se

encontró una mayor proporción de recién nacidos grandes para la edad gestacional (23.5%).

En la cuantificación de los parámetros bioquímicos maternos se observó que las pacientes con diabetes gestacional presentaron cifras mayores de colesterol total Grupo sin DG: 171.38±76.58mg/dl vs. Grupo DMG: 217.3±47.71mg/dl (p=0.022) observando diferencia entre ambos grupos, en la cuantificación de lipoproteínas HDL 47.23±18.30mg/dl vs. 56.98±12.85mg/dl (p=0.525) y LDL 88.13±47.02mg/dl vs. 106.7±35.76mg/dl (p=0.105) no se observó el mismo patrón. No se observó diferencia en la concentración de triglicéridos, creatinina y ácido úrico.

Población (n=68)	Sin DMG (n=34)	Con DMG (n=34)	Valor de p
Colesterol HDL	47.23±18.30	56.98±12.85	0.525
Colesterol LDL	88.13±47.02	106.7±35.76	0.105
Colesterol Total	171.38±76.58	217.3±47.71	0.022
Triglicéridos	218.48±137.10	309.24±176.0	0.500
Glucosa	78.75±28.53	71.45±32.51	0.510
Creatinina	0.56±0.15	0.62±0.15	0.428
Ácido úrico	4.77±1.30	5.03±1.18	0.834
ALT	10.68±6.55	17.58±12.96	0.037
AST	27.55±16.18	29.27±54.99	0.347
HbA1c (%)	4.94±0.83	5.44±0.56	0.027

**Tabla 8.** Características bioquímicas de los grupos sin y con DMG para valoración de la expresión del gen SLC16A11

En las pruebas de funcionamiento hepático destaca que las concentraciones de ALT y AST fueron mayores en el grupo de pacientes con DMG. Se observó diferencia en las concentraciones de ALT Grupo sin DMG: 10.68±6.55UI/l vs. 17.58±12.96UI/l (p=0.037) no siendo así para la AST 27.55±16.18UI/l vs. 29.27±54.99UI/l (p=0.347)

El control glucémico durante el embarazo se estimó mediante la determinación de hemoglobina glucosilada, observándose diferencia entre ambos grupos (4.94±0.83% vs. 5.44±0.56% p=0.027). Por otra parte, los niveles de glucosa en ayuno al momento del desenlace obstétrico fueron mayores en el grupo sin diabetes gestacional

( $78.75 \pm 28.53 \text{ mg/dl}$  vs.  $71.45 \pm 32.51 \text{ mg/dl}$   $p=0.510$ ) pero sin alcanzar diferencia estadística.

**Estado de metilación:** Se analizaron 136 muestras de DNA provenientes de 68 binomios. Al procesar la muestra con el kit de metilación se realiza PCR con primers para *SLC16A11* mediante dos procesos: uno con bisulfito de sodio y uno sin él. Se encontrará metilación si se observa patrón de bandeo a nivel de 400pb (+) en la reacción con bisulfito y negativo en la reacción sin bisulfito como se detalla en las figuras 2 y 3.

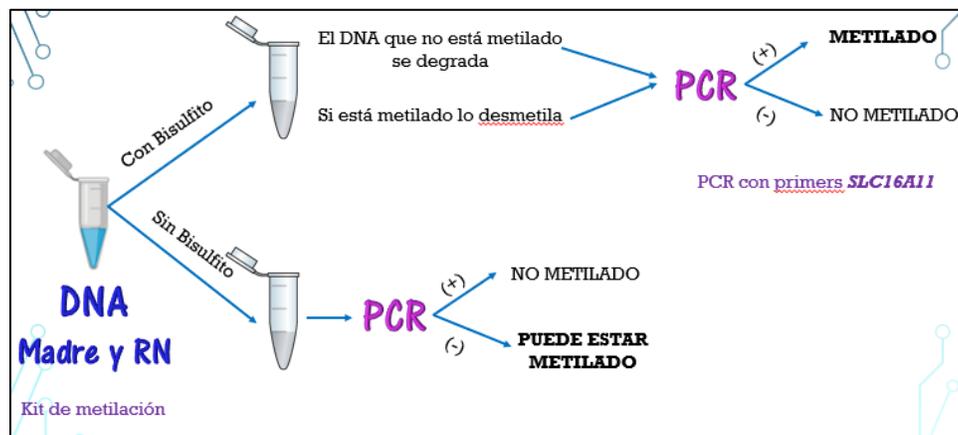


Figura 2. Análisis de metilación con muestras de DNA de cada binomio.

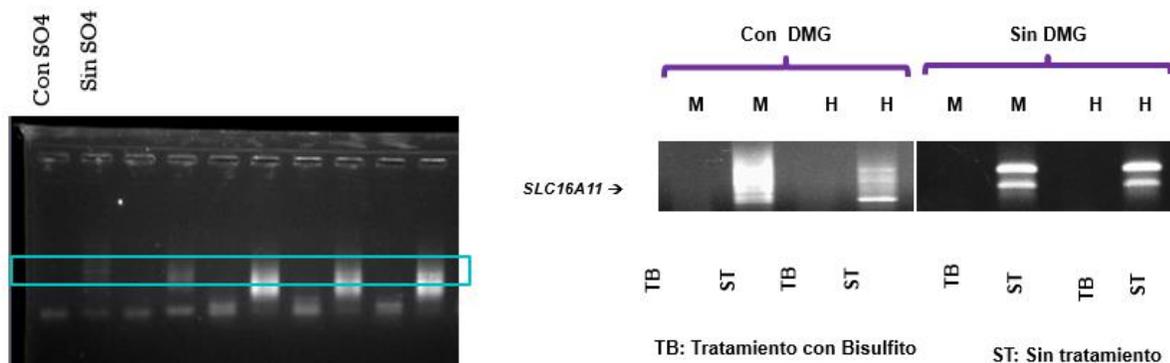


Figura 3. Gel con diversos patrones de bandeo. Cada dos columnas equivalen a un binomio. La primera con bisulfito de sodio y la segunda sin bisulfito de sodio.

Figura 4. Gel del binomio del grupo sin diabetes con metilación, observe el bandeo en la columna correspondiente a la reacción con bisulfito de sodio (TB) y la ausencia del mismo en la reacción sin este compuesto (ST).

El análisis molecular, mostró la desmetilación del promotor del gen SLC16A11 en el 99% de las muestras. Sólo se encontró metilación por el método mostrado en un binomio del grupo control, el cual se detalla en la tabla 9.

Variables maternas		Variables bioquímicas		Variables recién nacido	
<b>Edad</b>	33 años	<b>HbA1c</b>	5.68%	<b>Peso</b>	3930g
<b>Antecedentes heredofamiliares</b>	Ninguno	<b>Glucosa</b>	62.80mg/dl	<b>Talla</b>	50cm
<b>Escolaridad</b>	Bachillerato	<b>Creatinina</b>	0.42mg/dl	<b>Perímetro cefálico</b>	36cm
<b>Ocupación</b>	Empleada	<b>Colesterol</b>	156.3mg/dl	<b>Sexo</b>	Femenino
<b>Gestas</b>	2 (Aborto1)	<b>C. HDL</b>	57.12mg/dl	<b>Semanas gestación (Capurro)</b>	40 SDG
<b>IMC pregestacional</b>	30.0 kg/m2	<b>C. LDL</b>	83.40mg/dl	<b>Apgar</b>	9/9
<b>IMC anteparto</b>	36.8kg/m2	<b>Triglicéridos</b>	155.1mg/dl		
<b>Incremento ponderal</b>	16.500kg	<b>Ácido úrico</b>	2.30mg/dl		
		<b>TGO</b>	11.8UI/l		
		<b>TGP</b>	28.2UI/l		

**Tabla 9.** Características clínicas y bioquímicas del único binomio en el que se encontró metilación del gen SLC16A11

## DISCUSIÓN

---

De acuerdo con los resultados de este estudio, se encontró metilación del gen *SLC16A11* en un binomio perteneciente al grupo sin diabetes gestacional, es decir, si se expresa como frecuencia relativa representa 1/68 binomios analizados (1.47%). No se cuentan con estudios previos que describan el estado de metilación del gen en pacientes con diabetes gestacional, no obstante, si se compara con los estudios realizados previamente en donde se investigaron influencias genéticas de la diabetes en México y Asia oriental se identificó en el 30% de los individuos un haplotipo de riesgo que es común en México y Latinoamérica. La presencia de cada alelo del haplotipo de riesgo incrementa el riesgo de presentar la enfermedad aproximadamente en un 25% y el locus parece explicar aproximadamente un 20% la alta incidencia de DT2 en México<sup>32</sup>.

Este gen localizado en el cromosoma 17 no es el único que se ha descrito, se han descrito variantes en la secuencia de dos genes para desarrollar tanto DT2 y DMG en población mexicana: *TCF7L2* y *KCNQ1* siendo del tipo SNP (Single nucleotide polymorphisms), estas variantes no se ubican en exones, por lo que no interfieren en la funcionalidad de la proteína, sino que se ubican en regiones intrónicas reguladoras, que influyen en la cantidad de proteína que se expresa en el organismo. Por tanto ambas patologías (DT2 y DMG) comparten determinantes genéticos<sup>39</sup>.

Dentro de las modificaciones epigenéticas posibles, en particular la **metilación** permite el silenciamiento de genes específicos, por lo que se consideró que el estado de metilación del gen objeto de nuestro estudio pudiera ser diferente entre las pacientes que presentan diagnóstico de DMG respecto a las sanas<sup>31</sup>, no observándose en este estudio.

En el único binomio en el que se presentó metilación del gen objeto de nuestro estudio se pueden observar algunas características clínicas que pueden ser tomadas en cuenta como la presencia de obesidad previa al embarazo e incremento ponderal de 16kg durante la gestación. En las variables bioquímicas destaca una hemoglobina

glucosilada en límite superior (5.6%), que no corresponde con el valor de glucosa en ayuno, por lo que pudiera estar cursando con hiperglucemias postprandiales en el marco de una paciente con obesidad y resistencia a la insulina. Sería adecuado el seguimiento de esta paciente para determinar si existe progresión a DT2 en los próximos años y si el recién nacido presenta alteraciones bioquímico-metabólicas en los primeros años de vida.

En los resultados de este estudio en la somatometría del recién nacido la incidencia de productos grandes para la edad gestacional no fue distinta en ambos grupos (14% vs 23%). Al tomar el peso y la talla como variables aisladas tampoco se observaron diferencias. Esto difiere en lo reportado en la literatura en cuanto a la somatometría de los recién nacidos hijos de madre con diabetes gestacional ya que se encuentran en un ambiente de hiperglucemia materna sostenida, además de que puede asociarse a otros factores de riesgo maternos independientes como la edad, la paridad, la obesidad<sup>41</sup>. Esta diferencia comentada puede deberse a que las embarazadas con diagnóstico de diabetes gestacional recibieron tratamiento oportuno de la semana 20 a la 24 de gestación, por lo que el ambiente intrauterino probablemente no sufrió grandes modificaciones<sup>14</sup>.

Para las variables bioquímicas se realizó un análisis de la información recabada primeramente separando a las pacientes participantes en dos grupos: con y sin DMG, encontrando diferencias en el nivel de colesterol total materno ( $p=0.022$ ), el cual es mayor en las pacientes con diagnóstico de DMG. El embarazo por sí mismo es un estado proinflamatorio que favorece la insulinoresistencia, incrementando de manera secundaria la concentración de lípidos circulantes, con ello aportan a la madre una fuente energética para el mantenimiento del metabolismo basal. Incluso se ha reportado que los niveles de triglicéridos elevados y partículas ricas en triglicéridos como VLDL se han asociado a otras patologías como pancreatitis, preeclampsia y diabetes<sup>42</sup>. Pese a que se reporta también un aumento de la concentración de triglicéridos circulantes y se observa este comportamiento en ambos grupos no fue posible determinar diferencia estadística.

Dentro de las modificaciones en las pruebas de funcionamiento hepático descritas durante la gestación, se describe aumento de la fosfatasa alcalina, y disminución de los niveles de proteínas pero no se han descrito modificaciones en los niveles de bilirrubina ni en los niveles de transaminasas, si bien en los resultados mostraron diferencias en la ALT en el grupo con diabetes gestacional; ambas medias se encuentran dentro de los valores de referencia descritos para la población general, por lo que podemos inferir que en este caso se trata de un hallazgo incidental sin traducción clínica<sup>43</sup>.

Se encontró diferencia entre ambos grupos en las cifras de hemoglobina glucosilada ( $p= 0.027$ ), no obstante esto debe ser tomado con reserva ya que dentro de las limitaciones del estudio destaca que este método no es el ideal para la evaluación del control glucémico puesto que por fisiología del embarazo normal existe un estado de dilución que disminuye per sé los niveles de hemoglobina (misma que no se determinó en las pacientes mediante una citometría hemática), por lo que pudiera tratarse de un sesgo para la interpretación de esta. El control glucémico debió evaluarse mediante curvas de tolerancia oral a la glucosa para lo cual existen valores de corte establecidos en esta población en específico<sup>37</sup>.

#### **Limitaciones:**

- Solamente se encontró en el 1% de la metilación, por lo que se debe plantear incremento del tamaño de la muestra para evaluar si continúa la misma frecuencia, de ser así podrían evaluarse otras hipótesis como el estudio de los haplotipos de riesgo del gen *SLC16A11* o incluso evaluar si existe expresión del mismo con cuantificación de RNA mensajero.
- Como ya se comentó debe considerarse la evaluación del control glucémico con métodos alternativos a la hemoglobina glucosilada (curva de tolerancia oral a la glucosa).
- La población seleccionada proviene de hospitales de tercer nivel y todas las pacientes recibieron tratamiento, podría considerarse reproducir el estudio en pacientes con diagnóstico de DG sin tratamiento.

## CONCLUSIONES

---

1. En este estudio se demostró ausencia de metilación del gen *SLC16A11* en el 99% de las pacientes, encontrándose sólo en uno de los binomios pertenecientes al grupo sin diabetes.
2. No se encontró diferencia e la somatometría corporal de los recién nacidos hijos de madre con y sin diabetes gestacional
3. Se observó diferencia en las concentraciones de colesterol total, en los grupos de pacientes con y sin diabetes gestacional.

### Perspectivas:

- Δ La presencia de metilación del gen *SLC16A11* es menor a lo reportado en la población general, es importante considerar que para estimar una frecuencia general debe incrementarse el tamaño de la muestra, tomando en cuenta la costo-efectividad implicada. Es de notar que la metilación no es la única modificación epigenética posible por lo que podrían estudiarse otras posibilidades sobre la misma hipótesis y el mismo gen. Además, se han identificado haplotipos de riesgo específicos que podrían estudiarse dirigidamente en las pacientes con DG.
- Δ En el binomio en el que se encontró modificación en el estado de metilación es conveniente realizar seguimiento a largo plazo para identificar oportunamente la incidencia de complicaciones (en caso de presentarse) como rebote de adiposidad, obesidad en la infancia, enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo 2.
- Δ Pese a que las edades gestacionales fueron similares, esto puede deberse a que las pacientes con diagnóstico de diabetes gestacional recibieron un diagnóstico y tratamiento oportuno, por lo que sería factible estudiar condiciones de resistencia a la insulina como factores de riesgo para generar productos grandes para la edad gestacional más de que DG en sí. Lo anterior se relaciona

con el binomio en el cual se observó metilación del gen objeto de estudio ya que la madre presenta factores de riesgo cardio metabólico que pudieran modificar la expresión del gen y por lo tanto su hijo, al nacer, se encontró con peso en percentiles superiores.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

1. Barquera S, Campos-Nonato I, Hernández-Barrera L, et al. Prevalencia de obesidad en adultos mexicanos, ENSANUT 2012. *Salud Publica Mex* 2013;55 supl 2:S151-S160.
2. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2012. Instituto Nacional de Salud Publica
3. Rivera JÁ, de Cossío TG, Pedraza LS, Aburto TC, Sánchez TG, Martorell R. Childhood and adolescent overweight and obesity in Latin America: a systematic review. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014;2(4):321-32.
4. Sahoo K, Sahoo B, Choudhury AK, Sofi NY, Kumar R, Bhadoria AS. Childhood obesity: causes and consequences. *J Family Med Prim Care*. 2015;4(2):187-92.
5. Villalpando S, de la Cruz V, Rojas R. et al. Prevalence and distribution of type 2 diabetes mellitus in Mexican adult population: a probabilistic survey. *Salud Publica Mex*. 2010;52 Suppl 1:S19-26
6. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;94(3):311-21.
7. Meza R, Barrientos-Gutierrez T, Rojas-Martinez R, et al. Burden of type 2 diabetes in Mexico: past, current and future prevalence and incidence rates. *Prev Med* 2015;81:445-50
8. Garovic VD, Kattah A, Rose CH, Arendt KW. Medical and Surgical Illnesses During Pregnancy: Perspectives on Immediate and Long-term Outcomes. *Mayo Clin Proc* 2016;91(9):1151-4.
9. American Diabetes Association Position Statement: Standards of Medical Care in Diabetes-2016. *Diabetes Care* 2016;39(Suppl. 1):S94-S98.
10. Wang Z, Kanguru L, Hussein J, Fitzmaurice A, Ritchie K. Incidence of adverse outcomes associated with gestational diabetes mellitus in low- and middle-income countries. *Int J Gynaecol Obstet* 2013;121(1):14-9.
11. Barker DJ. Intrauterine programming of adult disease. *Mol Med Today* 1995;1(9):418-23.

12. de Boo HA, Harding JE. The developmental origins of adult disease (Barker) hypothesis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2006;46(1):4-14.
13. Hales CN, Barker DJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Int J Epidemiol* 2013; 42:1215-1222.
14. Sobngwi E, Boudou P, Mauvais-Jarvis F, et al. Effect of a diabetic environment in utero on predisposition to type 2 diabetes. *Lancet* 2003;361(9372):1861-1865.
15. Gómez-Díaz RA, Gómez-Medina MP, Ramírez Soriano E, et al. Lower plasma ghrelin levels are found in woman with diabetes-complicated pregnancies. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2016;8(4):425-431
16. Vrachnis N, Antonakopoulos N, Iliodromiti Z, et al. Impact of maternal diabetes on epigenetic modifications leading to diseases in the offspring. *Exp Diabetes Res* 2012;2012:538474. doi: 10.1155/2012/538474
17. Lehnen H, Zechner U, Haaf T. Epigenetics of gestational diabetes mellitus and offspring health: the time for action is in early stages of life. *Mol Hum Reprod* 2013; 19:415-422.
18. Fetita LS, Sobngwi E, Serradas P, Calvo F, Gautier JF. Consequences of fetal exposure to maternal diabetes in offspring. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(10):3718-724.
19. Handel AE, Ebers GC, Ramagopalan SV. Epigenetics: molecular mechanisms and implications for disease. *Trends Mol Med.* 2010;16(1):7-16.
20. Alam F, Islam MA, Gan SH, Mohamed M, Sasongko TH. DNA Methylation: An Epigenetic Insight into Type 2 Diabetes Mellitus. *Curr Pharm Des* 2016;22(28):4398-419.
21. Jones PA, Liang G. Rethinking how DNA methylation patterns are maintained. *Nat Rev Genet* 2009;10(11):805-11.
22. Jones PA, Takai D. The Role of DNA Methylation in Mammalian Epigenetics. *Science* 2001;293(5532):1068-1070.
23. Rice JC, Allis CD. Code of silence. *Nature* 2001;414(6861):258-261.
24. Zhou FC, Chen Y, Love A. Cellular DNA methylation program during neurulation and its alteration by alcohol exposure. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2011;91(8):703-15.

25. Feil R, Fraga MF. Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications. *Nat Rev Genet* 2012;13:97-109.
26. Chiang EP, Wang YC, Chen WW, Tang FY. Effects of insulin and glucose on cellular metabolic fluxes in homocysteine transsulfuration, remethylation, S-adenosylmethionine synthesis, and global deoxyribonucleic acid methylation. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:1017-1025.
27. El Hajj N, Pliushch G, Schneider E, et al. Metabolic programming of MEST DNA methylation by intrauterine exposure to gestational diabetes mellitus. *Diabetes* 2013;62(4):1320-1328.
28. Su R, Wang C, Feng H, et al. Alteration in Expression and Methylation of IGF2/H19 in Placenta and Umbilical Cord Blood Are Associated with Macrosomia Exposed to Intrauterine Hyperglycemia. *PLoS One*. 2016;11(2):e0148399. doi: 10.1371/journal.pone.0148399.
29. West NA, Kechris K, Dabelea D. Exposure to Maternal Diabetes in Utero and DNA Methylation Patterns in the Offspring Immunometabolism. *Immunometabolism* 2013;1:1-9.
30. Novakovic B, Gordon L, Robinson WP, Desoye G, Saffery R. Glucose as a fetal nutrient: dynamic regulation of several glucose transporter genes by DNA methylation in the human placenta across gestation. *J Nutr Biochem* 2013;24(1):282-288.
31. Quilter CR, Cooper WN, Cliffe KM, et al. Impact on offspring methylation patterns of maternal gestational diabetes mellitus and intrauterine growth restraint suggest common genes and pathways linked to subsequent type 2 diabetes risk. *FASEB J*. 2014;28(11):4868-4879.
32. SIGMA Type 2 Diabetes Consortium: Williams AL, Jacobs SB, Moreno-Macías H, et al. . Sequence variants in SLC16A11 are a common risk factor for type 2 diabetes in Mexico. *Nature* 2014;506(7486):97-101.
33. Huerta A, Vázquez P, Moreno Macías H, et al. Genetic determinants for gestational diabetes mellitus and related metabolic traits in Mexican women. *PLoS One* 2015;10(5):e0126408.

34. Kile ML, Bacarelli A, Tarantini L, et al. Correlation of global and gene-specific DNA methylation in maternal-infant pairs. *PLoS One* 2010;5(10):e13730. Doi. 10.1371/journal.pone.0013730.
35. Jurado-García E. El crecimiento intrauterino: correlación peso/longitud corporal al nacimiento en función de la edad de gestación. *Gac Med Mex* 1971;102:227-255
36. Battaglia FC, Lubchenco LO. A Practical Classification of Newborn Infants by Weight and Gestational Age. *J Pediatr* 1967; 71: 153-159.
37. ADA 2018
38. Rusu V, Hoch E, Mercader JM, et al. Type 2 Diabetes variants disrupt function of SLC16A11 through two distinct mechanisms. *Cell* 2017; 170: 199-212.
39. Huerta A, Tusié M. Diabetes gestacional, una enfermedad que trasciende al embarazo. *Ciencia* 2016; abr-jun 15-21.
40. Gamboa-Meléndez, M. A., A. Huerta-Chagoya et al. Contribution of common genetic variation to the risk of type 2 diabetes in the Mexican Mestizo population. *Diabetes* 2012; 61(12): 3314-3321.
41. Álvarez D, Valdés L, Santana O et al. El exceso y el bajo peso corporal al nacimiento en hijos de madres con diabetes. *Rev Cubana ObGin* 2012; 3(38).
42. Casart Y. Garrido D, Guevara C et al. Perfil lipídico en embarazadas durante el tercer trimestre según índice de masa corporal y consumo de grasas. *Rev Cubana ObGin* 2016; 1(42).
43. Salmerón J. Enfermedades hepáticas durante la gestación. *Asoc. Esp. Gastro. G. Hígado* 2010; (71) 1017-1024

## Comisión Nacional de Investigación Científica



### ANEXO 1

#### Carta de Consentimiento Informado

Ciudad de México, a \_\_\_\_\_

Folio del paciente: \_\_\_\_\_

#### 1. Título del protocolo “ESTADO DE METILACIÓN DEL GEN *SLC16A11* EN CÉLULAS DE SANGRE DEL CORDÓN UMBILICAL DEL RECIÉN NACIDO HIJO DE MADRE CON Y SIN DIABETES GESTACIONAL”

#### 2. Propósito de estudio

Le estamos invitando a participar a Usted y a su hijo(a) en un estudio de investigación que se lleva a cabo en la UMAE Hospital de Gineco-Obstetricia (HGO) No.4 “Dr. Luis Castelazo Ayala” y en las Unidades de Epidemiología Clínica y Bioquímica, de la UMAE Hospital de Especialidades y la Unidad Médica en Investigación Oncológica UMAE Hospital de Oncología, del Instituto Mexicano del Seguro Social. El objetivo del estudio es conocer si el peso y talla de su hijo, pueden contribuir al desarrollo de obesidad, hipertensión y/o diabetes durante la vida adulta. Debido a la gran presencia de diabetes en nuestro país, es prioritario identificar las medidas tanto del peso como la talla anómalas de su bebé al nacimiento, a los dos, cuatro, seis y doce meses de edad para valorar si se relacionan con la presencia de estas enfermedades en el futuro.

Para la realización del estudio estamos invitando a participar a madres sin o con diabetes, ya sea *mellitus* o bien que haya sido diagnosticada con *diabetes gestacional* durante su embarazo. Creemos que usted es candidata para el estudio y al igual que usted, otras embarazadas atendidas en el HGO #4 del IMSS, serán invitadas al estudio propuesto. En el entendido que su participación es **completamente voluntaria**, le pedimos que por favor lea la información proporcionada y haga las preguntas que desee antes de decidir si quiere o no participar.

#### 2. Procedimientos

##### Procedimiento que se llevará a cabo con la madre.

Si usted acepta participar en el estudio, se le aplicará un cuestionario con datos demográficos y antecedentes clínicos, como antecedentes de enfermedades crónicas en la familia y antecedentes gineco-obstétricos, así como el tipo de alimentación administrada a su hijo. En caso de que algunas de las preguntas le sean incómodas de contestar, usted está en todo su derecho de no responderlas. Todo el procedimiento nos llevará aproximadamente 10 minutos. Posteriormente, se le tomará una muestra de aproximadamente 15 mL de sangre de uno de sus antebrazos a nivel del pliegue del codo, misma que se colectarán en 3 tubos previamente etiquetados para su identificación en el laboratorio, para realizar los estudios que incluyen, la medición de azúcar en su sangre, perfil de lípidos y hemoglobina glucosilada ( $A_{1c}$ ); así como también para determinación del estado de metilación y presencia del gen *SLC16A11*, gen el cual está implicado en el desarrollo de diabetes.

## **Procedimiento que se llevará a cabo en el niño.**

No existe ningún riesgo para su hijo en relación a la extracción de la sangre, lo que se realizará a su hijo será la medición de su cabeza y la longitud de su cuerpo (desde la cabeza hasta el talón), así como el peso, proceso que se realiza habitualmente en su UMF, estos datos se colectaran para su posterior análisis. Estas medidas si ya fueron tomadas en su clínica, se tomarán del carnet de su hijo y se registrarán en nuestras hojas de recolección de datos, en caso de no contar con ellas se le tomarán al momento de la consulta por la Dra. González Carranza.

Es posible que durante el desarrollo de su hijo, se presente alguna condición (que se le considere no apta para el protocolo de estudio) y que por lo tanto ya no le permita a usted y a su hijo(a), participar en el estudio. Si este fuera el caso, la Dra. Edith González Carranza se lo hará saber y le explicará el motivo.

## **4. Posibles riesgos y molestias**

El protocolo de investigación no representa ningún riesgo para su salud ni la de su hijo. El personal de laboratorio le puncionará su vena con materiales nuevos y no reutilizados, en ese momento se colectará la muestra de sangre, el riesgo a que presente molestias como: dolor o bien, la posibilidad de la formación de un "moretón" en el sitio de la punción, el riesgo es mínimo. También debe quedar claro que a su bebé, no se le tomará ningún tipo de muestra.

## **5. Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio.**

En el estudio, no habrá ningún beneficio directo para los padres ni para el bebé; no recibirán ningún pago por su participación en este estudio, sin embargo, tampoco representa un gasto adicional en su programa de seguridad social para ustedes. Los resultados del estudio no le brindan ningún beneficio inmediato, pero se le entregarán por escrito y la recomendación médica pertinente en caso necesario. Le solicitamos marque abajo si está de acuerdo y autoriza que parte de la muestra de sangre se guarde y se emplee para estudios futuros, esta decisión dependerá de los resultados de los estudios planteados en este documento.

## **6. Resultados**

Se le programará una cita y un croquis especificando el sitio donde deberá acudir para la explicación y entrega de los resultados de laboratorio clínico que se obtengan del estudio así como la asesoría médica por parte del equipo de investigadores en el consultorio de endocrinología del Hospital de Gineco-Obstetricia (HGO) #4.

## **7. Participación o retiro del estudio**

Su participación en el estudio es completamente voluntaria. Si usted decide no participar, seguirá recibiendo junto con su bebé, la atención médica brindada en el IMSS, como se hace normalmente. La decisión que tome no afectará el derecho de usted ni de su bebé a obtener los Servicios de salud que recibe en nuestra Institución.

## **8. Privacidad y Confidencialidad**

Toda la información que nos proporcione (nombre, teléfono, correo electrónico y dirección, etc.) será guardada de manera confidencial y por separado al igual que las respuestas a los cuestionarios y las pruebas clínicas. El equipo de investigadores sabrá que usted está participando en este estudio y nadie más tendrá acceso a la información proporcionada. Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias, no se dará información que pudiera revelar su identidad o la del bebé. A cada participante se le asignará un número para identificar sus datos y mantener la confidencialidad.

Queremos aclararle que su muestra será cuidadosamente resguardada en los laboratorios de las Unidades de Investigación en Bioquímica y de Investigación Oncológica del CMN Siglo "XXI" del IMSS y la identidad de cada participante estará protegida usando un código con números y letras en lugar de su nombre. Nunca manejaremos nombres o proporcionaremos sus datos personales. Esta información solamente será conocida en nuestras Unidades de investigación por el equipo responsable del proyecto.

### **9. Personal de contacto para dudas y aclaraciones sobre el estudio**

Si tiene preguntas o quiere hablar con alguien sobre este protocolo de investigación puede comunicarse de 8:00 a 16:00 hrs, de lunes a viernes con la Dra. Rita Angélica Gómez Díaz investigador responsable del estudio, al teléfono: 56276900 ext. 21481 o acudiendo directamente a la Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica ubicada en el segundo piso del Hospital de Especialidades en el Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS. Dirección: Av. Cuauhtémoc 330 Colonia Doctores, C.P. 06725, México D.F.

### **10. Personal de contacto para dudas sobre sus derechos como participante en un estudio de investigación**

Si usted tiene dudas o preguntas sobre sus derechos al participar en un estudio de investigación, puede comunicarse con los responsables de la Comisión de Ética en Investigación del IMSS, a los Tel. 56276900-21230, de 9 a 16:00 hrs de lunes a viernes; o si así lo prefiere al correo electrónico: [ccomiteeticainv.imss@gmail.com](mailto:ccomiteeticainv.imss@gmail.com). La Comisión de Ética se encuentra ubicada en el Edificio del Bloque B, Unidad de Congresos piso 4, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Av. Cuauhtémoc 330 Colonia Doctores, C.P. 06725, México D.F.

### **Garantía de atención médica en caso necesario**

En caso de presentarse alguna complicación derivada del estudio, usted puede comunicarse con el responsable del proyecto al teléfono 56276900 ext. 21481 de lunes a viernes en el horario de 8 a 16 hrs.

### **11. Declaración de consentimiento informado**

Declaro que se me han informado los posibles riesgos si acepto participar, como la formación de un moretón en el sitio de la punción. También se me ha informado sobre los beneficios tales como la entrega de los resultados por escrito y la recomendación médica en caso de observar alguna complicación. Se me explicó ampliamente que todos mis datos serán manejados de forma anónima y confidencial, también tengo la libertad de abandonar el estudio al momento que lo considere. El investigador principal y el equipo médico, se han comprometido a darme información oportuna sobre cualquier pregunta y los riesgos y beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi enfermedad.

### **12. Resguardo de las muestras**

Si usted acepta participar en el estudio y además autoriza que las muestras sean guardadas a menos 80 grados centígrados, por un tiempo no mayor de 10 años, la Dra. Rita Angélica Gómez Díaz, responsable del proyecto, se compromete a que las muestras anonimizadas sean utilizadas sólo con fines de investigación. El resguardo se tendría en el laboratorio de la Unidad de investigación Médica en Bioquímica y en la Unidad de Investigación Oncológica del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS.

**Por favor marque con una X una de las opciones cajas que se presentan abajo (únicamente debe indicar la opción que corresponda)**

Sí autorizo que se tome la muestra para las pruebas de este estudio y su empleo para estudios futuros que pudieran realizarse dentro de los 10 años siguientes.

Autorizo que se tome la muestra únicamente para este estudio.

\_\_\_\_\_  
Nombre de la madre participante

\_\_\_\_\_  
Nombre del Padre Participante

\_\_\_\_\_  
Firma de la Participante y Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma del Padre y Fecha

**Firma del encargado de obtener el consentimiento informado**

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en el estudio de investigación.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del encargado de obtener el consentimiento informado

\_\_\_\_\_  
Fecha

**Firma de los testigos**

Mi firma como testigo certifica que el/la participante firmó este formato de consentimiento informado en mi presencia, de manera voluntaria.

---

Nombre y dirección del Testigo 1

---

Parentesco con participante

---

Firma del Testigo

---

Fecha

---

Nombre y dirección del Testigo 2

---

Parentesco con participante

---

Firma del Testigo

---

Fecha

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

Coordinación de Investigación en Salud  
Comisión Nacional de Investigación Científica



ANEXO 2

**HOJA DE RECOLECCION DE DATOS**

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_ Folio: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_  
NSS: \_\_\_\_\_ Sexo del producto: F M  
Fecha y hora de nacimiento: \_\_\_\_\_  
Domicilio: \_\_\_\_\_  
Teléfono fijo: \_\_\_\_\_ Teléfono celular: \_\_\_\_\_  
Correo electrónico: \_\_\_\_\_

**ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES**

DM:  HAS:  Dislipidemias:  Sx. Metabólico:  IAM:

**ANTECEDENTES MATERNOS**

Edad: \_\_\_\_\_ años Peso: \_\_\_\_\_ kg Talla: \_\_\_\_\_ m IMC: \_\_\_\_\_ G: \_\_\_\_\_ P: \_\_\_\_\_ C: \_\_\_\_\_ A: \_\_\_\_\_  
Estado civil: \_\_\_\_\_ Escolaridad: \_\_\_\_\_  
Religión: \_\_\_\_\_ Ocupación: \_\_\_\_\_  
Grupo y Rh: \_\_\_\_\_ No de cigarrillos/semana: \_\_\_\_\_  
Otras sustancias: \_\_\_\_\_

**TIPO DE DIABETES**

Sin diabetes \_\_\_\_\_ Gestacional \_\_\_\_\_ Tipo 2 \_\_\_\_\_ Fecha de Dx: \_\_\_\_\_

Tratamiento previo al embarazo:

Solo dieta:

Insulina:  Dosis: \_\_\_\_\_

Glibenclamida  Dosis: \_\_\_\_\_

Metformina  Dosis: \_\_\_\_\_

Otro  Anotar cual y dosis: \_\_\_\_\_

Tratamiento durante el embarazo:

Solo dieta:

Insulina:  # de semana en que inicia el tx: \_\_\_\_\_

Glibenclamida  # de semana en que inicia el tx: \_\_\_\_\_

Metformina  # de semana en que inicia el tx: \_\_\_\_\_

Otro  Anotar cual y # de semana en que inicia el tx: \_\_\_\_\_

# de descontrol metabólico en el embarazo: \_\_\_\_\_ # de hospitalizaciones: \_\_\_\_\_

Fecha de última determinación de HbA1c: \_\_\_\_\_ Resultado: \_\_\_\_\_

**ANTECEDENTES PERINATALES:**

¿Presento ruptura prematura de membranas? Si:  No:  Fecha: \_\_\_\_\_

¿Recibió inductores de maduración pulmonar? Si:  No:

¿Cuál? \_\_\_\_\_ Fecha y hora de última dosis: \_\_\_\_\_ # de dosis: \_\_\_\_\_

¿Cumplió latencia? Si:  No:  # de Esquemas: \_\_\_\_\_

Vía de nacimiento: Vaginal eutócico \_\_\_\_\_ Vaginal distócico \_\_\_\_\_ Cesárea \_\_\_\_\_

Motivo directo de la cesárea: \_\_\_\_\_

Producto: Único: \_\_\_\_\_ # de Gemelo: \_\_\_\_\_ # de Trillizo: \_\_\_\_\_ # de Cuatrillizo o más: \_\_\_\_\_

Semanas de gestación por:

FUR: \_\_\_\_\_ USG: \_\_\_\_\_ Capurro: \_\_\_\_\_

Apgar: \_\_\_\_\_ SA: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_ Talla: \_\_\_\_\_

Malformaciones congénitas: \_\_\_\_\_