



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

“Diabetes mellitus neonatal transitoria”

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN BIOQUÍMICA
DIAGNÓSTICA**

PRESENTA:

JESSICA SELENE RIVERA SOTO

ASESORA:

**DRA. SANDRA DÍAZ BARRIGA
ARCEO**

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2020



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.

Dedicatoria

A mis padres.

Agradecimientos

Me gustaría agradecer a la Dra. Sandra Díaz por haberme brindado comprensión y confianza para realizar este trabajo y también por el apoyo y dirección que me otorgo. Agradezco infinitamente los conocimientos que compartió en el aula y fuera de ella, la excelencia como profesora y como asesora de este trabajo.

A cada uno de los profesores que integran mi jurado, así como también a todos aquellos que compartieron sus conocimientos en cada una de las asignaturas que forman parte de la licenciatura en Bioquímica Diagnóstica.

En especial quiero agradecer a mi mamá, a mi papá y a mis hermanos por todo el apoyo que me brindaron para que hoy esté aquí, gracias por ser parte de cada paso que doy y por apoyarme en cada uno de ellos, por confiar en que podía lograrlo y estar ahí para mí, que a pesar de la distancia en estos años, siempre estuvieron y los lleve conmigo para no rendirme y para esforzarme cada vez más para ser mejor, infinitas gracias por su amor y por todo lo que han hecho por mi desde siempre.

Finalmente quiero agradecer a mis amigos por todo lo vivido y que sin duda hicieron de estos años de los mejores de mi vida. En particular, a mi mejor amiga Lala por su cariño y apoyo incondicional, por estar conmigo más allá de la distancia y en cualquier momento durante todo este tiempo; también a Aby que se convirtió en alguien muy importante y especial para mí, y a mi mejor amiga y más Diana por estar conmigo y apoyarme siempre, gracias porque has sido parte fundamental para que hoy sea quien soy, por compartir tantos momentos conmigo, por enseñarme y por vivir tantas cosas que se quedarán siempre conmigo y por darme el mejor y el más bonito regalo de toda la vida, tu amor y tu amistad incondicional.

Índice	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	
2.1. General.....	2
2.2 Particulares.....	2
3. JUSTIFICACIÓN	3
4. MARCO TEÓRICO	
4.1. Diabetes mellitus neonatal.....	5
4.1.1. Descripción de la enfermedad	5
4.2. Diabetes mellitus neonatal transitoria	5
4.2.1. Antecedentes históricos.....	5
4.2.2. Descripción de la enfermedad	7
4.2.3. Etiología de la enfermedad	8
4.2.4. Prevalencia.....	12
4.2.5. Historia natural de la enfermedad	13
4.2.6 Diagnóstico.....	15

4.2.7 Tratamiento	16
4.3. Metilación del DNA.....	19
4.3.1 Descripción y mecanismo de metilación	19
4.3.2 Desmetilación global del genoma	24
4.4. Impronta genómica.....	25
4.4.1. Definición.....	25
4.4.2. Establecimiento de la impronta genómica.....	27
4.5. Región 6q24	29
4.6. Genes <i>PLAGL1</i> e <i>HYMAI</i> y su relación con la Diabetes mellitus neonatal transitoria.....	30
4.7. Genes <i>ABCC8</i> y <i>KCNJ11</i> y su relación con la Diabetes mellitus neonatal transitoria.....	33
4.8. Gen <i>ZFP57</i> y la relación con la Diabetes mellitus neonatal transitoria	42
5. DISCUSIÓN	45
6. CONCLUSIÓN	48

7. REFERENCIAS.....	49
---------------------	----

Índice de figuras	Página
Figura 1. Características clínicas de la TNDM	8
Figura 2. Mecanismos involucrados con el locus 6q24 que generan Diabetes mellitus neonatal transitoria.....	10
Figura 3. Porcentaje de casos reportados de la TNDM y de sus diferentes causas.....	13
Figura 4. Diagnóstico de la Diabetes mellitus neonatal transitoria.....	16
Figura 5. Acción de las sulfonilureas en el canal K-ATP de las células beta pancreáticas.....	18
Figura 6. Mecanismo de metilación del DNA.....	19
Figura 7. Estructura de las enzimas DNA metiltransferasas de mamíferos.....	21
Figura 8. Mecanismo del mantenimiento de la metilación en el DNA	23
Figura 9. Mecanismo de la desmetilación activa del DNA.....	24

Figura 10. Ideograma de los cromosomas humanos con la posición de los genes improntados conocidos	26
Figura 11. Borrado, restablecimiento y mantenimiento de las marcas de metilación en los loci improntados.....	28
Figura 12. Locus improntado en el cromosoma 6 y los genes presentes en el locus.....	30
Figura 13. Modelo propuesto de la estructura del gen <i>PLAGL1</i>	32
Figura 14. Proteínas codificadas a partir de los genes <i>ABCC8</i> y <i>KCNJ11</i>	35
Figura 15. Rutas metabólicas en la célula beta-pancreática involucradas con la liberación de insulina	37
Figura 16. Estructura de canal K-ATP pancreático.....	38
Figura 17. Función del canal K-ATP en las células beta pancreáticas normales y mutadas.....	40

Figura 18. Representacion esquematica de la ubicación del gen <i>ZFP57</i> en el cromosoma 6	43
Figura 19. Regulación de la proteína ZFP57 en la ICR	44

Abreviaturas

5caC. 5-carboxilcitosina

5fC. 5-formilcitosina

5hmC. 5-hidroximetilcitosina

5mC. 5-metilcitosina

6q24. Brazo largo del cromosoma 6 región 2 banda 4

ABCC8. ATP-binding cassette transporter subfamily C member 8

ADP. Adenosíndifostato

ATP. Adenosíntrifosfato

Ca. Calcio

CGH. Hibridación genómica comparativa

CH₃. Grupo metilo

CMA. Análisis de micromatíces cromosómicas

CSII. Infusión continua de insulina subcutánea

CTCF. Factor de unión a cromatina

CVS. Muestreo de vellosidades coriónicas

DMR. Región de metilación diferencial

DNA. Ácido desoxirribonucleico

DNMTs. Metiltransferasas de ácido desoxirribonucleico

ESC. Células madre embrionarias

HIL. Hipometilación de loci improntados

HYMAI. Hydatidiform mole associated and imprinted

ICM. Masa celular interna

ICR. Región de control de la impronta

IUGR. Retraso del crecimiento intrauterino

lncRNA. Ácido ribonucleico largo no codificante

K. Potasio

KATP. Canal de potasio sensible a adenosíntrifosfato

KCNJ11. Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily J Member 11

Kir. Canales rectificadores internos de potasio

KRAB. Dominio asociado a la caja Kruppel

LOM. Pérdida de metilación

Mg. Magnesio

MS-MLPA. Amplificación por sondas dependiente de ligamiento múltiple sensible a metilación

NBD. Pliegues de unión a nucleótidos

NDM. Diabetes mellitus neonatal

NGS. Secuenciación de nueva generación

PGC. Células germinales primordiales

PLAGL1. Pleomorphic Adenoma-Like Protein 1

pUPD6. Disomía uniparental paterna del cromosoma 6

RNA. Ácido ribonucleico

SAM. S-adenosilmetionina

SGA. Pequeños para la edad gestacional

SU. Sulfonilurea

SUR. Receptor de sulfonilurea

TET. Ten-eleven translocation

TNDM. Diabetes mellitus neonatal transitoria

UTR. Región no traducida

ZFP57. Zinc finger protein 57

1. Introducción

El siguiente trabajo tiene como finalidad describir la Diabetes mellitus neonatal transitoria y las causas genéticas y epigénéticas que están relacionadas con generar esta patología, esta recopilación puede ayudar a entender el papel de estos factores en la enfermedad, y así, pueda ser un material de consulta para alumnos o académicos interesados en el tema.

La primera parte describe la Diabetes mellitus neonatal transitoria y parte importante sobre la patología, es decir, signos, síntomas, diagnóstico y tratamiento. Al ser una enfermedad que es generada por diferentes causas es importante mencionar cada una de ellas y describir de qué manera contribuyen a generar la enfermedad, así como también las variaciones en su manifestación dependiendo la causa de la enfermedad.

En la segunda parte, se habla sobre la impronta genómica, ya que es el fenómeno epigenético que se relaciona con esta patología y además resalta la importancia de este mecanismo y el papel que juegan estos genes improntados en un organismo sano, así como también los trastornos que las alteraciones de estos genes pueden provocar y que tienen repercusión en la calidad de vida de los pacientes que los presentan.

Por último, se describen las causas genéticas que provocan la enfermedad y que generan alteraciones en el canal de potasio sensible a ATP y que a su vez está relacionado con la secreción normal de insulina.

2. Objetivos

2.1. General

Realizar una revisión documental actual sobre la Diabetes mellitus neonatal transitoria y las causas genéticas y epigenéticas que la originan, con la finalidad de generar un material de consulta para interesados en el tema.

2.2. Particulares

Recopilar información sobre la Diabetes mellitus neonatal transitoria y las alteraciones genéticas y epigenéticas que la originan.

Comprender algunos fundamentos de la impronta genómica para entender su relación con esta enfermedad.

Identificar las diferencias que existen entre las causas genéticas y epigenéticas que generan Diabetes mellitus neonatal transitoria.

3. Justificación

La Diabetes mellitus neonatal transitoria es un trastorno generado por alteraciones encontradas en la región cromosómica 6q24 provocando la expresión inadecuada de dos genes improntados presentes en este cromosoma que son *PLAGL1* e *HYMAI*, también es generada por mutaciones en los genes *KCNJ11* y *ABCC8* que alteran la función normal de los canales de potasio sensible a ATP (K-ATP), (Gálvez, Villalobos, Aguila, y Ramírez. 2018; Hoffman y Spengler, 2015; Touati, Errea-Dorronsoro, Nouri, Halleb, Pereda, Mahdhaoui, Ghith, Saad, Perez de Nanclares y H´mida Ben Brahim, 2019).

Aunque la Diabetes mellitus neonatal es generada por diversas causas, es una patología poco común en el mundo, con prevalencia de entre 1 de cada 215 000 a 1 de cada 400 000 recién nacidos vivos de los cuales el 50% de los casos reportados corresponde a la Diabetes mellitus neonatal transitoria; en México no ha sido descrita con frecuencia y presenta un reto diagnóstico, no por las características clínicas, si no por ser tan poco frecuente (Barbetti, Mammí, Liu, Grasso, Arvan, Remedi y Nichols, 2017; Gálvez, et al., 2018; Temple y Mackay, 2010; Unal, Yildirum, Feryal, Yildiz, Demir y Haspolat, 2019; Yamazaki, Sugie, Oguma, Yorifuji, Tajima y Yamagata, 2017).

A pesar de que esta enfermedad se presenta con poca frecuencia, la importancia de este trastorno radica en la posibilidad de que los pacientes puedan presentar una recaída de la Diabetes presentándose de tipo 2 en etapas de la adolescencia o la edad adulta temprana, por lo que esto revela la importancia de indagar acerca de los mecanismos que alteran la expresión de los genes improntados en la región cromosómica 6q24, así como las mutaciones presentes en los genes *KCNJ11* y *ABCC8* relacionados con la enfermedad.

Anudado a esto, también puede permitir el tener un concepto más claro del papel de los genes improntados, así como también el rol que juegan las alteraciones que se presentan en éstos y como afectan el correcto desarrollo y crecimiento humano. Además de que con este trabajo también se permite poder investigar algunos grupos de genes y sus cascadas de señalización, que puedan ayudar a explicar y corregir los problemas de las otras formas de Diabetes que son más comunes y que tienen mayor prevalencia en México y a nivel mundial.

4. Marco teórico

4.1. Diabetes mellitus neonatal

4.1.1. Descripción de la enfermedad

La Diabetes mellitus neonatal (NDM por sus siglas en inglés) es un grupo heterogéneo de condiciones que afectan el número o la función de células beta y resultan en deficiencia completa o parcial de insulina y se caracterizan por una hiperglucemia persistente diagnosticada dentro de los 6 primeros meses de vida. Los bebés afectados con NDM presentan entre los primeros días a semanas de vida intrauterina, retraso del crecimiento, lo que refleja la deficiencia de la insulina en el útero y enfatiza el papel de la insulina como determinante del crecimiento fetal. Se han descrito dos formas clínicas de NDM, una forma permanente y otra forma transitoria la cual es el tema central de esta investigación, estas dos formas de Diabetes neonatal se diferencian entre sí por la duración de la dependencia al tratamiento en la etapa temprana de la enfermedad además de las diferentes causas que las generan (Gálvez et al., 2018; Sperling, 2014; Unal et al., 2019).

4.2. Diabetes mellitus neonatal transitoria

4.2.1. Antecedentes históricos

Los informes acerca de la Diabetes mellitus neonatal de remontan en 1926 cuando Ramsey informó sobre un bebé varón con bajo peso al nacer a término que fue diagnosticado con Diabetes a las cuatro semanas de edad que requirió tratamiento con insulina y que fue recuperado de la enfermedad a las diez semanas; el paciente fue reevaluado a los 4 años y se informó que se encontraba sano. En el mismo año Hutchinson, Keay y Kerr nombraron a esta condición “Diabetes Mellitus Temporal Congénita”, pero fue Lawrence quien señaló que se trataba de Diabetes neonatal y no congénita. En 1966

Cornblath y Schwartz acuñaron el nombre de “Diabetes Mellitus Neonatal Transitoria” (TNDM por sus siglas en inglés), (Hoffman y Spengler, 2015; Takagi et al., 2016; Temple y Shield, 2002).

En 1986 Briggs informó de una paciente femenina con TNDM que desarrolló Diabetes no dependiente de insulina en la vida adulta, por lo que Shield y Baum propusieron que la TNDM pudiera ser un factor de riesgo para adquirir Diabetes en etapas adultas de la vida. En 1995 Muhlendahl y Herkenhoff realizaron un seguimiento a largo plazo de los casos que habían sido publicados e identificaron a 13 bebés con TNDM con recurrencia de diabetes posterior (Temple y Shield, 2002).

En 1995 Temple, James, Crolla, Sitch, Jacobs, Howell, Betts, Baum y Shield reportaron por primera vez la Diabetes mellitus neonatal transitoria relacionada con el cromosoma 6 en su brazo largo (q), región 2, banda 4 (locus 6q24), en donde encontraron que la disomía uniparental paterna del cromosoma 6 está presente con frecuencia en pacientes con TNDM y sugirió la presencia de un gen improntado en el cromosoma 6. El paciente con esta alteración desarrolló Diabetes mellitus neonatal transitoria dentro de las 24 horas de nacimiento y se recuperó a los 4 meses (Temple y Shield, 2002; Hoffman y Spengler, 2015; Yoifuji et al., 2018).

Un año más tarde, Temple, Gardner, Robinson, Kibirige, Ferguson, Baum, Barber, James y Shield descubrieron que la transmisión paterna de una duplicación del locus 6q24 también podría conducir a presentar TNDM y esto se reprodujo en varios estudios, incluido el de Cave, Polak, Drunat, Denamur y Czernichow que descubrieron una duplicación paterna 6q24 en seis de 13 casos con TNDM. Identificándose con ello dos genes improntados dentro de esta región, *PLAG1* e *HYMAI*, siendo los principales genes involucrados en causar Diabetes mellitus neonatal transitoria (Temple y Shield, 2002).

En el 2000, Gardner, Mackay, Mungall, Polychronakos, Siebert, Shield, Temple y Robinson demostraron que en varios casos de TNDM, las islas CpG de pacientes con TNDM se encontraban completamente desmetiladas en ambos alelos en ausencia de disomía uniparental, lo que llamaron un defecto de la metilación. Mackay, Coupe, Shield, Storr, Temple y Robinson más tarde mostraron una expresión aberrante del gen *PLAGL1* e *HYMAI* en un paciente con TNDM con un defecto de metilación, mostraron una disminución de la expresión monoalélica normal de ambos genes en los fibroblastos de la piel del paciente y esto proporcionó un fuerte respaldo de que la presencia de dos alelos no metilados en este locus se asocia con una expresión genética inapropiada (Temple y Shield, 2002).

4.2.2. Descripción de la enfermedad

La Diabetes mellitus neonatal transitoria es un trastorno genético poco frecuente que aparece durante la primera a la séptima semana de vida en un neonato a término y generalmente se revierte antes de los 5 meses de edad en la mayoría de los casos, después de algunos meses los pacientes entran en remisión con el riesgo de presentar recaídas a un estado de Diabetes permanente, principalmente al llegar a la etapa de la adolescencia o en la etapa adulta (Gálvez et al., 2018; Hoffman y Spengler, 2015; Touati et al., 2019).

Los pacientes con TNDM presentan características clínicas principales que son hiperglucemia, retraso del crecimiento intrauterino (IUGR por sus siglas en inglés), grados variables de deshidratación y en algunos casos presencia de cetoacidosis (ver Figura 1), además pueden mostrar una serie de síntomas que no están relacionados con la Diabetes, como macroglosia, hernia

umbilical, anomalías cardíacas, malformaciones cerebrales y deficiencias mentales (Hoffman y Spengler, 2015; Touati et al., 2019).

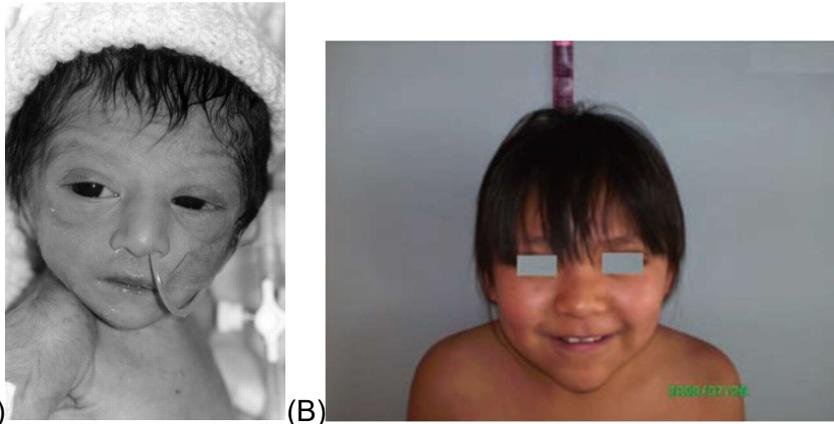


Figura 1. Características clínicas de la TNDM. A) Características faciales dismórficas. B) Paciente con retraso del crecimiento y desarrollo, presenta microcefalia (Recuperado de Hoveyda et al., 1999; Jiménez et al., 2010).

4.2.3. Etiología de la enfermedad

Se han descrito dos subtipos de Diabetes mellitus neonatal transitoria, la TNDM1 que es causada por anomalías en el locus 6q24 que alteran la expresión de los genes improntados ahí encontrados (*PLAGL1* e *HYMAI*), y la TNDM2 que es generada por mutaciones que afectan a los genes *KCNJ11* y *ABCC8*. En ambas formas de TNDM las mutaciones genéticas generalmente se presenta de forma espontánea, sin embargo, si la mutación está presente en cualquiera de los dos progenitores la trasmisión sigue un patrón autosómico dominante, es decir que el presentar una sola copia de la mutación relacionada con la enfermedad ya es suficiente para causarla (Bak et al., 2016; Hargreave et al., 2017; Zammit et al., 2017).

La Diabetes mellitus neonatal ya sea la forma transitoria o permanente se presenta por diversas causas, sin embargo las

anormalidades en el locus 6q24 son la principal causa de generar la forma transitoria, las mutaciones en el gen *KCNJ11* son la causa más común de generar la forma permanente con un porcentaje menor en la transitoria (90% y 10% respectivamente) y las mutaciones en el gen *ABCC8* pueden generar ambas formas de diabetes neonatal, pero es más frecuente encontrarlas en casos de forma transitoria (Gálvez et al., 2018).

La causa más común de la TNDM1 está relacionada con defectos de impronta en la región cromosómica 6q24 y representa entre el 60 al 70% de los casos de TNDM. Se han propuesto tres mecanismos genéticos y epigenéticos que pueden afectar la expresión de los genes improntados de esta región (ver Figura 2), que son la disomía uniparental paterna del cromosoma 6 (pUPD6 por sus siglas en inglés) parcial o completa que incluye los genes *PLAGL1* e *HYMAI*; la duplicación paterna del cromosoma 6q24 que por lo general es una duplicación submicroscópica que da como resultado la presencia de dos copias de los genes *PLAGL1* e *HYMAI*, o la pérdida de la metilación (LOM por sus siglas en inglés) del locus 6q24 en el alelo materno (Bak et al., 2016; Barbetti et al., 2017; Piccini et al., 2018).

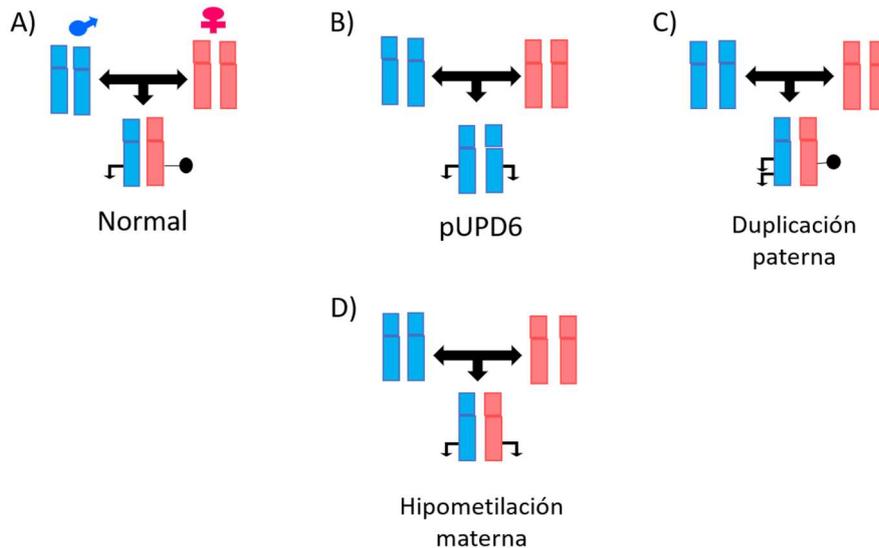


Figura 2. Modelo de representación de los mecanismos involucrados con el locus 6q24 que generan Diabetes mellitus neonatal transitoria. Cromosomas paternos en azul, cromosomas maternos en rosas; alelo materno metilado y alelo paterno sin metilar, es decir, el que se expresa. A) Mecanismo normal donde la expresión se lleva a cabo a partir del alelo paterno. B) En la pUPD6 se heredan ambos alelos del progenitor paterno y, por lo tanto, se genera la expresión de ambos alelos. C) Se provoca una sobreexpresión debida a la duplicación paterna de la región expresada. D) La pérdida de la metilación o la hipometilación del alelo materno, genera que la expresión génica sea a partir de los dos alelos (Modificado de Sperling, 2014).

Los mecanismos asociados a la TNDM1 generan una expresión inadecuada de dos genes improntados localizados en la región 6q24, el gen *PLAGL1*, el cual es considerado el gen candidato principal asociado a la TNDM; y el gen *HYMAI* que codifica para un RNA largo no codificante (lncRNA por sus siglas en inglés), el cual su función no ha sido completamente identificada, pero las transcripciones de RNA derivadas de este locus están involucradas en la protección de la

metilación del alelo paterno (Alkorta-Aranburu et al., 2016; Zammit et al., 2017).

Los defectos de impronta en la región cromosómica 6q24 dan como resultado un grupo clínicamente heterogéneo y se puede dividir en dos subgrupos según el tipo de epimutación, pérdida de la metilación del alelo materno en el locus 6q24 (40% de los casos con defectos en la metilación) y la hipometilación de otros loci improntados (HIL por sus siglas en inglés), (60% de los casos con defectos en la metilación) que se genera por la mutación del gen *ZFP57* localizado en el locus 6p22.1 y que codifica para una proteína de dedos de zinc, esta alteración provoca un espectro de presentación diverso que puede involucrar trastornos neurológicos (Barbetti et al., 2017; Zammit et al., 2017).

La TNDM2 es generada por mutaciones en los genes *KCNJ11* y *ABCC8* que afectan la sensibilidad del canal de K-ATP y deterioran su función. Los canales K-ATP mutados muestran una sensibilidad reducida a la inhibición de ATP, lo que resulta en la hiperpolarización de la membrana y el deterioro de la secreción de insulina a partir de las células beta pancreáticas. Se ha demostrado que los pacientes con TNDM2 presentan un mayor peso al nacer, se les diagnostica Diabetes mellitus en un período posterior, pueden remitir más tarde y pueden tener una recurrencia más temprana (Alkorta-Aranburu et al., 2016; Gole et al., 2018; Unal et al., 2019).

Las mutaciones en el gen *ABCC8* conducen a un aumento de la activación de los canales de K-ATP y al deterioro de la secreción de insulina de las células beta pancreáticas al aumentar la acción estimulante dependiente de los nucleótidos de magnesio, Mg-ADP y Mg-ATP en la subunidad SUR1 del canal. Por otra parte, las mutaciones en el gen *KCNJ11* pueden causar Diabetes mellitus neonatal debido a la reducción de la capacidad del ATP para inhibir la actividad del canal K-ATP y al aumento de la capacidad del Mg-

ATP para estimular simultáneamente la función de este canal, esto se asocia con el deterioro de la secreción de insulina (Haghighizadeh et al., 2015; Piccini et al., 2018).

4.2.4. Prevalencia

La Diabetes mellitus neonatal es una enfermedad muy poco frecuente y comúnmente es mal diagnosticada como Diabetes mellitus tipo 1, sin embargo, la incidencia reportada es de entre 1 de cada 215 000 a 1 de cada 400 000 recién nacidos vivos, dentro de la cual la Diabetes mellitus neonatal transitoria representa aproximadamente el 50% de los casos de Diabetes mellitus neonatal reportados. A pesar de que en México la Diabetes mellitus es la patología más frecuente de los trastornos endocrino-metabólicos, la Diabetes mellitus neonatal transitoria no ha sido descrita con frecuencia y representa un reto diagnóstico, no por las características clínicas, si no por ser tan poco frecuente (Barbetti et al., 2017; Gálvez et al., 2018; Jiménez et al., 2010; Unal et al., 2019; Yamazaki et al., 2017).

Alrededor del 70% de los casos reportados de TNDM se deben a anomalías en la región cromosómica 6q24, dentro de los cuales la duplicación del alelo paterno representa un 33%, la pUPD6 representan 41% de los casos y la hipometilación del alelo materno con un 26%; mientras que el 30% del total de los casos de TNDM se deben a mutaciones presentes en los genes *KCNJ11* y *ABCC8* (ver Figura 3), (Gole et al., 2018; Yorifuji et al., 2018).

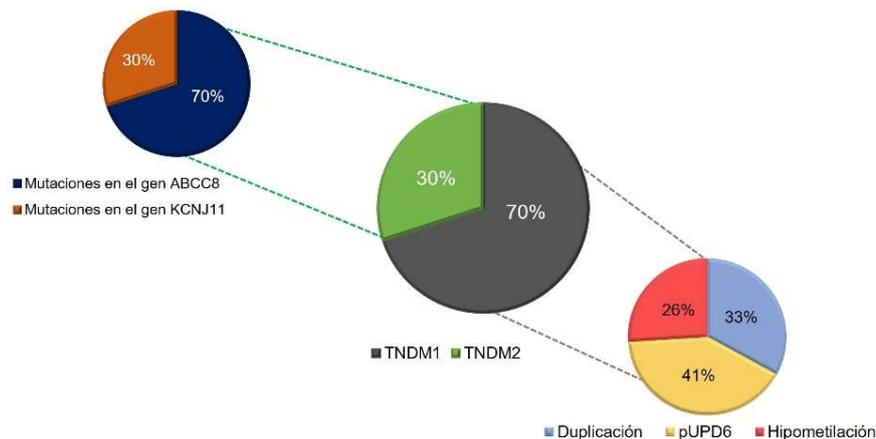


Figura 3. Porcentaje de casos reportados de la TNDM y de sus diferentes causas. La TNDM1 representa el 70% mientras que la TNDM2 el 30%, dentro de la TNDM1 existen tres diferentes mecanismos en el locus 6q24 que causan TNDM1: la disomía uniparental paterna del cromosoma 6 (pUPD6) que representa el 41%; la duplicación paterna del cromosoma 6 que representa por su parte el 33% y, la hipometilación del alelo materno es igual al 26% del total de los casos con defectos en el cromosoma 6q24. Mientras que la TNDM2 el 70% esta representado por las mutaciones en el gen *ABCC8* y el 30% por las mutaciones en el gen *KCNJ11* (Modificado de Temple y Mackay, 2010).

4.2.5. Historia natural de la enfermedad

En los pacientes con Diabetes mellitus neonatal transitoria, se pueden evidenciar tres fases con características diferentes:

Fase 1 (Diabetes neonatal). Los principales hallazgos en el periodo neonatal son el retraso del crecimiento a término, la aparición de Diabetes en la primera semana de vida y la recuperación en tres meses.

Fase 2 (Remisión aparente). En esta fase puede aparecer hiperglucemia intercurrente durante la enfermedad además los

déficits neurológicos también pueden manifestarse. Algunos pacientes en remisión pueden desarrollar síntomas sugestivos de recaída como polidipsia, poliuria e infecciones bacterianas recurrentes, estos síntomas deben provocar una revisión médica inmediata. Los pacientes tienen revisión continua para controlar el crecimiento y el desarrollo, así como los niveles de HbA1c, los niveles de glucosa en sangre y los niveles de péptido C, ya que son pruebas que pueden usarse para detectar la pérdida del control glucémico antes de que se vuelva sintomático.

Fase 3 (Recaída). Si no se reconoce la gravedad y el subtipo genético del caso individual y se trata adecuadamente la hiperglucemia, el paciente con TNDM corre el riesgo de sufrir complicaciones diabéticas observadas con otras formas de Diabetes. Aproximadamente del 50 al 60% de los pacientes con TNDM en remisión pueden desarrollar posteriormente Diabetes mellitus tipo 2 en etapas de la adolescencia o en la edad adulta temprana y, por su parte, las mujeres tienen riesgo de desarrollo de Diabetes gestacional durante el embarazo. Esto generalmente ocurre después de los 4 años, en un promedio de 14 años, a menudo coincidiendo con la pubertad. La Diabetes también puede reaparecer en la edad adulta en momentos de estrés metabólico, como el embarazo o una enfermedad prolongada (Barbetti et al., 2017; Temple y Shield, 2002; Zammit et al., 2017).

Se puede determinar que, en el período neonatal, el pronóstico está relacionado con la gravedad de la enfermedad, el grado de deshidratación y la acidosis, así como la rapidez con que se reconoce y se trata la enfermedad, en el período siguiente, el pronóstico está determinado por las malformaciones y lesiones asociadas. Finalmente, el pronóstico depende del control metabólico, como en todas las formas de Diabetes mellitus, que determinará el momento de aparición de las complicaciones (Polak y Cavé, 2007).

4.2.6. Diagnóstico

Para el diagnóstico de Diabetes mellitus neonatal se recomienda un diagnóstico prenatal que puede estar indicado en casos de restricción severa del crecimiento intrauterino o antecedentes de familiares previamente afectados, este diagnóstico se realiza mediante un análisis de DNA de las células fetales obtenidas mediante amniocentesis o muestreo de vellosidades coriónicas (CVS por sus siglas en inglés). Para los casos de pacientes con Diabetes mellitus neonatal transitoria se realiza un diagnóstico clínico para identificar las características clínicas principales de la enfermedad anudado a la realización de un cariotipo para la identificación de una aneuploidía o anomalías estructurales como la delección o duplicación microscópicas del cromosoma implicado en la enfermedad (ver Figura 4), (Kataria et al., 2014; Youifiji et al., 2018; Zammit et al., 2017).

Otros ensayos realizados para el diagnóstico de la TNDM que pueden identificar los desequilibrios cromosómicos que no son detectables con los análisis cromosómicos de rutina, como las delecciones y duplicaciones submicroscópicas, son la técnica de hibridación genómica comparativa (CGH por sus siglas en inglés), por otra parte la secuenciación de nueva generación (NGS por sus siglas en inglés) que identifica las mutaciones que involucran a los genes causantes de la enfermedad, otra técnica utilizada para el diagnóstico es la amplificación por sondas dependiente de ligamiento múltiple sensible a metilación (MS-MLPA por sus siglas en inglés) que es utilizada para el análisis de la metilación en el locus 6q24 improntado. Es importante destacar que ninguna técnica individual es capaz de detectar y distinguir el rango completo de anormalidades reportadas, por lo que estas técnicas pueden ser utilizadas para realizar un diagnóstico que confirme la patología y la causa que la genera (Alkorta-Aranburu et al., 2016; De Franco et al., 2015; Dugoff et al., 2016; Temple y Mackay, 2010; Youifiji et al., 2018).

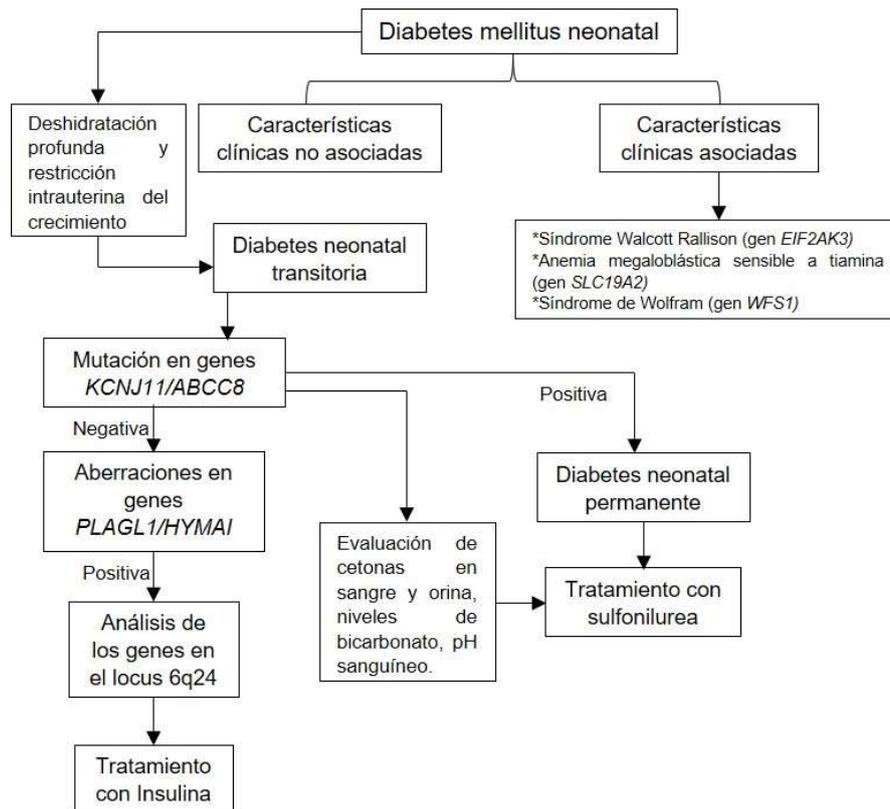


Figura 4. Diagnóstico de la Diabetes mellitus neonatal transitoria (Modificado de Ganesh et al., 2017).

4.2.7. Tratamiento

La base del tratamiento de la Diabetes mellitus neonatal transitoria en el período inmediato del recién nacido es la administración de insulina intravenosa, independientemente de la etiología, acompañado de la rehidratación intravenosa, para tratar la deshidratación que resulta de la diuresis osmótica. La insulina se administra lo antes posible y se usa hasta que los niveles de glucosa en la sangre se estabilicen, la terapia con insulina es crucial para

obtener un crecimiento y aumento de peso satisfactorios, especialmente en bebés con IUGR. La insulina se administra como una infusión intravenosa, para después ser administrada por vía subcutánea o infusión continua de insulina subcutánea (CSII por sus siglas en inglés). Los recién nacidos con Diabetes mellitus neonatal deben recibir una dieta alta en calorías junto con una cantidad adecuada de insulina para promover un crecimiento y aumento de peso satisfactorios (Kataria et al., 2014; Neumann et al., 2018; Temple y Mackay, 2010).

En la mayoría de los pacientes con Diabetes mellitus neonatal transitoria relacionada con mutaciones en los genes *ABCC8* y *KCNJ11*, la terapia con sulfonilurea (SU) oral permite la secreción de insulina a través del cierre independiente de ATP de los canales mutados que son excesivamente activos, lo que da como resultado un buen control glucémico. Las sulfonilureas actúan mediante un mecanismo independiente de ATP al unirse al receptor de sulfonilureas tipo 1 en los canales de potasio sensibles a ATP, bloqueándolos para cerrar estos canales incluso cuando existen mutaciones y, por lo tanto, imitan el efecto del metabolismo de la glucosa (ver Figura 5), (Carmody et al., 2014; Sood et al., 2017).

La terapia con sulfonilurea tiene considerables beneficios terapéuticos. En primer lugar, las fluctuaciones marcadas de glucosa en sangre con la terapia se vuelven ausentes; en segundo lugar, el control de la homeostasis de la glucosa mejora significativamente, por último, los eventos hipoglucémicos son raros en pacientes con TNDM. Cabe destacar que no todos los pacientes responden a la terapia con sulfonilureas, esto es por el hecho de que depende de la mutación específica que posean (Ashcroft et al., 2017).

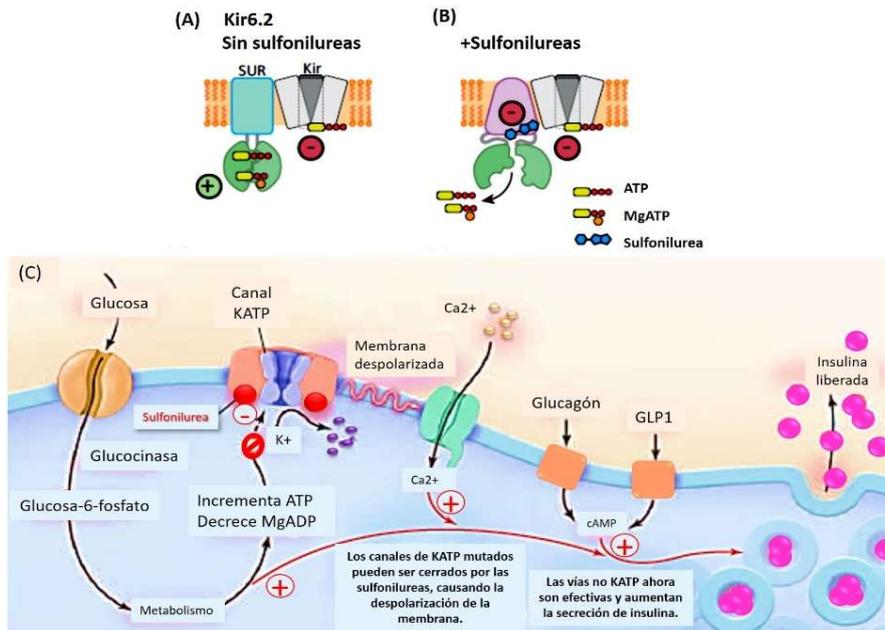


Figura 5. Acción de las sulfonilureas en el canal K-ATP de las células beta pancreáticas. (A) En los canales K-ATP normales, los nucleótidos Mg-ATP estimulan la actividad del canal en la subunidad SUR1 y lo inhibe en la subunidad Kir6.2. Por lo tanto, la actividad del canal es un equilibrio entre estos efectos inhibitorios y estimuladores de los nucleótidos de Mg. (B, C) La unión de la sulfonilurea a la subunidad SUR1 desencadena la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje, lo que provoca la entrada de calcio y un pequeño aumento en la liberación de insulina, en consecuencia, la inhibición de ATP ya no se ve contrarrestada por la activación de Mg-ATP, por lo tanto, el ATP y la sulfonilurea se bloquean ahora para producir la inhibición completa del canal. El aumento en el nivel de calcio intracelular hace que los potenciadores de la secreción de insulina, sean capaces de aumentar la secreción de insulina. También es posible que la dosis de sulfonilurea no sea suficiente para despolarizar la membrana por completo, pero GLP1 puede provocar una despolarización adicional que facilita la entrada de calcio si la mayoría de los canales de K-ATP están cerrados (Modificado de Ashcroft et al., 2017; Pearson et al., 2006).

4.3. Metilación del DNA

4.3.1. Descripción y mecanismo de metilación

La metilación del DNA es una marca epigenética que ha sido asociada con numerosos procesos celulares como la represión transcripcional, la inactivación del cromosoma X, el desarrollo embrionario, la impronta genómica y la alteración de la estructura de la cromatina. Además, es un proceso bioquímico que desempeña funciones cruciales en el control de la expresión génica durante la ovogénesis, espermatogénesis y la embriogénesis temprana (Yong et al., 2016).

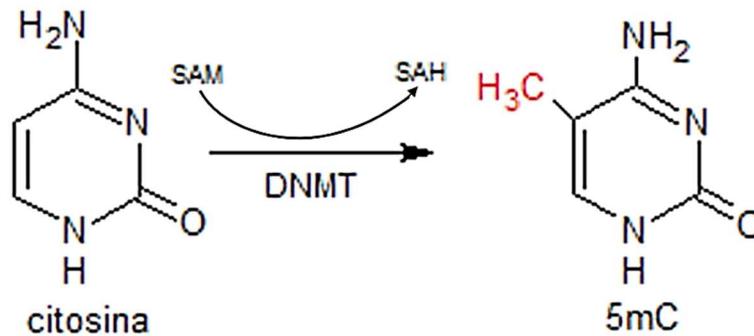


Figura 6. Mecanismo de metilación del DNA. Transferencia del grupo metilo (rojo) a partir de S-adenosilmetionina (SAM) mediante las enzimas DNA metiltransferasas (DNMT), para formar 5-metilcitosina (5mC), (Modificado de Li, et al., 2014).

La metilación del DNA en mamíferos es llevada a cabo por las enzimas DNA metiltransferasas (DNMTs por sus siglas en inglés), que catalizan la transferencia de un grupo metilo (CH_3) utilizando como sustrato S-adenosilmetionina (SAM), considerado como el donador fundamental de grupos metilos, a la posición C5 de un residuo de citosina formando 5-metilcitosina (5mC), (ver figura 6). La metilación del DNA generalmente ocurre en las islas CpG, que son

intervalos de DNA caracterizados por contener una alta composición de pares de citosina y guanina unidos por un fosfato (Uysal et al., 2015; Uysal et al., 2016).

Se han caracterizado cinco enzimas DNMTs diferentes: DNMT1, DNMT2, DNMT3A, DNMT3B y DNMT3L. Las enzimas DNMTs poseen tres regiones estructurales diferentes, una región N-terminal, otra región C-terminal y una región central (ver Figura 7). La región N-terminal de la enzima DNMT1 funciona como plataforma para el ensamblaje de varias proteínas involucradas en el control de la estructura de la cromatina y en la regulación de genes, mientras que la región N-terminal de la familia de enzimas DNMT3 está involucrada en el direccionamiento de las enzimas a la cromatina y en la regulación de su función. Por otra parte, la región C-terminal tanto de la enzima DNMT1 como de las enzimas DNMT3 participa en la transferencia de grupos metilo a partir del donador SAM al sustrato de DNA. Por último, la región central proporciona una conexión entre las regiones N-terminal y C-terminal de las enzimas (Uysal et al., 2016; Jurkowska y Jeltsch, 2016; Weaver y Bartolomei, 2013).

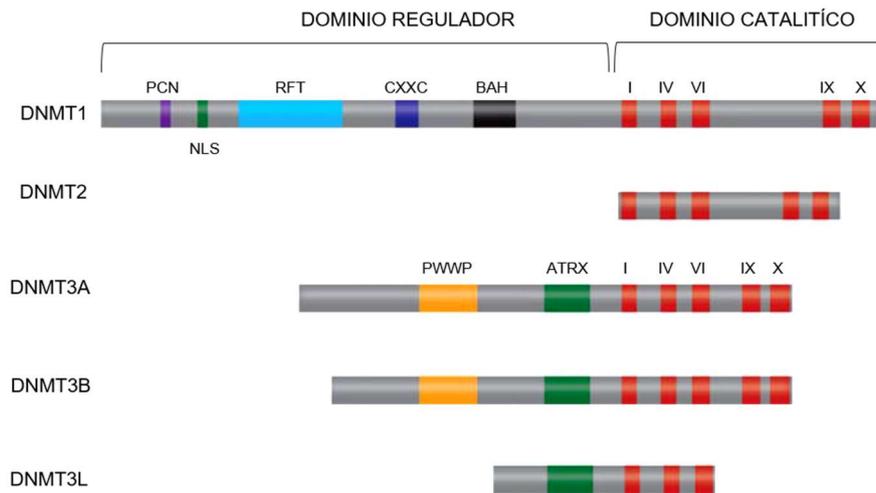


Figura 7. Estructura de las enzimas DNA metiltransferasas de mamíferos. Las DNMTs abarcan tres regiones estructurales diferentes, una región reguladora N-terminal, una región catalítica C-terminal y una región de enlace central. El dominio catalítico de las DNMTs consta de 10 motivos característicos y seis de ellos se conservan evolutivamente en los mamíferos (I, IV, VI, VIII, IX y X), cada uno contando con funciones específicas, el motivo I consiste en un sitio de unión a S-adenosil-L metionina, el motivo IV puede asociarse con el sustrato de citosina en el sitio activo, el motivo IX confiere estabilidad al sitio de unión al sustrato y el motivo X crea un sitio de unión a SAM, la función del motivo VIII sigue sin estar clara. El dominio regulador N-terminal consta de subdominios que le permiten realizar más fácil las interacciones con otras proteínas y a su vez permitir la interacción con la secuencia de DNA. La tercera región de las DNMTs, el dominio enlazador central, involucra péptidos de lisina-glicina y proporciona una conexión entre los dominios N y C-terminales (Modificado de Li et al., 2014; Uysal et al., 2016).

La metilación del DNA es un proceso dinámico de metilación y desmetilación, en donde la enzima DNMT1 se encarga del mantenimiento de la metilación, mientras que las enzimas DNMT3A

y DNMT3B realizan la metilación *de novo* (ver Figura 8), (Uysal et al., 2016).

La enzima DNMT1 está presente en la horquilla de replicación donde metila rápidamente los sitios de DNA hemimetilados que se generan durante la replicación del DNA, restaurando así el patrón de metilación original establecido durante la fase S del ciclo celular; esta enzima es altamente expresada en células en proliferación (Auclair y Weber, 2012; Jurkowska y Jeltsch, 2016).

La familia de enzimas DNMT3 está formada por tres miembros: DNMT3A, DNMT3B y DNMT3L. Estas enzimas son altamente homólogas, pero poseen distinta especificidad y patrones de expresión. La enzima DNMT3A es responsable de generar los patrones de metilación del DNA al madurar los gametos y se requiere principalmente para la diferenciación celular normal de las células somáticas. Por otra parte, la enzima DNMT3B está especializada exclusivamente para la metilación de los sitios CpG en las secuencias de DNA repetidas presentes en las regiones satelitales pericéntricas de los cromosomas. La enzima DNMT3B es más activa en las primeras semanas del desarrollo embrionario y es la principal enzima responsable de la metilación *de novo* del DNA durante la implantación. Otro miembro de la familia de enzimas DNMT3, es la enzima DNMT3L, la cual no tiene ninguna actividad catalítica de metiltransferasa porque carece de motivos catalíticos en su estructura, en consecuencia, no transfiere activamente grupos metilo a los residuos de citosina, sino que, estimula la actividad de las enzimas DNMT3A y DNMT3B mediante la interacción de sus dominios C-terminales. (Moore, et al., 2013; Jurkowska y Jeltsch, 2016; Sadakierska-Chudy et al., 2015; Uysal et al., 2016; Weaver y Bartolomei, 2013).

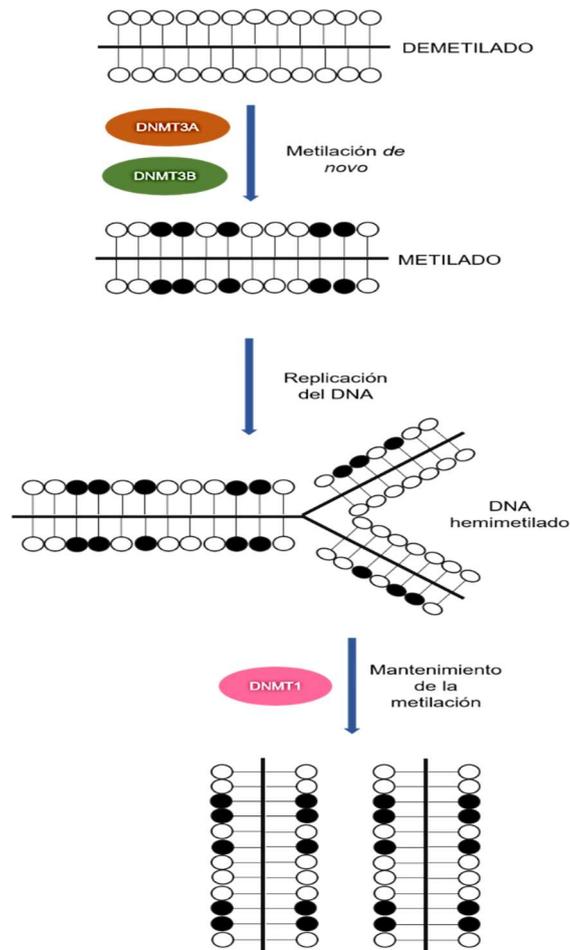


Figura 8. Mecanismo del mantenimiento de la metilación en el DNA. Las enzimas DNA metiltransferasas *de novo* DNMT3A y DNMT3B van a metilar el DNA desmetilado, generando una metilación simétrica en ambas cadenas de DNA. En la replicación semiconservativa del DNA, una cadena de DNA se empareja con una de las cadenas parenterales, esta nueva cadena no estará metilada, generando lo que se conoce como DNA hemimetilado. La simetría de la metilación se restaura mediante la acción de la metiltransferasa de mantenimiento DNMT1, que completa los sitios hemimetilados durante la replicación del DNA (Modificado de Li et al., 2014).

4.3.2. Desmetilación global del genoma

Después de la fecundación, en el periodo de preimplantación, se produce una desmetilación global del genoma, en donde el genoma paterno y el genoma materno difieren en la cinética de desmetilación. El pronúcleo paterno se somete a una desmetilación activa (ver Figura 9), es decir, al mecanismo mediado por las enzimas TET (*ten-eleven translocation*) que agregan un grupo hidroxilo al grupo metilo de la 5mC para formar 5-hidroximetilcitosina (5hmC), otras oxidaciones catalizadas por las enzimas TET dan como resultado 5-formilcitosina (5fC) y 5-carboxilcitosina (5caC). Por su parte el genoma materno sufre una desmetilación pasiva, en donde la inhibición de la enzima DNMT1 permite que la cadena recién sintetizada permanezca sin metilar y, en consecuencia, reduzca el nivel general de metilación. La desmetilación global del DNA es importante para establecer estados pluripotentes en el embrión en desarrollo. Después de que es llevada a cabo esta desmetilación, ocurre una remetilación global del genoma que se inicia justo antes de la etapa de blastocisto y ocurre predominantemente en la masa celular interna (ICM por sus siglas en inglés), (Jurkowska y Jeltsch, 2016; Li et al., 2014; Moore et al., 2013; Strogantsev y Ferguson-Smith, 2012; Wu y Zhang, 2014).

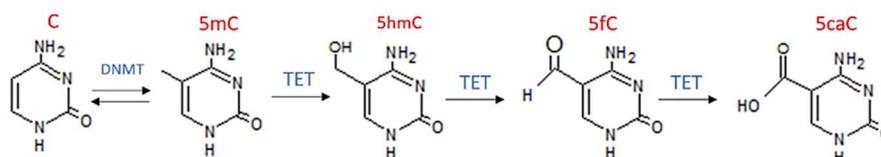


Figura 9. Mecanismo de la desmetilación activa del DNA. La desmetilación activa del genoma paterno es llevada a cabo mediante las enzimas TET, que pueden hidroxilar la metilcitosina (5mC) para formar 5-hidroximetilcitosina (5hmC), la oxidación adicional produce 5-formilcitosina (5fC) y 5-carboxilcitosina (5caC), 5fC y 5caC pueden eliminarse activamente por las glicosilasas de DNA (Modificado de Li et al., 2014).

4.4. Impronta genómica

4.4.1. Definición

La impronta genómica es un fenómeno epigenético mediante el cual, la expresión de un gen se restringe a un solo alelo. Se han descrito aproximadamente 100 genes improntados en mamíferos (ver Figura 10) y la mayoría de estos genes se encuentran organizados en grupos o *clusters* que están regulados por regiones de control de la impronta (ICRs por sus siglas en inglés). Estas regiones regulan la expresión monoalélica a través de la metilación diferencial del DNA dependiendo del origen de los alelos, esta metilación diferencial es mantenida incluso durante el periodo de preimplantación y reestablecida de forma sexo-específica en la línea germinal durante la gametogénesis para asegurar la totipotencia y la pluripotencia de las líneas de células madre (Ishida y Moore, 2013; Reig y Concha, 2012).

El papel morfogenético de la impronta genómica en la diferenciación de los tipos de tejidos es determinar la tasa de transcripción de los genes que influyen en el crecimiento a través de un fino equilibrio entre las expresiones de los alelos parentales (Platanov e Isaev, 2006).

La impronta genómica tiene propiedades importantes, la marca debe poder influir en la transcripción; debe ser heredable en linajes somáticos de modo que se propague fielmente en células hijas durante la división celular; y debe haber un mecanismo de borrado de esta marca para que los cromosomas heredados paternalmente en la línea germinal femenina puedan establecer una nueva marca indicativa de su origen materno y viceversa, que los cromosomas heredados maternalmente que contribuyen a la espermatogénesis en el varón en desarrollo pierdan su identidad materna (Bartolomei y Ferguson-Smith, 2011).

Los genes improntados tienen diversas funciones en el desarrollo y crecimiento fetal, en la fisiología y comportamiento de los mamíferos, algunos genes improntados también tienen funciones en la regulación del crecimiento celular y en la función placentaria (Ishida y Moore, 2013; Weaver y Bartolomei, 2013, Ratajczak, 2012).

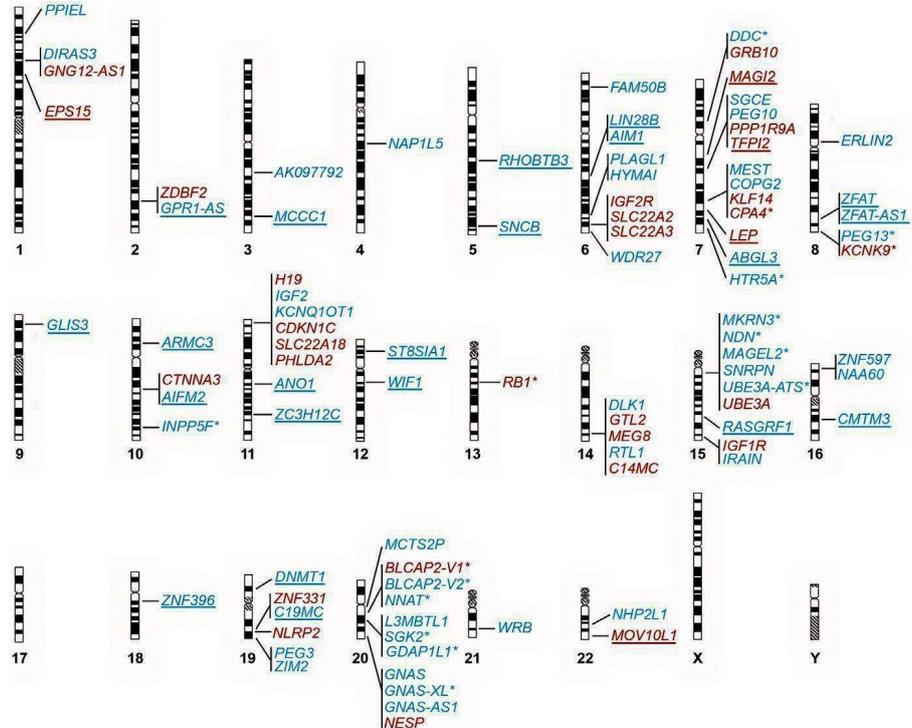


Figura 10. Ideograma de los cromosomas humanos con la posición de los genes improntados conocidos. Los genes marcados en azul son expresados a partir de alelo paterno, genes marcados en rojo son expresados a partir del alelo materno (Monk, 2015).

La expresión inapropiada de los genes improntados pueden generar los trastornos de impronta, esta expresión inapropiada puede deberse a causa de alteraciones cromosómicas o alteraciones epigenéticas (Mackay y Temple, 2017; Monk et al., 2019).

4.4.2. Establecimiento de la impronta genómica

En el periodo de post-implantación, en las células germinales primordiales (PGC por sus siglas en inglés), se genera una desmetilación de los loci improntados, que será restablecida en las células germinales en diferentes momentos del desarrollo y en diferentes etapas celulares en las gónadas masculinas y femeninas. En la línea germinal femenina, la metilación *de novo* comienza después del nacimiento, durante el crecimiento de los ovocitos y se completa cuando los ovocitos están totalmente desarrollados. En contraste, en la línea germinal masculina, la metilación *de novo* de cada ICR comienza a establecerse antes del nacimiento, durante la formación de las espermatogonias, es decir, antes de que las células inicien su proceso meiótico (ver Figura 11), (Canovas y Ross, 2016; Hanna y Kelsey, 2014; Ishida y Moore, 2013; Weaver y Bartolomei, 2013).

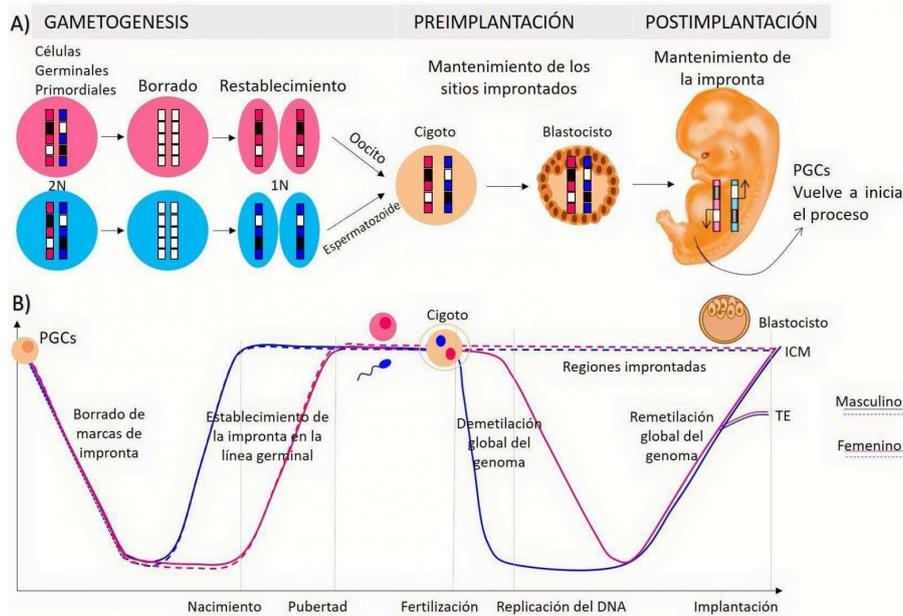


Figura 11. Borrado, restablecimiento y mantenimiento de las marcas de metilación en los loci improntados. A) Durante la gametogénesis hay un borrado de la metilación en los alelos maternos y paternos que será restablecida momentos antes de la implantación, una vez formado el cigoto las marcas de metilación de los sitios improntados van a ser mantenidas hasta momentos de postimplantación. Los cromosomas maternos están representados en color rosa y los cromosomas paternos en color azul, los cuadros rellenos en blanco y negro en los cromosomas indican la presencia o ausencia de modificaciones alélicas respectivamente. B) Establecimiento de la impronta genómica. Después de la fertilización se genera una desmetilación global del genoma, manteniendo la metilación de las regiones improntadas; esta desmetilación global es restablecida momentos antes de la implantación. Por su parte, durante la formación de las células germinales primordiales se genera un borrado de la metilación de los sitios improntados que va a ser reestablecida en diferentes momentos dependiendo del sexo del embrión. Líneas discontinuas indican metilación de los sitios improntados, azul para el masculino y rosa para el femenino (Modificado de Ishida y Moore, 2013).

Después de que las marcas de impronta son restablecidas en la línea germinal, es importante que estas marcas se mantengan para que durante el desarrollo del organismo se puedan lograr patrones de expresión apropiados (Bartolomei y Ferguson-Smith, 2011).

4.5. Región 6q24

En humanos el locus 6q24 es una región improntada relativamente pequeña que tiene dos sitios de unión a CTCF (*Chromatin-binding factor*) la cual es una proteína de 11 dedos de zinc que reconoce la secuencia CCCTC, que se expresa de forma ubicua y que está implicada en diversos papeles en la regulación de genes mediante la unión al DNA no metilado; estos dos sitios de unión a CTCF están separados por más de 70 kb que interactúan físicamente y restringen la marca de impronta a aquellos genes que están dentro de este dominio, *PLAGL1* (*Pleomorphic adenoma gene-like 1*) e *HYMAI* (*Hydatidiform mole associated and imprinted*). Este dominio improntado está regulado por una región de metilación diferencial (DMR por sus siglas en inglés), ubicada dentro del promotor 1 (P1) del gen *PLAGL1*, en el primer exón del mismo gen y esta DMR se encuentra metilada en el alelo materno, pero desmetilada en el alelo paterno (ver Figura 12), (Arima y Wake, 2006; Barbetti et al., 2017; Yorifuji et al., 2018).

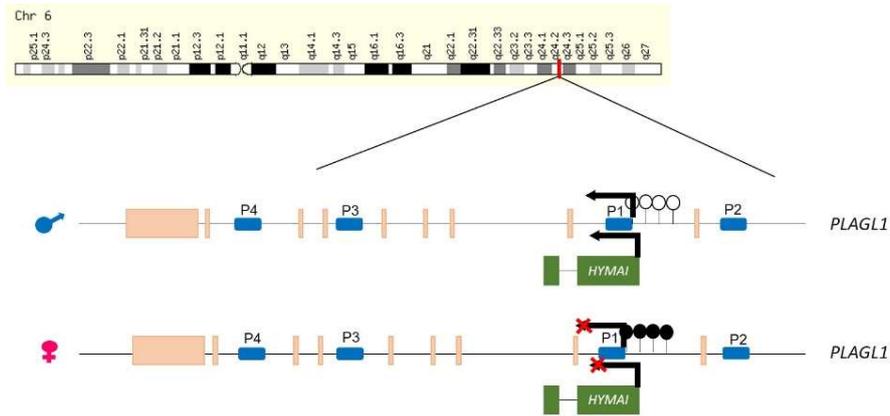


Figura 12. Locus improntado en el cromosoma 6 y los genes presentes en el locus. Se muestran los genes improntados presentes en el locus 6q24, *PLAGL1* e *HYMAI*. Las barras rosas representan los exones del gen, mientras que las barras azules representan los promotores del gen *PLAGL1* y los círculos sin rellenar muestran la desmetilación en la región de metilación diferencial (DMR) en el alelo paterno pero metilada en el alelo materno, la cual es mostrada por los círculos en negro. Las flechas indican la transcripción activa de los genes que se lleva a cabo a partir del alelo paterno (Modificado de Elhamamsy, 2017).

Los defectos en la metilación en el locus improntado del cromosoma 6q24 dan como resultado Diabetes mellitus neonatal transitoria y nacimientos pequeños para la edad gestacional (SGA por sus siglas en inglés). Estos fenotipos se atribuyen principalmente a la expresión inadecuada del gen *PLAGL1* (Okuno et al., 2016).

4.6. Genes *PLAGL1* e *HYMAI* y su relación con la Diabetes mellitus neonatal transitoria

El gen *PLAGL1* es un gen improntado que está ubicado en el locus 6q24 humano, es expresado a partir del alelo paterno y codifica para una proteína de dedos de zinc de tipo Cys2Hys2 que desempeña funciones como factor de transcripción y cofactor de otras proteínas

reguladoras, además regula procesos como la apoptosis y el ciclo celular (Iglesias et al., 2012; Vega et al., 2017).

El gen *PLAGL1* consta de doce exones y se transcribe a partir de cuatro promotores diferentes (P1 - P4) de manera que da lugar a diferentes transcritos que dependen de qué promotor proviene la transcripción. La expresión monoalélica del gen se origina a partir del promotor 1 (P1) improntado en diversos tejidos durante el desarrollo fetal y durante toda la vida como corazón, riñón, músculo, médula espinal, glándula suprarrenal, pulmón y en fibroblastos de la piel, sin embargo, un segundo promotor (P2) no improntado que se encuentra 55 kb río arriba del P1 promueve la expresión bialélica del gen en algunos tejidos predominando en sangre periférica, además de hígado y el bazo. Uno de los dos sitios de unión a CTCF se encuentra a 5 kb río arriba del promotor 1 del gen *PLAGL1* y entre el promotor 2 (P2), el segundo sitio de unión a CTCF se encuentra dentro del último exón del gen *PLAGL1*. El tercer promotor (P3) ubicado en una región promotora única, produce transcripciones que incluyen solo los últimos tres exones del gen (ver Figura 13). Además, el gen *PLAGL1* se expresa de forma más abundantemente durante el desarrollo embrionario tardío y su expresión disminuye durante la desaceleración del crecimiento postnatal en múltiples órganos (Barbetti et al., 2017; Iglesias et al., 2013; Valleley et al., 2007; Vega et al., 2017; Yorifuji et al., 2018).

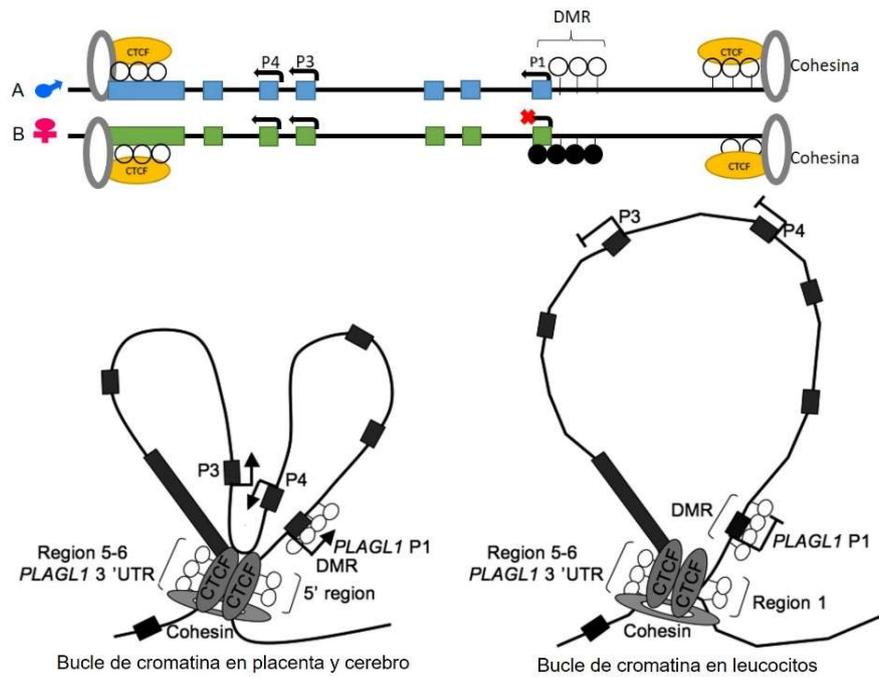


Figura 13. Modelo propuesto de la estructura del gen *PLAGL1*. Expresión del gen *PLAGL1* a partir del alelo paterno por los promotores P1, P3 y P4. La metilación presente en la DMR en el promotor 1 evita la expresión del gen *PLAGL1* a partir de los promotores. Esta región tiene sitios de unión a CTCF en una región 5' cercanos al promotor P1, entre los promotores P3 y P4 y entre el 3' UTR del gen *PLAGL1*. Esta disposición de CTCF y las interacciones entre CTCF y cohesina podrían ayudar a establecer bucles de cromatina específicos de alelos activos (paternos) e inactivos (maternos), contribuyendo al mantenimiento de la expresión improntada de las diferentes transcripciones (Modificado de Iglesias et al., 2013).

El gen *HYMA1* codifica para un RNA largo no codificante que se transcribe desde el mismo promotor improntado (P1) y en la misma dirección que el gen *PLAGL1*, además se expresa de forma ubicua a lo largo del desarrollo y durante la maduración del organismo. Este lncRNA es importante en la regulación de la expresión del gen

PLAGL1 mediante el posible reclutamiento de enzimas modificadoras de la cromatina asociadas con la transcripción activa (Hoffman y Spengler, 2015; Iglesias et al., 2014; Vega et al., 2017).

Como el gen *PLAGL1* desempeña un papel importante en el control del crecimiento fetal durante el desarrollo, el metabolismo y la proliferación celular, las alteraciones genéticas y epigenéticas de este gen se han relacionado con algunas fisiopatologías como la Diabetes mellitus neonatal transitoria, el síndrome de Beckwith Wiedemann y el cáncer (Vega et al., 2017).

La pérdida de la expresión del gen *PLAGL1* se observa con frecuencia en muchos tumores humanos, como por ejemplo en tumores mamarios y ováricos. Caso contrario, la sobreexpresión del gen *PLAGL1* es la causa principal de generar TNDM, a través de su función como un regulador de la detención del ciclo celular y la apoptosis, por lo que esta sobreexpresión en la vida fetal conduce a un desarrollo deteriorado del páncreas provocando la reducción de las células beta de los islotes de Langerhans en el páncreas y a su vez la alteración de la eficiencia durante un tiempo crítico del desarrollo embrionario, lo que al mismo tiempo causa una capacidad secretora deficiente de insulina. En el período postnatal el rápido aumento de la masa celular de tipo beta de los islotes de Langerhans genera a su vez una normalización de la capacidad secretora de insulina (Iglesias et al., 2012; Iglesias et al., 2014; Temple y Shield, 2002; Sperling, 2014; Varrault et al., 2017; Vega et al., 2017; Yorifuji et al., 2018).

4.7. Genes *ABCC8* y *KCNJ11* y su relación con la Diabetes mellitus neonatal transitoria

El gen *ABCC8* (*ATP binding cassette subfamily C member 8*), codifica para la proteína SUR1 (receptor de sulfonilurea tipo 1 por sus siglas en inglés), esta proteína contiene dos dominios de unión a

nucleótidos (NBD por sus siglas en inglés) que están involucrados en la unión e hidrólisis de nucleótidos de magnesio (Mg-ADP y Mg-ATP). Se ha descrito que mutaciones localizadas en el gen *ABCC8* son la causa de generar hiperinsulinismo congénito y Diabetes mellitus neonatal principalmente de forma transitoria. Por su parte, el gen *KCNJ11* (*Potassium voltage-gated channel subfamily J member 11*), es un miembro de la familia de genes del canal de potasio y codifica para una proteína de los canales rectificadores internos del potasio (Kir por sus siglas en inglés) conocida como Kir6.2 en donde cada subunidad Kir6.2 forma un poro selectivo de potasio, cada subunidad también tiene un sitio de unión para nucleótidos de adenina, y la unión de ATP a uno o más de estos sitios conduce al cierre del poro (ver Figura 14). Las mutaciones presentes en este gen se han descrito más comúnmente en Diabetes mellitus neonatal de tipo permanente (Gole et al., 2018; Haghyirdizadeh et al., 2015; Katanic et al., 2017; Proks et al., 2010; Thurber et al., 2015).

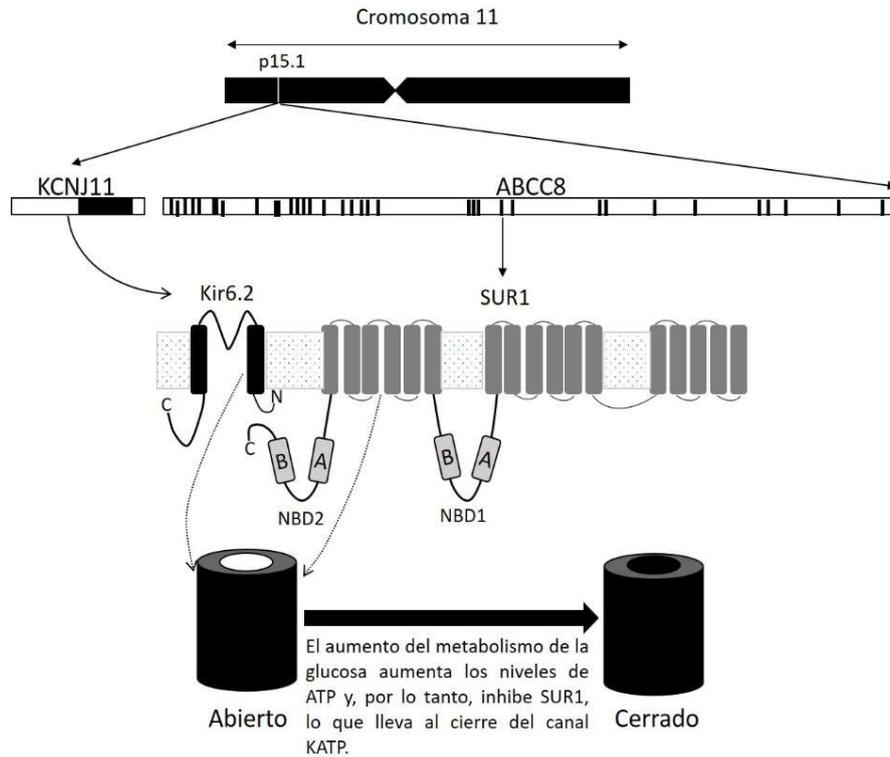


Figura 14. Proteínas codificadas a partir de los genes *ABCC8* y *KCNJ11*. Los genes *KCNJ11* y *ABCC8* están uno junto al otro en el cromosoma 11p15.1. El gen *KCNJ11* está formado por un solo exón (cuadro oscuro) que codifica para la proteína Kir6.2, mientras que el gen *ABCC8* tiene 35 exones (cuadros oscuros) que codifican para la proteína SUR1. Ambas proteínas son subunidades del canal de potasio sensible a ATP (K-ATP). El metabolismo de la glucosa puede afectar los niveles de ATP y, por lo tanto, la función del canal K-ATP (Modificado de Haghvirdizadeh et al., 2015).

En la membrana plasmática de las células beta pancreáticas, el canal de K^+ sensible a ATP (K-ATP) es un complejo de proteínas que se compone por ocho subunidades de las cuales cuatro son canales iónicos que forman poros (Kir6.2) y cuatro son receptores

reguladores de sulfonilurea (SUR1) que rodean el poro Kir6.2 del canal de K-ATP y lo dota de sensibilidad a los efectos estimuladores de los nucleótidos y a la activación o inhibición por fármacos terapéuticos (ver Figura 15). El canal de K-ATP en las células beta-pancreáticas desempeña un papel clave en la liberación de insulina detectando indirectamente la concentración de glucosa en la sangre. Cuando la concentración de glucosa en sangre es elevada, la concentración de ATP dentro de las células beta también aumenta debido a la captación activa de glucosa y al metabolismo. El ATP puede unirse a la subunidad Kir6.2 e inhibir directamente al canal de K-ATP, lo que conlleva a la despolarización de la membrana plasmática de las células beta y a la activación de los canales de calcio dependientes de voltaje, la entrada de calcio a la célula desencadena la liberación de insulina a partir de las células beta (Ashcroft et al., 2017; Cattoni et al., 2019; Haghvirdizadeh et al., 2015; Li et al., 2017; Molnár et al., 2017; Romanisio et al., 2018).

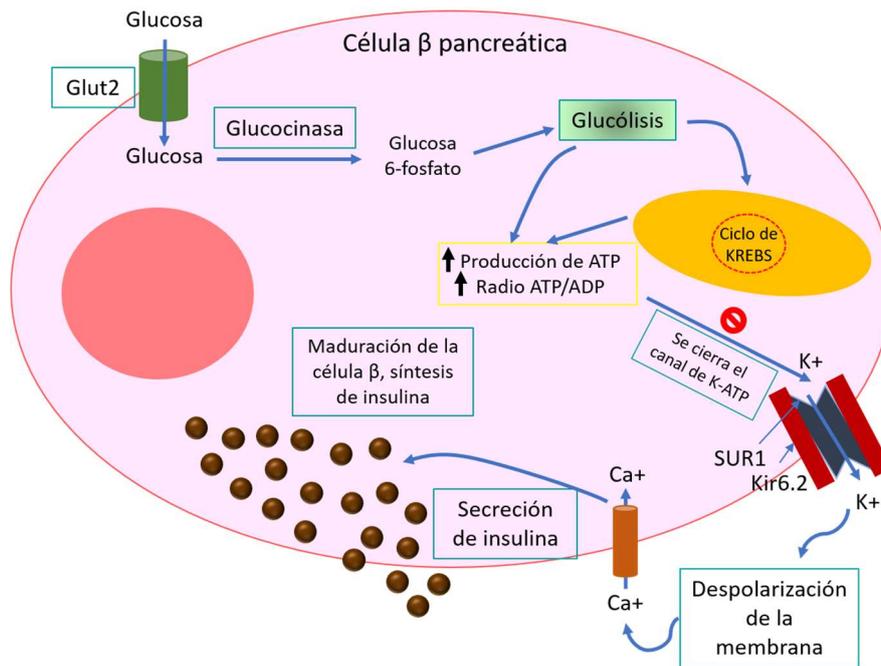


Figura 15. Rutas metabólicas en la célula beta-pancreática involucradas con la liberación de insulina. La glucosa ingresa a la célula a través del transportador GLUT2. Posteriormente, el metabolismo glucolítico y mitocondrial de la glucosa conduce a un aumento de ATP y una caída de Mg-ADP. Esto da como resultado el cierre del canal de K-ATP, la despolarización de la membrana, la apertura de canales de Ca²⁺ dependientes de voltaje, la entrada de Ca²⁺ y la exocitosis de gránulos de insulina (Modificado de Tarasov et al., 2004).

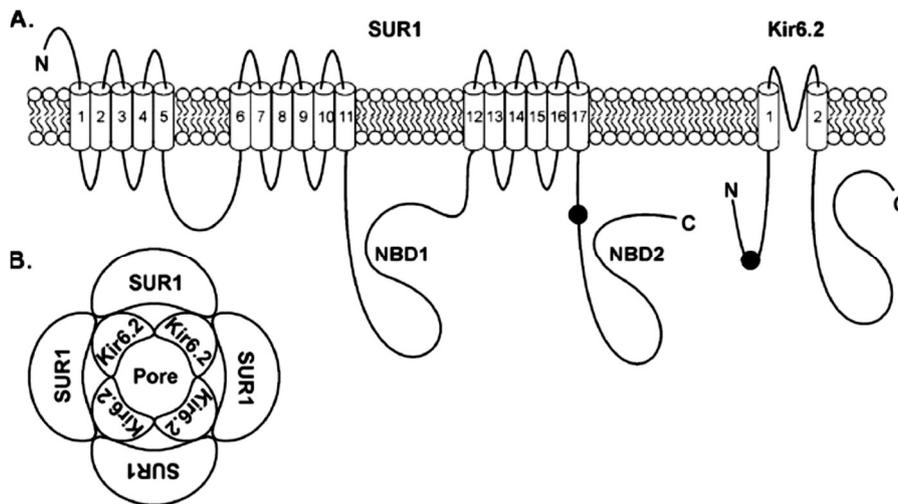


Figura 16. Estructura del canal K-ATP pancreático. A) Los canales pancreáticos de K-ATP están compuestos por los 17 receptores de SUR1 y las subunidades Kir6.2. SUR1 posee dos pliegues de unión a nucleótidos (NBD1 y NBD2) que forman dímeros para establecer los sitios catalíticos de detección de ADP y Mg-ATP. SUR1 es también el sitio de unión de alta afinidad para las sulfonilureas. La proteína Kir6.2 forma la región de poros en los canales K-ATP. B) SUR1 y Kir6.2 forman un octámero con 4 subunidades Kir6.2 rodeadas por 4 subunidades SUR1 (Recuperado de Weedon y Light, 2016).

Los canales de K-ATP desempeñan un papel fundamental en múltiples tejidos incluidos el corazón, el cerebro, el músculo esquelético y las células endócrinas, al actuar como sensores metabólicos, acoplado el metabolismo celular a los flujos de potasio de la membrana plasmática y la actividad eléctrica, en las células beta pancreáticas vincula los niveles de glucosa en plasma con la secreción de insulina. En las células beta pancreáticas su actividad está regulada principalmente por las concentraciones intracelulares de ATP y ADP, lo que les permite regular el potencial de membrana según el estado energético de la célula y, por lo tanto, mediar la secreción de insulina estimulada por la glucosa. La elevación de la

glucosa extracelular aumenta la absorción de glucosa y el metabolismo y a su vez estimula la producción de ATP a expensas de ADP. Estos cambios de nucleótidos provocan el cierre del canal de K-ATP, es decir, el ATP tiene un efecto inhibitorio lo que provoca el cierre del canal de K-ATP al unirse a la subunidad Kir6.2 aumentando la concentración intracelular de iones de K^+ , lo que desencadena la despolarización de la membrana, la apertura de los canales de calcio (Ca^{2+}) dependientes de voltaje y el flujo de iones de calcio, el cierre del canal también estimula la exocitosis de los gránulos que contienen insulina a partir de las células beta pancreáticas. La disminución de la actividad del canal de K-ATP no solo inicia la secreción de insulina, su cierre adicional también contribuye al aumento gradual en el potencial de acción de disparo a concentraciones de glucosa por encima del umbral. Por otra parte, la interacción de los nucleótidos de Mg (Mg-ATP o Mg-ADP) con la proteína SUR1 provoca la activación del canal, teniendo el Mg^{2+} un efecto estimulante sobre la actividad del canal (ver Figura 16), (Ashcroft et al., 2017; Balamurugan et al., 2019; Haghvirdizadeh et al., 2015; Flanagan et al., 2017; Molnár et al., 2017; Proks et al., 2010; Vedovato et al., 2016).

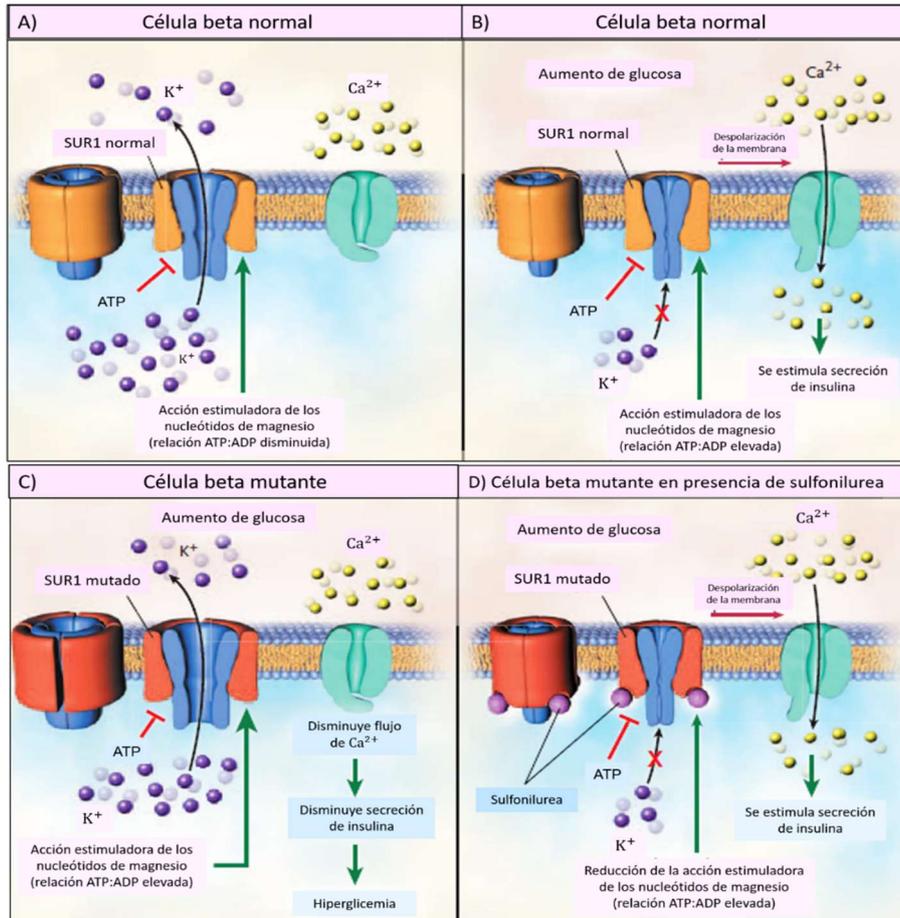


Figura 17. Función del canal de K-ATP en las células beta pancreáticas normales y mutadas. A) Se muestra cómo el ATP inhibe los canales K-ATP de células beta a través de su interacción con Kir6.2. Cuando los niveles de glucosa son bajos, esta acción inhibitoria se equilibra con la acción estimuladora de los nucleótidos de magnesio en SUR1 (indicada por la flecha verde grande), que aumenta la actividad del canal. B) La despolarización de la membrana activa los canales de calcio dependientes del voltaje, y la entrada de calcio estimula la secreción de insulina. Un aumento en el metabolismo de la glucosa aumenta la proporción de ATP a ADP y, por lo tanto, reduce la acción estimuladora de SUR1. C y D) En un

paciente con Diabetes neonatal, la acción estimuladora mejorada del receptor mutante es suficiente para mantener abiertos los canales de K-ATP incluso en una proporción elevada de ATP a ADP, atenuando así la liberación de insulina y produciendo hiperglucemia, la sulfonilurea contrarresta el efecto estimulante de la mutación para estimular la liberación de insulina (Modificado de Babenko et al., 2006).

Cuando los niveles de glucosa en sangre periférica son bajos, la relación ATP/ADP citosólica se reduce, y da como resultado un flujo basal de iones K^+ de la célula a través de la actividad del canal de K-ATP lo que mantiene el potencial de membrana de las células beta pancreáticas. Este potencial de membrana polarizada evita la entrada de iones Ca^{2+} a través de canales de calcio dependientes de voltaje. El ion Ca^{2+} es un segundo mensajero intracelular ubicuo que es crítico para el funcionamiento celular. Estos canales de calcio influyen en los canales de K^+ dependientes de voltaje para la repolarización de la membrana celular, lo que conlleva al cierre de los canales de calcio dependientes de voltaje. El aumento de los niveles de Ca^{2+} libre intracelular desencadena otros componentes de la vía de secreción de insulina para liberar gránulos en la membrana plasmática o cerca de ella (ver Figura 17), (Haghvirdizade et al., 2015; Weedon y Light, 2016).

Las mutaciones de pérdida de función en los genes *KCNJ11* y *ABCC8* causan hiperinsulinismo al conducir a una pérdida de función de los canales de K-ATP en la membrana plasmática a través de los efectos sobre la expresión génica, la síntesis de proteínas, o al afectar la capacidad de SUR1 para regular la actividad del canal, esto se produce reduciendo o anulando la activación del canal por los nucleótidos de magnesio, Mg-ADP y/o Mg-ATP. Mientras que las mutaciones de activación (ganancia de la función) en los mismos genes causan Diabetes mellitus neonatal ya sea de tipo transitoria o permanente, al reducir la capacidad del ATP generado metabólicamente para cerrar el canal, o evitando la actividad eléctrica

inducida por la glucosa y la liberación de insulina, por otra parte mutaciones que aumentan la capacidad del Mg^{2+} para estimular la actividad del canal que se asocia con la secreción inadecuada de insulina (Flanagan, et al., 2017; Haghvirdizadeh et al., 2015; Takagi et al., 2017).

4.8. Gen *ZFP57* y la relación con la Diabetes mellitus neonatal transitoria

En una proporción de pacientes con Diabetes mellitus neonatal transitoria que presentan hipometilación de múltiple loci improntados, se han identificado mutaciones recesivas en el gen *ZFP57*, el cual es un determinante importante para el diagnóstico de TNDM y un factor crucial para comprender los factores genéticos de HIL (Touati et al., 2019).

El gen *ZFP57* está localizado en el cromosoma 6p22.1 y está compuesto por 6 exones y codifica para una proteína de dedos de zinc de 516 aminoácidos, que incluye un dominio asociado a la caja Krüppel (KRAB), (ver Figura 18). Esta proteína de dedos de zinc es una proteína que regula la transcripción y es necesaria para el mantenimiento de la metilación específica de origen parenteral de los ICR posterior a la fertilización, es decir, es necesaria para el mantenimiento de los sitios improntados (Baglivo et al., 2013; Boonen et al., 2013; Iyigun et al., 2017; Temple y Mackay, 2010; Touati et al., 2019).

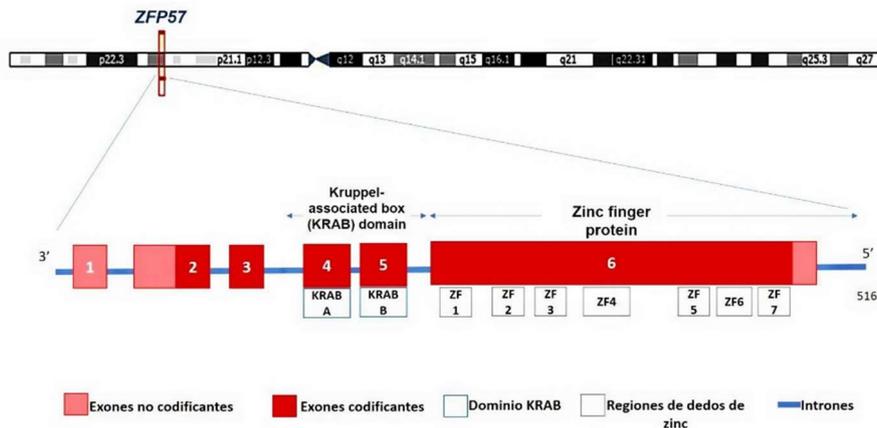


Figura 18. Representación esquemática de la ubicación del gen *ZFP57* en el cromosoma 6 (Modificado de Touati et al., 2019).

Se ha demostrado también que la proteína *ZFP57* además de ser necesaria para mantener la metilación del DNA específica del origen parenteral, es necesaria también para el mantenimiento de la metilación de la histona 3 en la lisina 9 (H3K9me3) y para la expresión génica en muchos loci improntados; se ha demostrado que un complejo entre la proteína *ZFP57* y *KAP1* interactúa con las tres enzimas *DNMT* catalíticamente activas, lo que proporciona un mecanismo probable para su función en el mantenimiento de la metilación del DNA (ver Figura 19). En humanos, se ha encontrado que las mutaciones en el gen *ZFP57* están presentes en pacientes con trastornos de hipometilación de múltiples loci, incluida la Diabetes mellitus neonatal transitoria tipo 1 (Baglivo et al., 2013; Shi et al., 2019; Touati et al., 2019).

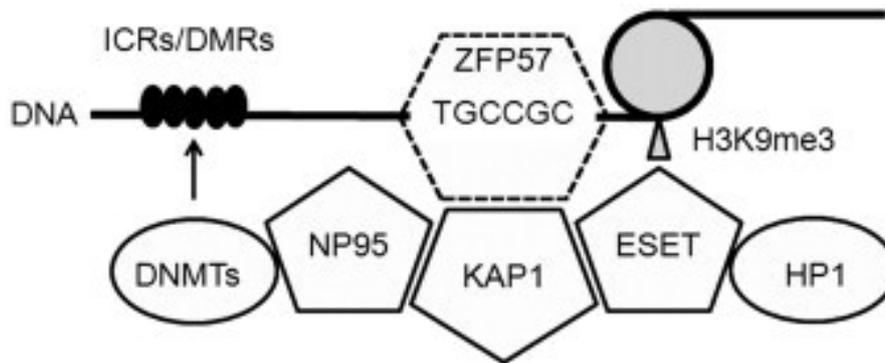


Figura 19. Regulación de la proteína ZFP57 en la región del control de la impronta (ICR). La regulación de la metilación del DNA específica de origen parenteral en múltiples ICRs mediada por la proteína ZFP57. ZFP57 actúa como un ancla para KAP1, que a su vez recluta a otros reguladores epigenéticos importantes (Recuperado de Neidhart, 2016).

La pérdida de expresión de la proteína ZFP57 da como resultado la activación de algunos genes improntados en embriones y en células madre embrionarias (ESC por sus siglas en inglés). En el caso de la TNDM, la proteína ZFP57 reprime la expresión del gen *PLAGL1* derivada del promotor improntado (P1). Se ha demostrado que la proteína humana ZFP57 se une a una secuencia de DNA de la región de control de impronta del gen *PLAGL1* de una manera dependiente de la metilación y que la falta de metilación en el alelo materno reduce el reclutamiento del represor ZFP57/KAP1 en este locus, permitiendo su transcripción, por lo que se puede indicar un mecanismo molecular por el cual las mutaciones genéticas y epigenéticas del gen *ZFP57* (generalmente en los residuos R248H y H277N) causan TNDM1, o incluso la hipometilación en el alelo materno del locus 6q24 causa una pérdida de la unión de la proteína ZFP57 y por ende la activación del gen *PLAGL1* a partir de ese alelo, generando su sobreexpresión (Baglivo et al., 2013; Vega et al., 2017).

5. Discusión

Las enfermedades o trastornos causados por alteraciones de la impronta genómica son patologías que van a alterar la calidad de vida de los pacientes que la presentan al generar la expresión inadecuada de los genes improntados, exhibiendo diversos fenotipos, y afectando particularmente el crecimiento, estos genes regulados por la impronta genómica son muy importantes para el correcto desarrollo embrionario, neurológico y de tejidos extraembrionarios y desempeñan funciones importantes en procesos fundamentales como la diferenciación celular, el crecimiento prenatal y postnatal, la función neurológica y la memoria, la función de la vía de la insulina y cuando está desregulado, el cáncer. Como las marcas de impronta una vez establecidas, persisten a lo largo del ciclo de vida de un organismo, los errores de impronta originados en la línea germinal se mantienen de manera similar en los tejidos somáticos, lo que resulta en el desarrollo de fenotipos de enfermedades que pueden ser desde el comprometer el desarrollo embrionario, predisponer al desarrollo de determinados tipos de cánceres, ser la causa de la presencia de algunos síndromes como el de Silver-Russell, Beckwith-Wiedemann, Angelman, Prader-Willi o la Diabetes mellitus neonatal transitoria, que ha sido el tema central de este trabajo (Ishida y Moore, 2013; Monk et al., 2019; Murphy et al., 2012).

La importancia de la Diabetes mellitus neonatal transitoria radica en que los pacientes que la presentan pueden tener recaídas presentándose en Diabetes permanente en etapas posteriores y se caracteriza por una disminución de la secreción de insulina sin obesidad. Además, es importante destacar que es generada por múltiples causas que van a provocar una alteración en los canales de K-ATP y que resultan en la secreción alterada de insulina o alteraciones en el desarrollo pancreático que conllevan a una secreción deficiente de insulina, por lo tanto, el tratamiento va referido

según la causa que la genera (Hoffman y Spengler, 2015; Mackay et al., 2002; Sperling 2014; Yoifuji et al., 2018).

En este trabajo se resalta la importancia del rol que tiene la desregulación de los genes improntados ya que además de presentar aberraciones epigenéticas que resultan en la pérdida o ganancia de la metilación, son susceptibles a varias mutaciones como deleciones o duplicaciones, y esta desregulación se observa en múltiples enfermedades. Por estas razones, la identificación de estas aberraciones en pacientes que presentan Diabetes mellitus neonatal es imprescindible, ya que no solo ayuda a establecer el diagnóstico, sino que también dirige el tratamiento médico a largo plazo y el asesoramiento genético, además de poder indagar en posibles mecanismos por los cuales la síntesis y secreción de insulina se ve alterada, anudado a esto es importante poder destacar la relevancia que genera comprender el número de pacientes que presentan Diabetes mellitus. Aunque la TNDM es una patología de difícil diagnóstico por las múltiples causas que la provocan, en un futuro cercano puede ser posible revelar la base de esta enfermedad y así poder contribuir a un diagnóstico más oportuno y confiable sobre la causa específica que genera este tipo de patologías y con ello poder ofrecer un tratamiento más eficaz (Kataria et al., 2014).

Es por ello que la importancia de las modificaciones epigenéticas resalta en que éstas participan en la regulación de la expresión de los genes y además son relevantes en la salud del individuo adulto desde su concepción y en su descendencia, por lo que el seguimiento de los cambios del epigenoma a lo largo del tiempo además de investigar y conocer los procesos fisiológicos y patológicos en las que se encuentran involucradas estas modificaciones podrían explicar por qué la aparición y la progresión de la mayoría de las enfermedades humanas aumentan con la edad y cómo los factores ambientales contribuyen a este fenómeno, además su relevancia resalta igualmente para no solo poder realizar tratamientos

farmacológicos efectivos de las distintas patologías, sino que también se podrían establecer medidas preventivas desde la gestación (Aygun y Bjornsson, 2019; Fernandez y Pirola, 2014).

6. Conclusión

Se realizó una investigación documental acerca de la Diabetes mellitus neonatal transitoria, obteniendo información actualizada sobre las causas que la generan, del diagnóstico y el tratamiento de esta patología, además se obtuvo información acerca de cómo la impronta genómica y sus alteraciones se relacionan con esta enfermedad provocando una serie de características diferentes en relación con las mutaciones en otros genes que no están improntados. Por ello, la información actual recopilada acerca de los genes improntados es importante para entender la función normal de estos genes y el papel que juegan en el desarrollo y crecimiento normal de los humanos, así como también las alteraciones de estos mismos que conllevan a la presencia de diferentes patologías que alteran la calidad de vida de los pacientes que las padecen.

Con este trabajo se además se puede indagar en la función y en los mecanismos de estos genes improntados u otros genes diferentes que sean causantes de provocar Diabetes mellitus neonatal transitoria, así como también otros tipos de Diabetes que sean más comunes en la población de México y a nivel mundial.

7. Referencias

- Alkorta-Aranburu, G., Sukhanova, M., Carmody, D., Hoffman, T., Wysinger, L., Keller-Ramey, J., Li, Z. Johnson, AK., Kobiernicki, F., Botes, S., Fitzpatrick, C., Das, S., y Delgaudio, D. (2016). Improved molecular diagnosis of patients with neonatal diabetes using a combined next generation sequencing and MS-MLPA approach. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 29(5), 523-31. DOI: 10.1515/jpem-2015-0341.
- Arima, T., y Wake, N. (2006). Establishment of the primary imprint of the *HYMAI/PLAGL1* imprint control region during oogenesis. *Cytogenet Genome Res.* 113(1-4), 247-52. DOI: 10.1159/000090839.
- Ashcroft, FM., Puljung, MC., y Vedovato, N. (2017). Neonatal Diabetes and the KATP Channel: From mutation to therapy. *Trends Endocrinol Metab.* 28(5), 377-387. DOI: 10.1016/j.tem.2017.02.003.
- Auclair, G., y Weber, M. (2012). Mechanisms of DNA methylation and demethylation in mammals. *Biochimie.* 94(11), 2202-2211. DOI: 10.1016/j.biochi.2012.05.016.

- Aygun, D., y Bjornsson, HT., (2019). Clinical epigenetics: a primer for the practitioner. *Developmental Medicine & Child Neurology*. 62(2), 192-200. DOI: 10.1111/dmcn.14398.
- Babenko, AP., Polak, M., Cavé, H., Busiah, K., Czernichow, P., Scharfmann, R., Bryan, J., Aguilar-Bryan, L., Vaxillaire, M., y Froguel, P. (2006). Activating Mutations in the *ABCC8* Gene in Neonatal Diabetes Mellitus. *N Engl J Med*. 355(5), 456-66. DOI: 10.1056/NEJMoa055068.
- Baglivo, I., Esposito, S., De Cesare, L., Sparago, A., Anvar, Z., Riso, V., Cammisa, M., Fattorusso, R., Grimaldi, G., Riccio, A., y Pedone, P. (2013). Genetic and epigenetic mutations affect the DNA binding capability of human ZFP57 in transient neonatal diabetes type 1. *FEBS Lett*. 587(10), 1474-1481. DOI: 10.1016/j.febslet.2013.02.045.
- Bak, M., Boonen, SE., Dahl, C., Hahnemann, JM., Mackay, DJ., Tumer, Z., Gronskov, K., Temple, IK., Gulderg, P., y Tommerup, N. (2016). Genome-wide DNA methylation analysis of transient neonatal diabetes type 1 patients with mutations in ZFP57. *BMC Med Genet*. 14; 17, 29. DOI: 10.1186/s12881-016-0292-4.
- Balamurugan, K., Kavitha, B., Yanz, Z., Mohan, V., Radha, V., y Shyng, SL. (2019). Functional characterization of activating mutations in the SUR1 (*ABCC8*) causing neonatal diabetes

mellitus in Asian Indian children. *Pediatr Diabetes*. 20(4), 397-407. DOI: 10.1111/pedi.12843.

Barbetti, F., Mammí, C., Liu, M., Grasso, V., Arvan, P., Remedi, M., y Nichols, CG. (2017). Neonatal Diabetes: Permanent Neonatal Diabetes and Transient Neonatal Diabetes. *Diabetes Associated with Single Gene Defects and Chromosomal Abnormalities. Front Diabetes. Basel, Karger*. 25, 1-25. DOI: 10.1159/000454748.

Bartolomei, MS., y Ferguson-Smith, AC. (2011). Mammalian genomic imprinting. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 3(7). DOI: 10.1101/cshperspect.a002592.

Boonen, SE., Mackay, DJ., Hahnemann, JM., Docherty, L., Gronskov, K., Lehmann, A., Larsen, LG., Haemers, AP., Kockaerts, Y., Dooms, L., Vu, DC., Ngoc, CT., Nguyen, PB., Kordonouri, O., Sundberg, F., Dayanikli, P., Puthi, V., Acerini, C., Massaud, AF., Tumer, Z., y Temple, IK. (2013). Transient Neonatal Diabetes, ZFP57, and Hypomethylation of Multiple Imprinted Loci. *Diabetes Care*. 36(3), 505-12. DOI: 10.2337/dc12-0700.

Canovas, S., y Ross, PJ. (2016). Epigenetics in preimplantation mammalian development. *Theriogenology*. 86(1), 69-79. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.020.

- Carmody, D., Bell, CD., Hwang, JL., Dickens, JT., Sima, DI., Felipe, DL., Zimmer, CA., Davis, AO., Kotlyarevska, K., Naylor, RN., Philipson, LH., y Greeley, SA. (2014). Sulfonylurea Treatment Before Genetic Testing in Neonatal Diabetes: Pros and Cons. *J Clin Endocrinol Metab.* 99(12), 2709-14. DOI: 10.1210/jc.2014-2494.
- Cattoni, A., Jackson, C., Bian, M., Houghton, J., y Wei, C. (2019). Phenotypic variability in two siblings with monogenic diabetes due to the same *ABCC8* gene mutation. *Pediatr Diabetes.* 20(4), 482-485. DOI: 10.1111/pedi.12826.
- De Franco, E., Flanagan, SE., Houghton, JA., Lango, H., Mackay, DJ., Temple, IK., Ellard, S., y Hattersley, AT. (2015). The effect of early, comprehensive genomic testing on clinical care in neonatal diabetes: an international cohort study. *Lancet.* 386(9997), 957-63. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)60098-8.
- Dugoff, L., Norton, ME., y Kuller, JA. (2016). The use of chromosomal microarray for prenatal diagnosis. *Am J Obstet Gynecol.* 215(4), 2-9. DOI: 10.1016/j.ajog.2016.07.016.
- Elhamamsy, AR. (2017). Role of DNA methylation in imprinting disorders: an updated review. *J Assist Reprod Genet.* 34(5), 549-562. DOI: 10.1007/s10815-017-0895-5.

- Fernandez, T., y Pirola, C. (2015). Epigenética y síndrome metabólico. *Rev. Argent. Endocrinol. Metab.* 52(1), 35-44. Recuperado de: <http://raem.org.ar/numeros/2015-vol52/numero-01/35-44-endo1-2-gianotti-c.pdf>.
- Flanagan, SE., Dung, VC., Houghton, JAL., De Franco, E., Ngoc, CTB., Damhuis, A., Ashcroft, FM., Harries, LW., y Ellard, S. (2017). An *ABCC8* Nonsense Mutation Causing Neonatal Diabetes Through Altered Transcript Expression. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 9(3), 260-264. DOI: 10.4274/jcrpe.4624.
- Ganesh, R., Suresh, N., Vasanthi, T., y Ravikumar, KG. (2017). Neonatal diabetes: A case series. *Indian Pediatr.* 54(1), 33-36. DOI: 10.1007/s13312-017-0993-6.
- Gálvez, AG., Villalobos, JC., Aguila, R., y Ramírez, M. (2018). Diabetes neonatal monogénica. *Rev Med MD.* 9,10(1), 29-34. URL: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2018/md181g.pdf>.
- Gole, E., Oikonomou, S., Ellard, S., De Franco, E., y Karavanaki, K. (2018). A Novel *KCNJ11* Mutation Associated with Transient Neonatal Diabetes. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 10(2), 175-178. DOI: 10.4274/jcrpe.5166.
- Haghvirdizadeh, P., Mohamed, Z., Abdullah, NA., Haerian, MS., y Haerian, BS. (2015). *KCNJ11*: Genetic Polymorphisms and

Risk of Diabetes Mellitus. *J Diabetes Res*. DOI: 10.1155/2015/908152.

Hanna, CW., y Kelsey, G. (2014). The specification of imprints in mammals. *Heredity*. 113, 176-183. DOI: 10.1038/hdy.2014.54.

Hargreave, M., Kjaer, SK., Jorgensen, ME., y Jensen, A. (2017). Maternal fertility problems and risk for transient neonatal diabetes mellitus. *Scand J Public Health*. 45(8), 839-845. DOI: 10.1177/1403494817718073.

Hoffman, A., y Spengler, D. (2015). Role of ZAC1 in transient neonatal diabetes mellitus and glucose metabolism. *World J Biol Chem*. 6(3), 95-109. DOI: 10.4331/wjbc.v6.i3.95.

Hoveyda, N., Shield, JP., Garret, C., Chong, WK., Beardsall, K., Bentsi-Enchill, E., Mallya, H., y Thompson, MH. (1999). Neonatal diabetes mellitus and cerebellar hypoplasia/agenesis: report of a new recessive syndrome. *J Med Genet*. 36(9), 700-4. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10507728>.

Iglesias, I., Martin, A., Cirillo, D., Court, F., Guillaumet-Adkins, A., Camprubi, C., Bourc'his, D., Hata, K., Feil, R., Tartaglia, G., Arnaud, P., y Monk, D. (2012). Characterization of novel paternal ncRNAs at the *Plagl1* locus, including *Hymai*,

predicted to interact with regulators of active chromatin. *PLoS One*. 7(6). DOI: 10.1371/journal.pone.0038907.

Iglesias, I., Court, F., Camprubi, C., Sparago, A., Guillaumet-Adkins, A., Martin-Trujillo, A., Riccio, A., Moore, GE., y Monk, D. (2013). Imprinting at the PLAGL1 domain is contained within a 70-kb CTCF/cohesin-mediated non-allelic chromatin loop. *Nucleic Acids Res.* 41(4), 2171-9. DOI: 10.1093/nar/gks1355.

Iglesias, I., Martin, A., Petazzi, P., Guillaumet-Adkins, A., Esteller, M., y Monk, D. (2014). Altered expression of the imprinted transcription factor PLAGL1 deregulates a network of genes in the human IUGR placenta. *Hum Mol Genet.* 23(23), 6275-85. DOI: 10.1093/hmg/ddu347.

Ishida, M., y Moore, GE. (2013). The role of imprinted genes in humans. *Mol Aspects Med.* 34(4), 826-40. DOI: 10.1016/j.mam.2012.06.009.

Iyigun, F., Ozcan, B., Kulali, F., Celik, IH., Cetinkaya, S., Bas, AY., y Demirel, N. (2017). A newborn with transient diabetes mellitus accompanied by ketoacidosis attributable to a ZFP57 mutation. *J Trop Pediatr.* 63(5), 399-401. DOI: 10.1093/tropej/fmx005.

- Jiménez, R., Ordóñez, E., y Jiménez, P. (2010). Diabetes mellitus neonatal. Seguimiento a largo plazo de un paciente. *Acta Pediátrica de México*. 31(6), 274-280. DOI: 10.18233/APM31No6pp274-280.
- Jurkowska, RZ., y Jeltsch, A. (2016). Enzymology of Mammalian DNA Methyltransferases. *Adv Exp Med Biol*. 945, 87-122. DOI: 10.1007/978-3-319-43624-1_5.
- Katanic, D., Vorgucin, I., Hattersley, A., Ellard, S., Houghton, J., Obreht, D., Knezevic-Pogacev, M., Vlaski, J., y Pavkov, D. (2017). A successful transition to sulfonylurea treatment in male infant with neonatal diabetes caused by the novel abcc8 gene mutation and three years follow-up. *Diabetes Res Clin Pediatr*. 59-61. DOI: 10.1016/j.diabres.2017.04.021.
- Kataria, A., Palliyil, R., Mally, P., y Shah, B. (2014). Neonatal diabetes mellitus: current perspective. *Research and Reports in Neonatology*. 4: 55-64. DOI: 10.2147/RRN.S38206.
- Li, N., Wu, JX., Ding, D., Cheng, J., Gao, N., y Chen, L. (2017). Structure of a Pancreatic ATP-Sensitive Potassium Channel. *Cell*. 168(1-2), 101-110. DOI: 10.1016/j.cell.2016.12.028.

- Li, E., y Zhang, Y. (2014). DNA methylation in mammals. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 6(5), 1-21. DOI: 10.1101/cshperspect.a019133.
- Mackay, D., y Temple, IK. (2017). Human Imprinting Disorders: principles, practice, problems and progress. *Eur J Med Genet.* 60(11), 618-626. DOI: 10.1016/j.ejmg.2017.08.014.
- Molnár, Z., Balogh, L., Kappelmayer, J., Madar, J., Madar, L., Gombos, E., y Balogh, I. (2017). Congenital hyperinsulinism caused by a *de novo* mutation in the ABCC8 gene – a case report. *EJIFCC.* 28(1), 85-91. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5387702/>.
- Monk, D. (2015). Germline-derived DNA methylation and early embryo epigenetic reprogramming: The selected survival of imprints. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 67, 128-38. DOI: 10.1016/j.biocel.2015.04.014.
- Monk, D., Mackay, DJ., Eggermann, T., Maher, ER., y Riccio, A. (2019). Genomic imprinting disorders: lessons on how genome, epigenome and environment interact. *Nature Reviews Genetics.* 20, 235-248. DOI: 10.1038/s41576-018-0092-0.

- Moore, LD., Le, T., y Fan, G. (2013). DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacology*. 38(1), 23-38. DOI: 10.1038/npp.2012.112.
- Murphy, SK., Huang, Z., y Hoyo, C. (2012). Differentially Methylated Regions of Imprinted Genes in Prenatal, Perinatal and Postnatal Human Tissues. *PLoS One*. 7(7), 1-13. DOI: 10.1371/journal.pone.0040924.
- Neidhart, M. (2016). DNA methylation in growth retardation. DNA Methylation and complex human disease. (1° ed.). *Academic Press.*, pp 241-259. DOI: 10.1016/B978-0-12-420194-1.00014-2.
- Netchine, I., Rossignol, S., Azzi, S., Brioude, F., y Le Bouc, Y. (2012). Imprinted anomalies in fetal and childhood growth disorders: The model of Russell-Silver and Beckwith-Wiedemann syndromes. *Endocr Dev*. 23, 60-70. DOI: 10.1159/000341750.
- Neumann, U., Bührer, C., Blankenstein, O., Kuhnen, P., y Raile, K. (2018). Primary sulfonilurea therapy in a newborn with transient neonatal diabetes due to a paternal uniparental disomy 6q24 (UPD6). *Diabetes Obes Metab*. 20(2), 474-475. DOI: 10.1111/dom.13085.

- Okuno, M., Yorifuji, T., Kagami, M., Ayabe, T., Urakami, T., Kawamura, T., Kikuchi, N., Yokota, I., Amemiya, S., Suzuki, J., Ogata, T., Sugihara, S., y Fukami, M. (2016). Chromosome 6q24 methylation defects are uncommon in childhood-onset non-autoimmune diabetes mellitus patients born appropriate- or large-for-gestational age. *Clin Pediatr Endocrinol.* 24(3), 99-102. DOI: 10.1297/cpe.25.99.
- Pearson, ER., Flechtner, I., Njolstad, PR., Malecki, MT., Flanagan, SE., Larkin, B., Ashcroft, FM., Klimes, I., Codner, E., Iotova, V., Slingerland, AS., Shield, J., Robert, JJ., Holst, JJ., Clark, PM., Ellard, S., Sovik, O., Polak, M., Hattersley, AT. (2006). Switching from insulin to oral sulfonylureas in patients with diabetes due to Kir6.2 mutations. *N Engl J Med.* 355(5), 467-77. DOI: 10.1056/NEJMoa061759.
- Piccini, B., Coviello, C., Drovandi, L., Rosangela, A., Monzali, F., Cassalini, E., Giglio, S., Toni, S., y Dani, C. (2018). Transient Neonatal Diabetes Mellitus in a Very Preterm Infant due to ABCC8 Mutation. *AJP Rep.* 8(1), 39-42. DOI: 10.1055/s-0038-1636427.
- Platanov, ES., e Isaev, DA. (2006). Genomic Imprinting in the epigenetic of mammals. *J of Genet.* 42(9): 1030-1042. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17100091>.

- Polak, M., y Cavé H. (2007). Neonatal diabetes mellitus: a disease linked to multiple mechanisms. *Orphanet J Rare Dis.* 2, 12. DOI: 10.1186/1750-1172-2-12.
- Proks, P., de Wet, H. y Ashcroft, FM. (2010). Activation of the KATP channel by Mg-nucleotide interaction with SUR1. *J Gen Physiol.* 136(4), 389-405. DOI: 10.1085/jgp.201010475.
- Ratajczak, MZ. (2012). Igf2-H19, an imprinted tandem gene, is an important regulator of embryonic development, a guardian of proliferation of adult pluripotent stem cells, a regulator of longevity, and a “passkey” to cancerogenesis. *Folia Histochem Cytobiol.* 50(2), 171-9. DOI: 10.5603/fhc.2012.0026.
- Reig, G. y Concha, M. (2012). Impronta genómica y desarrollo embrionario. *Int J Morphol.* 30(4), 1453-1457. DOI: 10.4067/S0717-95022012000400029.
- Romanisio, G., Salina, A., Aloï, C., Schiaffino, MC., Virgone, A., y d’Annunzio, G. (2018). A mild impairment of K⁺ATP channel function caused by two different ABCC8 defects in an Italian newborn. *Acta Diabetol.* 55(2), 201-203. DOI: 10.1007/s00592-017-1052-4.
- Sadakierska-Chudy, A., Kostrzewa, R.M., y Małgorzata F. (2014). A Comprehensive View of the Epigenetic Landscape Part I:

DNA Methylation, Passive and Active DNA Demethylation Pathways and Histone Variants. *Neurotox Res.* Springer. DOI: 10.1007/s12640-014-9497-5.

Shi, H., Strogantsev, R., Takahashi, N., Kazachenka, A., Lorincz, M., Hemberger, M., y Ferguson-Smith, A. (2019). Epigenetic regulation of unique genes and repetitive elements by the KRAB zinc finger protein ZFP57. *bioRxiv.* 17. DOI: 10.1101/611400.

Sood, S., Landreth, H., Bustinza, J., Chalmers, L., y Thukaram, R. (2017). Neonatal Diabetes: Case Report of a 9-Week-Old Presenting Diabetic Ketoacidosis Due to an Activating *ABCC8* Gene Mutation. *J Investig Med High Impact Case Rep.* 24;5(1). DOI: 10.1177/2324709617698718.

Sperling, MA. (2014). Neonatal Diabetes mellitus. En MA. Sperling (4ta ed). *Pediatric Endocrinology* (pp. 277-290). USA: ELSEVIER.

Strogantsev, R., y Ferguson-Smith, AC. (2012). Proteins involved in establishment and maintenance of imprinted methylation marks. *Briefings Funct Genomics.* 11(3): 227-39. DOI: 10.1093/bfgp/els018.

Takagi, M., Ryojun, T., Hiroko, Y., Ariyasu, D., Fukuzawa, R., y Hasegawa, T. (2016). A case of transient neonatal diabetes

due to a novel mutation in *ABCC8*. *Clin Pediatr Endocrinol.* 25(4), 139-141. DOI: 10.1297/cpe.25.139.

Tarasov, A., Dusonchet, J., y Ashcroft, F. (2004). Metabolic Regulation of the Pancreatic Beta-Cell ATP-Sensitive K⁺ Channel: A Pas de Deux. *Diabetes.* 53(3), 113–122. DOI: 10.2337/diabetes.53.suppl_3.s113.

Temple, IK., y Shield, JP. (2002). Transient neonatal diabetes, a disorder of imprinting. *J Med Genet.* 39(12), 872-5. DOI: 10.1136/jmg.39.12.872.

Temple, IK., y Mackay, D. (2010). Diabetes Mellitus, 6q24-Related Transient Neonatal. GeneReviews® [Internet]. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1534/>.

Thurber, BW., Carmody, D., Tadie, EC., Pastore, AN., Dickens, JT., Wroblewski, KE., Naylor, RN., Philipson, LH., y Greeley, SA. (2015). Age at the time of sulfonylurea initiation influences treatment outcomes in KCNJ11-related neonatal diabetes. *Diabetología.* 58(7), 1430-5. DOI: 10.1007/s00125-015-3593-9.

Touati, A., Errea-Dorronsoro, J., Nouri, S., Halleb, Y., Pereda, A., Mahdhaoui, N., Ghith, A., Saad, A., Perez de Nanclares, G., y H´mida Ben Brahim, D. (2019). Transient neonatal diabetes mellitus and hypomethylation at additional

imprinted loci: novel *ZFP57* mutation and review on the literature. *Acta Diabetol.* 56(3), 301-307. DOI: 10.1007/s00592-018-1239-3.

Unal, E., Yildirum, R., Feryal, F., Yildiz, S., Demir, V., y Haspolat, Y. (2019). Transient neonatal diabetes mellitus caused by a novel mutation in the *ABCC8* gene. *J Surg Med.* 3(4), 335-337. DOI: 10.28982/josam.515839.

Uysal, F., Akkoyunlu, G., y Ozturk, S. (2015). Dynamic expression of DNA methyltransferases (DNMTs) in oocytes and early embryos. *Biochimie.* 116, 103-113. DOI: 10.1016/j.biochi.2015.06.019.

Uysal, F., Akkoyunlu, G., y Ozturk, S. (2016). DNA methyltransferases exhibit dynamic expression during spermatogenesis. *Reproductive Biomed Online.* 33(6), 690-702. DOI: 10.1016/j.rbmo.2016.08.022.

Valleley, EM., Cordery, SF., y Bonthron, DT. (2007). Tissue-specific imprinting of the *ZAC/PLAGL1* tumour suppressor gene results from variable utilization of monoallelic and biallelic promoters. *Hum Mol Genet.* 16(8): 972-81. DOI: 10.1093/hmg/ddm041.

Varrault, A., Dantec, C., LeDigarcher, A., Chotard, L., Bilanges, B., Parrinello, H., Dubois, E., Rialle, S., Severac, D., Bouschet,

T., y Journot, L. (2017). Identification of Plagl1/Zac1 binding sites and target genes establishes its role in the regulation of extracellular matrix genes and the imprinted gene network. *Nucleic Acids Res.* 45(18), 10466-10480. DOI: 10.1093/nar/gkx672.

Vedovato, N., Cliff, E., Proks, P., Poovazhagi, V., Flanagan, SE., Ellard, S., Hattersley, AT., y Ashcroft, FM. (2016). Neonatal diabetes caused by a homozygous KCNJ11 mutation demonstrates that tiny changes in ATP sensitivity markedly affect diabetes risk. *Diabetologia.* 59(7), 1430-1436. DOI: 10.1007/s00125-016-3964-x.

Vega, AF., Saucedo, C., Zavattari, P., Vanni, R., Zugaza, JL., y Parada, LA. (2017). PLAGL1: an important player in diverse pathological processes. *J Appl Genet.* 58(1), 71-78. DOI: 10.1007/s13353-016-0355-4.

Weaver, JR., y Bartolomei, MS. (2013). Chromatin regulators of genomic imprinting. *Biochim. Biophys. Acta.* 1-9. DOI: 10.1016/j.bbagr.2013.12.002.

Weedon, MN., y Light, P. (2016). From Association to Function: KCNJ11 and ABCC8. *The genetics of Type 2 Diabetes and Related Traits.* 363-377. DOI: 10.1007/978-3-319-01574-3_17.

- Wu, H., y Zhang, Y. (2014). Reversing DNA Methylation: Mechanisms, Genomics, and Biological Functions. *Cell*. 156(1-2), 45-68. DOI: 10.1016/j.cell.2013.12.019.
- Yamazaki, M., Sugie, H., Oguma, M., Yorifuji, T., Tajima, T., y Yamagata, T. (2017). Sulfonylurea treatment in an infant with transient neonatal diabetes mellitus caused by an adenosine triphosphate binding cassette subfamily C member 8 gene mutation. *Clin Pediatr Endocrinol*. 26(3), 165-169. DOI: 10.1297/cpe.26.165.
- Yorifuji, T., Higuchi, S., Hosokawa, Y., y Kawakita, R. (2018). Chromosome 6q24-related diabetes mellitus. *Clin Pediatr Endocrinol*. 27(2), 59-65. DOI: 10.1297/cpe.27.59.
- Yong, WS., Hsu, FM., y Chen, PY. (2016). Profiling genome-wide DNA methylation. *Epigenetics & Chromatin*. 9(1), 26. DOI: 10.1186/s13072-016-0075-3.
- Zammit, MA., Agius, SM., y Calleja-Agius, J. (2017). Transient Neonatal Diabetes Mellitus: A challenge and opportunity for specialized nursing care. *Neonatal Netw*. 36(4), 196-205. DOI: 10.1891/0730-0832.36.4.196.