



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

*“Estudio de la relación entre la ganancia de peso gestacional y la presencia de los polimorfismos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101 en la diada madre adolescente y su neonato en población mexicana”*

T E S I S

Que para obtener el título de:  
Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

P R E S E N T A

Fabiola Janet Quintero Andrés

DIRECTORA DE TESIS:  
Dra. Irma Eloísa Monroy Muñoz

ASESORA INTERNA:  
Dra. Maritere Domínguez Rojas

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2021



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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



El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Genómica Molecular del Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes" bajo la dirección de la Dra. Irma Eloísa Monroy Muñoz.

## OFICIO DE VOTOS APROBATORIOS



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

### FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN SECRETARÍA GENERAL DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

LA UNAM  
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Titulación  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis.

Estudio de la relación entre la ganancia de peso gestacional y la presencia de los polimorfismos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101 en la diada madre adolescente y su neonato en población mexicana

Que presenta la pasante: Fabiola Janet Quintero Andrés

Con número de cuenta: 415103002 para obtener el título de: Licenciada en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

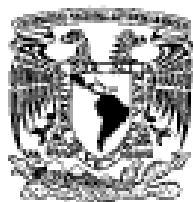
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de Marzo de 2021.

#### PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>Dra. María Esther Revuelta Miranda</u>	
VOCAL	<u>Q.F.B. Rosalba Bonilla Sánchez</u>	
SECRETARIO	<u>Dra. Maritere Domínguez Rojas</u>	
1er. SUPLENTE	<u>L.B.D. Larisa Andrea González Salcedo</u>	
2do. SUPLENTE	<u>L.B.D. Rosa María de los Angeles López Cabrera</u>	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse al día y hora del Examen Profesional.

LMCF/jmg



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

U N A M

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**



**ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Titulación  
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis.**

**Estudio de la relación entre la ganancia de peso gestacional y la presencia de los polimorfismos FTO rs9839609 y LEPR rs1137101 en la diada madre adolescente y su neonato en población mexicana**

Que presenta la pasante: **Fabiola Janet Quintero Andrés**

Con número de cuenta: **415103002** para obtener el título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de Marzo de 2021.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	<u>Dra. María Esther Revuelta Miranda</u>	
<b>VOCAL</b>	<u>Q.F.B. Rosalba Bonilla Sánchez</u>	
<b>SECRETARIO</b>	<u>Dra. Maritere Domínguez Rojas</u>	
<b>1er. SUPLENTE</b>	<u>L.B.D. Larisa Andrea González Salcedo</u>	
<b>2do. SUPLENTE</b>	<u>L.B.D. Rosa María de los Angeles López Cabrera</u>	

NOTA: los sindicales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/jvg



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

LA UNAM  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA**  
Jefa del Departamento de Titulación  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis.**

**Estudio de la relación entre la ganancia de peso gestacional y la presencia de los polimorfismos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101 en la diada madre adolescente y su neonato en población mexicana**

Que presenta la pasante: **Fabiola Janet Quintero Andrés**  
Con número de cuenta: **415103002** para obtener el título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

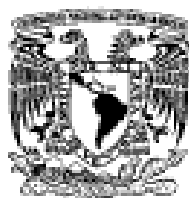
**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de Marzo de 2021.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. María Esther Revuelta Miranda	_____
<b>VOCAL</b>	Q.F.B. Rosalba Bonilla Sánchez	_____
<b>SECRETARIO</b>	Dra. Maritere Domínguez Rojas	_____
<b>1er. SUPLENTE</b>	L.B.D. Larisa Andrea González Salcedo	_____
<b>2do. SUPLENTE</b>	L.B.D. Rosa María de los Angeles López Cabrera	_____

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/jmg



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

LA SRA. DR.  
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Titulación  
de la FES Cuautitlán.**



Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis.**

**Estudio de la relación entre la ganancia de peso gestacional y la presencia de los polimorfismos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101 en la diada madre adolescente y su neonato en población mexicana**

Que presenta la pasante: **Fabiola Janet Quintero Andrés**  
Con número de cuenta: **415103002** para obtener el título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
Cuautitlán Izcali, Méx. a 11 de Marzo de 2021.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. María Esther Revuelta Miranda	_____
<b>VOCAL</b>	Q.F.B. Rosalba Bonilla Sánchez	_____
<b>SECRETARIO</b>	Dra. Maritere Domínguez Rojas	_____
<b>1er. SUPLENTE</b>	L.B.D. Larisa Andrea González Salcedo	
<b>2do. SUPLENTE</b>	L.B.D. Rosa María de los Angeles López Cabrera	_____

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/jmg





UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Titulación  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis.**

Estudio de la relación entre la ganancia de peso gestacional y la presencia de los polimorfismos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101 en la diada madre adolescente y su neonato en población mexicana

Que presenta la pasante: **Fabiola Janet Quintero Andrés**  
Con número de cuenta: **415103002** para obtener el título de: **Licenciada en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de Marzo de 2021.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. María Esther Revuelta Miranda	
<b>VOCAL</b>	Q.F.B. Rosalba Bonilla Sánchez	
<b>SECRETARIO</b>	Dra. Maritere Domínguez Rojas	
<b>1er. SUPLENTE</b>	L.B.D. Larisa Andrea González Salcedo	
<b>2do. SUPLENTE</b>	L.B.D. Rosa María de los Angeles López Cabrera	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

LMCF/javg



## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Laboratorio de Genómica Molecular del Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes".

A mi asesora, la Doctora Irma Eloísa Monroy Muñoz, por la paciencia y confianza que tuvo al dejarme ser parte del proyecto; por su dedicación y preocupación para asegurarse de haberme transmitido sus conocimientos, consejos y ayuda cuando lo necesité. Agradezco infinitamente por haber tenido la suerte de tener una asesora excelente, tanto personal, como profesionalmente.

Al Instituto Politécnico Nacional, por ser la primera institución que me abrió sus puertas; especialmente al CECyT 6, en donde comencé a formarme y encaminar mi vida hacia el área que me apasiona. Me siento orgullosa de haber pertenecido a la institución y le sigo teniendo un cariño especial porque *“Soy politécnico por convicción y no por circunstancia.”*

A la Universidad Nacional Autónoma de México; especialmente a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por abrirme sus puertas para seguir mi formación profesional. Agradezco especialmente a aquellos profesores apasionados de transmitir sus conocimientos; especialmente a la Doctora Maritere Domínguez Rojas, porque gracias a su pasión por transmitir su pasión y sus conocimientos por la biología y genética molecular encaminé mi formación especialmente hacia esa área.

*“Por mi raza hablará el espíritu”*

## DEDICATORIAS

A mi mami, a quien amo y admiro infinitamente por haber sido madre y padre a la vez, por ser la persona a quien más amo y la más importante en mi vida, por inculcarme valores y procurar que siempre sea una mejor persona, por motivarme a siempre dar lo mejor y a superarme cada día y por siempre procurar mi bienestar.

A mi familia, por todo el cariño y el apoyo que nos han brindado a mi mamá y a mí a lo largo de nuestra vida y porque seguimos juntos en los buenos y malos momentos. Especialmente a mi abue y mi tía Isa, que, aunque ya no están físicamente conmigo, siempre están en mi mente; porque me quisieron tanto y porque fueron un gran apoyo para mi mamá para cuidarme y guiarme de la mejor manera posible mientras estuvieron con nosotras.

A Eduardo, por quererme tan bonito como lo haces, por cuidarme y preocuparte tanto por mí, por mi bienestar, mi salud y mi felicidad; por apoyarme para cumplir las metas que me he propuesto y motivarme para seguir venciendo los obstáculos que se han presentado; por compartir conmigo tantos momentos, por complementarme y por seguir siendo parte de mi vida después de tantos años.

A Lalo, Karen, Diana y Ale; a los primeros tres por ser la amistad más bonita que he tenido, por ser un gran apoyo y el mejor equipo; por seguir siendo parte de mi vida, por demostrarme que se puede mantener una amistad pese a los años y la distancia física. Estoy muy orgullosa de la dedicación, el amor y la pasión que tienen por la medicina y estoy segura que serán unos profesionales excelentes.

A Ale por demostrarme que no hace falta convivir diariamente con alguien durante tanto tiempo para lograr formar una amistad bonita, sincera y duradera.

A Lu, Yoshi, Mely y Gerardo, por transmitirme su amor por la institución, por ser un gran apoyo en la facultad, por su amistad bonita y sincera, por todos los recuerdos que tengo con ustedes y los que seguiremos construyendo.

# ÍNDICE

OFICIO DE VOTOS APROBATORIOS.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	VII
DEDICATORIAS.....	VIII
ÍNDICE.....	1
ÍNDICE DE FIGURAS.....	4
ÍNDICE DE TABLAS.....	6
ABREVIATURAS.....	7
RESUMEN.....	11
Marco teórico.....	13
1.    Introducción.....	13
2.    Embarazo adolescente.....	14
2.1.    Prevalencia.....	14
3.    Control prenatal.....	15
3.1.    Ganancia de peso gestacional.....	16
3.2.    Factores que contribuyen a la ganancia de peso gestacional.....	17
3.3.    Metabolismo en el tejido adiposo.....	18
4.    Programación metabólica fetal.....	19
4.1.    Variantes genéticas de la obesidad.....	20
4.1.1. <i>FTO</i> .....	21
4.1.1.1. <i>FTO</i> rs9969609.....	25
4.1.2. <i>LEPR</i> .....	26
4.1.2.1. <i>LEPR</i> rs1137101.....	29
I.    Justificación.....	30
II.   Hipótesis.....	31
III.  Objetivos.....	31
A.  Objetivo general.....	31
B.  Objetivos específicos.....	31
IV.  Materiales y métodos.....	32
A.  Población de estudio.....	32
1.  Criterios de inclusión.....	32
2.  Criterios de exclusión.....	33

3.	Criterios de eliminación.....	33
B.	Desarrollo experimental.....	33
1.	Extracción de DNA.....	33
2.	Diseño de iniciadores.....	35
3.	Estandarización de la amplificación de los fragmentos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101.....	35
4.	Escaneo de variantes de los polimorfismos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101.....	38
5.	Secuenciación de Sanger modificada.....	40
a)	Purificación de muestras.....	40
(1)	Purificación con Exonucleasa.....	40
(2)	Purificación de banda.....	42
b)	Reacción de PCR de secuencia.....	43
c)	Purificación en columna.....	44
d)	Secuenciación.....	44
6.	Análisis Bioinformático.....	45
7.	Análisis estadístico.....	45
V.	Resultados.....	46
A.	FTO rs9939609.....	46
B.	LEPR rs1137101.....	49
C.	Resultados estadísticos.....	55
VI.	Análisis y discusión de resultados.....	61
A.	Características de la población de estudio .....	61
B.	Secuenciación de la variante FTO rs9939609.....	62
C.	Presencia de la variante LEPR rs1137101.....	63
1.	Determinación del equilibrio de Hardy-Weinberg.....	63
2.	Relación de los genotipos entre las diadas.....	65
3.	Asociación de las características de la población de estudio con los genotipos.....	66
a)	Parámetros antropométricos.....	66
b)	Parámetros bioquímicos.....	68
c)	Complicaciones en el embarazo y resolución de parto.....	69
d)	Peso gestacional y genotipo materno.....	70

4.	Asociación de las características de la población de estudio con la ganancia de peso gestacional.....	70
	a) Parámetros bioquímicos.....	70
	b) Complicaciones maternas y resolución de parto.....	71
	c) Peso al nacer.....	72
VII.	Conclusiones.....	73
VIII.	Prospectivas.....	74
IX.	Referencias.....	75
	A. Libros consultados.....	75
	B. Artículos consultados.....	75
	C. Páginas web.....	80

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Factores asociados a la ganancia de peso gestacional.....	18
Figura 2. Metabolismo en el tejido adiposo.....	19
Figura 3. Localización cromosómica del gen <i>FTO</i> .....	21
Figura 4. Estructura de la proteína <i>FTO</i> .....	22
Figura 5. Desmetilación de ssDNA o ssRNA por acción de <i>FTO</i> .....	22
Figura 6. Función bioquímica de <i>FTO</i> .....	23
Figura 7. <i>FTO</i> como un posible sensor de aminoácidos.....	25
Figura 8. Localización cromosómica del gen <i>LEPR</i> .....	27
Figura 9. Estructura de la proteína <i>LEPR</i> .....	27
Figura 10. Receptores de leptina y vías de señalización de leptina intracelular....	28
Figura 11. Gráfico de PCR de gradiente.....	37
Figura 12. Electroforesis en gel de agarosa 1.5% de la PCR en gradiente para el fragmento <i>FTO</i> rs9939609.....	37
Figura 13. Electroforesis en gel de agarosa 1.5% para la PCR en gradiente del fragmento <i>LEPR</i> rs1137101.....	38
Figura 14. Gráfico de desnaturalización.....	39
Figura 15. Representación esquemática de la purificación con ExoSAP-IT.....	41
Figura 16. Gráfico de purificación con ExoSAP-IT.....	42
Figura 17. Gráfico de PCR de secuencia.....	44
Figura 18. Gráficos de fusión, normalización y diferenciación para <i>FTO</i> rs9939609.....	47
Figura 19. Electroferograma para <i>FTO</i> rs9939609.....	48
Figura 20. Búsqueda de coincidencia para el gen <i>FTO</i> .....	49
Figura 21. Alineamiento en BioEdit.....	49
Figura 22. Gráficos de fusión, normalización y diferenciación para la variante <i>LEPR</i> rs1137101.....	50
Figura 23. Electroferograma de un genotipo homocigoto silvestre.....	51
Figura 24. Alineamiento de la secuencia silvestre en BLASTn.....	51
Figura 25. Transcrito de aminoácidos.....	52

Figura 26. Comparación de la secuencia de aminoácidos de un paciente con genotipo silvestre.....	53
Figura 27. Electroferograma de un paciente con el SNP rs1137101.....	53
Figura 28. Alineamiento de la secuencia con el SNP rs1137101.....	53
Figura 29. Comparación de la secuencia de aminoácidos de un paciente con el SNP rs 1137101.....	54
Figura 30. Electroferograma con resultado heterocigoto.....	54
Figura 31. Efectos funcionales del SNP rs1137101.....	55



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ganancia de peso deseable durante el embarazo.....	17
Tabla 2. Diseño de iniciadores.....	35
Tabla 3. Volúmenes de reactivos utilizados para la amplificación de los fragmentos.....	36
Tabla 4. Volúmenes de reactivos para la purificación con ExoSAP-IT.....	41
Tabla 5. Volúmenes adicionados a la reacción de PCR de secuencia.....	43
Tabla 6. Características de estudio de las diadas.....	55
Tabla 7. Comprobación del equilibrio de Hardy-Weinberg.....	57
Tabla 8. Asociación entre los genotipos de las diadas.....	58
Tabla 9. Efectos maternos y neonatales sobre las características de las diadas....	58
Tabla 10. Efecto de la ganancia de peso gestacional sobre las características de las diadas.....	60

## ABREVIATURAS

3-meT	3-metiltimidina, por sus siglas en inglés
3-meU	3-metiluracilo, por sus siglas en inglés
$\alpha$ -KG	$\alpha$ -cetoglutarato, por sus siglas en inglés
AARS	Sintetasas de aminoacil-tRNA, por sus siglas en inglés
ABH/ALKB	$\alpha$ -cetoglutarato dependiente de dioxigenasa, por sus siglas en inglés
AEG	Adecuado para la edad gestacional
Akt	Serina/treonina quinasa, por sus siglas en inglés
BLAST	Herramienta básica de búsqueda de alineación local, por sus siglas en inglés.
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
CoA	Coenzima A
CTD	Dominio C- terminal, por sus siglas en inglés
DNA	Ácido desoxirribonucleico, por sus siglas en inglés
DNTPs	Desoxinucleósidos trifosfato, por sus siglas en inglés
DsDNA	DNA de doble cadena
EDTA	Ácido etilen diamino tetracético
ENADID	Encuesta Nacional de la Dinámica Demográfica
<i>FTO</i>	$\alpha$ -cetoglutarato dependiente de dioxigenasa; gen asociado a la masa grasa y obesidad; del término inglés dedos fusionados
G3-P	Gliceraldehído-3-fosfato, por sus siglas en inglés

GEG	Grande para la edad gestacional
GHR	Referencia genética de origen, por sus siglas en inglés
GPG	Ganancia de peso gestacional
Grb2	Proteína 2 unida al factor de crecimiento, por sus siglas en inglés
HDL	Lipoproteínas de alta densidad, por sus siglas en inglés
HEK	Riñón embrionario humano, por sus siglas en inglés.
HRM	Desnaturalización de alta resolución, por sus siglas en inglés.
IBM	Corporación internacional de maquinarias de negocios, por sus siglas en inglés.
IMC	Índice de Masa Corporal
INPer	Instituto Nacional de Perinatología
IOM	Instituto de Medicina, por sus siglas en inglés
IRS	Sustrato receptor de insulina, por sus siglas en inglés
JAK	Janus quinasa, por sus siglas en inglés
LDL	Lipoproteínas de baja densidad, por sus siglas en inglés
LEP	Leptina
<i>LEPR</i>	Receptor de Leptina, por sus siglas en inglés
LRS	Leucyl tRNA sintetasa, por sus siglas en inglés
m <sup>6</sup> A	6-metiladenosina, por sus siglas en inglés
MAPK	MAP (Proteína asociada a microtúbulos) cinasa, por sus siglas en inglés
MEF	Fibroblastos embrionarios de ratón, por sus siglas en inglés
MPM	Marcador de peso molecular

MSC	Complejo multi-sintetasa
Mtorc	Objetivo mamífero de rapamicina, por sus siglas en inglés
NCBI	Centro Nacional para la Información Biotecnológica, por sus siglas en inglés
NOM	Norma Oficial Mexicana
Nt	Nucleótidos
NTC	Control sin plantilla, por sus siglas en inglés
NTD	Dominio N-terminal, por sus siglas en inglés
Ob-R	Receptor de la obesidad, por sus siglas en inglés
OMS	Organización Mundial de la Salud
Pb	Pares de bases
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa, por sus siglas en inglés
PEG	Pequeño para la edad gestacional
PI3K	Fosfatidilinositol-3-quinasa, por sus siglas en inglés
PTP1B	Proteína tirosina fosfatasa 1B, por sus siglas en inglés
RAG	Genes de activación de recombinación, por sus siglas en inglés
RFU	Unidades de fluorescencia relativa, por sus siglas en inglés
RNA	Ácido ribonucleico, por sus siglas en inglés
Rpm	Revoluciones por minuto
SHP2	Proteína tirosina fosfatasa 2, por sus siglas en inglés
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido, por sus siglas en inglés
SOCS 3	Supresor de la señalización de citocinas 3, por sus siglas en inglés

SPSS	Programa estadístico para ciencias sociales, por sus siglas en inglés
STAT 3	Activador de la transcripción 3, por sus siglas en inglés
TAE	Tris-Acetato EDTA
TG	Triglicéridos
TBE	Tris-Borato EDTA
Tm	Temperatura media de alineamiento

## RESUMEN

Se han realizado varias encuestas en población mexicana en las que se reporta la prevalencia de embarazos adolescentes, la realizada por el Instituto Nacional de Geografía y Estadística (INEGI) en 2019 contabilizó 2.1 millones de nacimientos. El 16.2% de los nacimientos correspondían a madres adolescentes entre 15 a 19 años y 0.4%, es decir, 8.5 mil nacimientos fueron de madres menores de 15 años (URL 2).

Debido a la alta prevalencia de embarazos en el país se han tratado de implementar medidas para disminuir los porcentajes antes mencionados. La Encuesta Nacional de la Dinámica Demográfica (ENADID) realizada en 2014 y 2018 han permitido comprobar que afortunadamente ha habido una ligera disminución en la incidencia de embarazos adolescentes, pasando de 77 a 70.6 nacimientos por cada 1,000 mujeres de 15 a 19 años (URL 3).

Establecer las causas que influyen para desarrollar problemas con la ganancia de peso es complicado debido a su etiología multifactorial; estos problemas incluyen el desarrollo de enfermedades durante el transcurso de éste, probable inducción prematura del parto, retención de peso al nacer e incluso la muerte fetal y/o materna, entre otros, por lo que, llevar un correcto control de peso es importante para procurar que éste transcurra de la manera más normal posible.

Cada embarazo transcurre de una manera distinta, los factores genéticos pueden influir en mayor o menor grado para su desarrollo, para comprobarlo se deben realizar múltiples estudios de asociación con genes específicos; tan específicos como para detectar que el cambio en un sólo nucleótido de la secuencia de ese gen pueda ser un factor que influya en su presencia. Existen múltiples estudios que han tratado de asociar a los genes *FTO* y *LEPR* como causa de obesidad, especialmente con sus polimorfismos rs9939609 y rs1137101, respectivamente.

Es por ello que en el INPer se intentó asociar la presencia de ambas variantes con la ganancia de peso gestacional excesiva y algunos problemas que se desarrollan frecuentemente en estos casos; para ello se captaron a 54 mujeres adolescentes, cuyo embarazo comenzara entre los 10 a 19 años.

Los resultados que arrojó este estudio evidenciaron que todas las adolescentes poseían un IMC pregestacional normal y en su mayoría un aumento de peso menor

al recomendado, probablemente debido a ello, no se presentaron problemas de diabetes gestacional o dislipidemia, y se presentaron pocos casos de preeclampsia, así como bajo porcentaje de cesáreas. Mientras que en los recién nacidos ninguno presentó una puntuación Apgar menor a 7 y la mayoría de ellos fue considerado pequeño para la edad gestacional, como suele suceder en embarazos adolescentes.

Sólo se logró determinar la presencia del genotipo para LEPR rs1137101 en la diada madre adolescente y su neonato; haciendo evidente la prevalencia del genotipo heterocigoto y la menor frecuencia de la variante de riesgo tanto en las madres como en sus hijos, con un porcentaje bastante similar de cada genotipo.

Con los resultados anteriores únicamente se logró asociar la presencia de la variante polimórfica rs1137101 a un IMC pregestacional menor en las mujeres que poseían el genotipo de riesgo; sin embargo, su impacto parecía no tener gran importancia y más aun considerando que ninguno presentaba sobrepeso u obesidad, por otra parte, no se logró asociar la ganancia de peso excesiva a un aumento en el perfil bioquímico, el desarrollo de preeclampsia o la inducción de los partos en las madres.

Hay muchos factores que pudieron influir en la falta de asociación de la presencia de la variante con la ganancia de peso gestacional y las complicaciones en el embarazo en las diadas, como la etnia, edad, antecedentes familiares, cantidad de masa magra, leptina e insulina en las madres, pero que no pudieron ser evaluado en este estudio.

El seguimiento de los casos hubiera ayudado a establecer problemas de retención de peso en las madres; así como a indagar sobre la influencia de la variante con el pronto desarrollo de sobrepeso u obesidad en los recién nacidos.



# I. MARCO TEÓRICO

## 1. INTRODUCCIÓN

La ganancia de peso gestacional se refiere al peso que gana una mujer desde el momento de la concepción hasta el inicio del trabajo de parto. El aumento de peso recomendado varía para cada mujer dependiendo del valor de su índice de masa corporal pregestacional. Cuando éste se rebasa, las mujeres son más susceptibles a retener peso después del parto y desarrollar problemas de sobrepeso u obesidad, que es una enfermedad caracterizada por el exceso de tejido adiposo en el organismo, lo que a su vez puede desencadenar otros problemas de salud.

En México existe una gran prevalencia de embarazos adolescente, aunque los datos reportados por la ENADID de 2014 y 2018 muestran una disminución en su incidencia, pasando de 77 a 70.6 nacimientos por cada 1,000 mujeres de 15 a 19 años, es importante continuar implementando medidas que permitan seguir disminuyendo las cifras reportadas y evitar problemas de salud a corto o mediano plazo en las madres adolescentes y su descendencia (URL 3).

El estudio se realizó a partir de muestras de sangre periférica de las madres adolescentes y de cordón umbilical o mucosa oral de sus hijos, utilizando las técnicas de HRM y secuenciación de Sanger modificada para determinar los genotipos de cada uno. Posteriormente se realizó un análisis bioinformático para la identificación de los polimorfismos con BioEdit, BLASTn, BLASTp y Polyphen-2, seguida de un análisis estadístico que permite establecer la influencia del polimorfismo rs1137101 sobre las características de las diadas; así como la influencia de la ganancia de peso gestacional.

La finalidad de este estudio es demostrar si la presencia de los polimorfismos FTO rs9939609 y el LEPR rs1137101 influyen en la ganancia de peso excesiva, así como en el desarrollo de problemas con el control de peso. Esto puede servir para que los médicos que llevan el control de los embarazos puedan emitir recomendaciones que ayuden a llevar un mejor control del peso durante y después del embarazo, lo que ayudaría a disminuir la probabilidad de presentar las complicaciones que conlleva, ya que las madres y sus hijos serían más susceptibles a padecerlas.

## 2. EMBARAZO ADOLESCENTE

En 2012 la ENSANUT (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición) definió el embarazo adolescente, o embarazo precoz, como aquel que se produce en una mujer entre la adolescencia inicial o pubertad (comienzo de la edad fértil) y el final de la adolescencia (Loredo, et al., 2015), este periodo abarca alrededor de los 10 a los 19 años.

El embarazo durante esta etapa de la vida representa un problema de salud, generalmente asociado a problemas tanto para la madre como para su hijo. La maternidad adolescente es considerada un problema de salud en México, pues se ha documentado que la maternidad a edades tempranas representa un mayor riesgo para la madre y su producto, tanto durante el embarazo como en el parto (URL 1).

Es sabido que, a nivel mundial, las complicaciones durante el embarazo y parto son la segunda causa de muerte entre las mujeres adolescentes de 15 a 19 años, en tanto que los bebés de madres menores de 20 años enfrentan 50% más de probabilidades de mortalidad prenatal o de morir en las primeras semanas de vida que los bebés de mujeres de 20 a 29 años. Asimismo, los recién nacidos de madres adolescentes tienen mayor probabilidad de registrar bajo peso al nacer, aunado al riesgo subsecuente de tener complicaciones de larga duración. En este sentido, entre más joven sea la madre, mayor el riesgo para el bebé (URL 1).

Además del riesgo de muerte, la madre adolescente también corre riesgo de aumento de peso, hipertensión, preeclampsia, anemia, infecciones de transmisión sexual, y desproporciones cefalo-pélvicas causantes tanto de la muerte de la madre como del hijo, provocando que las complicaciones en la etapa de gravidez sean mayores a las que tienen las mujeres de más de 20 años (URL 1).

### 2.1. PREVALENCIA

De acuerdo con la estadística sobre nacimientos que presenta el Instituto Nacional de Geografía y Estadística (INEGI), en 2019 se contabilizaron 2.1 millones de nacimientos. De los que, el 16.2% correspondieron a mujeres adolescentes entre

15 a 19 años. Asimismo, ocurrieron 8.5 mil nacimientos (0.4%) entre las menores de 15 años (URL 2).

Según datos de la Encuesta Nacional de la Dinámica Demográfica (ENADID) 2018, existen en el país 5.5 millones de mujeres adolescentes de 15 a 19 años, ellas representan 16.7% del total de mujeres en edad reproductiva de 15 a 49 años. De estas mujeres, el 15.8% ha estado embarazada alguna vez; 12.2% ha tenido por lo menos un hijo/a nacido vivo y el 3.3% se encontraban embarazadas (URL 2).

Al comparar los datos de la ENADID de 2014 y la de 2018, se observa una disminución de la fecundidad adolescente, de 77 a 70.6 nacimientos por cada mil mujeres de 15 a 19 años de edad (URL 3).

### 3. CONTROL PRENATAL

El control prenatal tiene como objetivo la prevención y reducción de la mortalidad materna y morbi-mortalidad perinatal y está encaminado a promover la salud de la madre y su hijo (Mendoza; et al, 2015).

La NOM-007-SSA2-2016 “para la atención de la mujer durante el embarazo, parto, puerperio y del recién nacido” recomienda que la mujer embarazada de bajo riesgo tenga, como mínimo, cinco consultas prenatales que preferentemente deben iniciarse en las primeras ocho semanas de embarazo y a partir de ahí fijar un calendario de atención, en el que se pueden incluir dos consultas en el primer trimestre, dos en el segundo, una en la semana 28 y a partir de ahí, repartir las consultas restantes hasta la resolución del embarazo cada 4 semanas (URL 4). En 2013 el Colegio Mexicano de Especialistas en Ginecología y Obstetricia (COMEGO) recomendaron que las mismas opciones de cuidado prenatal mencionadas en la misma norma, pero en la versión de 1990, debían ser ofrecidas a las madres adolescentes (URL 5). Cabe mencionar que el esquema de citas para el control prenatal es muy similar al de la versión de 2016.

En la primera consulta se realiza la valoración clínica completa en la que se incluye la valoración antropométrica y del estado nutricional; en el caso de adolescentes ofrece indicadores de riesgo perinatal: talla baja materna, bajo peso preconcepcional y pobre incremento ponderal que indican un riesgo de 2 veces para prematuridad y bajo peso al nacer (URL 5).

### 3.1. GANANCIA DE PESO GESTACIONAL

Definimos a la ganancia de peso gestacional (GPG) como el peso que gana una mujer desde el momento de la concepción hasta el inicio del trabajo de parto (Weaver, 2019). La distribución de este aumento de peso corresponde aproximadamente el 27% al peso fetal, 6% al líquido amniótico, 5% a la placenta y el resto del porcentaje corresponde a órganos maternos: mamas y útero, tejido adiposo, volumen sanguíneo y líquido extracelular. (Gil, A., 2017)

La ganancia de peso gestacional (GPG) es un fenómeno complejo influenciado no sólo por cambios fisiológicos y metabólicos maternos, sino también por el metabolismo placentario. Se evalúa el estado nutricional de la mujer embarazada por medio del IMC (índice de masa corporal), que se obtiene dividiendo el valor del peso en kilogramos por el de la talla en metros al cuadrado. Este indicador ha demostrado una buena asociación con el grado de adiposidad y con el riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles, y tiene la ventaja de ser fácil de calcular y de no requerir un estándar de referencia (Minjarez; et al, 2014).

Las mujeres que al momento de embarazarse tienen un IMC normal y una ganancia de peso adecuada durante la gestación presentan una mejor evolución durante el embarazo y el parto que aquellas mujeres con una ganancia de peso mayor a la recomendada. Las mujeres con una ganancia de peso gestacional mayor a la recomendada presentan un incremento en el riesgo de tener complicaciones obstétricas como hipertensión, diabetes, varices, coledocolitiasis, embarazos prolongados, retardo en el crecimiento intrauterino, mayor porcentaje de complicaciones al nacimiento, infecciones antes y después del parto, complicaciones trombóticas, anemia, infecciones urinarias y desórdenes en la lactancia (Minjarez; et al, 2014)

Sin embargo, no siempre es preferible una mayor ganancia de peso. En estudios recientes se han destacado algunos de los desenlaces negativos de salud asociados a mayores ganancias durante el embarazo, entre los que destacan complicaciones del parto, sobrepeso infantil y mayor retención del peso postparto, lo que predispone a un riesgo posterior de obesidad en la madre (Herring y Oken, 2010).

Por ello resulta de gran importancia un control prenatal correcto, una adecuada clasificación nutricional, la elaboración de una dieta y las indicaciones adecuadas

del personal de las instituciones de salud son puntos clave para lograr un régimen alimenticio adecuado en la gestante que permitiría evitar un incremento excesivo de peso en la embarazada, reduciendo el riesgo de obesidad que en los últimos años se ha duplicado (Minjarez; et al, 2014)

El apéndice normativo C de la NOM-007-SSA2-2016, se enfoca en el estado de nutrición materno basándose en la medición del IMC pregestacional y su edad, para establecer los valores deseables de ganancia de peso. En el caso de madres adolescentes y/o menores a 1.50 metros de altura los valores deseables no aplican de la misma manera (URL 4).

A nivel internacional, el Instituto de Medicina de Estados Unidos (IOM), emitió las recomendaciones de la ganancia de peso gestacional en base al IMC pregestacional (URL 6). Ambas recomendaciones se muestran en la **Tabla 1**.

**Tabla 1. Ganancia de peso deseable durante el embarazo**

Clasificación del IMC pregestacional	Ganancia de peso recomendada por IOM	Ganancia de peso recomendada por la NOM-007-SSA2-2016
Bajo peso: IMC <18.5	12.5-18	18
Normopeso: IMC 18.5-24.9	11.5-16	15.89
Sobrepeso: IMC 25-29.9	7-11.5	11.35
Obesidad: IMC ≥30	5-9	9

La norma recomienda el límite superior de la ganancia deseable en madres adolescentes. Modificada de URL 4 y 6.

### 3.2. FACTORES QUE CONTRIBUYEN A LA GANANCIA DE PESO GESTACIONAL

La diversidad de los factores que influyen en la cantidad de peso ganado durante el embarazo podría explicar algunas de las diferencias observadas en los patrones de GPG, los cuales coinciden con la etiología de la obesidad (Weaver, 2019). En la **Figura 1** se muestra un esquema de estos factores.



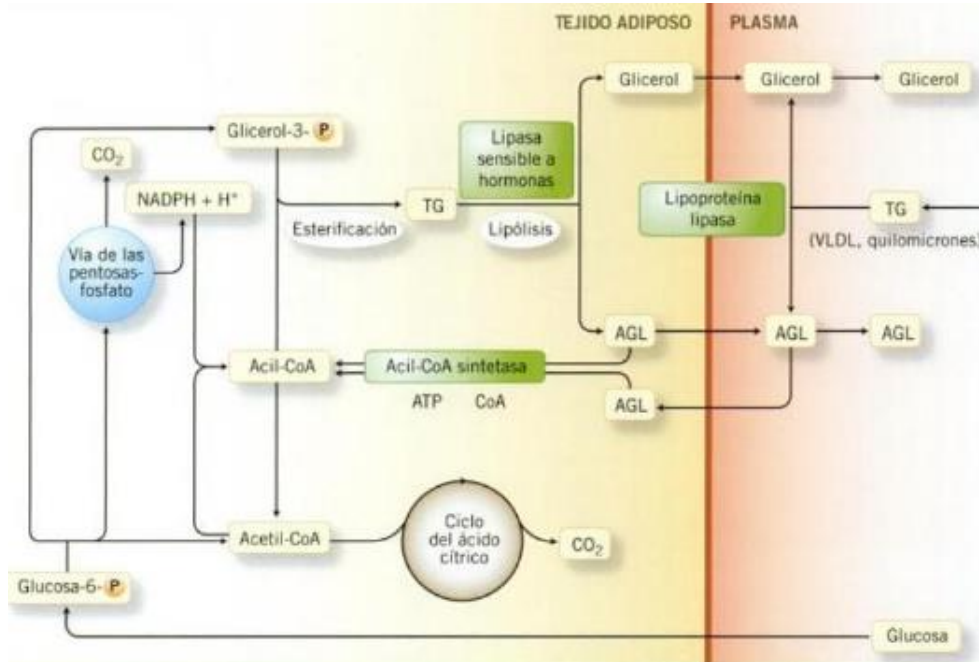
**Figura 1. Factores asociados a la ganancia de peso gestacional.** Las líneas discontinuas indican una posible modificación del efecto; mientras que las flechas indican continuidad (Weaver, 2019).

### 3.3. METABOLISMO EN EL TEJIDO ADIPOSO

Los lípidos están implicados en todos los tejidos donde se realizan diversas funciones, esto permite dividirlos en 3 bloques: energético, estructural y funcional. Enfocándonos en el bloque energético, los elementos claves son los ácidos grasos, que se encuentran en gran parte en forma de triglicéridos (TG) en el cuerpo. Su síntesis se realiza en el intestino e hígado para exportarse a otros tejidos, mientras que en el tejido adiposo blanco son sintetizados para almacenarlos como reserva energética. Las células adiposas, cuyo centro de acumulación es el citoplasma, están especializadas en la síntesis y almacenamiento de TG y en su hidrólisis y movilización hacia otros tejidos. (Gil, 2017). En la **Figura 2** se muestra un esquema general del metabolismo en el tejido adiposo y el papel que los TAG juegan en ellos para fungir como reserva energética.

El consumo de alimentos ricos en calorías y pobres en nutrientes esenciales favorece el sobrepeso y obesidad, sobre todo en el caso de adolescentes, en los

que la dieta suele ser alta en lípidos, el riesgo se incrementa si el gasto energético diario es pobre debido a la realización de poca o nula actividad física (Buchwald, et al., 2009). En el caso del embarazo, favorece la ganancia de peso excesiva.



**Figura 2. Metabolismo en el tejido adiposo.** El G3-P procede de la glucosa sanguínea mediante la vía de la glucólisis, la cual no es utilizada en su totalidad para su conversión en glicerol, pudiendo seguir otras vías como la oxidación de CO<sub>2</sub> a través de ciclo de Krebs o la oxidación en la vía de las pentosas fosfato. En el tejido adiposo, los TG son sintetizados a partir del acil-CoA (provenientes de la síntesis de novo, de ácidos grasos liberados en la lipólisis de los TG preexistentes y de los incorporados al tejido desde la sangre, estos últimos dos por acción de la acil-CoA y del G3-P). En el tejido adiposo, los TG se hidrolizan a ácidos grasos y glicerol, comenzando por la hidrólisis de los TG por la lipasa sensible de hormona, liberando ácidos grasos libres y glicerol. El glicerol no parece ser utilizado en el tejido adiposo por lo que se difunde al plasma, esto por carecer de suficiente cantidad de la enzima glicerol quinasa y es transportado a otros tejidos. Los ácidos grasos liberados por el tejido en la lipólisis pueden ser utilizados por el mismo tejido como fuente de energía, pueden ser reesterificados para la obtención de nuevos TG, o pueden acumularse y difundir al plasma, unidos a la albúmina como fuente de energía en otros tejidos (Gil, 2017).

#### 4. PROGRAMACIÓN METABÓLICA FETAL

Es importante para el feto detectar a tiempo y tratar precozmente la obesidad materna para evitar la macrosomía y alteraciones en la programación metabólica durante la etapa fetal y los primeros años de vida (Gil, 2017).

La programación fetal se define como un proceso de adaptación por el que la nutrición y otros factores ambientales alteran las vías de desarrollo durante el



período de crecimiento prenatal, induciendo con ello cambios en el metabolismo postnatal y la susceptibilidad de los adultos a la enfermedad crónica. Sin embargo, al contrario de las adaptaciones fisiológicas que ocurren en el adulto, las del feto llevan a cambios permanentes en la estructura y función del cuerpo (Barrera y Fernández, 2015).

Durante el embarazo, el feto incrementa la masa celular, se desarrolla y madura morfológicamente para adquirir de forma progresiva capacidades funcionales, distinguiendo 3 periodos críticos del desarrollo fetal: crecimiento, desarrollo y maduración. El crecimiento está ligado a la multiplicación celular y por consiguiente al incremento de la masa de un tejido, lo que lo hace sensible a cambios ambientales. El desarrollo hace referencia al grado de organización y complejidad funcional que alcanzan las diferentes estructuras orgánicas, llegando a la maduración, que se refiere al nivel de desarrollo alcanzado por un tejido o por un organismo en un determinado momento. Estos periodos pueden verse afectados por la implicación de algunas variantes infrecuentes en ciertos genes y su interacción con los factores ambientales (Sánchez; et al, 2013).

#### 4.1. VARIANTES GENÉTICAS DE LA OBESIDAD

El número de genes asociados a fenotipos relacionados con la obesidad, asciende a 253, repartidos en todos los cromosomas excepto el Y. Cuando interactúan con el medio ambiente, dan lugar a la aparición de ésta. Entre los genes involucrados en la etiología de la enfermedad se encuentran genes que codifican péptidos con función de señal de hambre y saciedad; sin embargo, se ha podido asociar firmemente la presencia de la enfermedad con cambios en ciertos genes, uno de ellos es el gen que codifica para el receptor de Leptina (*LEPR*). También existen algunos estudios donde se han identificado SNPs en genes que se han asociado inesperadamente a la obesidad, tal es el caso del gen *FTO* (Gil, 2017).

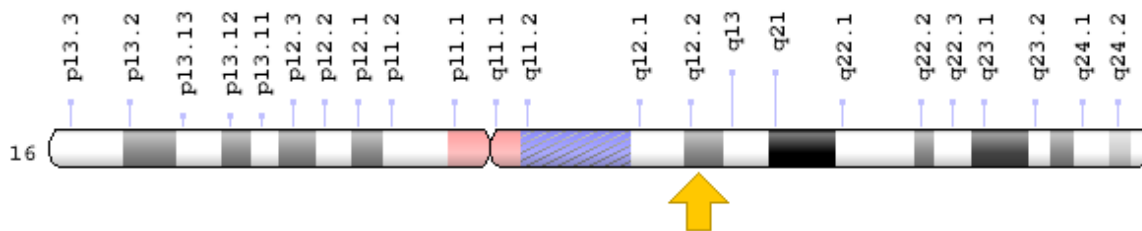
Los SNPs se refieren a los cambios en la secuencia de DNA (ácido desoxirribonucleico), en los que el cambio es de una sola base. La afectación que producen depende del sitio en el que ocurre el cambio, ya sea en una región codificante o no codificante, lo que puede provocar un cambio significativo en la

traducción de la proteína. Existen una gran cantidad de SNPs que se han implicado en la aparición de la obesidad (Gil, 2017).

#### 4.1.1. *FTO*

El gen asociado a la masa grasa y la obesidad (*FTO*), abarca aproximadamente 417,979 pares de bases (pb) y está localizado en la región 16q12.2 (**Figura 3**) que abarca, de 53,703,963 pb a 54,121,941 pb y contiene 9 exones (URL 7 y 8).

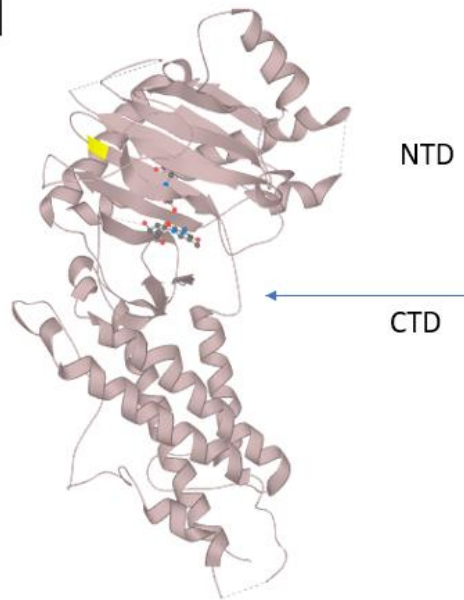
*FTO* se expresa de manera ubicua en tejidos humanos y animales, con la máxima expresión observada en el cerebro. Dentro del cerebro, la expresión de *FTO* es relativamente alta en varios núcleos hipotalámicos, incluyendo los núcleos arqueados, paraventricular, dorsomedial y ventromedial, donde se centra el control de la homeostasis energética y dentro de la célula, localizándose principalmente en el núcleo (Gulati y Giles, 2013).



**Figura 3. Localización cromosómica del gen *FTO*.** El gen se localiza en la región 16q12.2; la ubicación se señala con la flecha amarilla. Tomado de URL 8.

*FTO* codifica para una proteína de 505 aminoácidos, la estructura de la proteína contiene un dominio N-terminal (residuos 32-326) y un dominio C-terminal (residuos 327-498) denominados NTD y CTD, respectivamente. (Han; et al, 2010). La estructura de la proteína se muestra en la **Figura 4**.

ARG A 316 [3LFM]



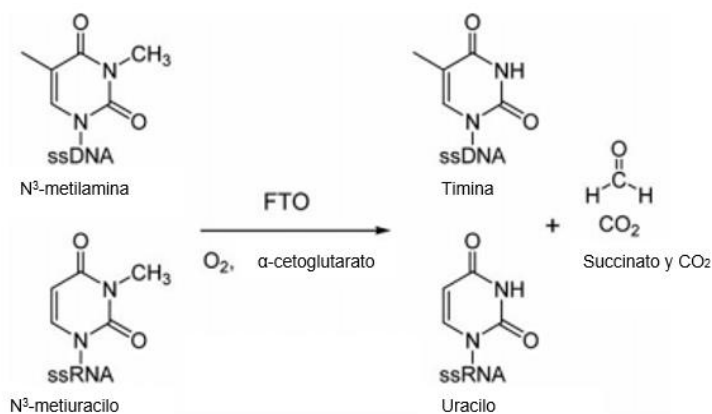
**Figura 4. Estructura de la proteína FTO.**

El residuo 326 está indicado con flecha azul, marcando la división entre los dominios NTD y CTD.

El residuo 316, marcado en amarillo indica la posición del SNP rs9939609 (Modificado de URL 9).

FTO pertenece a la familia de proteínas AlkB dioxigenasa dependiente de  $\alpha$ -cetoglutarato y Fe (II). Jia, G. y colaboradores demostraron que la proteína desmetila oxidativamente a la 3-metilamina (3-meT) o 3-metiluracilo (3-meU) en DNA monocatenario (ssDNA) y RNA monocatenario (ssRNA) en timina y uracilo, respectivamente (Jia; et al 2008). El esquema se muestra en la **Figura 5**.

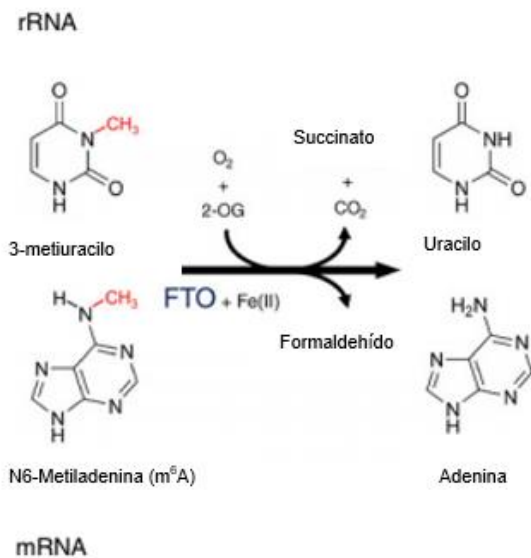
La familia también incluye los homólogos humanos de AlkB ABH1–8. Entre ellos, se ha demostrado que ABH1, ABH2 y ABH3 desmetilan oxidativamente bases de DNA y RNA N-metiladas (Jia; et al, 2011).



**Figura 5. Desmetilación de ssDNA o ssRNA por acción de FTO.**

FTO puede desmetilar tanto 3-meT de ssDNA como 3-meU de ssRNA. Modificado de (Jia; et al, 2008).

Posteriormente Jia y colaboradores dirigieron su atención hacia el sustrato N6-metiladenosina ( $m^6A$ ) (**Figura 6**). Encontrando que  $m^6A$  en DNA y RNA tenía una afinidad 50 veces mayor por la enzima en comparación con 3-meU. Mientras que 3-meU se encuentra principalmente en el RNA ribosómico (rRNA),  $m^6A$  se encuentra en el mRNA. Sin embargo, debido a que el rRNA representa la gran mayoría del RNA total, en realidad hay cien veces más 3-meU que  $m^6A$  en cualquier célula dada. (Gulati y Giles, 2013).



**Figura 6. Función bioquímica de FTO.** FTO es capaz de catalizar la desmetilación dependiente de  $Fe^{2+}$  y 2-oxoglutarato de 3-metiluracilo y N6-metiladenosina, con la producción de succinato, formaldehído y dióxido de carbono. Se indica la ubicación de ambos sustratos. Modificado de Gulati y Giles, 2013.

Como la proteína codifica una enzima de desmetilación que elimina grupos metilo de los nucleótidos de DNA y RNA, probablemente esté involucrada en procesos fisiológicos como el control de la homeostasis energética, la adipogénesis y la metilación del DNA (Saldaña; et al, 2016).

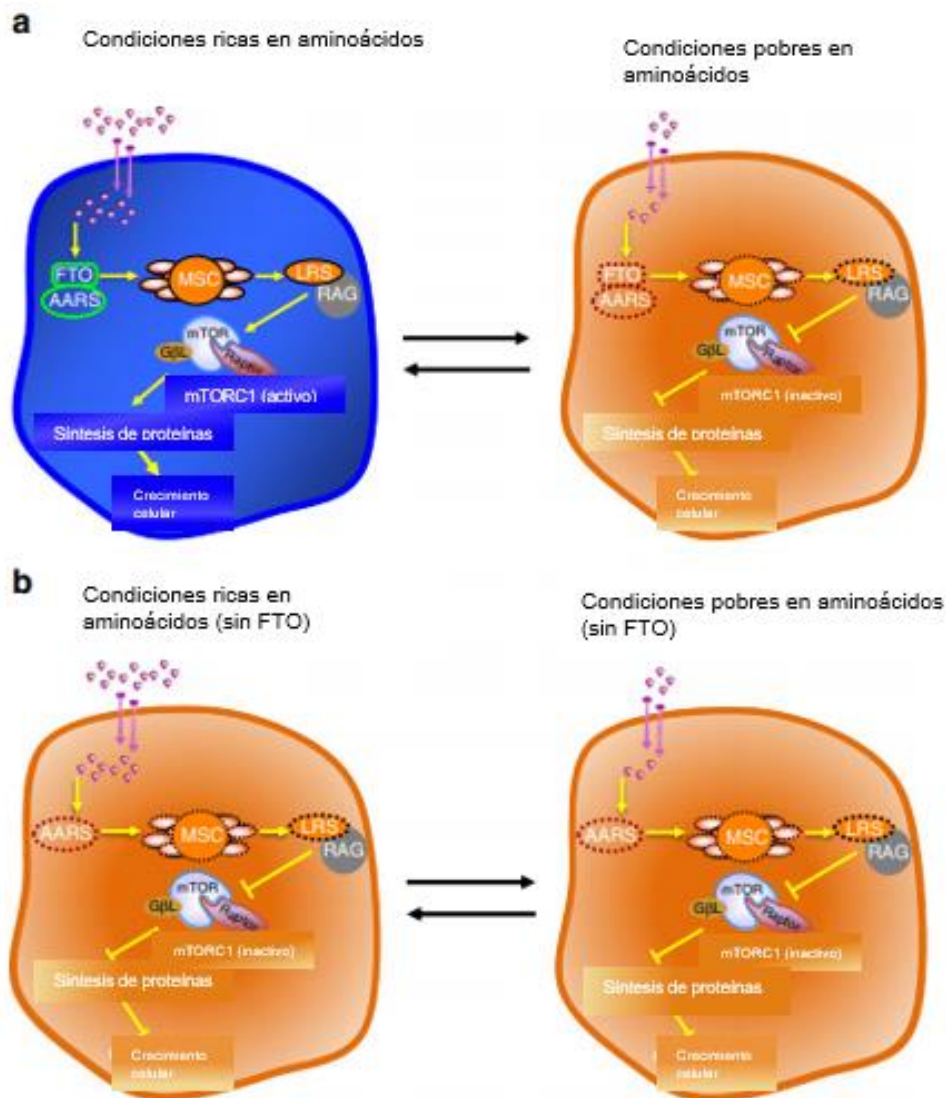
Otra posible función del gen *FTO* es la detección de aminoácidos, reportada en el artículo de Gulati y Giles en 2013. En el estudio, con fibroblastos embrionarios de ratón (MEF), células N46 hipotalámicas de ratón y células de riñón embrionario humano (HEK) 293; encontraron que los niveles de mRNA y proteína de FTO se reducen drásticamente por la privación total de aminoácidos en células N46, MEF y en células de HEK 293. Sus datos sugieren que podría haber alguna interacción entre los niveles de FTO y la disponibilidad de aminoácidos esenciales.

El análisis *in vitro* con los MEF *Fto*  $-/-$  exhibieron tasas de crecimiento más lentas y una traducción de mRNA reducida en comparación con los MEF de tipo silvestre, demostró que el complejo multi-sintetasa (MSC), que coordina la función de las

sintetasas de aminoacil-tRNA (AARS), está regulado negativamente en los MEF deficientes de FTO. El mantenimiento del MSC es esencial para la traducción de mRNA, y su interrupción conduce a una reducción en los niveles de proteína de los AARS y una caída en su actividad, lo que conduce a tasas de traducción de mRNA reducidas. Sin embargo, la reintroducción de FTO en estas células rescató la expresión de MSC y aumentó la traducción. Estos resultados indican un papel para FTO en la regulación de la traducción de mRNA a través del mantenimiento de los niveles de proteína celular MSC.

Además, mTORC1 (objetivo mamífero de rapamicina), un regulador crítico del crecimiento y la traducción, depende de la actividad enzimática de FTO. El papel de los AARS en la activación de mTORC1; implican especialmente leucyl tRNA sintetasa (LRS) como un sensor de aminoácidos clave localizado río arriba de la GTPasa RAG (Genes de activación de recombinación) relacionada con Ras y mTORC1. Cuando en el estudio midieron los niveles de LRS en Fto <sup>-/-</sup> MEF, encontraron que, como con los otros AARS, la expresión de LRS se reduce en respuesta a la falta de FTO, con ello propusieron el modelo de la **Figura 7**.

Dejando de lado las posibles funciones del gen *FTO*, se cree que el gen está implicado en la predisposición a la obesidad. Las señales de asociación del genoma más fuertes se encuentran en los intrones 1 y 2 del gen *FTO*. Algunos de sus polimorfismos tienen un fuerte desequilibrio de ligamiento en todos los sujetos y están asociados con un mayor peso corporal, grasa corporal, IMC, circunferencia de la cintura, circunferencia de la cadera y consumo de energía (Yang, et al., 2017). Uno de los polimorfismos al que se le ha prestado especial atención es el rs9939609, ya que se ha encontrado una gran incidencia del mismo en personas que presentan acumulación excesiva de grasa.



**Figura 7. FTO como un posible sensor de aminoácidos.** (a) En el modelo FTO está corriente arriba de AARS (LRS) en el enlace entre los niveles de aminoácidos y la señalización de mTORC1, lo que lleva a niveles apropiados de traducción de mRNA y el crecimiento celular. (b) En ausencia de FTO, la señalización de mTORC1 está desregulada, poniendo a las células en condiciones similares a la privación de aminoácidos incluso en presencia de aminoácidos (Modificado de Gulati y Giles, 2013).

#### 4.1.1.1. FTO rs9939609

El polimorfismo rs9939609 se encuentra en el intrón 1, caracterizado por la sustitución de Timina por Adenina en la posición 87653 de la secuencia genómica, que ocasiona la sustitución de Glutamina en lugar de Arginina en la posición 316 de la secuencia de aminoácidos (señalada en la **Figura 4** en color amarillo), lo que resulta en una función enzimática deteriorada de la proteína FTO. El polimorfismo

se ha asociado con varios trastornos metabólicos, enfermedades cerebrales y cancerosas (Ali; et al, 2019).

El polimorfismo está fuertemente asociado con la obesidad por estudios de asociación de todo el genoma. Está relacionado con la obesidad al actuar sinérgicamente tanto a nivel central como periférico. En el nivel central (el hipotálamo), la expresión de rs9939609 conduce a un alto consumo de alimentos densos en energía; a nivel periférico, modula la adipogénesis (Daya; et al, 2019).

En 2007, mientras Frayling y colaboradores realizaban una búsqueda de genes con susceptibilidad a la diabetes tipo 2, identificaron que este polimorfismo predisponía a la diabetes a través de un efecto sobre el índice de masa corporal (IMC). La asociación aditiva de la variante con el IMC se repitió en 13 cohortes con 38.759 participantes. El 16% de los adultos homocigotos para el alelo de riesgo pesaban unos 3 kilogramos más y tenían 1.67 veces más probabilidades de obesidad en comparación con aquellos que no heredan el alelo de riesgo. Esta asociación se observó desde los 7 años en adelante y reflejaba un aumento específico en la masa grasa (Frayling; et al, 2007).

#### 4.1.2. *LEPR*

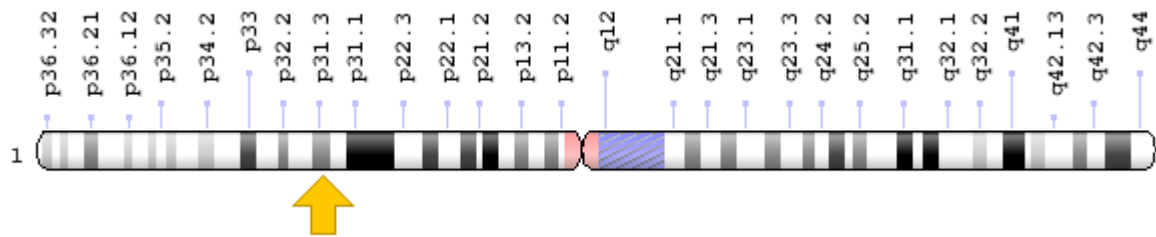
La leptina (LEP), una hormona polipeptídica de 16 kDa, secretada principalmente del tejido adiposo, actúa a través de la unión de receptores específicos que están presentes en la membrana celular y desempeña un papel integral en la ingesta de alimentos, la saciedad y el gasto energético (Salem; et al, 2016).

Al llegar al cerebro a través del torrente sanguíneo, la leptina actúa sobre los receptores hipotalámicos, lo que reduce el apetito, estimula el consumo de energía y la pérdida de masa corporal (Anghebem, et al, 2017).

Varios estudios han demostrado que LEP juega un papel importante también en las funciones reproductivas, tales como; función ovárica, maduración de ovocitos, desarrollo embrionario, así como implantación y placentación. Además, los datos crecientes indican que la LEP juega un papel importante en el embarazo: durante el embarazo, los niveles séricos de LEP aumentan dramáticamente y son más altos en comparación con los niveles en mujeres no embarazadas (Salem; et al, 2016).

El gen Receptor de Leptina (*LEPR*), o también conocido como gen receptor de la obesidad (*OB-R*); abarca aproximadamente 220,908 pb y está codificado en la

región 1p31.3 (**Figura 8**), de 65,420,652 a 65,641,559 pb y contiene 24 exones (URL 11).



**Figura 8. Localización cromosómica del gen *LEPR*.** El gen se localiza en la región 1p31.3; la ubicación se señala con la flecha amarilla (URL 10).

Este gen codifica para la proteína LEPR de 1,165 aminoácidos (**Figura 9**), y pertenece a la familia de glucoproteínas 130 de receptores de citocinas clase I agrupados en varios dominios. Posee dos dominios extracelulares CRH1 y 2, donde CRH1 es esencial para la interacción de alta afinidad, y el dominio CRH2 es necesario para la unión de la leptina (Daghestani, et al., 2019)



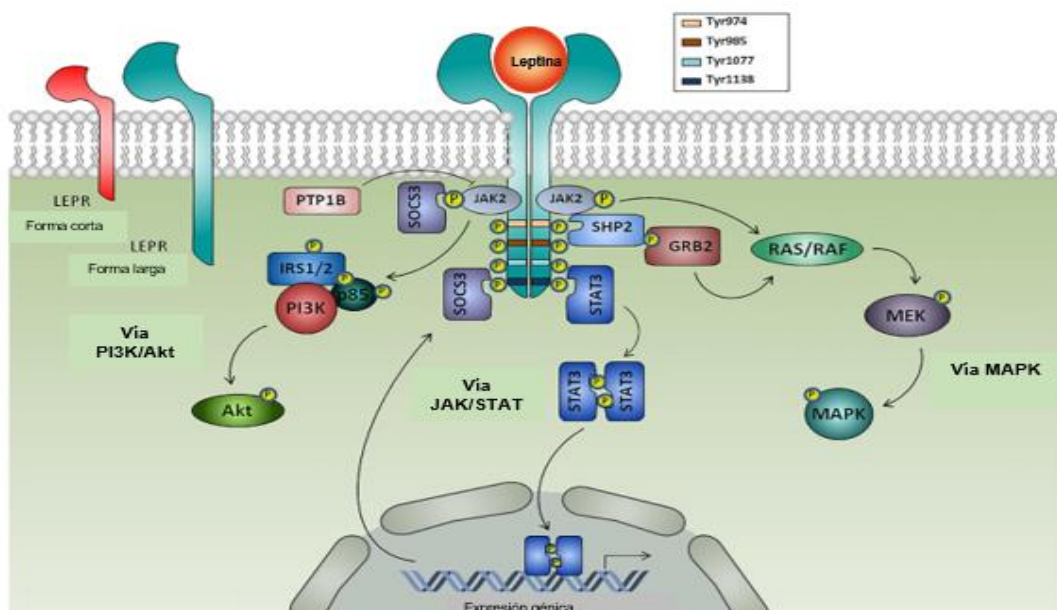
**Figura 9. Estructura de la proteína *LEPR*.** Tomado de URL 11.

Existen al menos 6 isoformas del gen *Ob-R*. Incluyen una forma larga (*Ob-Rb*); cuatro formas cortas (*Ob-Ra*, *Ob-Rc*, *Ob-Rd* y *Ob-Rf*); y una forma soluble (*Ob-Re*). *Ob-Rb* difiere de otras en que tiene un dominio intracelular largo, que es necesario para la señalización de leptina a través de la vía JAK2/STAT3 (Angel; Tene y Castro, 2012). El receptor contiene tres residuos de tirosina altamente conservados



(Tyr985, Tyr1077, Tyr1138) necesarios para la señalización eficiente de leptina (Wauman; Zebeau y Tavernier, 2017).

La leptina se une a las isoformas de su receptor: la isoforma soluble, la isoforma corta y la isoforma larga. La unión de la leptina a Ob-Rb da como resultado su dimerización y provoca la autofosforilación de Janus quinasa 2 (JAK2), que fosforila el dominio citoplasmático de LEPR en residuos de tirosina (Tyr974, Tyr985, Tyr1077, Tyr1138), cada uno de los cuales funcionan como sitios de acoplamiento para adaptadores citoplasmáticos. Tyr1138 fosforilado con LEPR media la interacción con el transductor de señalización y el activador de la transcripción 3 (STAT3), que se dimeriza y se transloca al núcleo para activar la transcripción de los genes diana, tales como el supresor de la señalización de citocinas 3 (SOCS3) que actúa en retroalimentación negativa de señalización. Además, la leptina induce la activación de SHP2 (Proteína tirosina fosfatasa), que luego recluta a la proteína adaptadora Grb2 (Proteína 2 unida al factor de crecimiento) para activar la activación de la cascada de señalización Ras/Raf/MAPK. La leptina también media la activación de fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K)/Akt (Serina/treonina quinasa) a través del sustrato receptor de insulina 1/2 (IRS1/2) y la proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B) actúa como un regulador negativo de la señalización de leptina a través de la desfosforilación de JAK2 (Vera; et al, 2018). Esto se muestra en la **Figura 10**.



**Figura 10. Receptores de leptina y vías de señalización de leptina intracelular.** La isoforma larga, que tiene el dominio intracelular completo permite la transducción de la señal de leptina a través de las vías de señalización JAK y STAT (isoforma soluble no mostrada). Modificado del artículo de Vera; et al, de 2018.

#### 4.1.2.1. LEPR rs1137101

La resistencia a la leptina está fuertemente asociada con la obesidad y, al mismo tiempo, parece ser un rasgo hereditario caracterizado por las variantes genéticas en *LEPR* entre personas de diferentes regiones. La presencia de varios SNPs en el gen *LEPR*, pueden conducir a la expresión alterada de la proteína, al fracaso de la acción de la leptina celular y al desarrollo de obesidad (Pan; Guo y Su, 2014).

Se ha investigado ampliamente una variante en el exón 6 de *LEPR*, el polimorfismo rs1137101 (Q223R). Consiste en una transición de A por G, donde un codón CAG cambia a CGG, lo que resulta en la sustitución de glutamina por arginina (Gln223Arg) en el *LEPR*, el cambio ocurre dentro de una de las dos regiones putativas de unión a leptina y puede estar asociado con el deterioro de su capacidad de señalización (Salem; et al, 2016).

El polimorfismo está dentro de la región que codifica para el dominio extracelular del receptor de leptina y, por lo tanto, el cambio de aminoácidos afecta a todas las isoformas del receptor. Dando como resultado una variación de aminoácidos en la región extracelular del receptor de leptina, que puede cambiar las características funcionales del receptor (Quinton; et al, 2001).

## II. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, el embarazo a temprana edad ha cobrado gran relevancia debido a su incremento en la población y los intentos para disminuir su incidencia poco satisfactorios, no sólo en México, también a nivel mundial. Aunque los datos de embarazos adolescentes no son constantes a lo largo de los años, su variación en incidencia sigue siendo alta.

El inadecuado control de peso durante el embarazo adolescente representa un problema importante de salud, que retoma aún más fuerza e importancia cuando desencadena problemas más graves.

Es importante implementar medidas para controlar las complicaciones que pueden presentarse en el embarazo adolescente, los cuales se ven influenciados por una ganancia de peso excesiva, ya que su presencia puede poner en riesgo la calidad de vida de la madre y el feto; logrando incluso influenciar una programación fetal en el metabolismo del recién nacido, haciéndolo más susceptible a la obesidad o padecer enfermedades cardiovasculares desde temprana edad.

Además de la edad, hay muchos otros factores que influyen en la ganancia de peso, uno de ellos son los factores genéticos; esto sin olvidar que la heterogeneidad genética de la población, implica que existen variantes en los genes que pueden afectar el riesgo de desarrollar problemas con el control de peso, en este caso nos enfocaremos únicamente en el estudio de los polimorfismos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101, por lo que, en nuestra población de estudio es importante determinar el genotipo de ambos genes.

Al comprobar si la presencia de los polimorfismos están incluidos en alteraciones de las características de las diadas, un pronto diagnóstico puede servir para que los médicos que llevan el control de los embarazos emitan recomendaciones a las madres sobre sus hábitos de alimentación y ejercicio que ayuden a evitar la ganancia de peso excesivo durante sus embarazos; así como las complicaciones que conlleva a corto, mediano y largo plazo, ya que serían más susceptibles a padecerlos; intentando con ello, motivar a las madres a llevar un estilo de vida más saludable en su núcleo familiar.

### III. HIPÓTESIS

Si los polimorfismos FTO rs9939609 y/o LEPR rs1137101 están implicados en el aumento de peso gestacional y el desarrollo de complicaciones durante el embarazo, entonces las diadas que los posean presentarán una mayor tendencia a desarrollarlos.

### IV. OBJETIVOS

#### A. OBJETIVO GENERAL

Determinar la influencia de los polimorfismos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101 en la diada adolescente y su neonato, mediante la asociación de los resultados de la determinación del genotipo en las diadas con los perfiles maternos y neonatales, para comprobar si la presencia de los polimorfismos está asociada a la ganancia de peso gestacional en las madres adolescentes mexicanas; así como con la posibilidad de que sus neonatos desarrollen una ganancia excesiva de peso.

#### B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la presencia de los polimorfismos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101 mediante las técnicas de HRM y secuenciación de Sanger modificada, en las diadas madre adolescente y su neonato en estudio.
2. Valorar la distribución de la frecuencia de los genotipos mediante la comprobación del equilibrio de Hardy-Weinberg con la prueba de  $X^2$ , para asociar las características de la diada madre y su neonato con la presencia de los polimorfismos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101.
3. Evaluar si la presencia de los polimorfismos influye en la ganancia de peso gestacional o la presencia de

complicaciones durante el embarazo, mediante la comparación de la frecuencia de los genotipos con los perfiles bioquímicos y los parámetros antropométricos de las madres.

4. Determinar la relación entre el peso al nacer y el genotipo materno, mediante la comparación de ambos parámetros, para comprobar si existe una relación entre el peso al nacer y la presencia de las variantes.

## **V. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **A. POBLACIÓN DE ESTUDIO**

Este estudio está enfocado a demostrar la presencia de dos polimorfismos que pueden estar relacionados con la obesidad, y ya que este problema de salud representa un mayor riesgo en las mujeres que cursan su embarazo durante la adolescencia, las 54 diadas que se han seleccionado son mujeres que iniciaron su embarazo a una edad de entre 10 a 19 años y sus neonatos.

A las madres se les invitó a participar en el proyecto y se les dio a firmar una carta de consentimiento y asentimiento informado en dónde se le explicaba en qué consistía el proyecto y su objetivo.

#### **1. Criterios de inclusión**

- a) Adolescente embarazada con edad entre 10 a 19 años.
- b) Adolescentes que no padecieran enfermedades metabólicas, autoinmunes, infecciosas, cardiovasculares o endocrinológicas.
- c) Que ellas y sus padres aceptaran participar libre e informadamente y firmaran la carta de consentimiento y asentimiento informados.
- d) Con control prenatal y resolución de embarazo en el INPer.

## 2. Criterios de exclusión

- a) Presencia de alcoholismo y toxicomanías, incluidas el tabaquismo.
- b) Que fueran vegetarianas o veganas.
- c) Que hubieran sido diagnosticadas con trastornos de la conducta alimentaria.
- d) Que las madres cursaran con enfermedades crónicas o consumieran medicamentos de forma permanente.

## 3. Criterios de eliminación

- a) Nacimiento u óbito con malformaciones fetales.
- b) Recién nacido con cromosomopatías.
- c) Abandono del protocolo antes del nacimiento de su hijo.
- d) Retiro del consentimiento.

## B. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 1. Extracción de DNA

A las pacientes que aceptaron participar en el proyecto se les tomó una muestra de sangre periférica para la determinación del perfil bioquímico en el segundo o tercer trimestre del embarazo y la obtención de DNA genómico; mientras que a los neonatos se les tomó una muestra de cordón umbilical o de raspado de mucosa oral para la obtención de DNA genómico.

La extracción de DNA se realizó en el laboratorio de Genética y Genómica Humana con el kit comercial Wizard® Genomic DNA Purification kit de Promega. Los tres procedimientos compartían pasos; se describen a continuación:

- Muestras de sangre periférica
  - Se centrifugaron los tubos a 4,000 rpm (revoluciones por minuto) 10 minutos.

- Se obtuvo la capa leucocitaria y se depositó en tubos Eppendorf de 1.5 mL.
- Para realizar el lavado de las muestras se agregaron 600  $\mu$ L de solución de lisis celular, los tubos se vortexearon esporádicamente, posteriormente se centrifugaron las muestras a 14,000 rpm durante 3:30 minutos y se eliminó el sobrenadante (este paso se repetía las veces necesarias hasta observar un botón blanco).
- Muestras de cordón umbilical
  - Se tomaron entre 70 a 120 mg de las arterias y/o vena del cordón y se colocaron en tubos Eppendorf de 1.5 mL.
- Mucosa oral: Se colocó el hisopo con la muestra en tubos Eppendorf de 1.5 mL y se cortó el mango del mismo, para poder cerrar el tubo.
- Procedimiento común para las muestras:
  - Se colocaron 600  $\mu$ L de solución de lisis nuclear, los tubos se agitaron con vórtex ligeramente y se agregaron 30  $\mu$ g de proteinasa K.
  - Las muestras se incubaron en agitación 24 horas a 55°C.
  - A los tubos se les añadió 300  $\mu$ L de solución de precipitación de proteínas y se incubaron en hielo durante 5 minutos, agitando con vórtex de forma constante.
  - Las muestras se centrifugaron a 14,000 rpm por 3:30 minutos y se transfirió el sobrenadante a un tubo nuevo al que se le añadían 600  $\mu$ L de isopropanol, se agitaron los tubos por inversión y se volvieron a incubar en hielo por 5 minutos.
  - Se centrifugaron los tubos y el sobrenadante se desechó, se agregaron 300  $\mu$ L de etanol y se volvieron a centrifugar.
  - El sobrenadante se desechó con micropipeta para evitar la pérdida del botón de DNA y se dejaron secar las muestras a temperatura ambiente.
  - Se añadieron mínimo 30  $\mu$ L de buffer de rehidratación, dependiendo del tamaño del botón y se incubaron en agitación a 55 °C hasta que el botón se hidrataba por completo.

Las muestras se cuantificaron por duplicado con el espectrofotómetro NanoDrop™ 2000 de Thermo Fisher Scientific™ y posteriormente se almacenaron a -20°C hasta su uso.

## 2. Diseño de iniciadores

Los cebadores utilizados para identificar los polimorfismos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101 se diseñaron con el software Primer Select de DNASTAR, buscando que el fragmento no excediera los 200 pb, que las Tm (temperatura media de alineamiento) entre el primer Forward y el Reverse fueran lo más cercanas entre sí y evitando la formación de productos inespecíficos, lo anterior se corroboró en OligoAnalyzer®. Posteriormente se evaluó su especificidad en Primer BLAST (herramienta básica de búsqueda de alineación local) del NCBI (Centro Nacional para la Información Biotecnológica). Los diseños de los iniciadores se muestran en la **Tabla 2**.

**Tabla 2. Diseño de iniciadores.**

Polimorfismo	Iniciadores	Tm teórica °C y longitud	Tamaño del producto
FTO rs9939609	F: 5'-TTATTCTAGGTTCCCTTGCGACTGC-3' R: 5'-TTTGCTTTTATGCTCTCCCACTCC-3'	55.8, (24 nt) 57.7, (24 nt)	116 pb
LEPR rs1137101	F: 5'-AACAGCCAAACTCAACGACAC-3' R: 5'-TGTTTAGACCTATTATCATCATTTTA-3'	51.7, (21 nt) 46.9, (26 nt)	140 pb

En la tabla se muestra el diseño de los iniciadores para cada gen, junto con sus valores de Tm teóricas, la longitud de los mismos y el tamaño del fragmento. F: iniciador Forward, R: iniciador Reverse, nt: nucleótidos.

## 3. Estandarización de la amplificación de los fragmentos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101

Para la estandarización de la temperatura de amplificación de los fragmentos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101 se realizaron rampas de temperatura utilizando un



DNA control a una concentración de 25 ng/mL mediante la técnica de PCR punto final utilizando el kit Precision Melt Supermix™ de Bio-Rad.

Las reacciones se prepararon como se muestra en la **Tabla 3**, y los productos de PCR se amplificaron empleando el termociclador Mastercycler Gradient de Eppendorf®.

La rampa de temperatura se estableció calculando el promedio de las T<sub>m</sub> de cada par de primers; el termociclador utilizado permitió colocar hasta 12 reacciones a diferentes temperaturas; sin embargo, sólo se probaron 6 (**Figura 11**).

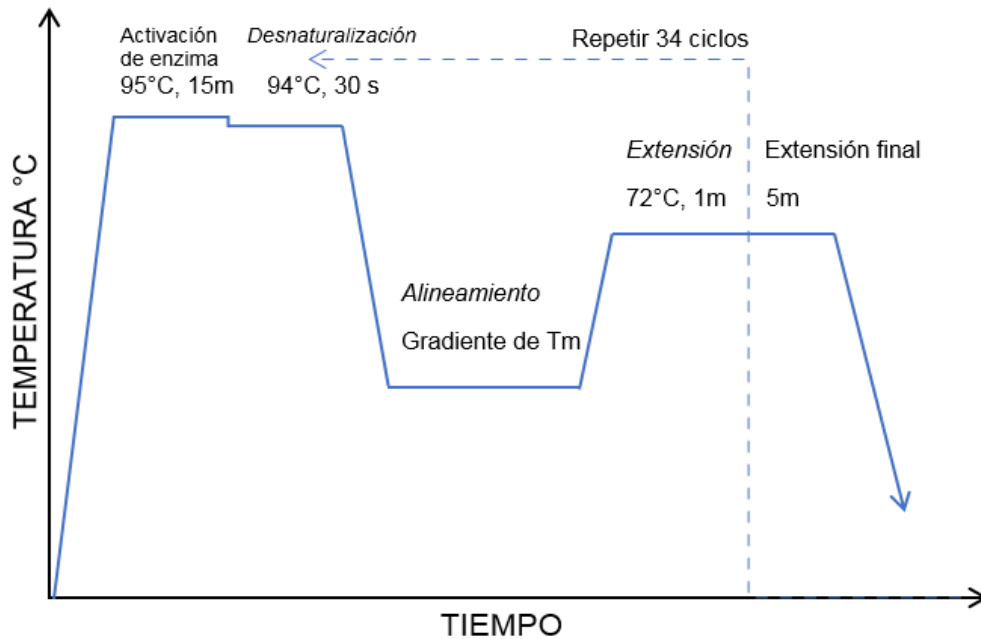
Posteriormente se realizaron electroforesis en gel de agarosa al 1.5%. El gel se preparaba con Buffer TAE (Tris-Acetato EDTA) 1X o TBE (Tris-Borato EDTA) 1X; una vez listo el gel, se cargaba cada pozo con 3 µL del producto y 1 µL de buffer de carga, para corroborar el peso molecular de los amplificados, en el gel también se cargaba marcador de peso molecular (MPM) de 100 pb de invitrogen de Thermo Fisher Scientific™, al cual previamente se le adicionó GelRed® (intercalante de bases) con el fin de permitir su visualización.

**Tabla 3. Volúmenes de reactivos utilizados para la amplificación de los fragmentos**

Reactivos	Volumen en µL para cada reacción
Máster mix	5
Primer Forward	0.5
Primer Reverse	0.5
H2O	3
DNA (30 ng/mL)	1
Volumen total	10

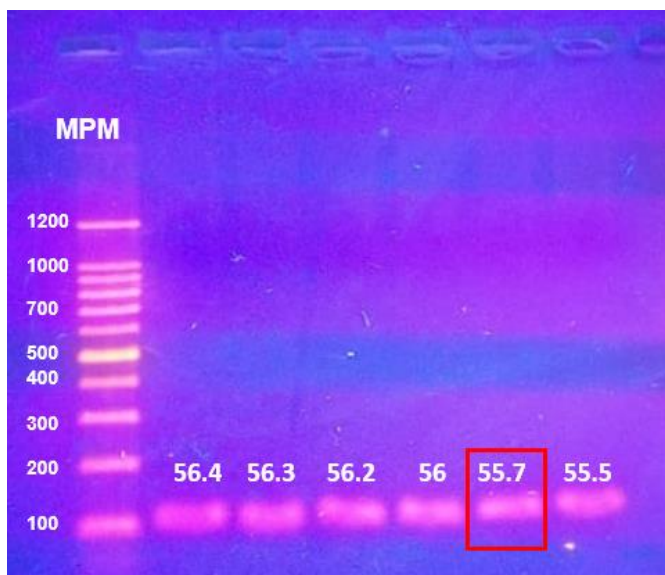
En la tabla se muestra el volumen de cada reactivo necesario para una reacción; los iniciadores Forward y Reverse se colocaron en concentraciones de 10 pmol/mL.

## GRÁFICO DE PCR DE GRADIENTE



**Figura 11. Gráfico de PCR de gradiente.** El rango de temperaturas de alineamiento en para el gradiente del gen *FTO* fueron de 56.4°C a 55.5°C; mientras que el rango para el gen *LEPR* fue de 55.3° C a 56.2° C.

Los geles se observaron con el transiluminador UV Foto/Phoresis I de Fotodyne incorporated, esto para verificar la presencia de los productos de PCR y determinar la  $T_m$  óptima de amplificación que fue de 55.7°C para ambos fragmentos; además de verificar el tamaño de los productos y descartar la formación de productos inespecíficos para ambos genes. En las **Figuras 12 y 13** se muestran las amplificaciones de los productos.



**Figura 12. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5% de la PCR en gradiente para el fragmento *FTO* rs9939609.** En la imagen se observa que el fragmento de aproximadamente 116 pb se amplifica en todas las temperaturas probadas, observando que no hay presencia de productos inespecíficos. Se eligió la  $T_m$  de 55.7°C. MPM: marcador de peso molecular de 100 pb.

**Figura 13. Electroforesis en gel de agarosa 1.5% para la PCR en gradiente del fragmento LEPR rs1137101.** El fragmento LEPR rs1137101 de aproximadamente 140 pb se amplifica en cualquiera de las 6 temperaturas probadas, sin la formación de productos inespecíficos. La T<sub>m</sub> elegida fue 55.7°C.



#### 4. Escaneo de variantes de los polimorfismos FTO rs9939609 y LEPR rs1137101

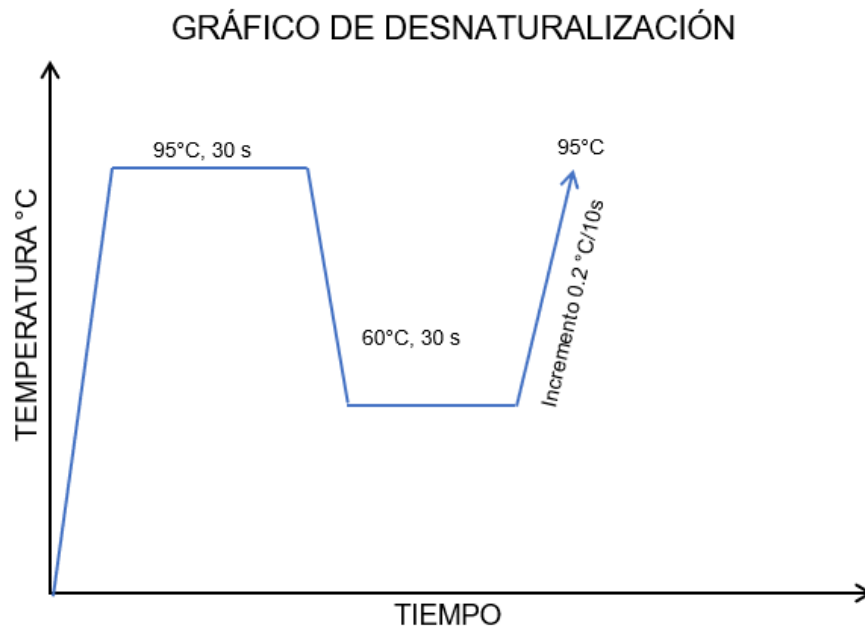
Una vez establecidas las condiciones de amplificación de cada polimorfismo, se montaron las reacciones de PCR en placas, colocando las muestras por duplicado, a la misma concentración que el DNA control y al final de las placas se colocaron dos NTC (control sin plantilla, por sus siglas en inglés). La utilización del kit Precision Melt Supermix™ de Bio-Rad, que contiene un colorante fluorescente llamado SYBR Green®, permite realizar una técnica posterior a la PCR, conocida como HRM (desnaturalización de alta resolución, por sus siglas en inglés).

La fusión o desnaturalización del DNA ocurre cuando el dsDNA se separa en ssDNA. La fusión del DNA puede seguirse con colorantes que fluorescen en presencia de dsDNA (Farrar y Wittwer, 2017). Cuando un producto de PCR se funde en presencia de un tinte de dsDNA que contiene fluoróforos inespecíficos, que se intercalan y saturan la doble cadena; la doble cadena se disocia en cadenas sencillas los fluoróforos se liberan emitiendo fluorescencia; ésta se controla continuamente y se representa gráficamente contra la temperatura. A medida que aumenta la temperatura, hay una caída característica en la fluorescencia que coincide con la desnaturalización del producto de PCR (Farrar y Wittwer, 2017). La curva de fusión que se genera posterior a la PCR sirve para confirmar que se ha

amplificado un solo producto de PCR y para detectar la posible presencia de cebadores dímeros u otros productos de PCR no deseados (URL 12).

El perfil de fusión de las moléculas de dsDNA está influenciado por varios factores. Algunos de éstos son propiedades de la molécula individual, como la longitud, el contenido de GC y la secuencia; mientras que otros no lo son: éstos incluyen la fuerza iónica de la solución tampón, la concentración de DNA y la presencia de sustancias como DMSO o betaína (Taylor, 2009).

Las curvas de fusión se realizaron en el equipo de PCR tiempo real CFX96 de Bio-Rad; para garantizar la especificidad de los iniciadores, con datos típicamente recolectados en un rango de temperatura entre 65 y 95 ° C en incrementos de 0.2 ° C. El gráfico de desnaturalización de la técnica se muestra en la **Figura 14**.



**Figura 14. Gráfico de desnaturalización.** Una vez pasando el descenso de temperatura de 95° a 60°C durante 30 segundos, la fluorescencia se fue midiendo gradualmente con un incremento de 0.2°C cada 10 segundos.

Las curvas de fusión generadas fueron analizadas con el Software Presicion Melt Analysis™ software v1.3 de Bio-Rad, con el que se generaron nuevos gráficos que ayudaron a la identificación de las muestras con alteraciones en la curva de fusión, las cuales eran indicativas de la presencia de una variante de secuencia (Garritano; et al, 2009). Con la utilización de este software se escanearon las variantes de ambos genes. Después de la PCR, la curva de fusión compuesta de dos

homodúplex y dos heterodúplex se mide mediante los cambios generados en las curvas. Los heterodúplex se detectan por un cambio en la forma de la curva de fusión después de la normalización (Farrar y Wittwer, 2017).

## 5. Secuenciación de Sanger modificada

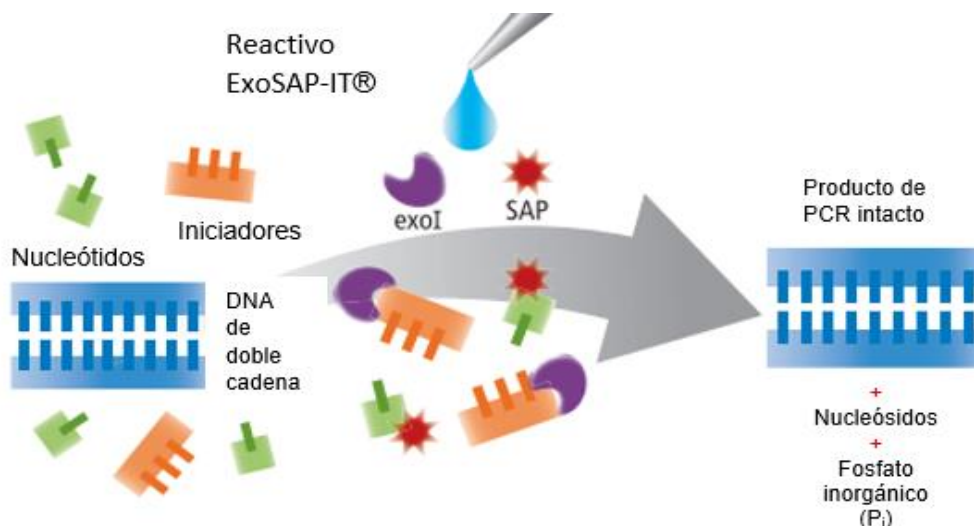
Después de la agrupación de los genotipos, de cada grupo se seleccionaron aquellos que tuvieran el más alto porcentaje de confidencialidad y se procedieron a secuenciar para identificar el genotipo de cada grupo. Para iniciar con la reacción de secuenciación se realizó antes una purificación con Exonucleasa para el fragmento LEPR rs1137101 y una purificación de banda del fragmento FTO rs9939609.

### a) Purificación de muestras

#### (1) Purificación con Exonucleasa

Ambos fragmentos se purificaron con el kit ExoSAP-IT® de USB Corporation. El cual contiene dos enzimas hidrolíticas, la Exonucleasa I y la Fosfatasa Alcalina de Camarones, juntas en un tampón, para eliminar dNTPs (desoxinucleósidos trifosfato) y cebadores no deseados de los productos de PCR. La exonucleasa I elimina los cebadores residuales monocatenarios y cualquier DNA extraño monocatenario producido en la PCR. La fosfatasa alcalina de camarón elimina los dNTP restantes de la mezcla de PCR que interferiría con las reacciones posteriores (URL 13). El proceso se representa esquemáticamente en la **Figura 15**.

Para la reacción de purificación se colocaron las cantidades de los reactivos mostradas en la **Tabla 4**.



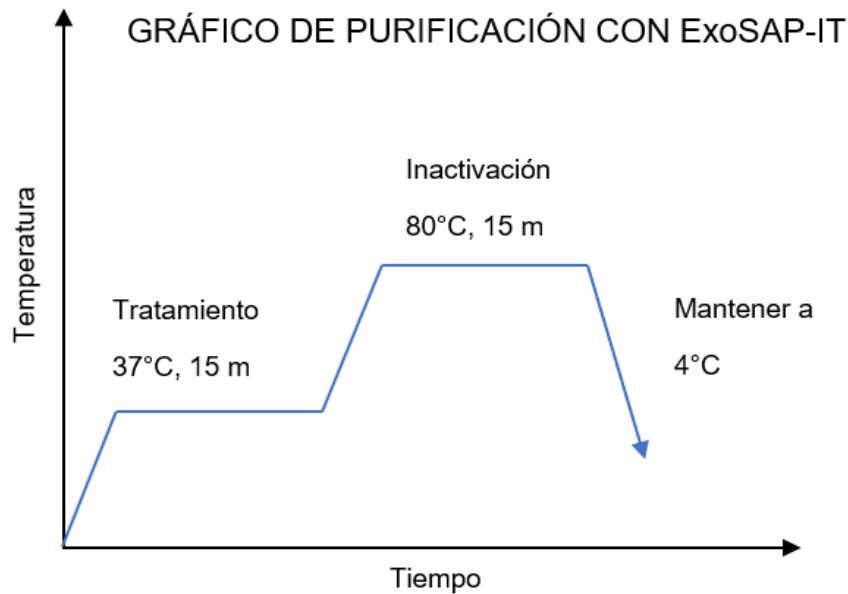
**Figura 15. Representación esquemática de la purificación con ExoSAP-IT.** Ambas enzimas trabajan en conjunto para mantener íntegro el producto de PCR. Imagen modificada de URL 13.

**Tabla 4. Volúmenes de reactivos para la purificación con ExoSAP-IT**

Reactivo	µL por cada reacción
Producto de PCR	2
ExoSAP-IT	1
H <sub>2</sub> O	4
Volumen total	7

Se muestran los volúmenes de cada reactivo necesarios para realizar una reacción de purificación con ExoSAP-IT.

La reacción se llevó a cabo en el termociclador Mastercycler Gradient de Eppendorf®, en dos pasos (**Figura 16**).



**Figura 16. Gráfico de purificación con ExoSAP-IT.** Las enzimas permanecen a 37°C para realizar su trabajo y posteriormente son inactivadas con un aumento de la temperatura a 80°C durante 15 minutos. m: minutos.

## (2) Purificación de banda

Los distintos grupos obtenidos mediante HRM del fragmento FTO rs9939609 se intentaron purificar con el kit GenElute™ de Sigma-Aldrich. Se cortaron los fragmentos observados de la electroforesis lo más exacto posible para evitar pérdida de producto, se colocaron en tubos Eppendorf de 1.5 mL y se pesaron. Posteriormente se agregaron 3 volúmenes de una solución para solubilizar el gel y se incubaron las muestras en agitación a 60°C, la solución contenía un indicador de pH, el cual indicaba si éste era óptimo para la purificación.

Mientras los geles se solubilizaban, a las columnas por las que se hacían pasar los fragmentos solubilizados se les colocaron una solución de preparación y se centrifugaron a 14,000 rpm, 1 minuto.

Posteriormente, a los tubos se les añadió 1 volumen de isopropanol, el cual se hizo pasar por la columna para centrifugarse de nuevo. Después; por duplicado, se le añadió una solución de lavado a la columna y se centrifugó, desechando el sobrenadante entre cada centrifugación. Durante estos pasos; los fragmentos de DNA de interés se adsorbían selectivamente sobre la membrana de sílice y los contaminantes se eliminaron mediante las centrifugaciones. Finalmente, en un

nuevo tubo, el DNA unido se eluía en 25  $\mu\text{L}$  de agua grado biología molecular caliente, se incubó un minuto y se volvió a centrifugar (URL 14).

b) Reacción de PCR de secuencia

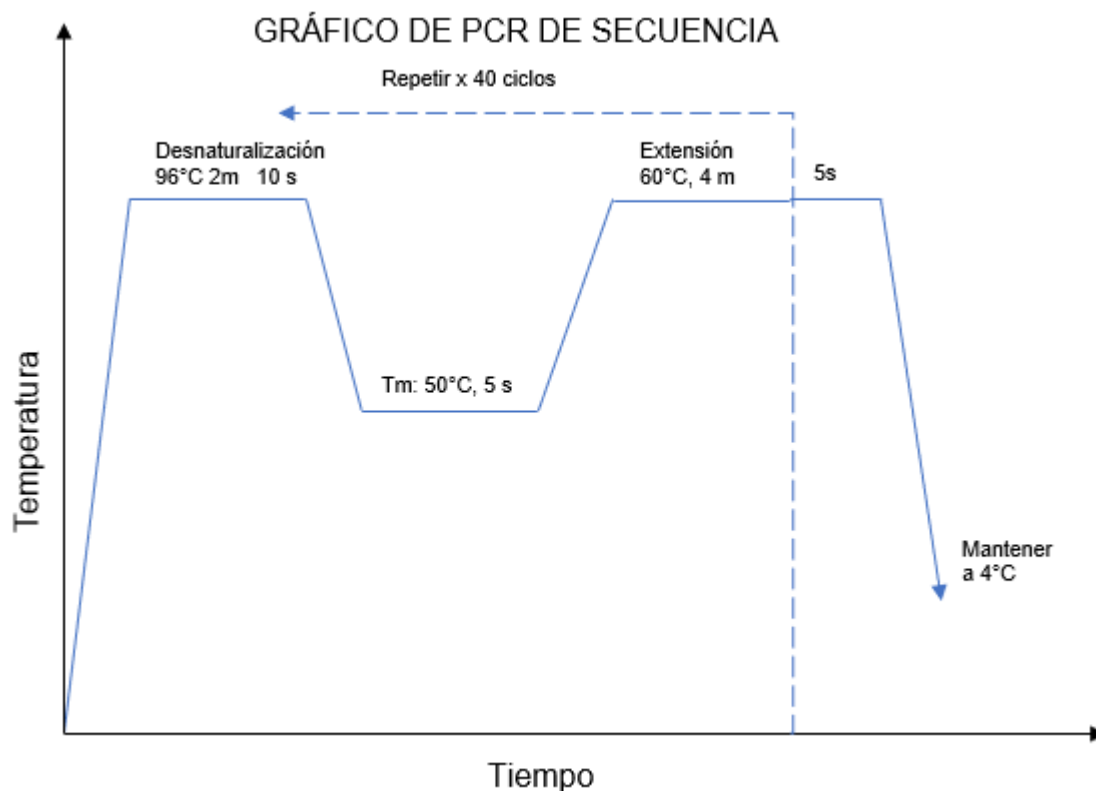
Después de la purificación, se procedió a realizar las reacciones de PCR de secuencia de las muestras utilizando el kit BigDye® v3.1 Terminator Sequencing Cycle de Applied Biosystems para ambos fragmentos. Cada fragmento se secuenció en sentido forward. Las cantidades se muestran en la **Tabla 5** y el gráfico de reacción se muestra en la **Figura 17**.

**Tabla 5. Volúmenes adicionados a la reacción de PCR de secuencia.**

Reactivo	$\mu\text{L}$ por cada reacción
Buffer de reacción	3
Primer Forward	1
H <sub>2</sub> O	7
BigDye® v3.1	2
Producto de PCR purificado	7
Volumen total	20

El orden en el que se colocaban los reactivos para la reacción PCR se colocaban en el mismo orden que en el de la tabla, la mezcla posteriormente se añadía al producto de PCR purificado. La concentración de ambos primers era de 3.2 $\mu\text{M}$ .





**Figura 17. Gráfico de PCR de secuencia.** Se muestran las condiciones de la PCR para ambos fragmentos.

#### c) Purificación en columna

Después de la PCR de secuencia se re-purificaron las muestras con el kit DyeEx 2.0 Spin Kit® de QIAGEN para la eliminación rápida y fácil de los nucleótidos terminadores marcados no incorporados directamente de las reacciones de secuenciación, ya que estos podrían interferir con la lectura de fluorescencia. (URL 15). La purificación se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante.

#### d) Secuenciación

Todos los productos de PCR que se re-purificaron en las columnas se secaron por completo y se resuspendieron en 15  $\mu$ L de formamida, posteriormente el DNA contenido en las muestras se desnaturalizó a 96°C y se volvió a renaturalizar a 4°C, esto para facilitar su lectura en el secuenciador.

Las muestras se montaron en una placa para secuenciación y se procesaron con el secuenciador ABI 3130 Genetic Analyzer de Applied Biosystems, utilizando el polímero POP 7 de Applied Biosystems para la electroforesis capilar.

## 6. Análisis Bioinformático

Los resultados de la secuenciación se analizaron con el software BioEdit v7.2.5, esto con la finalidad de verificar la concordancia de las bases asignadas a cada pico del electroferograma, especialmente al de la posición de cada variante. Una vez verificada, las secuencias en formato FASTA se alinearon contra todas las secuencias existentes en la plataforma Nucleotide Blast (BLASTn) de NCBI.

El alineamiento de la variante rs9939609 también se realizó con el software de BioEdit y se comparó contra la secuencia de referencia del NCBI.

Para obtener el transcrito y secuencia de aminoácidos se utilizó la base de datos Transcription and translation tool; la secuencia se alineaba en la plataforma Protein Blast (BLASTp) de NCBI para comprobar si existía un cambio de aminoácido en el sitio indicado para cada variante.

Se evaluó la predicción del posible impacto de las variantes en la estructura y función de la proteína para la que codifica con la herramienta PolyPhen-2, la cual asigna una puntuación en un rango de entre 0 a 1 y con base en ella clasifica a las variantes en probablemente benignas, posiblemente patogénicas y probablemente patogénicas. Esta predicción se basa en una serie de características que comprenden la secuencia, la información filogenética y estructural que caracteriza la sustitución (URL 16).

## 7. Análisis estadístico

Los datos se procesaron con el programa estadístico para ciencias sociales versión 20 (SPSS 20.0) de IBM.

La prueba de Chi-cuadrado ( $X^2$ ) de Pearson se utilizó para evaluar el equilibrio de Hardy-Weinberg.

La misma prueba se utilizó para realizar la tabla de contingencia en donde se evalúa la asociación entre los genotipos de las diadas; así como en el efecto de la

ganancia de peso gestacional sobre las complicaciones maternas y resolución de parto, presentadas, presentando los resultados como frecuencias relativas.

El análisis de varianza (ANOVA) de una vía se utilizó para comparar las frecuencias genotípicas con los parámetros antropométricos, bioquímicos, tipo de parto, presencia de complicaciones maternas, ganancia de peso gestacional y las características del recién nacido; así como para comparar la influencia del aumento de peso gestacional sobre los parámetros bioquímicos y el peso del recién nacido.

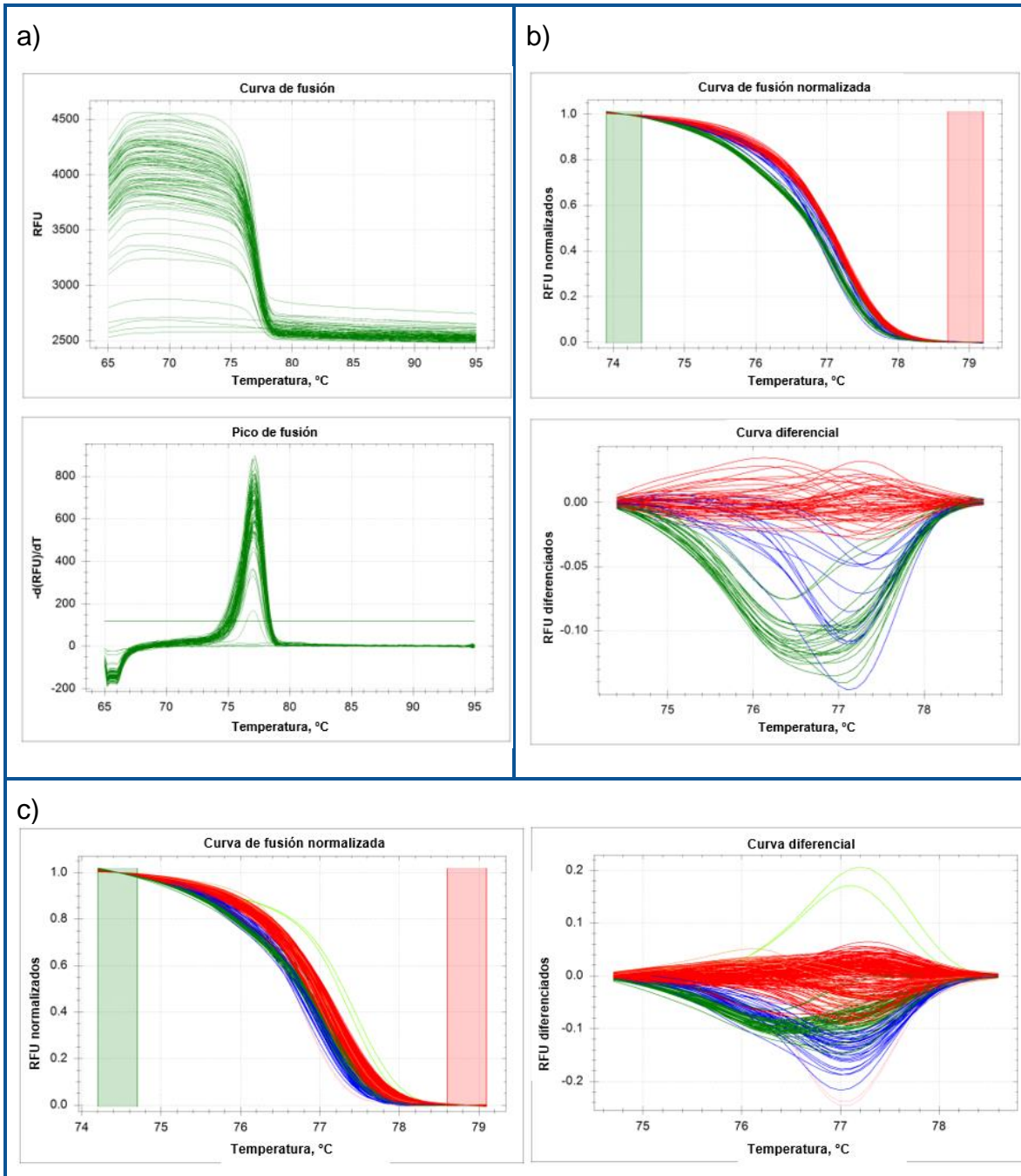
## VI. RESULTADOS

En el Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes” (INPer) se invitó a participar en el proyecto a un grupo de 54 mujeres adolescentes que iniciaron su embarazo a una edad de entre 10 a 19 años y sus neonatos.

En el laboratorio de Genética y Genómica Humanas se procesaron las muestras para la extracción de DNA y, mediante la técnica de HRM se agruparon las muestras en grupos que fueron secuenciados para confirmar el genotipo de ambos polimorfismos.

### A. FTO rs9939609

Se obtuvieron las curvas de fusión, normalización y diferenciación de todas las muestras para la variante rs9939609; en la **Figura 18.a)** se muestra una de las curvas de fusión generadas, después del proceso de desnaturalización, éstas ayudaron a comprobar la presencia de un único producto de amplificación.

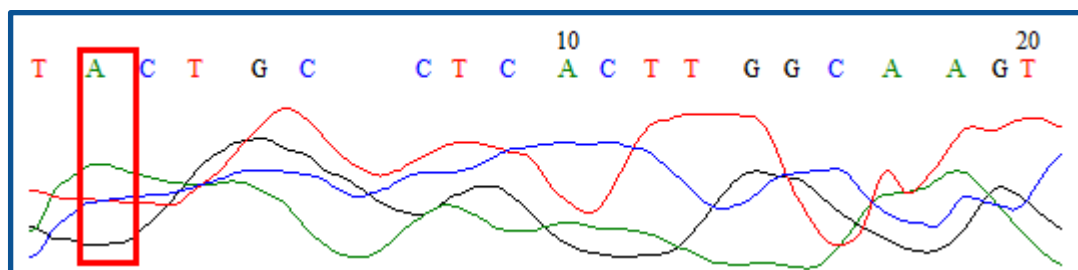


**Figura 18. Gráficos de fusión, normalización y diferenciación para FTO rs9939609.** a) En la curva de fusión se observan los datos de cada muestra como unidades relativas de fluorescencia (RFU) por temperatura; mientras que el pico de fusión muestra la diferencial de las RFUs sobre la diferencial de tiempo comparado contra la temperatura; permitiendo observar el pico único del fragmento FTO rs9939609. b) La curva de fusión normalizada muestra las variantes encontradas para el polimorfismo; en el caso específico de esa placa, únicamente se encontraron 3 grupos, los cuáles se visualizan con 3 colores distintos. Además, se muestra la curva diferencial de la misma placa; con la cual se hace aún más evidente y fácil de apreciar la presencia de las 3 variantes. c) Se muestran las curvas de normalización y diferenciación de las muestras de las 54 diadas; aunque predomina la presencia de 3 variantes, se pueden observar algunas muestras con un tono distinto de verde, rosa y lila; indicando con ello la presencia de 3 grupos más.

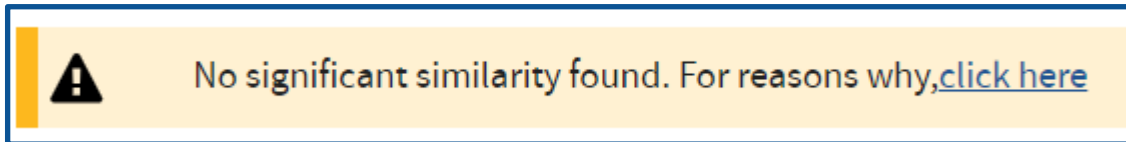
En la **Figura 18.b)** se muestra la curva de normalización; la cual resulta útil, ya que las muestras múltiples difieren en la intensidad de fluorescencia absoluta debido a las diferencias de eficiencia óptica entre las muestras (tanto en excitación como en emisión). La normalización traza todas las curvas entre 100% (completamente hibridado) y 0% (completamente monocatenario). Aunque las diferencias en la magnitud de fluorescencia se pierden con la normalización, las transiciones de fusión son mucho más fáciles de comparar (Farrar y Wittwer, 2017). Los diferentes genotipos detectados en la placa se agruparon en diferentes clusters (grupos) representados por distintos colores. En el mismo apartado se muestra la curva diferencial; la cual, es útil en presencia de los diferentes genotipos; ya que éstos son más fáciles de identificar en estos gráficos ampliados. Diferentes genotipos trazan diferentes caminos para una fácil discriminación visual (Farrar y Wittwer, 2017).

Después de analizar los gráficos de las placas por separado, el software permitió analizar el conjunto de placas creando una única curva de normalización; así como una única curva diferencial; al fusionar los datos de las placas, se obtuvieron 6 grupos distintos. Esto se muestra en la **Figura 18.c)**

No se logró determinar la presencia del SNP FTO rs9939609. Tras la secuenciación no se obtuvieron electroferogramas definidos para los 6 clusters, por lo que no se pudo confirmar el cambio de Timina por Adenina en la posición genómica 87653. De todos modos, las secuencias obtenidas se ingresaron a la base BLASTn, en donde no se encontraron coincidencias; esto se muestra en la **Figura 19 y 20**.

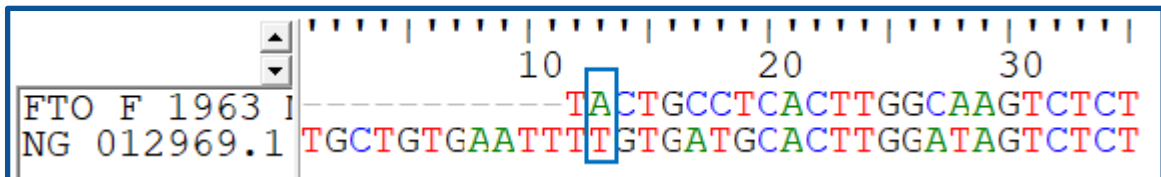


**Figura 19. Electroferograma para FTO rs9939609.** El electroferograma no mostraba picos definidos, por lo que no podían definirse claramente las bases.



**Figura 20. Búsqueda de coincidencia para la variante rs9939609.** Al ingresar la secuencia obtenida y buscar coincidencias en BLASTn, no se encontraron similitudes en la base de datos. Tomado de: URL 17.

También se intentó forzar el alineamiento con el programa BioEdit 7.2.5; sin embargo, los resultados del alineamiento eran poco confiables al compararlos con el electroferograma. La posición en la que alinea la variante rs9939609 se muestra en el recuadro azul de la **figura 21** y es la misma que se muestra en el recuadro rojo de la **figura 19**.

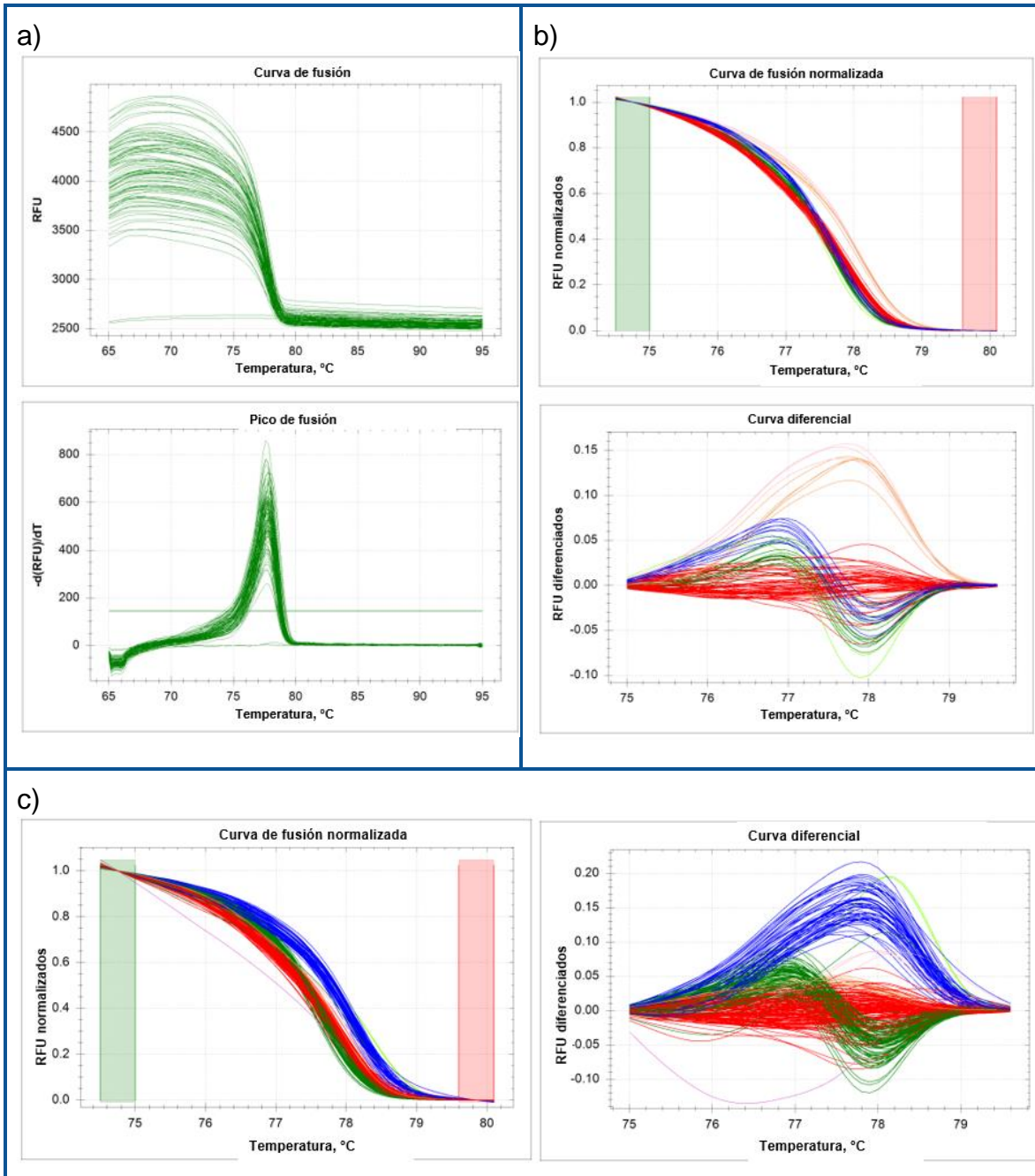


**Figura 21. Alineamiento en BioEdit.** Al forzar el alineamiento en el programa se encontraron coincidencias entre algunos nucleótidos de la secuencia genómica de *FTO*. En el recuadro se observa la presencia de la variante, con un cambio de Timina por Adenina, el cual no puede distinguirse claramente en el recuadro rojo de la figura 19.

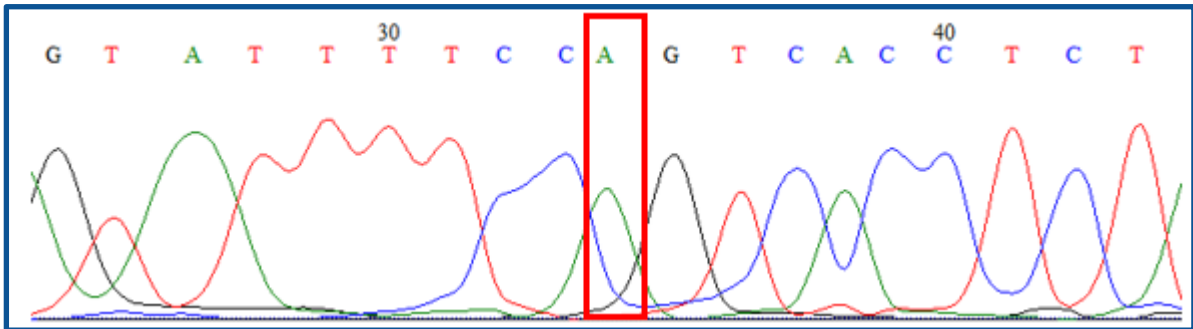
## B. LEPR rs1137101

Se realizó la misma técnica para la identificación de las variantes del polimorfismo rs1137101. También se encontraron 6 grupos de los cuales se secuenciaron aquellos con porcentaje de confianza más alto, encontrando los 3 genotipos esperados. Algunas de las curvas generadas se muestran en la **Figura 22**.

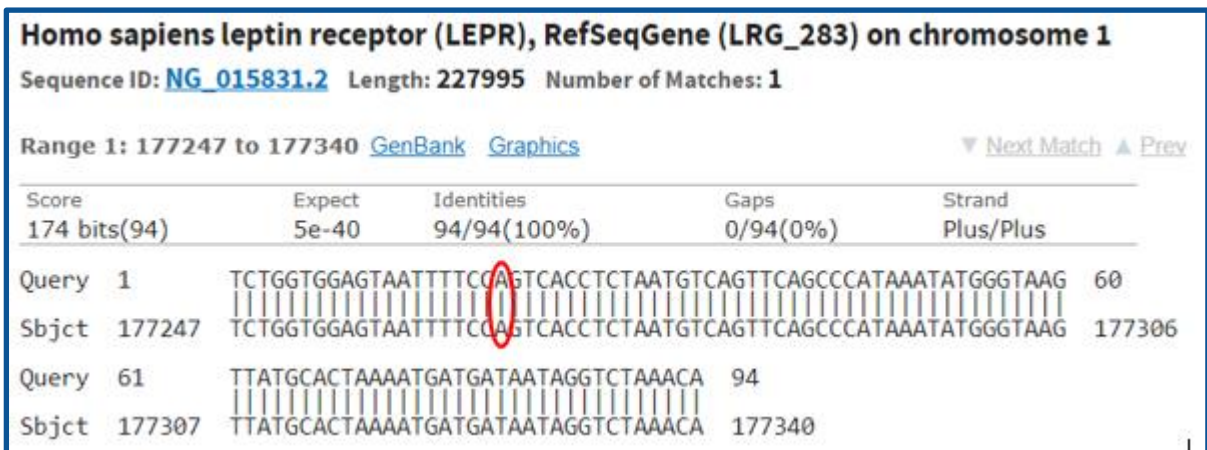
El electroferograma del genotipo silvestre para la variante rs1137101, que se ubica en la posición genómica 177266 del gen *LEPR* se muestra en la **Figura 23**; mientras que en la **Figura 24** se comprobó que la secuencia obtenida corresponde a la del gen *LEPR* mediante su alineamiento en BLASTn.



**Figura 22. Gráficos de fusión, normalización y diferenciación para la variante LEPR rs1137101.** a) La curva hace evidente que las RFUs emitidas por las muestras eran elevadas, con excepción de los dos controles; mientras que el pico de fusión evidencía la amplificación de un único producto de amplificación para la variante. b) Con la curva normalizada y diferencial de las muestras anteriores se observan 4 variantes en la placa. c) Los gráficos generados al fusionar los resultados de todas las placas procesadas muestra 6 grupos distintos, en los que predomina el azul, verde y rojo.



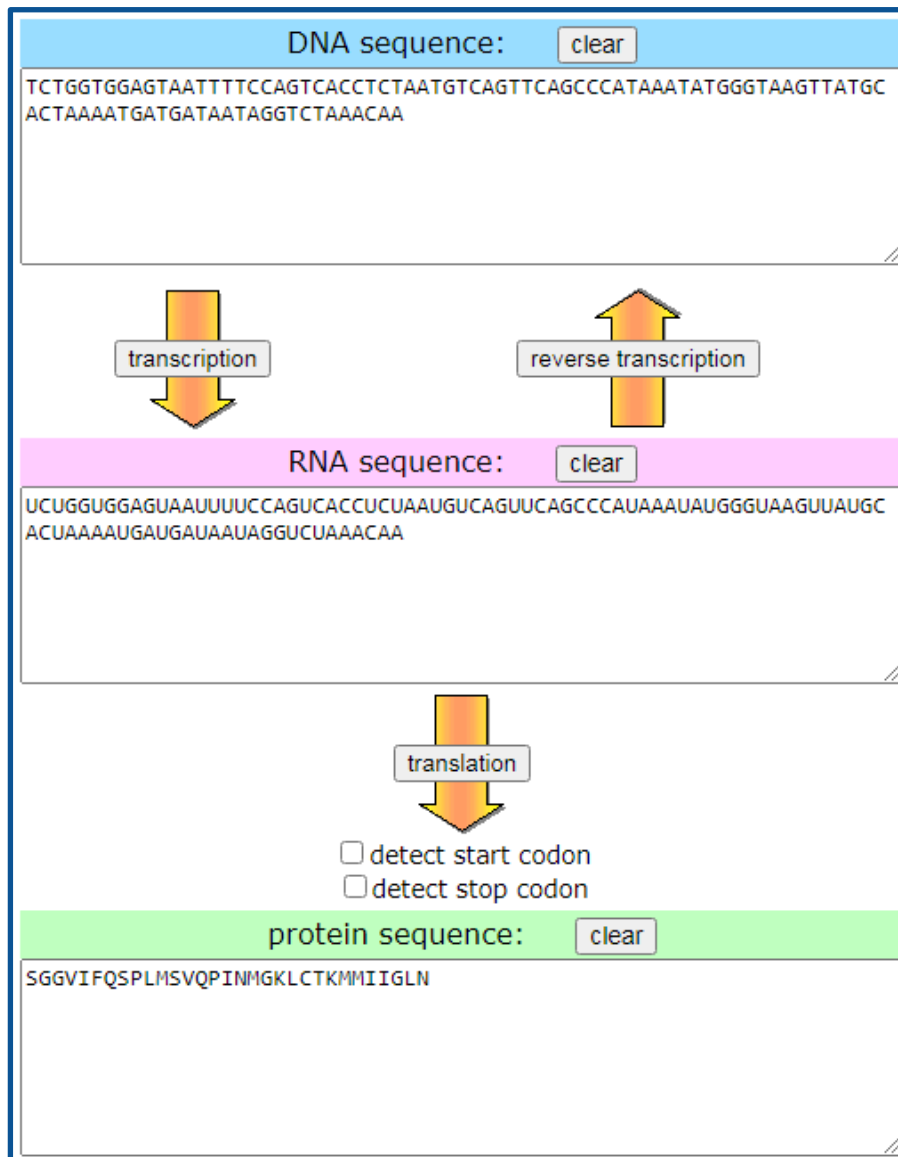
**Figura 23. Electroferograma de un genotipo homocigoto silvestre.** En el recuadro rojo se encierra una Adenina.



**Figura 24. Alineamiento de la secuencia silvestre en BLASTn.** Aunque en la figura 22 sólo se muestra un fragmento de la secuencia, se confirma que el alineamiento con el gen *LEPR* corresponde a la posición genómica 177266. Tomado de URL 18.

La secuencia de nucleótidos se transcribió en Transcription and Translation Tool (**Figura 25**).

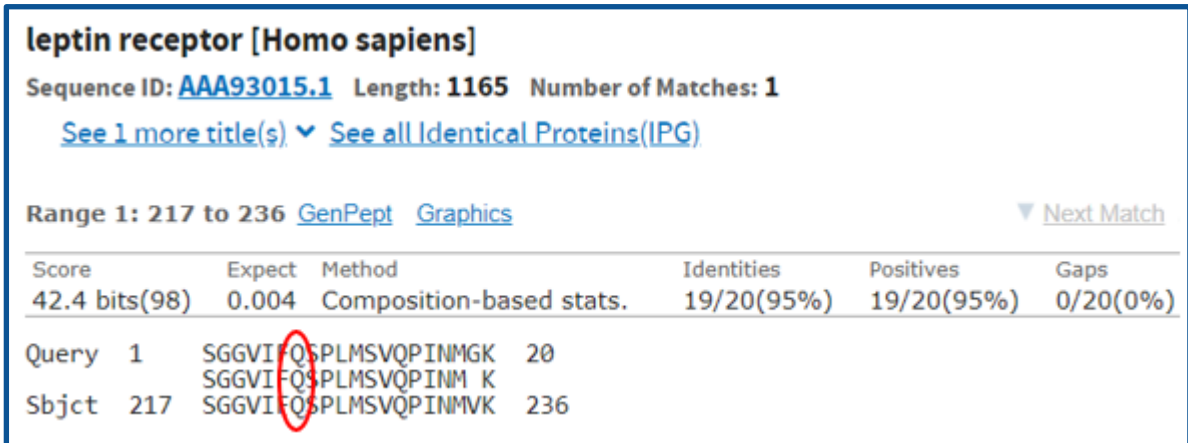




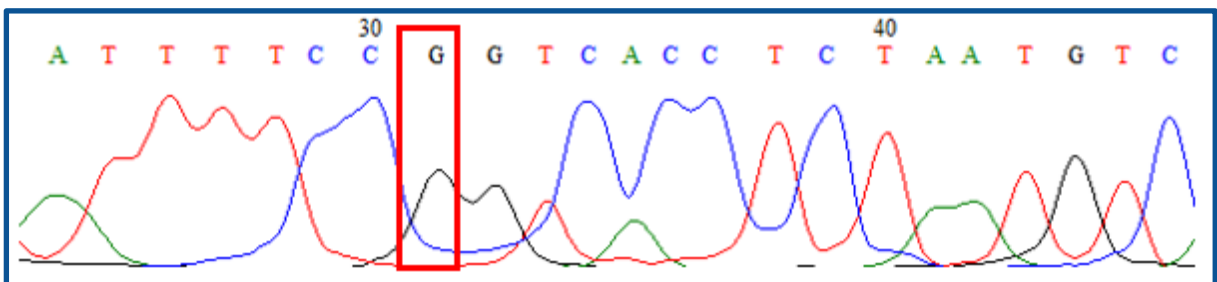
**Figura 25. Transcrito de aminoácidos.** La secuencia en formato FASTA se utilizó para obtener la secuencia de aminoácidos en transcription and translation tool. Tomado de: URL 18.

Posteriormente se ingresaba a BLASTp para comparar la secuencia de aminoácidos (**Figura 26**).

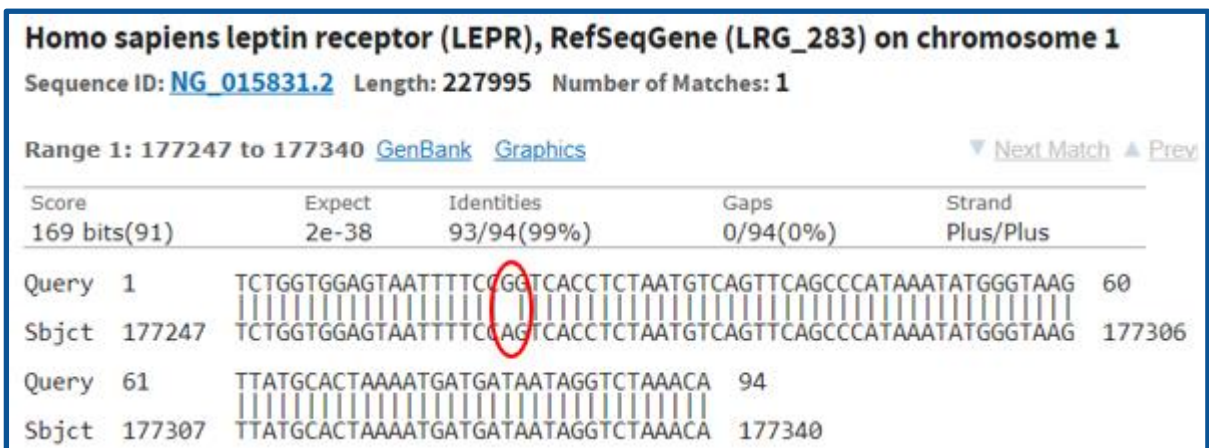
En la **figura 27, 28 y 29** se muestran los resultados de un paciente que presenta la variante rs1137101.



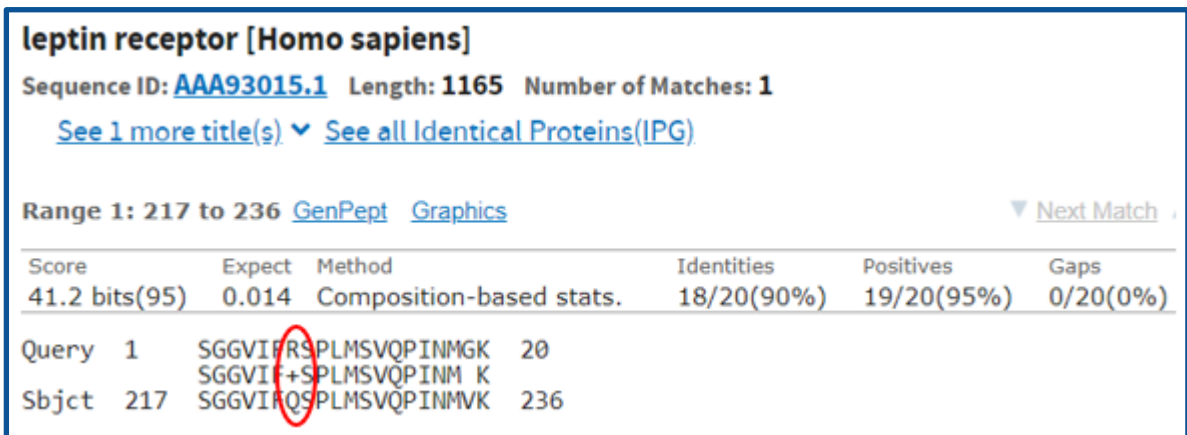
**Figura 26. Comparación de la secuencia de aminoácidos de un paciente con genotipo silvestre para la variante rs1137101.** En el círculo rojo se observa que, al no haber cambio de nucleótido; no hay cambio de aminoácido en la posición 223 de la proteína. URL 19.



**Figura 27. Electroferograma de un paciente con el SNP rs1137101.** En el recuadro rojo se muestra la aparición de una Guanina en lugar de una Adenina. Aunque los picos no descienden completamente, el programa no tuvo problemas para asignar las bases correctamente.

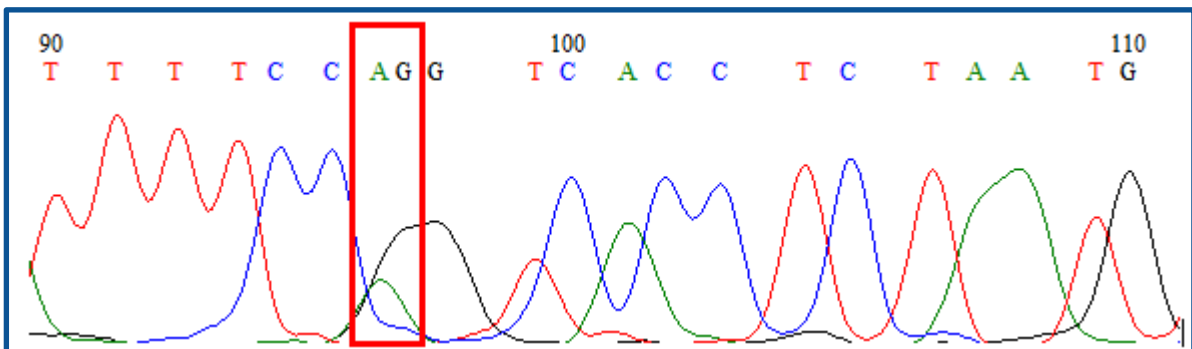


**Figura 28. Alineamiento de la secuencia con el SNP rs1137101.** En la secuencia genómica del gen se observa el cambio de una Adenina por Guanina en la posición 177266, la cual corresponde a la posición de la variante. Tomado de: URL 17.



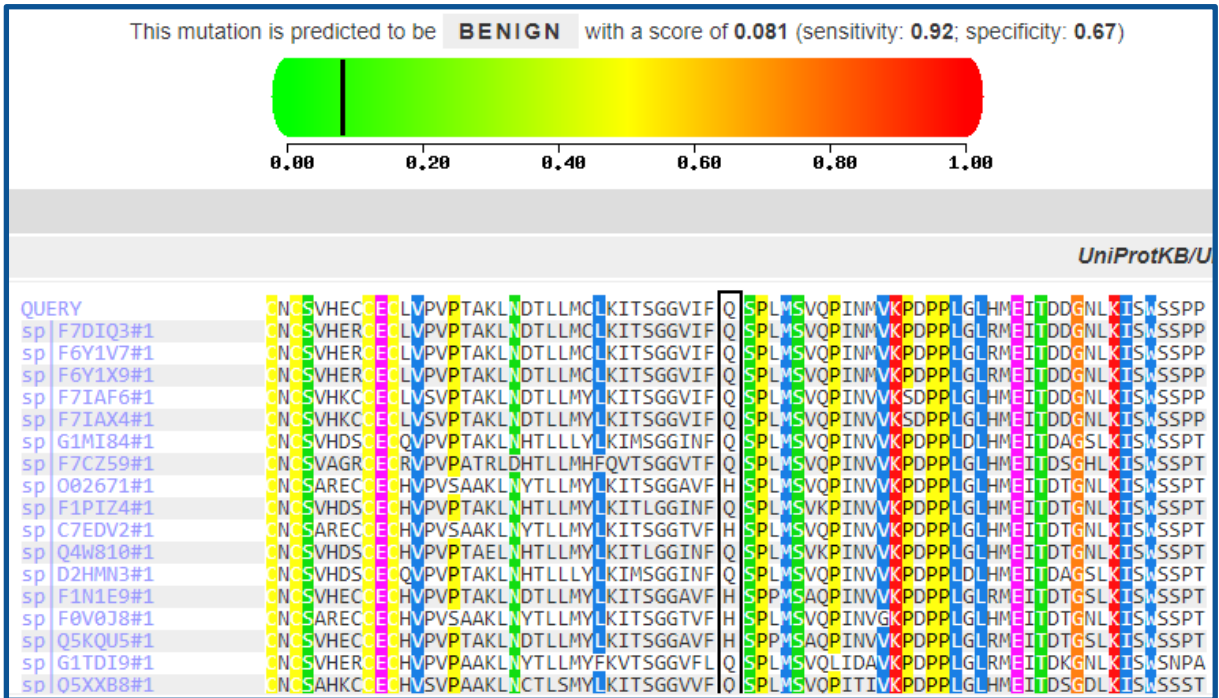
**Figura 29. Comparación de la secuencia de aminoácidos de un paciente con el SNP rs 1137101.** En el círculo rojo se observa que al transcribir la secuencia que presenta el cambio de base, hay un cambio del aminoácido Gln (Q) por el aminoácido Arg (R) en la posición 223. Tomado de: URL 19.

Para el resultado heterocigoto únicamente se muestra el resultado del electroferograma en la **figura 30**.



**Figura 30. Electroferograma con resultado heterocigoto.** En el rectángulo en color rojo se observan dos picos en la misma posición: el negro representa una Guanina se encuentra encima del verde, que representa una Adenina.

PolyPhen-2 indica que el cambio producido por este SNP es considerado benigno obteniendo una puntuación de 0.081 en una escala de 0-1, obtenido del alineamiento múltiple mostrado en la **Figura 31**.



**Figura 31. Efectos funcionales del SNP rs1137101.** La predicción del daño causado por este cambio se considera benigno. En el alineamiento con otras secuencias se puede observar el cambio de Glutamina por Histidina en 5 ocasiones. Tomado de: URL 16.

### C. RESULTADOS ESTADÍSTICOS

Las características clínicas, antropométricas, bioquímicas y la frecuencia de genotipos de las diadas se presentan en la **tabla 6**.

**Tabla 6. Características de estudio de las diadas (n=54).**

Características	Valores	Mínimo	Máximo
1. Parámetros clínicos de las madres			
Edad	15.9±1.2	13	18
Edad de menarquía	11.6±1.3	9	14
a. Parámetros antropométricos			
Talla, m	1.5±0.05	1.4	1.7
Peso pregestacional	51.9±9.1	41	65
IMC pregestacional	21.8±1.8	16.4	31.7
Peso máximo gestacional	63.8±7.1	47	78.6
Ganancia de peso gestacional	11.7±5.7	-3.5	25.6

*Continúa*

**Tabla 6. Características de estudio de las diadas (n=54). (Continuación)**

Características	Valores	Mínimo	Máximo
b. Parámetros bioquímicos			
2° trimestre			
Glucosa (mg/dL)	73.5±10.3	49.3	90.9
Colesterol (mg/dL)	196.4±47.3	120	282
HDL (mg/dL)	60.5±10.7	38.6	79.9
TG (mg/dL)	141.3±49.2	59	299
3° trimestre			
Glucosa (mg/dL)	72.9±8.8	55.9	91.9
Colesterol (mg/dL)	230.7±51.9	156	373
HDL (mg/dL)	61.8±10.9	42.8	85.6
TAG (mg/dL)	214.5±65.5	118	352
c. Genotipos maternos			
LEPR rs1137101			
AA	17(31.5)		
AG	27(50)		
GG	10(18.5)		
2. Características del recién nacido			
Longitud, cm	49.2±2.1	44	54
Peso, g	3081.1±592.9	2100	5200
a. Genotipos de los recién nacidos			
AA	17(31.5)		
AG	29(53.7)		
GG	8(14.8)		

En la tabla se muestra un resumen de las características generales evaluadas en las 54 diadas que se obtuvieron desde que se comenzó a dar seguimiento al embarazo hasta el nacimiento. Valores: promedio±desviación estándar; m: metros; cm: centímetros; g: gramos; mg: miligramos; dL: decilitros; cm: centímetros; frecuencia (%).

Respecto a las características del recién nacido, también se tomó en cuenta la edad gestacional para clasificar el peso de los recién nacidos; así como la puntuación Apgar, la cual no fue considerada debido a que todos los recién nacidos presentaron puntuaciones mayores a 7.

Con la frecuencia de los genotipos se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg mediante la prueba de  $\chi^2$ , su resultado se muestra en la **Tabla 7**. Este equilibrio es utilizado en genética de poblaciones, en donde no solo se estudia la composición genética del individuo, también a la población entera y los cambios de esta a través de las generaciones, e intenta establecer la variación de distintos locus, tratar de explicar las posibles causas de esa variación e incluso establecer un modelo, siendo aplicable a todos los seres vivos (Hernández y Trejo, 2014).

**Tabla 7. Comprobación del equilibrio de Hardy-Weinberg**

Madres	Observados	Esperados	$\frac{(o - e)^2}{e}$	Distribución vs $\chi^2 = \sum \frac{(o-e)^2}{e}$
AA	17	$p^2 = 17.23$	$3.07 \times 10^{-3}$	
AG	27	$2pq = 26.5$	$9.43 \times 10^{-3}$	$3.84 > 0.02$
GG	10	$q^2 = 10.23$	$5.17 \times 10^{-3}$	
Hijos	Observados	Esperados	$\frac{(o - e)^2}{e}$	Distribución vs $\chi^2 = \sum \frac{(o-e)^2}{e}$
AA	17	$p^2 = 18.4$	0.11	
AG	29	$2pq = 26.25$	0.28	$3.84 > 0.6$
GG	8	$q^2 = 9.4$	0.21	

Al evaluar el equilibrio por separado de ambas poblaciones, se observa que ambas se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg, al obtener un valor menor de la distribución calculada respecto a la distribución establecida (considerando el valor de 1 grado de libertad y una p igual o mayor a 0.05)

La **Tabla 8** es una tabla de contingencia, en donde se establece la asociación entre la frecuencia de los genotipos de las diadas; las cuales coinciden con las

frecuencias observadas de la tabla 7 en donde se evalúa la frecuencia de los genotipos en las madres y sus hijos de manera individual.

**Tabla 8. Asociación entre los genotipos de las diadas, frecuencia (%).**

Madres	AA(n=17)	AG(n=27)	GG(n=10)	P
Hijos				
AA(n=17)	11(64.7)	6(22.2)	0(0)	
AG(n=29)	6(35.3)	17(63)	6(60)	<b>0.0</b>
GG(n=8)	0(0)	4(14.8)	4(40)	

La presencia del genotipo heterocigoto en las madres y sus recién nacidos fue la más frecuente. Resulta imposible que los hijos con genotipo variante tuvieran una madre con genotipo silvestre; así como también resulta imposible que las madres de los recién nacidos con genotipo silvestre presentaran el genotipo variante.

Se evaluó el efecto del polimorfismo LEPR rs1137101 sobre algunas de las características descriptivas de las diadas, los resultados se muestran en la **Tabla 9**.

**Tabla 9. Efectos maternos y neonatales sobre las características de las diadas.**

Características	LEPR rs1137101	n	Valores	p
1. Parámetros clínicos de las madres				
a. Parámetros antropométricos				
Peso pregestacional, kg	AA+AG	44	52.3±5.4	0.389
	GG	10	50.6±5.8	
IMC pregestacional	AA+AG	44	22±1.7	<b>0.045</b>
	GG	10	20.7±1.7	
Aumento de peso	AA+AG	44	11.9±5.6	0.608
	GG	10	10.9±6.3	
GPG categorizado				
Insuficiente	AA+AG	21	21(47.7)	0.968
	GG	5	5(50)	
Adecuada	AA+AG	15	15(34.1)	
	GG	3	3(30)	
Excesiva	AA+AG	8	8(10.2)	
	GG	2	2(10)	

b. Parámetros bioquímicos

*Continúa*

**Tabla 9. Efectos maternos y neonatales sobre las características de las diadas.**

Características	LEPR rs1137101	n	Valores	p
2° trimestre				
Glucosa (mg/dL)	AA+AG	17	74.8±9.3	0.182
	GG	3	66±14.5	
Colesterol (mg/dL)	AA+AG	17	196.6±48.6	0.968
	GG	3	195.3±48.5	
HDL (mg/dL)	AA+AG	17	60.3±11.5	0.836
	GG	3	61.8±4.2	
TG (mg/dL)	AA+AG	17	145.9±51	0.330
	GG	3	115±31.4	
3° trimestre				
Glucosa (mg/dL)	AA+AG	27	72.7±9.1	0.8
	GG	7	73.6±8.1	
Colesterol (mg/dL)	AA+AG	27	222.6±42.1	0.074
	GG	7	261.9±75.6	
HDL (mg/dL)	AA+AG	27	70±11.6	0.436
	GG	7	64.7±7.7	
TAG (mg/dL)	AA+AG	27	209.3±63.1	0.378
	GG	7	234.3±76.3	
c. Complicaciones maternas y resolución del embarazo				
Preeclampsia	AA+AG	44	5(11.4)	0.901
	GG	10	1(10)	
Cesárea	AA+AG	44	9(20.5)	0.442
	GG	10	1(10)	
2. Características del recién nacido				
Longitud, cm	AA+AG	44	49.1±2.3	0.780
	GG	10	49.4±1.3	
Peso, g	AA+AG	44	3104.2±621.3	0.552
	GG	10	2979.2±460.7	
Peso categorizado				
PEG	AA+AG	44	37(84.1)	0.778
	GG	10	9(90)	
AEG	AA+AG	44	5(11.4)	0.778
	GG	10	1(10)	
GEG	AA+AG	44	2(4.5)	0.778
	GG	10	0(0)	

Sólo se encontró una relación estadísticamente significativa al relacionar el IMC pregestacional con una disminución en mujeres que presentan la variante de riesgo. Promedio±desviación estándar; frecuencia (%); kg: kilogramos; g: gramos; mg: miligramos; dL: decilitros; PEG: pequeño para la edad gestacional; AEG: adecuado para la edad gestacional; GEG: grande para la edad gestacional.



**Tabla 10. Efecto de la ganancia de peso gestacional sobre las características de las diadas.**

Características	Insuficiente n=26(48.1)	Adecuada n=18(33.3)	Excesiva n=10(18.5)	p
1. Características de la madre				
a. Parámetros bioquímicos				
2° trimestre	n=10	n=7	n=3	
Glucosa, mg/dL	71±11.8	74.2±8.8	80±7.3	0.428
Colesterol, mg/dL	205.1±44.7	178.9±58.4	208.3±19.6	0.499
HDL, mg/dL	62.3±10.9	54.2±8.7	69.5±5.9	0.080
TG, mg/dL	132±29.2	160.1±74.8	128±21.7	0.473
3° trimestre	n=16	n=11	n=7	
Glucosa, mg/dL	74.4±9.3	69.3±8.9	75.2±6.2	0.251
Colesterol, mg/dL	244.3±55.8	230.8±54.2	199.4±22.5	0.164
HDL, mg/dL	60.8±9.1	63.4±15.2	61.4±7.3	0.839
TAG, mg/dL	214.3±73.6	232.6±58.2	186.4±54.2	0.356
b. Complicaciones maternas y resolución de embarazo				
Preeclampsia	2(7.7)	2(11.1)	2(20)	0.575
Cesárea	4(15.4)	4(22.2)	2(20)	0.841
2. Características del recién nacido				
Peso al nacer				
PEG	22(84.6)	16(88.9)	8(80)	0.770
AEG	3(11.5)	2(11.1)	1(10)	
GEG	1(3.8)	0(0)	1(10)	

Los parámetros evaluados no demuestran una asociación estadísticamente significativa entre la ganancia de peso gestacional y algunas de las características de las diadas. Promedio±desviación estándar; frecuencia (%); mg: miligramos; dL: decilitros; PEG: pequeño para la edad gestacional; AEG: adecuado para la edad gestacional; GEG: grande para la edad gestacional.

## VII. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### A. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

Nuestra población de estudio abarcaba 54 mujeres adolescentes embarazadas que cursaban en su mayoría el tercer trimestre (63%); con una edad promedio de 16 años, que iniciaron a ovular entre los 9 y 14 años e IMC pregestacional normal; lo que se considera en cierta medida beneficioso para el desarrollo normal del embarazo; no obstante, podría verse afectado por su temprana edad. Las características generales de la población se muestran en la **Tabla 6**.

El seguimiento del aumento de peso es fundamental para el embarazo adolescente, debido a que, en madres con obesidad se han reportado mayores complicaciones; además, por el tipo de dieta que suelen llevar las adolescentes resultaba probable que el incremento pudiera ser mayor al incremento recomendado (12-16 kg) por el Instituto de Medicina para mujeres con normopeso. En nuestra población el IMC promedio fue de 21.8, con un aumento de peso de 11.7 kg, es decir, una ganancia de peso promedio menor a la recomendada.

La aparición de complicaciones durante el desarrollo y resolución del parto puede ser influenciada por el perfil bioquímico, es por ello que, durante el segundo o tercer trimestre del embarazo se determinaron los parámetros de glucosa, colesterol, HDL (lipoproteínas de alta densidad) y TG. De estos 3 parámetros, en el país sólo existe una guía para el diagnóstico y tratamiento de diabetes gestacional, en la que se indica que, para considerar un resultado positivo, la cantidad de glucosa sérica debe ser igual mayor a 92 mg/dL. El valor promedio de la población estudiada fue de  $73.5 \pm 10.3$ , esto podría deberse a que las mujeres cumplían con los criterios de riesgo bajo (edad menor de 25 años, IMC normal antes del embarazo, sin antecedentes de alteración en el metabolismo de la glucosa, sin historia de pobres resultados obstétricos) (URL 20).

Como no se cuenta con un valor bien establecido de colesterol y TG para mujeres embarazadas, se utilizaron los valores de referencia del INPer durante el segundo trimestre: 75-382 de TG, colesterol 176-299 y HDL 52-87 y para el tercer trimestre: 131-453 mg/dL para TG, 219-349 para colesterol y HDL 48-87 mg/dL (Abbassi; et al, 2009). Sólo algunos de los valores de colesterol tanto en el segundo como el

tercer trimestre estuvieron un poco elevados, pero no sirvieron para el diagnóstico de dislipidemia durante el embarazo.

En cuanto a las características del recién nacido se consideró su longitud y peso al nacer, presentando un promedio de 49.2cm y 3081.1g, respectivamente. Esto retoma importancia, en mujeres adolescentes con ganancia de peso excesiva, en donde hay consecuencias para los recién nacidos como, mayor posibilidad de nacimiento pretérmino, puntuación Apgar baja, crisis comiciales, hipoglucemia, síndrome de aspiración meconial y policitemia (Weaver, 2019).

Además de ello se consideró la edad gestacional y la puntuación Apgar; sin embargo, sus resultados no se muestran, debido a que los embarazos superaron las 37 semanas, es decir, llegaron a término y ninguno de los recién nacidos obtuvo una puntuación menor a 7, por lo que, como lo indica la NOM-007-SSA2-2016, no requirieron hospitalización (URL 4).

## B. SECUENCIACIÓN DE LA VARIANTE FTO rs9939609

En la **Figura 19** se observa la asignación de grupo a la mayoría muestras; sin embargo, hubo algunos casos en los que sólo se le asignó grupo a una de las 2 muestras o a ninguna; esto pudo deberse a variaciones de volumen, concentración o falta de homogeneización de las muestras de DNA (pureza variable), lo que pudo generar que la fluorescencia emitida en esos casos fuera menor y se detectara a esas muestras como una variante distinta a la que debió asignarse e incluso que la muestra tuviera un comportamiento en los gráficos de fusión como control negativo al no emitir fluorescencia por la cantidad de DNA colocada; esto puede observarse en la sección **a)** de la misma figura (URL 21); en esos casos, la muestra tuvo que ser secuenciada para asignar el genotipo. Pese a que la amplificación del gen fue exitosa, se logró comprobar la presencia de un único producto de amplificación (**Figura 13 y 19a**) y se agruparon la mayoría de las muestras en 6 grupos; no se logró obtener una secuencia confiable para la variante rs9939609 (**Figura 22**) y por lo tanto, no se logró asignar su genotipo. De todos modos, para descartar por completo esta posibilidad y asegurar que se estaba trabajando únicamente con el fragmento deseado, se realizó la purificación de bandas.

Una vez descartada esta posibilidad y considerando el tamaño del fragmento (116 pb) se cree que la utilización del kit el BigDye v.3.1 para la secuenciación influyó

negativamente al resultar de mayor utilidad para la secuenciación de fragmentos largos, por lo que, es posible que se hubiera logrado una mayor eficiencia en la asignación de las bases con el kit v.1.1 diseñado para fragmentos cortos. Aunque el fabricante menciona que la utilización del kit v.3.1. es satisfactoria en fragmentos cortos, recomienda la utilización del otro kit para estos casos (URL 22).

### C. PRESENCIA DE LA VARIANTE LEPR rs1137101

La asignación de los genotipos fue exitosa para la variante LEPR rs1137101; aunque también hubo casos en los que no se logró asignar el genotipo a una o ambas muestras mediante HRM y tuvieron que secuenciarse junto con los grupos detectados y mostrados gráficamente en la Figura **23.c**). La causa de la asignación de más de 3 genotipos también pudo deberse a la cantidad, concentración o pureza de las muestras o al tamaño del fragmento (140 pb), ya que, a mayor tamaño, mayor probabilidad de encontrar otra variante en el mismo (URL 21).

De igual manera, el kit utilizado para la secuenciación y el tamaño del fragmento pudieron influir en la asignación de las bases. Aunque los picos de los electroferogramas que mostraban los 3 genotipos hallados estaban mucho mejor definidos en comparación con los de la variante rs9939609, hubo ocasiones en dónde no se alcanzaron a definir por completo (**Figuras 24, 28 y 30**), probablemente esto hubiera mejorado con la utilización del kit v.1.1 (URL 22).

#### 1. Determinación del equilibrio de Hardy-Weinberg

La estimación de las frecuencias de la **Tabla 6** resulta importante para la descripción estadística del polimorfismo; el cual consiste, en primer lugar, en estimar la prevalencia cada genotipo y cada alelo posible en la población, lo que en nomenclatura genética se denomina estimar las frecuencias genotípicas y alélicas, respectivamente (Iniesta; Guinó y Moreno, 2005).

La frecuencia de un genotipo (homocigoto o heterocigoto), varía al cambiar las frecuencias alélicas. Si existen más de dos alelos de un mismo gen, éste es considerado como polimórfico, para considerarlo como tal, la frecuencia del alelo más común debe ser menor al 99% (Hernández y Trejo, 2014). El principio de equilibrio de Hardy-Weinberg determina qué frecuencias deben esperarse en la

población para cada genotipo en función de las frecuencias de los alelos (Iniasta; Guinó y Moreno, 2005), posteriormente estas frecuencias se comparan con las observadas con la prueba de  $X^2$ . La comprobación del equilibrio tanto en las madres como en sus hijos se muestra en la **Tabla 7**.

El principio de Hardy-Weinberg establece que la composición genética de una población se encuentre en equilibrio a menos que se introduzcan influencias perturbadoras como la mutación, la selección, la migración o la deriva génica.

Este equilibrio ofrece una línea para medir el cambio entre generaciones, ya que la herencia mendeliana, por sí misma, no engendra cambio evolutivo. Es por ello, que establece un papel importante en la genética de poblaciones, por varias razones: el desequilibrio puede ser el resultado de un error de genotipificación, más típicamente la confusión de los heterocigotos y homocigotos; la prueba puede ayudar a detectarlo (López, 2015).

Para considerar que la población está en equilibrio, el valor de la prueba debía ser menor al de la distribución establecida (3.84) considerando los grados de libertad (3 fenotipos-2 alelos= 1 grado de libertad) y una probabilidad de 0.05 para considerar que no había diferencias significativas (Hernández y Trejo, 2014); como los valores de la prueba en las madres y los hijos fue 0.02 y 0.6, respectivamente, se consideró que ambos se encontraban en equilibrio, es decir, los valores de la distribución calculada fue menor a la establecida, lo cual significa que los valores observados se ajustan a los esperados.

Las frecuencias reportadas por el proyecto de 1000 genomas, para el alelo A son de 0.41, y para el alelo G son del 0.59, pero se muestran amplias variaciones en las frecuencias en diferentes poblaciones y grupos étnicos (Daghestani; et al, 2019).

Existen muchos estudios que han intentado relacionar la presencia del polimorfismo principalmente con la obesidad, con frecuencias relativamente similares. En adolescentes mexicanos con obesidad el alelo de riesgo presentó una frecuencia de 0.3 y el silvestre de 0.7; mientras que en adolescentes sin obesidad el alelo silvestre tuvo una frecuencia de 0.63 y el de riesgo de 0.38 (Guízar; et al, 2005).

Otro estudio realizado a población mexicana con y sin obesidad mórbida reportó una frecuencia de 0.61 para el alelo A y 0.39 para el G en pacientes sin obesidad

y 0.57 y 0.53 para los alelos A y G respectivamente en pacientes con obesidad (Rojano; et al, 2016).

En otras poblaciones que también han intentado demostrar la asociación anterior han encontrado en mujeres sauditas una frecuencia del alelo silvestre de 0.798. Para los británicos y puertorriqueños la frecuencia del alelo A es de 0.610, en colombianos 0.596, seguidos por el punjabi en Pakistán con 0.0573, Luhya en Kenia 0.520, Toscani en Italia 0.561, en europeos de 0.531 y estadounidenses de 0.563. El este de Asia, presenta las frecuencias más bajas del alelo A en población China de 0.131 y japonesa de 0.154 (Daghestani, et al., 2019).

En nuestro estudio las frecuencias alélicas de las madres para el alelo A fue de 0.56 y del alelo G 0.44; mientras que en los recién nacidos las frecuencias fueron de 0.58 y 0.42 para los alelos A y G, respectivamente (datos no mostrados en tablas).

Los resultados son similares a los reportados en diadas rumanas la frecuencia del alelo A tanto en las madres como sus recién nacidos fue de 0.57 y 0.43 para el alelo G (Mărginean; et al, 2016); mientras que en embarazadas ucranianas se encontró una mayor frecuencia del alelo de riesgo (0.54) (Ostafiichuk, 2019).

## 2. Relación de los genotipos entre las diadas.

Respecto a la tabla de contingencia (**Tabla 8**), se muestra la asociación entre el genotipo de las madres y sus hijos. El resultado de esta relación tiene una diferencia estadísticamente significativa con una probabilidad de 0, lo que indica que las frecuencias obtenidas de las diadas como poblaciones independientes (tabla 6 y 7) coinciden con las comparadas entre las diadas. Encontrando que, había 11 casos en los que las madres y sus recién nacidos presentaban el genotipo silvestre, heredando este alelo se su madre y el otro de su padre con genotipo heterocigoto o igualmente homocigoto para el genotipo silvestre, 6 casos en los que la madre presentaba el genotipo silvestre, pero sus hijos presentaban el heterocigoto; pudiendo inferir que los padres presentaban el genotipo heterocigoto, o el de la variante, pero no el silvestre.

Había 6 casos de madres con genotipo heterocigoto y sus hijos con genotipo silvestre; lo cual permite inferir que ambos padres heredaron el alelo silvestre, aunque, los padres podrían portar el mismo genotipo o el heterocigoto. En 17

casos, tanto las madres como sus hijos presentaron genotipo heterocigoto; cabe mencionar que el 63% de las madres que presentaban este genotipo pudieron heredar cualquiera de los dos alelos a sus hijos, y que los padres podían poseer cualquiera de los 3 genotipos. En 4 casos más, la madre presentaba el genotipo heterocigoto, pero su hijo presentaba el genotipo con la variante, indicando que ambos padres heredaron el alelo de riesgo, pudiendo ser el padre heterocigoto u homocigoto para el polimorfismo.

Finalmente, hubo 6 casos en los que la madre presentaba el genotipo de riesgo y su hijo el heterocigoto; en estos casos el padre pudo ser portador del genotipo heterocigoto u homocigoto silvestre y 4 casos en los que, tanto la madre como su hijo presentaban la variante de riesgo, pudiendo ser su padre heterocigoto o también homocigoto para la variante al igual que la madre y su hijo.

### 3. Asociación de las características de la población de estudio con los genotipos.

#### a) Parámetros antropométricos.

Se intentó comprobar la influencia del polimorfismo LEPR rs1137101 sobre el desarrollo de los embarazos adolescentes.

Al comenzar el estudio se indagó sobre el peso pregestacional aproximado de la madre y su talla, aunque el peso pregestacional no arrojó resultados estadísticamente significativos (**Tabla 9**), se puede observar que el promedio de peso es menor en las mujeres que presentan la variante; el resultado anterior influyó en el cálculo del IMC pregestacional con resultado estadísticamente significativo, demostrando que las mujeres que portaban la variante mostraban un menor IMC pregestacional a comparación de las mujeres que presentaban el genotipo silvestre o heterocigoto (el promedio para las mujeres con genotipo AA era  $21.4 \pm 1.7$ , AG  $22.3 \pm 1.7$  GG  $20.7 \pm 1.7$  y una p de 0.34); un resultado similar se encontró en el estudio realizado por Guízar y Licona en 2005, en donde adolescentes mexicanos de entre 12 a 17 años con los alelos AA y AG tenían mayor actividad simpática del corazón, porcentaje de grasa corporal y niveles de leptina. Sin embargo, al igual que en nuestros resultados, el polimorfismo rs1137101 no

parecía tener un impacto importante en el IMC en la población, aunque su estudio si incluía a pacientes obesos y de ambos sexos (Guízar; et al, 2005).

El estudio de 2012 realizado a niños y adolescentes mexicanos de entre 6 y 17 años, en los que se trató de demostrar la relación entre el receptor de leptina y el desarrollo de la obesidad, estudiando 3 de sus polimorfismos, incluyendo el rs1137101. Se evaluaba el IMC, niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos en hombres y mujeres no embarazadas. En los 128 participantes clasificados como normopeso, sobrepeso y obesos no se encontró asociación con obesidad. Anteriormente se había mencionado que la etiología de la obesidad coincide con los factores que contribuyen a la ganancia de peso excesiva del embarazo, es por ello que, una de las posibles razones a las que le atribuyeron la falta de asociación del polimorfismo con la obesidad es el hecho de que el gen *LEPR* se expresa de manera diferente en individuos de diferentes edades y con diferentes estados metabólicos, lo que permite que los polimorfismos presenten un mayor o menor poder de acción dependiendo del entorno (vejez, menopausia, adolescencia, obesidad, entre otros) del individuo (Ángel; et al, 2012), el cual podría coincidir con la falta de asociación de la ganancia de peso en las adolescentes que participaron en este estudio.

Para categorizar el aumento de peso gestacional se decidió utilizar el rango establecido por el Instituto de Medicina, el cual ofrece un rango amplio para la ganancia de peso según el IMC pregestacional; aunque, como lo mencionaba la NOM-007-SSA2-2016 (URL 4), el aumento en adolescentes debe ser mayor, se ha comprobado que los rangos establecidos por el IOM son igualmente aplicables y seguras en madres adolescentes (Fernández; Hoffmire y Olson, 2011). El resultado estadístico de este incremento; así como el de su categorización no logró asociarse con la presencia del polimorfismo; una de las posibles causas puede ser el tamaño muestral, así como la dieta y ejercicio durante el desarrollo del embarazo (parámetros que no se tomaron en cuenta). Aunque el valor de p para aumento de peso no fue significativo, parecía que las mujeres con genotipo silvestre o heterocigoto ganaban más peso en promedio. El 18.5% de la población tuvo una ganancia de peso excesiva, de ese porcentaje, sólo el 10% era portadora del genotipo de riesgo. Quizás aumentando el tamaño muestral disminuya el valor de p para ambos parámetros y se lograría asociar ambos parámetros.



Hasta ahora hay pocos estudios que intenten relacionar la ganancia de peso gestacional excesiva con el polimorfismo, y no fueron realizados en población mexicana. Uno de ellos evaluó los efectos maternos y neonatales de la ganancia de peso excesiva en 355 mujeres de una clínica en Rumanía; en donde tampoco lograron asociar la presencia del polimorfismo a la ganancia de peso gestacional pese a que su tamaño muestral era mucho más alto y enfatizaron en la discrepancia hallada en otros estudios en donde encuentran asociaciones a la obesidad o incluso han relacionado al alelo G con un papel protector contra ella. (Mărginean; et al, 2016).

Por otra parte, el estudio realizado a 97 mujeres ucranianas encontró un aumento hasta 7 veces mayor en la ganancia de peso gestacional en aquellas que presentaban el alelo de riesgo; sin embargo, su asociación estaba muy ligada a las concentraciones de leptina e insulina en sangre, parámetros que tampoco fueron determinados en el estudio y pudieron ayudar a explicar la falta de asociación en nuestra población, debido a las variaciones que suelen presentarse en los niveles de leptina en las mujeres embarazadas. En el estudio publicado por Ostafiichuk en 2019 los valores de leptina aumentaban ligeramente en el tercer trimestre para los poseedores de uno o ambos alelos de riesgo, mientras que los de insulina aumentaban en las personas que presentaban el genotipo de riesgo, lo cual sugiere que la asociación que encontraron entre la ganancia de peso y la presencia del polimorfismo puede estar relacionada con una menor expresión de LEPR, que podría derivar de la resistencia a la insulina a través de las vías de señalización JAK, PI3K y MAPK; en este caso, es una opción que los niveles de leptina no aumentaran de la misma forma en los pacientes con el genotipo de riesgo, evitando así el aumento de peso adecuado o excesivo (Ostafiichuk, 2019).

#### b) Parámetros bioquímicos.

En la **Tabla 9** se muestran los valores de glucosa, colesterol y TG. Al comparar los valores entre genotipos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, por lo que no se puede asegurar que sus valores se deban a la presencia del polimorfismo; sin embargo, se pueden destacar varios aspectos: En ninguna de las 54 mujeres se detectó diabetes gestacional, mediante la determinación de glucosa en sangre (valores menores a 92 mg/dL), pero

comparando los valores entre los distintos genotipos, pareciera que el valor disminuye sutilmente con la presencia de la variante, presentando el máximo valor en una mujer con el genotipo silvestre, con un valor muy cercano al establecido para el diagnóstico de diabetes gestacional (91.9 mg/dL).

La determinación de los demás parámetros bioquímicos es importante para descartar la presencia de dislipidemia, la cual se define como los niveles elevados de colesterol total, de triglicéridos y de colesterol HDL reducidos (Buñuelos; Hernández y Treviño, 2016); aunque los resultados se encontraban dentro de los valores de referencia para todos estos parámetros y con ello se descarta el diagnóstico de dislipidemia, se puede resaltar que, el promedio de colesterol total era más elevado en pacientes con el genotipo de riesgo; el colesterol HDL ligeramente disminuido y el de triglicéridos aumentado.

#### c) Complicaciones en el embarazo y resolución de parto.

La única complicación que se presentó en la población fueron 6 casos de preeclampsia (11.1%). También se resalta que ninguna mujer con preeclampsia presentaba alteración en su determinación de lípidos, datos que parecen no corresponder con los factores de riesgo para desarrollarla, ya que todas ellas tenían normopeso, no tenían nefropatías preexistentes, diabetes, lupus o embarazos previos; por el contrario, presentaban factores que disminuían la probabilidad, entre los que destacan: tener menos de 20 años y tener más de 10 años de intervalo entre un embarazo, presentar antecedentes familiares de preeclampsia o presión diastólica al inicio del embarazo de 80-89 mmHg (URL 23). Al no cumplir con los criterios de alto riesgo para el desarrollo de preeclampsia, únicamente podemos atribuir su presencia a que todas las participantes cumplían con al menos 2 factores que disminuyen la probabilidad de padecerla, porque se debe mencionar que presentar 2 o más factores aumenta la probabilidad.

Hubo 10 cesáreas, lo que corresponde al 18.5% de la población de estudio, en las que tampoco se logró asociar la presencia del polimorfismo, ya que, sólo 1 de ellas presentaban la variante. Llama la atención que el porcentaje de cesáreas practicadas se encuentra entre el porcentaje de cesáreas programadas (11.4) y las de emergencia (25.6) publicado por el Instituto Nacional de Mujeres, que rescató los datos de la ENADID 2018, en la que, de las 5.5 millones de mujeres

adolescentes de 15 a 19 años se (URL 3). En el estudio no se tomó en cuenta la causa por la que se realizaron las cesáreas, aunque un factor importante podría ser la temprana edad.

#### d) Peso al nacer y genotipo materno

El peso al nacer tampoco se pudo atribuir a la presencia del polimorfismo, debido a las discrepancias en sus resultados (**Tabla 9**). Principalmente, se intentaba comprobar si la presencia del polimorfismo aumentaba la cantidad de recién nacidos grandes para la edad gestacional, ya que, aunque el peso al nacer está determinado por múltiples factores y la interacción entre ellos, se debe tener en cuenta la susceptibilidad genética individual como factor esencial en su determinismo puede provocar complicaciones tanto a corto como a largo plazo (Mărginean; et al, 2016).

El 85.2% de los recién nacidos fueron pequeños para la edad gestacional (los 3 genotipos presentaban una alta frecuencia), lo cual pudo estar influenciado por la edad de la madre, su ganancia de peso y cantidad de leptina. Este resultado es importante porque ellos presentan un riesgo mayor de diferentes trastornos neurológicos o cardiovasculares, síndrome metabólico o una estatura más baja en el futuro (Mărginean; et al, 2016).

### 4. Asociación de las características de la población de estudio con la ganancia de peso gestacional.

#### a) Parámetros bioquímicos

El peso va aumentando conforme avanza el embarazo, y con ello las demandas energéticas, por ello es comprensible que el perfil lipídico vaya aumentando conforme transcurre el embarazo. Al inicio el embarazo hay un aumento en la producción hepática de triglicéridos, y la remoción de los TG circulantes resulta en un incremento en los depósitos grasos de los adipocitos maternos, por lo que se considera una fase anabólica; por el contrario, el último trimestre de embarazo se considera una etapa catabólica, donde se aumenta la liberación de los ácidos grasos desde los adipocitos debido al estímulo de la lipasa sensible a hormonas

placentarias. Estos cambios permiten a la madre almacenar energía en la primera etapa del embarazo para los altos requerimientos energéticos de la última etapa; como consecuencia de estos cambios el metabolismo lipídico materno está alterado en el embarazo. El colesterol total aumenta moderadamente, mientras los TG plasmáticos aumentan drásticamente (Ywaskewycz; et al, 2010).

Respecto al incremento en los niveles de colesterol, especialmente en las lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) y los niveles disminuidos de c-HDL, se ha reportado un riesgo elevado a desarrollar enfermedad cardiovascular (Ywaskewycz; et al, 2010).

A pesar de que estos procesos se consideran normales en la gestación humana, diversos estudios han mostrado que podría existir una correlación positiva entre los niveles aumentados de triglicéridos en sangre y el posterior desarrollo de preeclampsia (Buñuelos; Hernández y Treviño, 2016), sobre todo teniendo en cuenta el incremento reportado de un 14.1 a 21% en las mujeres que presentan valores elevados de lípidos en sangre (URL 24).

Aunque el promedio del perfil lipídico durante el segundo o tercer trimestre del embarazo se encontrara dentro de los valores de referencia, se esperaba que en aquellas madres con ganancia de peso excesiva hubiera un aumento mayor en el nivel de triglicéridos y colesterol total; sin embargo, hubo varias discrepancias en estos resultados (**Tabla 10**) que impidieron relacionar el aumento de peso con los valores de lípidos.

#### b) Complicaciones maternas y resolución de parto

El IMC pregestacional y la ganancia de peso influye en el desarrollo y resolución del parto; se sabe que en mujeres obesas son más comunes las inducciones prematuras de parto, hemorragias postparto, altas tasas de cesáreas asociadas a múltiples causas como la falla a la inducción, anormalidades durante el parto y complicaciones fetales (Cárdenas, 2012).

Sólo se presentaron 6 casos de preeclampsia en las adolescentes, al compararlas con la ganancia de peso gestacional se encontró un mayor porcentaje en mujeres con ganancia de peso excesiva (20%) y el menor porcentaje en mujeres con ganancia insuficiente (7.7%).

Tampoco se logró asociar la frecuencia de cesáreas (18.5% de la población) a la ganancia de peso gestacional, debido a que la mayor incidencia se encontró en mujeres con GPG adecuada (22.2%), aunque es muy similar al porcentaje con GPG excesiva (20%). No obstante, no podemos asegurar que la causa por la que se programaron las cesáreas estuvo relacionada o no a la ganancia de peso.

Otra causa importante para tratar de relacionar la ganancia de peso con todos estos parámetros es que, a largo plazo la GPG excesiva se ha asociado a retención de peso posnatal y desarrollo a largo plazo de sobrepeso y obesidad en las madres y su descendencia (Weaver, 2019); desafortunadamente no se dió seguimiento a los embarazos para comprobar si hubo mayor retención de peso y desarrollo de sobrepeso u obesidad en las madres y su descendencia.

### c) Peso al nacer

Se intentó encontrar la asociación entre la ganancia de peso gestacional con el peso al nacer; sin embargo, tampoco se encontró un valor estadísticamente significativo, ya que, se encontraron porcentajes bastante similares y elevados en la relación de los recién nacidos pequeños para la edad gestacional (85.2%) con la ganancia de peso insuficiente (84.6%), adecuada (88.9%) y excesiva (80%). Los recién nacidos grandes para la edad gestacional fueron pocos (3.7%), que representan al 3.8% de los embarazos con GPG insuficiente y al 10% de la ganancia de peso excesiva.

Tomando en cuenta la edad de las madres, en un estudio de 2011 en Missouri que intentaba demostrar si las recomendaciones del aumento de peso emitido por la IOM aplicaban en embarazos adolescentes, encontraron que las adolescentes que alcanzaron un aumento de peso gestacional adecuado tuvieron una mayor incidencia de bebés pequeños para la edad gestacional a comparación de aquellas con ganancia excesiva, aunque su porcentaje era mucho menor (14-19 y 8-12%, respectivamente), sus resultados los compararon con estudios anteriores en donde Stevens-Simon y McAnarney, encontraron que aquellas con menor aumento de peso tenían bebés más pequeños en comparación con aquellos con un aumento de peso adecuado y excesivo, pero aquellos con un aumento de peso rápido tenían una alta retención de peso posparto (Harper; Chang y Macones, 2011).

Los resultados anteriores podrían atribuirse a la composición corporal materna, que es un factor determinante clave para el peso al nacer, especialmente la cantidad de masa corporal magra materna, la cual se ha sugerido se correlaciona positivamente con el peso al nacer en comparación con la masa grasa materna que parece no tener impacto en el peso al nacer (Mărginean; et al, 2016); sin embargo, estos parámetros no se determinaron, y aunque, la madre pueda poseer un IMC pregestacional normal, no significa que la cantidad de masa magra que posea sea la adecuada, por lo que, es un factor que pudo influir sobre el peso al nacer de los recién nacidos.

## VIII. CONCLUSIONES

- De los 6 clusters obtenidos para cada variante obtenidas mediante HRM, sólo se lograron secuenciar los pertenecientes al polimorfismo LEPR rs1137101, con lo cual se pudo determinar la presencia de los tres genotipos esperados para la diada madre adolescente y su neonato.
- Se determinaron las frecuencias de los genotipos para el polimorfismo LEPR rs1137101 en las madres y sus recién nacidos, lo que permitió comprobar el equilibrio de la población.
- Se encontró una relación estadísticamente significativa entre el IMC pregestacional y la presencia de la variante LEPR rs1137101; aunque las pacientes con esta variante presentaban un menor IMC dentro del rango considerado normopeso, su impacto parecía no tener gran relevancia.
- No se encontró una relación estadísticamente significativa entre el genotipo presentado por las madres con las características del perfil bioquímico, presencia de complicaciones y resolución de parto por lo que no se pudo comprobar que la presencia del genotipo variante influya sobre estos parámetros.
- Debido a la heterogeneidad de los resultados entre la asociación de los genotipos con los resultados antes mencionados y el bajo tamaño muestral,

tampoco se puede asegurar, que por el contrario de lo que se pensaba la presencia de la variante ejerce algún efecto protector sobre las madres.

- La mayoría de los recién nacidos fueron considerados pequeños para su edad gestacional con la presencia de los 3 genotipos, predominando el heterocigoto; por lo cual, no se encontró relación entre el peso al nacer y la presencia de la variante LEPR rs1137101; ni con la ganancia de peso gestacional.

## IX. PROSPECTIVAS

- Realizar un nuevo diseño de primers para la variante FTO rs9939609 que cubra un fragmento de mayor tamaño y/o utilizar el kit BigDye v.1.1 para el fragmento ya diseñado.
- Incluir la determinación del genotipo de los padres, para establecer una probabilidad más segura de la herencia del par de alelos de los padres a sus hijos.
- Realizar un cuestionario más amplio a las madres para indagar sobre sus hábitos alimenticios, antecedentes familiares del peso y partos en sus núcleos familiares.
- Determinar los valores de leptina e insulina; así como determinar el porcentaje de masa magra en las madres adolescentes.
- Dar seguimiento al término de los embarazos para registrar si hay retención de peso posnatal en las madres y determinar la influencia del genotipo del recién nacido en el desarrollo de sobrepeso u obesidad.
- Incrementar el tamaño muestral para evaluar si hay una variación en la frecuencia de los genotipos; así como en su influencia con las características de estudio de las diadas.

## X. REFERENCIAS

### A. LIBROS CONSULTADOS

1. Buchwald, H., Cowan, G., Pories, W. J., *Cirugía de la obesidad*, (GEA, Trad), Elsevier.
2. Cárdenas, M., (2012). *Resultado perinatal y complicaciones durante el embarazo en la paciente con sobrepeso y obesidad* [Tesis de especialidad, Universidad Nacional Autónoma de México]. Biblioteca digital. <http://bit.ly/2vmHFXH>
3. Gil, A. *Tratado de nutrición. Bases moleculares de la nutrición*. 3° ed., Médica Panamericana.
4. López, R., (2015). *Desarrollo y aplicación de técnicas de Meta-análisis en estudios de asociación genética* [Tesis de maestría, Universidad de Granada]. <https://bit.ly/3igijUf>
5. Weaver, J. U., *Guía práctica de la medicina de la obesidad*, (Elsevier, Trad), Elsevier

### B. ARTÍCULOS CONSULTADOS

1. Abbassi-Ghanavati, M., Greer, L., Cunningham, G., (2009). Pregnancy and Laboratory Studies A Reference Table for Clinicians. The American College of Obstetricians and Gynecologists, 114(6), 1326–1331, DOI: [10.1097 / AOG.0b013e3181c2bde8](https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3181c2bde8)
2. Ali, EMM, Diab, T., Elsaid, A., Abd El Daim, HA, Elshazli, RM y Settin, A., (2019). Fat mass and obesity-associated (*FTO*) and leptin receptor (*LEPR*) gene polymorphisms in Egyptian obese subjects. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 1-9, <https://doi.org/10.1080/13813455.2019.1573841>
3. Angel, I., Tene, C., Castro, E., (2012). Leptin Receptor Gene K656N Polymorphism Is Associated with Low Body Fat Levels and Elevated High-Density Cholesterol Levels in Mexican Children and Adolescents. *Endocrine Research*, 37(3), 124-134, <https://doi.org/10.3109/07435800.2011.648360>



4. Anghebem, M., Rodrigues, B., Alberton, D., Souza, E., Picheth, G., Gomes de Moraes, D., (2017). Type 2 diabetes-associated genetic variants of *FTO*, *LEPR*, *PPARg*, and *TCF7L2* in gestational diabetes in a Brazilian population. *Archivos de endocrinología y metabolismo*. 61(3), 238-248. <https://doi.org/10.1590/2359-3997000000258>
5. Barrera, R., Fernández, L.A., (2015). Programación metabólica fetal. *Perinatología y reproducción humana*, 29(3), 99-105, <https://doi.org/10.1016/j.rprh.2015.12.003>
6. Buñuelos, I., Hernández, M., Treviño, J., (2016). Dislipidemia y embarazo: prevalencia y evidencia actual. *Clínica e investigación en ginecología y obstetricia*. 45(3), 109-113, <https://doi.org/10.1016/j.gine.2016.07.008>
7. Daghestani, M., Purojit, R., Maghestani, M., Daghistani, M., Warsy, A., (2019). Molecular dynamic (MD) studies on Gln233Arg (rs1137101) polymorphism of leptin receptor gene and associated variations in the anthropometric and metabolic profiles of Saudi women. *PLOS ONE*, 14(2), 1-15, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211381>
8. Daya, M., Pujianto D., Witjaksono, F., Priliani, L., Susanto, J., Lukito, W., Malik S., (2019). Obesity risk and preference for high dietary fat intake are determined by FTO rs9939609 gene polymorphism in selected Indonesian adults. *Asia Pac J Clin Nutr*, 28(1), 183-191, DOI: [10.6133/apjcn.201903\\_28\(1\).0024](https://doi.org/10.6133/apjcn.201903_28(1).0024)
9. Farrar, J. S., & Wittwer, C. T., (2017). Chapter 6-High-Resolution Melting Curve Analysis for Molecular Diagnostics. *Molecular Diagnostics*, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802971-8.00006-7>
10. Fernández, I., Hoffmire, C., Olson, C., (2011). Gestational Weight Gain in Adolescents: A Comparison to the New Institute of Medicine Recommendations. *J Pediatr Adolesc Gynecol.*, 24(6): 368–375, DOI: [10.1016 / j.jpag.2011.06.009](https://doi.org/10.1016/j.jpag.2011.06.009)
11. Frayling, T., Timpson, N., Weedon, M., Zeggini, E., Freathy, R., Lindgren, C., Perry, J., Elliott, K., Lango, H., Rayner, N., Shields, B., Harries, L., Barrett, J., Ellard, S., Groves, C., Knight, B., Patch, A., Ness, A., Ebrahim, S., Lawlor, D., Ring, S., Ben, Y., Jarvelin, M., Sovio, U., Bennett, A., Melzer, D., Ferrucci, L., Loos R., Barroso, I., Wareham, N., Karpe, F., Owen, K., Cardon, L., Walker, M., Hitman, G., Palmer, C., Doney, A., Morris, A., Smith, G.,

- Hattersley, A., McCarthy, M., (2007). A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*, 316(5826), 889-894. DOI: [10.1126/science.1141634](https://doi.org/10.1126/science.1141634)
12. Garritano, S., Gemignani, F., Voegelé, C., Le Calvez, F., De Silva, D., Lesueur F., Landi, S., Tavtigian, S., (2009). Determining the effectiveness of High Resolution Melting analysis for SNP genotyping and mutation scanning at the *TP53* locus. *BMC GENETICS*, 10(5), 10-12. doi: [10.1186/1471-2156-10-5](https://doi.org/10.1186/1471-2156-10-5)
13. Guízar, J., Licona, M., Flores, F., López, M., Ahuatzin, R., Sánchez, J., (2005). Association analysis of the Gln223Arg polymorphism in the human leptin receptor gene, and traits related to obesity in Mexican adolescents. *Journal of Human Hypertension*, 19, 341-346. <https://doi.org/10.1038/sj.jhh.1001824>
14. Gulati, P., Giles, S., (2013). The biology of FTO: from nucleic acid demethylase to amino acid sensor. *Diabetologia*, 56(10), 2113–2121. [10.1007 / s00125-013-2999-5](https://doi.org/10.1007/s00125-013-2999-5)
15. Han, Z., Niu, T., Chang, J., Lei, X., Zhao, M., Wang, Q., Cheng W., Wang, J., Feng, Y., Chai, J., (2010). Crystal structure of the FTO protein reveals basis for its substrate specificity. *Nature*, 464 (7292), 1205-1209. [10.1038/nature08921](https://doi.org/10.1038/nature08921)
16. Harper, L., Chang, J., Macones, G., (2011). Adolescent Pregnancy and Gestational Weight Gain: Do the Institute of Medicine Recommendations Apply?. *Am J Obstet Gynecol*, 205(2), 140.e1-140.e8. DOI: [10.1016/j.ajog.2011.03.053](https://doi.org/10.1016/j.ajog.2011.03.053)
17. Hernández, A., Trejo, F., (2014). Estudio Genético Poblacional de Frecuencias Alélicas para 15 marcadores STR presentes en la Población del Estado de Zacatecas Aplicado a la Práctica Forense. *Archivos de medicina*, 10(1), 1-24. DOI: [10.3823/1209](https://doi.org/10.3823/1209)
18. Herring, S., Oken, E., (2010). Ganancia de peso durante el embarazo: Su importancia para el estado de salud materno-infantil. *Annales Nestlé*, 68(1), 17-28. <https://doi.org/10.1159/000320346>
19. Iniesta, R., Guinó, E., Moreno, V., (2005). Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gaceta sanitaria*, 19(4), 333-341, disponible en <https://bit.ly/2EZv6Gq>

20. Jia, G., Fu, Y., Zhao, X., Dai, Q., Zheng, G., Yang, Y., Yi, C., Lindahl, T., Pan, T., Yang, Y., He, C., (2011). N6-Methyladenosine in nuclear RNA is a major substrate of the obesity-associated FTO. *Nature Chemical Biology*, 7 (12), 885–887. <https://doi.org/10.1038/nchembio.687>
21. Jia, G., Yang, C., Yang, S., Jian, X., Yi, C., Zhou, Z., He, C., (2008). Oxidative demethylation of 3-methylthymine and 3-methyluracil in single-stranded DNA and RNA by mouse and human FTO. *FEBS Letters*, 582 (23-24), 3313–3319. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.08.019>
22. Loredó, A. A., Vargas, C. E., Casas, M. A., González, C., J., Gutiérrez, L. C., (2015). Embarazo adolescente: sus causas y repercusiones en la diada. *Instituto Mexicano del Seguro Social*, 55(2), 223-229. <http://bit.ly/3bZLToJ>.
23. Mărginean C, Mărginean C, Iancu M, Meliș L, Tripon F, Bănescu C., (2016). The FTO rs9939609 and LEPR rs1137101 mothers-newborns gene polymorphisms and maternal fat mass index effects on anthropometric characteristics in newborns: A cross-sectional study on mothers-newborns gene polymorphisms-The FTO-LEPR Study (STROBE-compliant article). *Medicine (Baltimore)*, 95(49), 1-10. [10.1097 / MD.00000000000005551](https://doi.org/10.1097/MD.00000000000005551)
24. Mendoza, L., Arias, M., Peñaranda, C., Mendoza, L., Manzano, S., Varela, A., (2015). Influencia de la adolescencia y su entorno en la adherencia al control prenatal e impacto sobre la prematuridad, bajo peso al nacer y mortalidad neonatal. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*, 80(4), 306-315. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75262015000400005>
25. Minjarrez, M., Rincón, I., Morales, I., Espinosa, M., Zárate, A., Hernández, M., (2014). Ganancia de peso gestacional como factor de riesgo para desarrollar complicaciones obstétricas. *Perinatol Reprod Hum*, 28 (3): 159-166. <https://bit.ly/36CO3KB>
26. Ostafiichuk, S., (2019). Genetic aspects of metabolic disorders in pregnant women with pathological weight gain. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(3), 271–275. <https://doi.org/10.15421/021941>
27. Pan, H., Guo, J., Su, Z., (2014). Advances in understanding the interrelations between leptin resistance and obesity. *Physiology & Behavior*, 130, 157-169. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.04.003>
28. Quinton, N., Lee, A., Eastell, R., Blakemore, A., (2001). A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass

- and leptin levels in postmenopausal Caucasian women. *Hum Genet*, 108, 233–236. <https://doi.org/10.1007/s004390100468>
29. Quiroga, M., (2017). Obesidad y genética. *An. Fac. med.*, 78(2),192-195. <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v78i2.13216>
30. Rojano, M., Beristain, J., Zavaleta, B., Maravilla, P., Romero, M., Olivo, A., (2016). Leptin receptor gene polymorphisms and morbid obesity in Mexican patients. *Hereditas* , 153(2). [10.1186/s41065-016-0006-0](https://doi.org/10.1186/s41065-016-0006-0)
31. Saldaña, Y., Salas, M, García, H., Luckie, A., García, G., Vicenteño, H., Cordova, E., Esparza, M., Contreras, C., Carnevale, C., Chávez, M., Orozco, L., (2016). Gender-Dependent Association of FTO Polymorphisms with Body Mass Index in Mexicans. *PLOS ONE*, 11 (1), <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145984>
32. Salem, H., Rosenfeld, T., Altarescu, G., Grisaru, S., Birk, R., (2016). Maternal and neonatal leptin and leptin receptor polymorphisms associated with preterm birth, *Gene*, 591(1), 209-213. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2016.07.014>
33. Sánchez, F. J., Gesteiro, E., Espárrago, M., Rodríguez, B., Batida, S., (2013). La alimentación de la madre durante el embarazo condiciona el desarrollo pancreático, el estatus hormonal del feto y la concentración de biomarcadores al nacimiento de diabetes mellitus y síndrome metabólico. *Nutrición hospitalaria*, 28(2), 250-274. <http://dx.doi.org/10.3305/nh.2013.28.2.6307>
34. Taylor, C. F., (2009). Mutation scanning using high-resolution melting. *Biochemical Society Transactions*, 37(2), 433–437. <https://doi.org/10.1042/BST0370433>
35. Vera, F., Pino, J., Campos-Cabaleiro, V., Ruiz-Fernández, C., Mera, A., Gonzalez-Gay, M., Gómez, R., Gualillo, O., (2018). Obesity, Fat Mass and Immune System: Role for Leptin. *Frontiers in Physiology*, 9, 1-2.0 <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00640>
36. Wauman, J., Zebeau, L., Tavernier, J., (2017). The Leptin Receptor Complex: Heavier Than Expected?. *Frontiers in Endocrinology*. 8(30), 1-20 [10.3389 / fendo.2017.00030](https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00030)

37. Yang, Q., Xiao, T., Guo, J., Su, Z., (2017). Complex Relationship between Obesity and the Fat Mass and Obesity Locus. *International Journal of Biological Sciences*; 13(5): 615-629, [10.7150 / ijbs.17051](https://doi.org/10.7150/ijbs.17051)
38. Ywaskewycz, L., Bonneau, G., Castillo. M., López, L., Pedrozo, R., (2010). Perfil lipídico por trimestre de gestación en una población de mujeres adultas. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*, 75(4), 227-233. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75262010000400003>

### C. PÁGINAS WEB

1. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, (2017). *La anticoncepción: implicaciones en el embarazo adolescente, fecundidad y salud reproductiva en México*. <http://bit.ly/2vSq4qQ>
2. Instituto Nacional de las Mujeres, (septiembre de 2019). *Madres adolescentes*. <https://bit.ly/2ZcCfdz>
3. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, (2018). *Principales resultados de la Encuesta Nacional de la Dinámica Demográfica (ENADID) 2018*. <https://bit.ly/30ywY0n>
4. Secretaría de Salud, Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud, Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva, Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades, Centro Nacional para la Prevención y Control del VIH/SIDA, Dirección General de Calidad y Educación en Salud, Dirección General de Promoción de la Salud, Dirección General de Epidemiología, Dirección General de Planeación y Desarrollo en Salud, Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, Comisión Nacional de Arbitraje Médico, Secretaría de la Defensa Nacional, Dirección General de Sanidad, Hospital de Especialidades de la Mujer, Secretaría de Marina, Dirección General de Sanidad Naval, Centro Médico Naval, Instituto Mexicano del Seguro Social...Parto Libre, A.C., (7 de abril de 2016). Norma Oficial Mexicana *NOM-007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida*, Diario oficial de la Federación. <https://bit.ly/3iRSxQB>
5. Lira, J., Oviedo, H., (abril de 2013). *Control prenatal en adolescentes: evaluación del riesgo materno-infantil*. <https://bit.ly/3leqEmM>

6. Rasmussen K., Yaktine, L., (2009). *Weight Gain During Pregnancy: Reexamining the Guidelines*. <https://bit.ly/3i8oQtL>
7. NCBI, (21 de agosto de 2019). *FTO alpha-ketoglutarate dependent dioxygenase [ Homo sapiens (human) ]*. <https://bit.ly/2SAtnRE>
8. GHR, (17 de agosto de 2020). *FTO Gene*. <https://bit.ly/3aw0ZA7>
9. UniProt, (12 de agosto de 2020). *FTO\_HUMAN*. <https://bit.ly/34V4UoZ>
10. GHR, (17 de agosto de 2020). *LEPR Gene*. <https://bit.ly/35sPpFn>
11. UniProt, (12 de agosto de 2020). *LEPR\_HUMAN*. <https://bit.ly/3lfJHOC>
12. Bio-Rad, (2017). *Precision Melt Analysis™. Software*. <http://bit.ly/39Yx1F>
13. Affymetrix, (15 de junio de 2016). *USB® ExoSAP-IT® PCR cleanup reagent*. <http://bit.ly/3aTxdWO>
14. Sigma-Aldrich, (s.f.). *GenElute™ Gel Extraction Kit*. Consultado el 3 de mayo de 2020. <https://bit.ly/2yoMS2z>
15. QIAGEN, (s.f.). *DyeEx™ Handbook*. Consultado el 3 de mayo de 2020. <http://bit.ly/3d4LGRE>
16. PolyPhen-2, (10 de marzo de 2017). *PolyPhen-2*. <https://bit.ly/3houW9M>
17. NCBI, (s.f.). *BLASTn*. Consultado el 28 de abril de 2020. <https://bit.ly/325Wnjd>
18. Biomedel, (s.f.). *Transcription and translation tool*. Consultado el 3 de mayo de 2020. <https://bit.ly/31q7y64>
19. NCBI, (s.f.). *BLASTp*. Consultado el 3 de mayo de 2020. <https://bit.ly/2RhkMwl>
20. Instituto Mexicano del Seguro Social, (3 de noviembre de 2016). *Diagnóstico y tratamiento de la diabetes en el embarazo*. <https://bit.ly/3jFFmCr>
21. Applied biosystems, (mayo de 2009). *A Guide to High Resolution Melting (HRM) Analysis*. <https://bit.ly/301ov5C>
22. Applied biosystems, (octubre de 2002). *BigDye® Terminator v3.1 and v1.1 Cycle Sequencing Kits*. <https://bit.ly/35IJ1Bx>
23. Secretaría de salud, (2010). *Detección y diagnóstico de enfermedad hipertensiva del embarazo*. <https://bit.ly/2ZaQEeqM>
24. Secretaría de Salud; Instituto Nacional de Salud Pública; Instituto Nacional de Estadística y Geografía, (2018). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018*. <http://bit.ly/37ZMIKU>