

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA



EVALUACIÓN DE 3 SNPS ASOCIADOS AL RIESGO DE DESARROLLAR
DIABETES MELLITUS

Por

Dr. Carlos Josué Velásquez Palacios

Como requisito para obtener el grado de:

ESPECIALISTA EN PEDIATRÍA

Febrero 2021

EVALUACIÓN DE 3 SNPS ASOCIADOS AL RIESGO DE DESARROLLAR DIABETES MELLITUS

Aprobación de la tesis:



Dra. med. Consuelo Treviño Garza
Director de la tesis



Dra. med. Consuelo Treviño Garza
Coordinador de Enseñanza



Dr. Fernando García Rodríguez
Coordinador de Investigación



Dr. med. Manuel Enrique de la O Cavazos
Jefe de Servicio o Departamento



Dr. med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante en mi formación profesional. A mi padre por ser un pilar importante, por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional en todos estos años. A mi madre, a pesar de nuestra distancia física, siento que estás conmigo siempre y aunque nos faltaron muchos momentos por compartir, sé que este momento hubiera sido tan especial para ti como lo es para mí. A mis tías Dora y Sulay, a quienes quiero como a mi madre, porque siempre estuvieron dispuestas a escucharme y ayudarme en cualquier momento. A mi hermana Yailin por ser mi mejor amiga. A mis profesores, gracias por su tiempo, por su apoyo, así como por la sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional.

Carlos Josué Velásquez Palacios

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida.

A mi madre, que con su demostración de madre ejemplar me ha enseñado a no desfallecer ni rendirme ante nada y siempre perseverar a través de sus sabios consejos.

A mi padre, que gracias a su ejemplo de vida me ha enseñado a ser más fuerte, a seguir adelante sin importar las circunstancias. Y sé que está orgulloso de la persona en la cual me he convertido.

A mi tía Sulay y mi tía Dora, por su apoyo incondicional y por demostrarme la gran fe que tiene en mí.

A mi hermana, que con sus consejos me ha ayudado a afrontar los retos que se me han presentado a lo largo de mi vida.

A la Dra. Consuelo Treviño, al Dr. Miguel Ángel Déctor, a la Dra. Carmen Barboza y a la Dra. Leonor Hinojosa, por su valiosa guía, asesoramiento y retroalimentación en la realización de la misma.

Gracias a todas las personas que ayudaron directa o indirectamente en la realización de este proyecto.

Carlos Josué Velásquez Palacios

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

DMT2: Diabetes mellitus tipo 2

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I

1. RESUMEN	8
------------------	---

Capítulo II

2. INTRODUCCIÓN	10
-----------------------	----

Capítulo III

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22
-------------------------------------	----

Capítulo IV

4. JUSTIFICACIÓN	23
------------------------	----

Capítulo V

5. OBJETIVO	24
-------------------	----

Capítulo VI

6. MATERIALES Y MÉTODOS	25
-------------------------------	----

Capítulo VII

7. RESULTADOS.....	32
--------------------	----

Capítulo VIII

8. DISCUSIÓN	47
--------------------	----

Capítulo IX

9. CONCLUSIONES.....	53
----------------------	----

Capítulo X

11. BIBLIOGRAFÍA.....	54
-----------------------	----

Capítulo XI

12. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO.....60

Capítulo XII

12. ANEXOS.....61

CAPITULO I

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: En la búsqueda de la heredabilidad del riesgo para el desarrollo de las enfermedades complejas, los estudios de asociación de todo el genoma empleando polimorfismos de un solo nucleótido de grupos grandes de casos con diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) han permitido la identificación de regiones de ADN que contienen loci asociados de riesgo. La evidencia empírica sugiere fuertemente que ciertas variantes reguladoras comunes (frecuencia >0.05) son el contribuyente dominante en la heredabilidad de DMT2. Sin embargo, estas variantes se encuentran fuera de las regiones que codifican para aminoácidos en los genes, lo que hace difícil de interpretar su efecto; se tiene la hipótesis de que estos pueden más bien señalar variantes causales cercanas, entre las que estarían otros polimorfismos codificantes no analizados.

OBJETIVO: Determinar el riesgo relativo para el desarrollo de DMT2 entre recién nacidos basado en la genotipificación de 3 SNPs: 2 rs7903146 (*TCF7L2*), rs9460550 (*CDKAL1*) y rs2236033 (*SFI1*).

MATERIALES Y MÉTODOS: Estudio tipo transversal, descriptivo, comparativo y ciego. Se incluyeron neonatos del Hospital Universitario nacidos por parto o cesárea, sin distinción de género y edad gestacional al nacer, cuyas madres padecieran DMT2, diabetes gestacional (casos) o madres sin DMT2 aparentemente sanas (controles), en ausencia de anomalías congénitas mayores o algún

evento médico que comprometiera la vida del paciente. Utilizamos la base de datos por el Servicio de Pediatría y la colección de muestras obtenidas desde en el año 2015 y almacenadas en el Laboratorio Nacional Biobanco ubicado en la Facultad de Medicina de la UANL. La genotipificación de las muestras se llevó a cabo mediante por Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (qPCR) con ensayos de sondas TaqMan para los genes TCF7L2 (rs7903146), CDKAL1 (rs9460550) y SFL1 (rs2236033). Se recolectaron características materno-fetales y desenlaces neonatales como la edad materna, la vía de nacimiento, el registro del puntaje de Apgar al primero y quinto minuto, el peso de la madre y del producto al nacer, y la edad gestacional del producto al nacer.

RESULTADOS: Se incluyeron muestras de 349 pacientes del Servicio de Obstetricia del Hospital Universitario, 104 casos y 245 controles entre 19 y 34 años. En los sujetos pertenecientes al grupo de estudio se encontró un mayor número en los nacimientos por la vía abdominal (76%) en comparación con los del grupo control (43.7%), así como los nacimientos fortuitos (22.9% vs. 5.7%) y la presencia de productos de peso grande al nacer para la edad gestacional (10.6% vs. 3.3%). Entre los tres SNP analizados, únicamente se encontró al alelo homocigoto recesivo (AA) del polimorfismo rs9460550 (CDKAL1) como un factor protector para el desarrollo de DMT2 en el recién nacido en madres con DMT2 o diabetes gestacional ($p = 0.046$; OR 0.34, IC 95% 0.11-0.98), tampoco se encontró alguna asociación entre el peso al nacer en los recién nacidos y los genotipos.

CONCLUSIONES: En la población estudiada, únicamente el polimorfismo rs9460550 en el gen CDKAL1 se relacionó como factor protector de DMT2.

PALABRAS CLAVES: diabetes, diabetes gestacional, polimorfismos de nucleótido único, heredabilidad.

CAPITULO II INTRODUCCIÓN

En los últimos años, México figura dentro de los primeros lugares en el mundo con mayor prevalencia de Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2), una tendencia que parece va en aumento con el paso de los años.

La DMT2 es una de las principales causas de morbilidad en nuestro país, asociada a ceguera, amputaciones por causa no traumática y enfermedad renal crónica, así como de hospitalización en adultos; además, DMT2 se asocia a un riesgo cardiovascular aumentado y aumento de mortalidad en las personas que lo padecen.⁷

DMT2 es una enfermedad común y compleja en la que la expresión del fenotipo de cada individuo participa múltiples factores, como la susceptibilidad genética, las interacciones entre nutrientes y genes, y la filiación del estilo de vida¹⁶.

Existen estudios de asociación a escala del genoma completo (GWAS) basados en genotipificación de SNPs o en la secuenciación de exoma completo para esta enfermedad que han buscado establecer la asociación para variantes codificantes^{1,2} algunas de las cuales no necesariamente están representadas en los GWAS, pero recientemente se han empleado paneles de arreglos para GWAS²⁻⁴ que incluyen las variantes de baja frecuencia (<0.05) y variantes raras (<0.05).

Estos estudios a gran escala requieren un tamaño de muestra amplio para tener más poder estadístico sobre todo si se quiere asociar polimorfismos de nucleótido único (SNPs, por sus siglas en inglés) con variantes codificantes de baja frecuencia o variantes raras. Cabe señalar en este punto que tales estudios, por su costo, son reservados para consorcios mundiales.

En un estudio GWAS muy amplio, Araujo-Betanzos y cols., analizando 74,124 casos con DMT2 y 824,006 controles⁵ generó el mayor catálogo de asociaciones de variantes raras y de baja frecuencia.

Se estimó que las asociaciones de variantes de baja frecuencia explicaban MENOR heredabilidad para DMT2 que las asociaciones de las variantes comunes (1.13% vs. 16.3%, respectivamente), lo que implica la heredabilidad explicada por las variantes codificantes son tan bajas como en un orden de magnitud.

El trabajo de Flannick y cols.² quienes realizaron un GWAS con en el mayor número de individuos, de 5 ancestrías (20,791 casos de DMT2 y 24,440 controles), en el 76% de los individuos (18,233 casos y 16,296 controles) se mostró que las variantes codificantes raras (frecuencia <0.01) pueden ser dominantes en todos los genes relevantes para DMT2.

Algunas variantes de baja frecuencia como la del gen *PAX4* (rs2233580) p.Arg192His alcanzó un OR de 1.7 y una $p= 7.6e-22$, o el SNP rs148584357 en el

gen *F2RL1* con un OR de 5.74 y una $p= 0.0022$, el SNP rs76895963 del gen *CCND2* con un OR de 2.84 y una $p= 1.1e-07$, pero como esperado, fueron portadas por una minoría de los individuos dada su baja frecuencia. El último, fue también reportado¹ como la única variante de baja frecuencia que alcanzó significancia al nivel de todo el genoma en un estudio de secuenciación de exoma.

La DMT2 es la variante de la diabetes que padecen más de 90% de las personas en el mundo. La resistencia a la insulina es el dato más característico de este tipo de diabetes, debido a que regularmente hay secreción residual variable de insulina que evita la hiperglucemia o cetoacidosis grave. Los pacientes suelen permanecer asintomáticos y se diagnostican 5 a 7 años después del inicio de la enfermedad, por pruebas de detección sistemática de glucosa⁵.

Estudios recientes se han acumulado indicando el importante factor hereditario como determinante de resistencia a la insulina y la aparición de DMT2, en donde los individuos predestinados para desarrollar DMT2, la hiperinsulinemia es el principal mecanismo compensador por parte de la célula beta del páncreas y la sensibilidad disminuida hacia la insulina, con la finalidad de alcanzar una tolerancia normal a la glucosa.⁸

Existen reportes recientes que sugieren que existen algunas variantes comunes en algunos genes, como el gen del factor de transcripción 7-like 2 (*TCF7L2*), asociados con la presentación de DM2 de inicio en la adultez.^{17,18}

Además de lo anterior, se ha encontrado un aumento en los reportes de la presentación de DM2 en adolescentes y niños, una entidad anteriormente rara, y en cuya población, la principal causa de diabetes era insulinodependiente. Se han observado disparidades de la presentación de DM2 en jóvenes de diferentes grupos étnicos y raciales de Estados Unidos.¹⁹

La diabetes tipo 1 (DM1) es una enfermedad autoinmune crónica caracterizada por la deficiencia de insulina y la hiperglucemia resultante. El conocimiento de la DM1 ha aumentado rápidamente en los últimos 25 años, lo que resulta en un amplio conocimiento sobre muchos aspectos de la enfermedad, incluida su genética, epidemiología, fenotipos inmunes y de células β , y la carga de la enfermedad.⁶

Los niños con DM1 presentan comúnmente síntomas de poliuria, polidipsia y pérdida de peso; aproximadamente un tercio cursa con cetoacidosis diabética. El inicio de la DM1 puede ser más variable en adultos, que podrían no presentar los síntomas clásicos que se observan en los niños. Aunque las definiciones

tradicionales clasificaron la DM1 como de inicio juvenil, la enfermedad puede ocurrir a cualquier edad, con hasta el 50% de los casos en la edad adulta.⁶

Hasta el 50% de los adultos con DM1 podrían clasificarse inicialmente erróneamente como DMT2. De manera similar, junto con la epidemia de obesidad infantil, la DMT2 es cada vez más común en adolescentes (particularmente en personas no caucásicas), y la diabetes monogénica (p. Ej., Aparición de diabetes en la madurez de los jóvenes o tipo MODY) representa del 1 al 6% de los casos de diabetes infantil.⁶

Los hijos de padres que desarrollan DMT2 en la adultez presentan peso más bajo al nacer que los productos nacidos de padres que no desarrollan DMT2.²¹⁻²⁴ Eso es consistente con la herencia de, en promedio, 50% de la predisposición genética a la DMT2 del padre y la predisposición genética reduciendo el crecimiento fetal.²⁰

Por otro lado, el genotipo materno puede tener un efecto importante sobre el peso del producto.²⁵ Los alelos de riesgo de DMT2 presentes en la madre, asociados con un incremento de la glucosa plasmática durante el embarazo, pueden influir en el incremento del peso fetal, al aumentar la secreción de insulina fetal.

Recientemente, México se encuentra incluido en la lista de los 10 países con mayor número de personas que viven con diabetes. Esta tendencia creciente concuerda con las proyecciones para prevalencia de diabetes diagnosticada, a partir de datos de las encuestas nacionales referidas; se estimó que para el 2030, dicha prevalencia alcanzaría de 12 a 18% y para 2050, de 14 a 22%. El aumento en la prevalencia de diabetes puede deberse al envejecimiento de la población, al incremento en la prevalencia de la obesidad relacionada con cambios en los estilos de vida (aumento en la densidad calórica de la dieta, reducción en la actividad física), así como a cambios en otros factores relacionados con la DMT2.⁷

En México, la DMT2 es una de las principales causas de ceguera, insuficiencia renal crónica y amputaciones no traumáticas y es una de las 10 causas más frecuentes de hospitalización en adultos. Además, aumenta el riesgo de sufrir infarto al miocardio o cerebral, que explica el 30% de la mortalidad general. Estudiar sus factores de riesgo, tratamiento y complicaciones es de suma importancia para reducir la carga de la enfermedad.⁷

La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición en México (ENSANUT) 2016 muestra que la prevención de las complicaciones de la DMT2 continúa baja según los estándares de la Norma Oficial Mexicana “NOM-015-SSA2-2010, para la prevención, tratamiento y control de la DMT2”.⁷

A pesar de que en los últimos años el sector salud ha incrementado las acciones preventivas para evitar el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles

apoyándose en instrumentos como PrevenIMSS, PrevenISSSTE y la Estrategia Nacional para la Prevención y el Control del Sobrepeso, la Obesidad y la Diabetes, la prevalencia de factores de riesgo de DMT2, continúa aumentando en la población mexicana.⁷

ANTECEDENTES:

Panorama de la genotipificación

En los últimos años, varios centros internacionales de investigación se han enfocado en el estudio y la identificación de factores genéticos predisponentes de DMT2 utilizando diversos métodos. El análisis de ligamiento genético se usó para identificar genes potenciales asociados con la enfermedad, comenzando por el análisis de familias y luego estudiando un pequeño número de individuos genéticamente relacionados entre sí.⁸

La búsqueda de marcadores genéticos en miembros de familias con y sin DMT2 ha permitido la identificación de regiones genómicas que contienen *loci* asociados con el riesgo de enfermedad.⁸

Gracias a la búsqueda de marcadores genéticos, se identificó inicialmente la asociación de DMT2 con el gen calpain-10 (*CAPN10*) y luego su asociación con el gen del factor de transcripción 7-like 2 (*TCF7L2*), cuyas variantes genéticas en individuos afectados aumentan el riesgo de diabetes aproximadamente 1.5 veces.⁸

Panorama en México:

En el estudio realizado por Gallardo-Blanco et al. en familias del noreste de México se investigaron algunos de los marcadores genéticos considerados como factores de riesgo para síndromes metabólicos, como dislipidemia, obesidad y DMT2.⁹ En dicho estudio se analizaron un total de 37 familias en busca de 63 SNPs asociados

a la edad, el índice de masa corporal (IMC), los valores de tolerancia a la glucosa y los niveles de lípidos en sangre, incluidos los de colesterol, lipoproteína de baja densidad (LDL), muy LDL (VLDL), lipoproteínas de alta densidad (HDL) y los triglicéridos.⁹ En los resultados que se obtuvieron en ese estudio, el SNP rs5210 en el gen *KCNJ11* fue asociado al desarrollo de DMT2, el SNP rs11196175 en el gen *TCF7L2* se asoció con los niveles de IMC y colesterol y LDL, el SNP rs12255372 en el gen *TCF7L2* se asoció con el IMC y los niveles de HDL, VLDL y triglicéridos.⁹

Ya ha sido establecida previamente la naturaleza poligénica de la DMT2 y se han identificado más de 100 loci para la misma, así como rasgos glucémicos a través de estudios GWAS de genes de variación común y rara en poblaciones de diversos orígenes ancestrales.¹⁰

Las variaciones genéticas en algunos intrones del gen que codifica el factor de transcripción 7-like 2 (*TCF7L2*), se han asociado con DMT2 en diferentes poblaciones. El alelo T del SNP rs7903146 de *TCF7L2* predice fuertemente el desarrollo de DMT2. *TCF7L2* se ha asociado con diabetes gestacional y DMT2 en hispanos de ascendencia mexicana, y los polimorfismos de este gen se han asociado con una respuesta aguda reducida a la insulina en este grupo de herencia.¹⁰

SNPs involucrados en la DM

Los polimorfismos rs7923837 (*HHEX*), rs4402960 (*IGF2BP2*) y rs2237892 (*KCNQ1*) se han asociado con DMT2. Así mismo, se ha encontrado asociación de los SNPs rs7903146 (*TCF7L2*) y rs7754840 (*CDKAL1*) con DMT2 de inicio temprano [$p = 0.024$] y en pacientes con DMT2 no obesos [$p = 0.009$], respectivamente. Otro estudio encontró un OR más bajo cuando el análisis se ajustó por sexo, IMC y antecedentes heredofamiliares de DMT2 para tres polimorfismos en el gen *IRS1* en un modelo dominante.¹¹

También se han estudiado genes candidatos de susceptibilidad a la enfermedad renal asociada a la DMT2, la cual es un trastorno complejo que resulta de la influencia combinada de factores genéticos y ambientales. Se realizó la evaluación por Palmer et al., en el cual se estudió todo el genoma en pacientes afroamericanos con enfermedad renal diabética. Un análisis genético completo de loci de nefropatía fueron encontrados en 965 pacientes afroamericanos DMT2 y enfermedad renal, y 1029 controles basados en la población de pacientes, encontrando que dichos genes se encuentran ampliamente distribuidos.¹² El análisis se basó en 4.341 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) genotipado e imputados directamente en 22 genes candidatos a la nefropatía. Después del ajuste y la corrección de la mezcla para comparaciones múltiples, 37 SNP en ocho loci se asociaron significativamente ($P < 0.049$). Entre estas, las variantes en MYH9 fueron las más significativas, seguidas por los loci adicionales del cromosoma 22 (*APOL1*, *SFL1* y *LIMK2*).¹²

En otro estudio realizado por McDonough et al, se realizó una evaluación de todos los estudios genéticos realizados en pacientes con DMT2 en la población árabe entre 2015 y 2018, mediante una búsqueda bibliográfica sistemática para identificar las publicaciones que reportaran factores genéticos o polimorfismos asociados con el riesgo de DMT2 en estos pacientes, como *RPS12*, *LIMK2* y *SF1*, asociados también con nefropatía diabética¹³ y exploraron las asociaciones de *GIPR*, *ADIPOQ*, *FTO*, (GRCh38.p12), *MLXIP*, *AKNAD1*, *KCNJ11* *CDKAL1*, *CDKN2A / 2B*, *TCF7L2*, *ACE*, *SNAP25*, *ELMO1*, *VDR*, *KCTD8*, *GABRA4* y *PRKD1* con desarrollo DMT2.^{13,14}

En otro estudio realizado en India por Phani et al., se estudió una cohorte de casos y controles de 1156 individuos, realizando genotipado para 9 SNP, en el cual se confirmó la asociación de rs7903146 (*TCF7L2*) y rs13266634 (*SLC30A8*) con DMT2.¹⁵

Flannick y cols en el 2019 realizaron un estudio global que incluyó hasta 5 ancestrías diferentes, entre ellas a individuos mexicanos, los resultados de GWAS mostraron 25 SNPs no codificantes con mayor asociación o riesgo al desarrollo de DMT2. Diez variantes génicas mostraron un efecto protector, es decir, estuvieron más representadas en los controles que en los casos.² Entre los 15 SNPs de riesgo, en primer lugar el SNP rs7903146 en el intrón 3 del gen *TCF7L2*, ha sido establecido desde su primera asociación como la variante común con mayor efecto (riesgo) para DMT2 en europeos^{2,4}. La segunda posición correspondió al SNP rs2237896 de efecto protector del locus *KCNQ1*. La Tercera y cuarta posición la ocuparon los

SNPs de riesgo a DMT2, rs11255657 y rs9460550 de los loci CDC123 y CDKAL1, respectivamente. Les Excepto por el último SNP, los otros 2 SNPs también han sido replicados en diferentes estudios lo que los convierte en factores de riesgo panpoblacionales.^{2,4}

De manera interesante, el SNP rs2236033 intrónico del gen *SFI1* y rs145181683 (pArg724Trp) del mismo, fueron asociados en individuos hispanos. Los autores sugirieron que el SNP puede estar marcando otro alelo de riesgo propio de la población mexicana, ya que no está ligado a otro SNP (rs149762669), el cual es común entre mexicanos y europeos.²

CAPITULO III

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El impacto de la DMT2 en la población infantil es un problema de salud emergente, de orígenes complejos y de efectos graves a mediano y largo plazos. Dado que la DMT2 y sus efectos en la salud constituyen un problema de salud pública, resulta urgente el desarrollo y aplicación de medidas de intervención que prevengan o contrarresten los efectos de esta patología en los infantes y adolescentes.

La identificación de los factores genéticos de mayor riesgo para desarrollar diabetes desde etapas tempranas como los primeros días de vida pudiera tener un gran impacto inmediato y a largo plazo en la salud del infante, previniendo las complicaciones futuras de este padecimiento.

CAPITULO IV

JUSTIFICACIÓN

La determinación de biomarcadores (SNPs) en neonatos, que han demostrado que conferir un mayor riesgo para el desarrollo de DMT2, es decir, la predisposición genética a dicha enfermedad permitirá abordar estrategias nutricionales que disminuyan el factor ambiental el cual se sabe modifica significativamente el genotipo para el desarrollo de esta enfermedad compleja.

El conocimiento derivado de este tipo de estudios genéticos y epidemiológicos en humanos permitirá poner en un contexto diferente el cuidado del embarazo y la vida neonatal temprana, como una manera de promover la salud futura de la población. A la fecha, no es posible predecir el desarrollo de DMT2 en los individuos, pero la sumatoria de riesgos aportados por SNPs individuales puede representar un buen enfoque.

En la actualidad hay muy pocos grupos en México dedicados al estudio de esta promisoría área naciente, que merece ser explorada.

CAPITULO V

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el riesgo relativo para el desarrollo de DMT2 entre recién nacidos basado en la genotipificación de 3 SNPs de mayor riesgo: factor de transcripción 7-like 2 “*TCF7L2*” (rs7903146), proteína asociada a la subunidad reguladora CDK5 1-like 1 “*CDKAL1*” (rs9460550) y proteína de unión a centrina “*SF11*” (rs2236033).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer la frecuencia de los alelos de riesgo de los 3 SNPs en los binomios madre-hijo.
- Determinar la asociación de los 3 SNPs con el desarrollo de DMT2 en base a los genotipos de madres con DMT2 y madres sin DMT2.
- Determinar el modelo de herencia que permita establecer el riesgo relativo acumulativo de los alelos de riesgo para el desarrollo de DMT2 entre los recién nacidos.

CAPITULO VI

MATERIAL Y METODOS

TIPO DE ESTUDIO:

Como se puede apreciar en el diagrama de flujo de la figura 1, el presente estudio es observacional, transversal, descriptivo, comparativo y ciego

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión:

- Recién nacidos del Hospital Universitario “Dr. José E. González”
- Nacidos por parto o cesárea
- Género indistinto
- Recién nacido a término, pretérmino o postérmino
- Recién nacidos de madres con DMT2, con DM gestacional y sin DMT2
- Madre, padre o tutor legal que firme consentimiento informado como representante legal del sujeto en estudio

Criterios de exclusión:

- Anormalidades congénitas mayores
- Evento médico que comprometa la vida del paciente

Criterios de Eliminación:

- Historia clínica incompleta
- Falta de recolección de muestra
- Muestra inadecuada
- Consentimiento informado no llenado adecuadamente

SUJETOS DE ESTUDIO

Se utilizaron los datos y muestras obtenidas de un Biobanco creado en el año 2015 con el número de proyecto PE15-013, las cuales se encuentran almacenadas en el Laboratorio Nacional Biobanco del Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

Muestras de ADN

Para el estudio se utilizaron las muestras de ADN extraídas con el método de fenol-cloroformo a partir de sangre de cordón umbilical del recién nacido y de la sangre periférica de la madre almacenadas a -80°C.

Genotipificación de los polimorfismos

Se genotipificaron mediante ensayos de la Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (qPCR) con sondas TaqMan utilizando el sistema “TaqMan® SNP Genotyping Assays” prediseñados por la compañía ThermoFisher Scientific consistentes de dos sondas Taqman (una específica para cada alelo, marcadas con

fluoróforos VIC o FAM). Todas las reacciones se realizaron siguiendo las condiciones universales de amplificación y detección establecidas por el proveedor. Los ensayos de qPCR fueron realizados en un termociclador StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems) y con una lectura final. El protocolo de análisis se presenta en la figura 2.

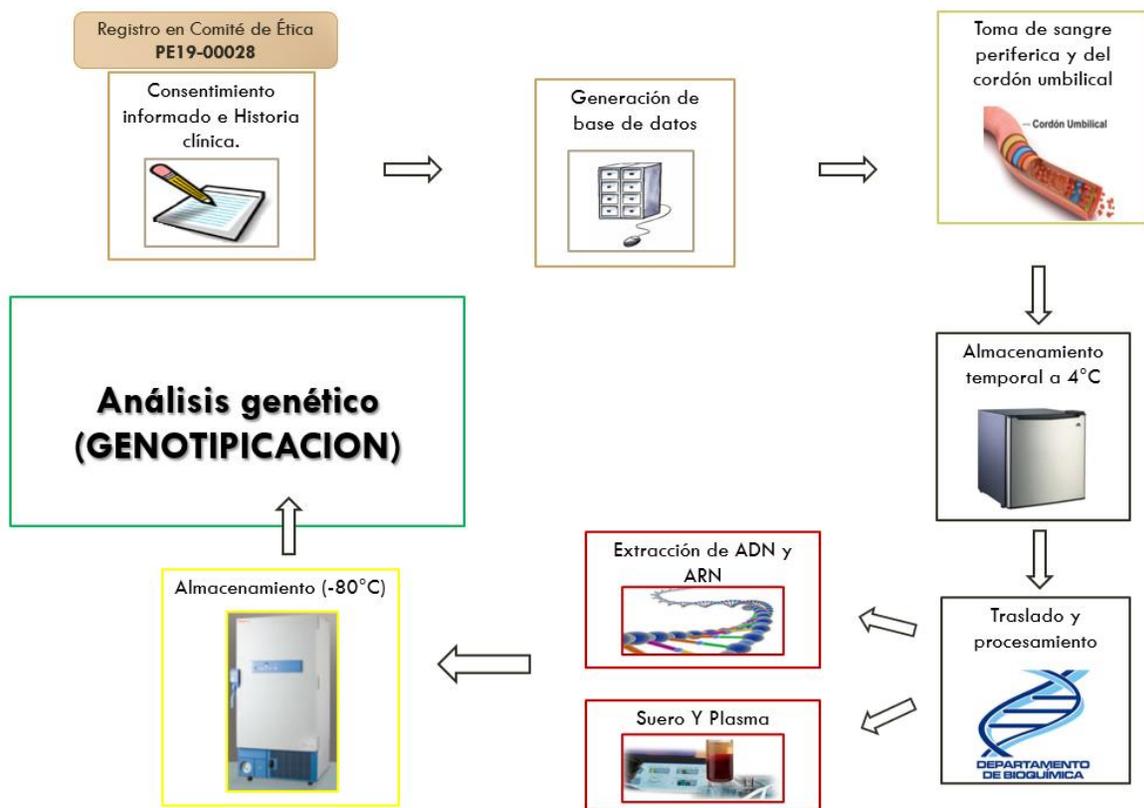


Figura 1. Diagrama de flujo del estudio.

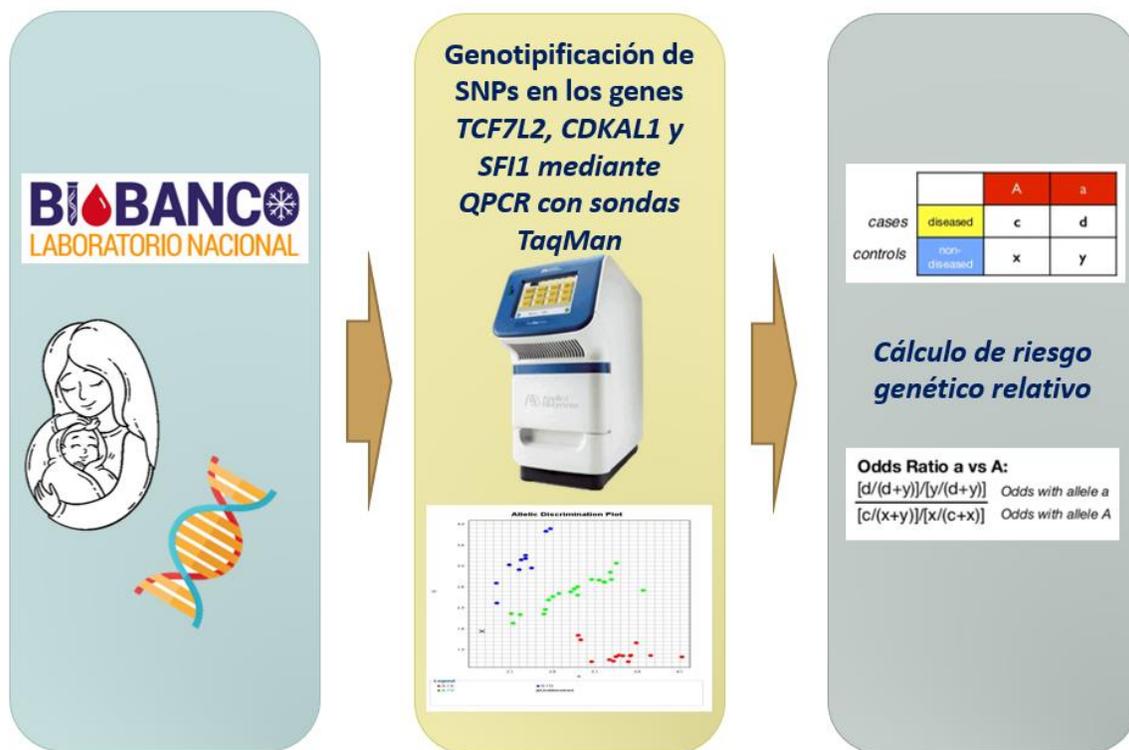


Figura 2. Diagrama de flujo del análisis genético.

CÁLCULO DE TAMAÑO DE MUESTRA

DIFERENCIA DE DOS PROPORCIONES				
$n = \frac{(p_1q_1 + p_2q_2)(K)}{(p_1 - p_2)^2}$				
valor P1	0.37	0.2331		n = 58.8582645
valor Q1	0.63		0.0484	
valor P2	0.15	0.1275		
valor Q2	0.85			
valor K	7.9			

Se realizó un cálculo de tamaño de muestra utilizando una fórmula para la estimación de una diferencia de dos proporciones, en este caso se utilizó la diferencia estimada de la presencia del polimorfismo del alelo T en el gen *TCF7L2* (*rs7903146*) en madres diabéticas en comparación con madres no diabéticas. En base a literatura previa, se estimó que la prevalencia de este sería de 37.2% y 15.2% en cada grupo, respectivamente. Los datos anteriores, junto a un poder del 80% (valor beta) y una confianza del 95% (valor alfa) se estimó que se necesitaron al menos 59 sujetos de estudio por grupo.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El cálculo de la muestra se realizó por el método de proporción de poblaciones finitas considerando la frecuencia del MAF (Alelo de Menor Frecuencia) que corresponde al alelo con efecto o de riesgo en el proyecto de los 100 genomas (1000G).

Variables maternas: Patologías previas y durante el embarazo, antecedente de diabetes pregestacional o gestacional.

Variables neonatales: Edad gestacional, peso, talla, perímetro cefálico y su clasificación de acuerdo con edad gestacional.

Para el análisis estadístico de los datos demográficos se utilizó estadística descriptiva, con frecuencias absolutas. El análisis de datos cualitativos y cuantitativos se utilizó el cálculo de medias o medianas, con desviación estándar o límites, por medio de la Prueba de T de *Student* para muestras independientes, *Chi* cuadrada, con un valor de *P* estadísticamente significativo inferior a 0.05 y correlación bivariado con la Prueba de Pearson.

Estudios de asociación genética

Los cálculos estadísticos, genéticos, de Chi cuadrada y aquellos de razón de momios (OR) de genotipos y alelos con los modelos genéticos dominante o recesivo fueron realizados con ayuda de los programas en línea: icalcu.com (<https://www.icalcu.com/stat/chisqtest.html>) y medcalc.org (<https://www.medcalc.org/calc/>), respectivamente.

Consideraciones éticas

Se protegió la identidad de los participantes, de acuerdo con lo estipulado en la Ley de Protección de Datos Personales de los particulares.

El presente estudio cumplió con las consideraciones éticas formuladas en la declaración de Helsinki y su modificación de Tokio en 1975, Venecia en 1983 y Hong Kong en 1989; para los trabajos de investigación biomédica en sujetos humanos, además, las consideraciones éticas que se enuncian se derivan del reglamento de la ley general de salud en materia de investigación en seres humanos (SSA 1987). En conformidad con el artículo 17, esta investigación se realizó sin riesgo para los participantes, toda vez que se trató de un estudio transversal en el que no se realizan intervenciones o modificaciones intencionadas a las variables de los individuos participantes.

FINANCIAMIENTO

Este trabajo se realizó con recursos propios del Departamento de Pediatría y del Laboratorio Nacional Biobanco del Departamento de Bioquímica y Medicina Molecular de la Facultad de Medicina de la UANL.

CAPITULO VII

RESULTADOS

Se incluyeron muestras de 349 pacientes (binomio madre-hijo) del Servicio de Obstetricia del Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, 104 casos relacionados con DMT2 y 245 controles. El rango de edad de las pacientes se encontraba entre 19 y 34 años.

Como se puede observar en la Tabla 1, entre los sujetos pertenecientes al grupo de estudio se encontró un mayor número en los nacimientos por la vía abdominal (76%) en comparación con los del grupo control (43.7%), así como los nacimientos fortuitos (22.9% vs. 5.7%) y la presencia de productos de peso grande al nacer para la edad gestacional (10.6% vs. 3.3%).

Tabla 1. Características basales de los binomios madre-hijo de casos.

Variable	Casos		Controles		P
	N	%	N	%	
Edad materna	n =101		n = 245		
Menos de 18 años	5	5.00%	25	10.20%	0.119
19 a 34 años	80	79.20%	196	80.00%	
>35 años	16	15.80%	24	9.80%	
Peso de la madre	n =101		n = 245		
Peso bajo	1	1.00%	9	3.70%	0.079
Peso normal	29	28.70%	96	39.20%	
Sobrepeso	34	33.70%	80	32.70%	
Obesidad	37	36.60%	60	24.50%	

Vía de nacimiento	n = 96		n = 230		
Parto	1	1.00%	117	50.90%	<0.001
Fortuito	22	22.90%	13	5.70%	
Cesárea	73	76.00%	100	43.50%	
Apgar al primer minuto	n =101		n = 245		
0 a 5 puntos	4	4.00%	3	1.20%	0.208
6 a 7 puntos	13	12.90%	26	10.60%	
8 a 10 puntos	84	83.20%	216	88.20%	
Apgar al quinto minuto	n =101		n = 245		
0 a 5 puntos	0	0.00%	3	1.20%	0.361
6 a 7 puntos	2	2.00%	2	0.80%	
8 a 10 puntos	99	98.00%	240	98.00%	
Peso al nacer	n =104		n = 245		
Peso bajo	8	7.70%	14	5.70%	0.017
Peso adecuado	85	81.70%	223	91.00%	
Peso grande	11	10.60%	8	3.30%	

El análisis de genotipos del polimorfismo rs7903146 en el gen *TCF7L2* (Tabla 2), mostró una menor frecuencia en forma heterocigota (CT), es decir, un alelo dominante C y un alelo recesivo T en los niños que tuvieron una vía de nacimiento por cesárea electiva ($P < 0.001$). Todos los productos de madres homocigotas TT, presentaron un puntaje de Apgar al primer y quinto minuto entre 8 y 10 puntos, respectivamente ($P < 0.001$). A pesar de que el sobrepeso de la madre fue más frecuente en cada alelo, se presentó mayormente en madres homocigotas (CC) Interestingly, el sobrepeso en las madres se asoció significativamente con el genotipo CC ($P < 0.001$). No se encontró asociación entre la edad gestacional del producto y el peso al nacer con el polimorfismo *TCF7L2* (Tabla 2). En la tabla 3 se resumen los hallazgos en los controles con las asociaciones anteriormente descritas, en donde no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre el genotipo y las características del binomio madre-hijo.

Tabla 2. Asociación de los genotipos rs7903146 (*TCF7L2*) con las características de los binomios madre-hijo casos.

Variable	TT	CT	CC	P
Edad materna	-			
Menos de 18 años	10	4	1	<0.001*
19 a 34 años	90	39	5	
>35 años	17	5	1	
Peso de la madre	-			
Peso normal	11	3	0	<0.001*
Sobrepeso	98	43	7	
Obesidad	8	2	0	
Vía de nacimiento	-			
Parto	43	23	3	<0.001*
Cesárea de urgencia	1	3	0	
Cesárea electiva	68	19	4	
Cesárea con trabajo de parto	5	3	0	
Apgar al primer minuto	-			
0 a 5 puntos	1	1	0	<0.001*
6 a 7 puntos	18	4	0	
8 a 10 puntos	98	43	7	
Apgar al quinto minuto	-			
0 a 5 puntos	2	0	0	<0.001*
6 a 7 puntos	1	1	0	
8 a 10 puntos	114	47	7	
Edad gestacional del producto	-			
Pretérmino	14	2	0	0.275
Término	94	41	5	
Postérmino	11	8	2	

Peso al nacer				
Peso bajo	12	4	0	0.437
Peso adecuado	102	40	7	
Peso grande	5	6	0	

T: alelo de riesgo; C: alelo alternativo

Tabla 3. Asociación de los genotipos rs7903146 (*TCF7L2*) con las características de los binomios madre-hijo controles.

Variable	TT	CT	CC	P
Edad materna	-			
Menos de 18 años	7	4	1	
19 a 34 años	47	25	2	0.733
>35 años	5	3	1	
Peso de la madre	-			
Peso normal	7	3	0	
Sobrepeso	49	28	4	0.897
Obesidad	3	1	0	
Vía de nacimiento	-			
Parto	30	18	3	
Cesárea de urgencia	1	2	0	0.522
Cesárea electiva	26	9	1	
Cesárea con trabajo de parto	2	3	0	
Apgar al primer minuto	-			
0 a 5 puntos	1	0	0	0.576
6 a 7 puntos	9	2	0	
8 a 10 puntos	49	30	4	
Apgar al quinto minuto	-			
0 a 5 puntos	0	0	0	0.727
6 a 7 puntos	1	0	0	
8 a 10 puntos	56	32	4	

T: alelo de riesgo; C: alelo alternativo

Por otra parte, el análisis de genotipos del polimorfismo rs9460550 en el gen *SFL1* (tabla 4), no demostró alguna asociación con las características de los binomios madre-hijo de casos y controles en las frecuencias que se encontraron para las variables de la edad materna y gestacional del producto al nacer, peso de la madre y del producto al nacer, vía de nacimiento y puntaje de APGAR al primero y quinto minuto. En la tabla 5 se resumen los hallazgos en los controles con las asociaciones anteriormente descritas, en donde no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre el genotipo y las características del binomio madre-hijo.

Tabla 4. Asociación de los genotipos rs9460550 (*SFL1*) con las características de los binomios madre-hijo casos.

Variable	GG	AG	AA	P
Edad materna	-			
Menos de 18 años	2	3	6	0.576
19 a 34 años	11	45	39	
>35 años	4	5	8	
Peso de la madre	-			
Peso normal	2	15	0	0.739
Sobrepeso	4	45	4	
Obesidad	5	44	4	
Vía de nacimiento	-			
Parto	7	22	24	0.862
Cesárea de urgencia	0	1	2	
Cesárea electiva	9	28	24	
Cesárea con trabajo de parto	1	2	3	

Apgar al primer minuto	-			
0 a 5 puntos	0	0	0	
6 a 7 puntos	4	8	46	0.298
8 a 10 puntos	13	5	48	
Apgar al quinto minuto	-			
0 a 5 puntos	0	1	0	
6 a 7 puntos	17	52	53	0.366
8 a 10 puntos	0	0	0	
Edad gestacional del producto	-			
Pretérmino	3	5	4	0.495
Término	15	42	41	
Postérmino	0	8	9	
Peso al nacer	-			
Peso bajo	3	7	3	
Peso adecuado	13	45	45	0.546
Peso grande	2	3	6	

G: alelo de riesgo; A: alelo alternativo

Tabla 5. Asociación de los genotipos rs9460550 (*SFL1*) con las características de los binomios madre-hijo controles.

Variable	GG	AG	AA	P
Edad materna	-			
Menos de 18 años	1	3	5	0.87
19 a 34 años	5	26	25	
>35 años	1	2	4	
Peso de la madre	-			
Peso normal	1	3	3	0.96
Sobrepeso	6	26	29	
Obesidad	0	2	2	
Vía de nacimiento	-			
Parto	5	16	17	0.706
Cesárea de urgencia	0	0	2	
Cesárea electiva	2	13	12	
Cesárea con trabajo de parto	0	2	3	
Apgar al primer minuto	-			
0 a 5 puntos	0	0	0	0.979
6 a 7 puntos	1	4	4	
8 a 10 puntos	6	27	30	
Apgar al quinto minuto	-			
0 a 5 puntos	0	0	0	0.51
6 a 7 puntos	0	1	0	
8 a 10 puntos	7	30	34	

G: alelo de riesgo; A: alelo alternativo

Para el caso de genotipos del polimorfismo rs2236033 en el gen *CDKAL1* (tabla 6), se encontró una asociación de pacientes con madres homocigotas AA cuyos hijos nacieron a postérmino ($P < 0.001$), sin embargo, no se encontró asociación alguna del polimorfismo con el resto de los binomios madre-hijo y las demás características evaluadas (edad materna y peso de la madre, vía de nacimiento, puntaje de Apgar al minuto primero y quinto, y peso al nacer del producto). En la tabla 6 se resumen los hallazgos en los controles con las asociaciones anteriormente descritas, en donde no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre el genotipo y las características del binomio madre-hijo.

Tabla 6. Asociación de los genotipos rs2236033 (*CDKAL1*) con las características de los binomios madre-hijo casos.

Variable	GG	AG	AA	P
Edad materna				
Menos de 18 años	4	3	4	0.635
19 a 34 años	48	31	17	
>35 años	9	6	2	
Peso de la madre				
Peso normal	4	5	2	0.245
Sobrepeso	50	35	20	
Obesidad	7	0	1	
Vía de nacimiento				
Parto	21	18	15	0.124
Cesárea de urgencia	0	2	1	
Cesárea electiva	37	18	6	
Cesárea con trabajo de parto	3	2	1	

Apgar al primer minuto	-			
0 a 5 puntos	0	0	0	0.255
6 a 7 puntos	8	7	1	
8 a 10 puntos	53	33	22	
Apgar al quinto minuto	-			
0 a 5 puntos	0	0	0	0.278
6 a 7 puntos	0	1	0	
8 a 10 puntos	61	39	23	
Edad gestacional del producto	-			
Pretérmino	10	2	0	0.001*
Término	48	37	14	
Postérmino	5	3	9	
Peso al nacer	-			
Peso bajo	6	5	2	0.373
Peso adecuado	51	34	19	
Peso grande	6	3	2	

G: alelo de riesgo; A: alelo alternativo.

Tabla 7. Asociación de los genotipos rs2236033 (*CDKAL1*) con las características de los binomios madre-hijo controles.

Variable	GG	AG	AA	P
Edad materna				
Menos de 18 años	3	2	4	0.349
19 a 34 años	24	20	13	
>35 años	4	3	0	
Peso de la madre	-			
Peso normal	1	4	2	0.095
Sobrepeso	26	21	15	
Obesidad	4	0	0	
Vía de nacimiento	-			
Parto	14	13	12	0.441
Cesárea de urgencia	0	1	1	
Cesárea electiva	15	9	3	
Cesárea con trabajo de parto	2	2	1	
Apgar al primer minuto	-			
0 a 5 puntos	0	0	0	0.33
6 a 7 puntos	3	5	1	
8 a 10 puntos	28	20	16	
Apgar al quinto minuto	-			
0 a 5 puntos	0	0	0	0.378
6 a 7 puntos	0	1	0	
8 a 10 puntos	31	24	17	

G: alelo de riesgo; A: alelo alternativo.

En el caso del análisis de genotipos rs2236033 en el gen *CDKAL1*, al igual que en el caso anterior, no se encontró una asociación con las variables analizadas como se puede observar en la Tabla 8.

Tabla 8. Determinación de la asociación genética al desarrollo de DMT2 materno por los polimorfismos en *TCF7L2*, *CDKAL1* y *SFL1*

Genotipo	Casos (Madres con DMT2)	Controles (Madres sin DMT2)	P (X ²)	OR (CI 95%)	P
rs7903146 TCF7L2 T>C					
TT	3	4			
CT	19	32		0.79 (0.15-3.92)	0.775
CC	60	59		1.35 (0.29-6.32)	0.698
Modelo Dominante			0.851	1.15 (0.25-5.32)	>0.999
Modelo Recesivo			0.118	1.66 (0.87-3.15)	0.148
rs9460550 CDKAL1 G>A					
GG	32	31			
AG	17	25		0.65 (0.29-1.45)	0.300
AA	6	17		0.34 (0.11-0.98)	0.046*
Modelo Dominante			0.078	0.53 (0.26-1.07)	0.108
Modelo Recesivo			0.071	0.40 (0.14-1.10)	0.278
rs2236033 SFL1 G>A					
GG	11	7			
AG	24	31		0.49 (0.16-1.46)	0.202
AA	20	34		0.37 (0.12-1.12)	0.079

Modelo Dominante	0.100	0.43 (0.15-1.19)	0.126
Modelo Recesivo	0.220	0.63 (0.31-1.30)	0.361

Para TCF7L2: T: alelo de riesgo; C: alelo alternativo

Para CDKAL1 y SFL1: G: alelo de riesgo; A: alelo alternativo

Estudios de asociación genética de los tres SNP

Como se observa en la Tabla 6, únicamente se encontró que las madres con un genotipo homocigoto AA presentan un factor protector para el desarrollo de DMT2 ($P = 0.046$; OR 0.34, IC 95% 0.11-0.98), aunque no fue posible asociarlo a su vez con un modelo de herencia dominante o recesivo. Cuando el análisis de asociación genética se llevó a cabo entre binomios madre-hijo (Tabla 6), no se encontró diferencia estadísticamente significativa de riesgo de presentar peso bajo al nacer ante la presencia de los diferentes genotipos de los polimorfismos en los genes *TCF7L2*, *CDKAL1* y *SFL1* (Tabla 9).

Tabla 9. Asociación de los polimorfismos en los genes *TCF7L2*, *CDKAL1* y *SFL1* con el Riesgo de desarrollo de peso bajo en el recién nacido

Genotipo	Casos (RN con peso bajo)	Controles (RN con peso adecuado)	P (X ²)	OR (CI 95%)	P
rs7903146 TCF7L2 T>C					
TT	1	3			
CT	3	46		0.19 (0.01-2.49)	0.209
CC	11	113		0.29 (0.02-3.05)	0.304
Dominante			0.230	0.26 (0.25-2.71)	0.301
Recesivo			0.772	1.19 (0.36-3.92)	>0.999
rs9460550 CDKAL1 G>A					
GG	6	44			
AG	4	42		0.69 (0.18-2.65)	0.598
AA	2	18		0.81 (0.15-4.42)	0.812
Dominante			0.610	0.73 (0.22-2.42)	0.760

Recesivo			0.956	0.95 (0.19-4.73)	>0.999
rs2236033	SFL1 G>A				
GG	0	4			
AG	3	25		1.23 (0.05-28.20)	0.895
AA	3	16		1.9 (0.82-44.16)	0.687
Dominante			0.447	1.40 (0.06-29.36)	>0.999
Recesivo			0.492	1.81 (0.32-10.04)	0.659

RN: recién nacido

Para TCF7L2: T: alelo de riesgo; C: alelo alternativo

Para CDKAL1 y SFL1: G: alelo de riesgo; A: alelo alternativo

De la misma manera, no se encontró un riesgo aumentado de presentar peso grande al nacer en el recién nacido y la presencia de los diferentes genotipos maternos de los polimorfismos en los genes *TCF7L2*, *CDKAL1* y *SFL1* (Tabla 10) y por lo tanto con ningún modelo genético.

Tabla 10. Asociación de los polimorfismos en los genes *TCF7L2*, *CDKAL1* y *SFL1* con el riesgo de desarrollo de peso grande en el recién nacido

Genotipo	Casos (RN con peso grande)	Controles (RN con peso adecuado)	P (X ²)	OR (CI 95%)	P
	Peso grande	Peso adecuado			
rs7903146 TCF7L2 T>C					
TT	0	3			
CT	3	46		0.52 (0.02-12.37)	0.691
CC	8	113		0.52 (0.02-11.00)	0.678
Modelo Dominante			0.648	0.50 (0.02-10.37)	>0.999
Modelo Recesivo			0.835	1.15 (0.29-4.54)	>0.999
rs9460550 CDKAL1 G>A					
GG	5	44			
AG	2	42		0.41 (0.07-2.27)	0.314
AA	1	18		0.48 (0.05-4.48)	0.527
Modelo Dominante			0.267	0.44 (0.09-1.93)	0.294
Modelo Recesivo			0.726	0.68 (0.07-5.89)	>0.999
rs2236033 SFL1 G>A					
GG	0	4			
AG	4	25		1.58 (0.07-34.86)	0.769

AA	4	16		2.45 (0.11-54.60)	0.571
Modelo Dominante			0.380	1.84 (0.09-37.52)	>0.999
Modelo Recesivo			0.437	1.81 (0.39-8.24)	0.457

RN: recién nacido

Para TCF7L2: T: alelo de riesgo; C: alelo alternativo

Para CDKAL1 y SFL1: G: alelo de riesgo; A: alelo alternativo

CAPITULO VIII

DISCUSION

En busca de la heredabilidad de la enfermedad común y compleja como lo es la DMT2, se estudiaron 3 SNPs seleccionados entre los 25 SNPs estadísticamente estadísticamente más significativos por su efecto a nivel gen de un estudio de asociación de todo el genoma (GWAS) que empleó 18,233 casos y 16296 controles; donde se incluyeron individuos de ascendencia mexicana y otros latinos [Flannick et al, 2019].

Aunque el papel del polimorfismo rs7903146 en el gen *TCF7L2* con la DMT2 permanece controversial en la literatura, en el presente estudio encontramos un menor número de pacientes heterocigotos (CT) que nacieron por cesárea electiva; este hallazgo podría ser esperado debido a que el gen *TCF7L2* se asocia con mayor peso al nacer y de DMT2, (la DMT2 es reconocida por ser un factor de riesgo de macrosomía en los productos de madres con la patología durante el periodo gestacional) en la literatura, aunque su rol permanece controversial^{17,18}.

Asimismo, observamos que todos los productos de madres homocigotas (CC) presentaron un puntaje de Apgar al primer y quinto minuto entre 8 y 10 puntos, y que, a pesar de que las madres con sobrepeso se presentaron con mayor frecuencia

en cada alelo del gen TCF7L2 (TT como homocigoto dominante, TC como heterocigoto, CC como homocigoto recesivo), se presentó en todos los productos de madres homocigota recesivas (CC) (sin pacientes con peso normal u obesidad en este alelo). Por último, no encontramos asociación entre la edad gestacional del producto y el peso al nacer con el polimorfismo en el gen TCF7L2. El bajo peso para la edad gestacional ha sido asociado a un riesgo aumentado para el desarrollo de DMT2 en la vida adulta, sin embargo, los mecanismos en los que participa para dicha presentación no están bien dilucidados y podrían estar asociados con la manera en que cada producto manifiesta su predisposición genética antes de nacer, para el desarrollo de enfermedades crónicas posteriormente en la adultez (programación intrauterina) o la expresión de dos fenotipos diferentes de un solo genotipo que conserva el producto.²⁰ Por ello, lo encontrado en nuestro trabajo.

En el caso de los desenlaces materno-fetales (vía de nacimiento, edad materna, puntaje de Apgar y edad gestacional al nacer del producto), en la revisión de la literatura no encontramos reportes en nuestro país o en el mundo en la asociación ~~expresión~~ de los polimorfismos CDKAL1 y SFL1. En la literatura no existen reportes acerca de la influencia de estos genes sobre algunos desenlaces materno-fetales, y a pesar de que existen reportes acerca de otros diferentes polimorfismos de CDKAL1, el trabajo de Wang et al³⁵ es el único reporte que encontramos relacionando polimorfismos de CDKAL1 con el peso del producto al nacer, siendo esta una línea de investigación que se puede tener en cuenta para evaluar el

impacto del SNP rs9460550 en el gen *CDKAL1*; y en el caso del polimorfismo rs2236033 en el gen *SFL2*, su influencia en el peso del recién nacido sigue siendo contradictoria en los reportes.³³, sin embargo, en nuestro trabajo no encontramos alguna asociación de este polimorfismo con el peso gestacional al nacer.

Se ha observado que la herencia materna de alelos de riesgo común en el gen *TCF7L2*, y otros, como *GCK*, se han asociado con un aumento del peso al nacer el producto, sin embargo, estos dos genes, ni otros alelos de riesgo de *PPAR gamma* y *KCNJ11*, han sido asociados directamente al peso neonatal por medio del genotipo fetal.²⁶⁻²⁸ En nuestro trabajo, el gen *TCF7L2* no se asoció con el peso del producto al nacer.

Freathy y cols.²⁷ encontraron evidencia que el alelo *CDKAL1*, y el de *HHEX-IDE*, se asocian con riesgo de peso bajo al nacer, consistente con la hipótesis de la insulina fetal la cual afirma que la resistencia a la insulina determinada genéticamente da como resultado un crecimiento deficiente en el feto mediado por insulina, así como resistencia a la insulina en la vida adulta. El bajo peso al nacer, las medidas de resistencia a la insulina en la vida y, en última instancia, la intolerancia a la glucosa, la diabetes y la hipertensión podrían ser todos fenotipos del mismo genotipo resistente a la insulina. A pesar de lo anteriormente mencionado, en nuestro estudio no encontramos asociación de los alelos de los polimorfismos con el peso del producto al nacer en nuestros pacientes.

Lin PC y cols.²⁹ en una revisión sistemática y metaanálisis han encontrado que el alelo T del polimorfismo rs7903146 en el gen *TCF7L2* se asocia con un incremento de la susceptibilidad de la diabetes gestacional en población blanca, hispana o latina y asiática. En nuestro estudio, no encontramos una relación entre casos y controles con los alelos de este polimorfismo. Sin embargo, se reconoce la gran trascendencia de este gen sobre muchos otros, por tener uno de los efectos más importantes sobre el riesgo de presentar DMT2.³⁰ De la misma manera, Michalak-Wojnowska et al (2016)³¹ tampoco encontraron una relación entre los polimorfismos rs7903146 ni rs7901695 del gen *TCF7L2* en el riesgo de diabetes gestacional. Cabe resaltar que en el grupo de casos tuvimos mezclados la DMT2 y DMG, lo que pudiera haber disminuido la replicación de la asociación mencionada. Entonces, la estratificación posterior en dos grupos pudiera probablemente rendir una mejor asociación o descartarla definitivamente. También, los SNP analizados fueron estudiados en grupos que incluían ambos géneros, lo que implicó un sesgo al estudiar solo mujeres embarazadas.

En apoyo a nuestros hallazgos, Cauchi S. et al. demostraron que no existe riesgo incrementado de peso bajo al nacer ni modulación del peso o en la homeostasis de la glucosa en adultos jóvenes caucásicos franceses nacidos con bajo peso al nacer.³² Igualmente, Por ello, a pesar de que es posible que el polimorfismo rs7903146 en el gen *TCF7L2* se relaciona con un incremento del riesgo de diabetes, su impacto sobre el peso del producto aún no podría considerarse ser absoluto. En el presente trabajo, no encontramos un riesgo aumentado de presentar peso bajo o

grande al nacer en el recién nacido ante la presencia de los diferentes alelos de los polimorfismos de TCF7L2, CDKAL1 y SFL1 en su madre. Esto pudiera ser relacionado con que existen diferencias en las poblaciones que se han estudiado y pudiera haber un impacto epigenético distinto de los polimorfismos en población mexicana, que se requiere un estudio poblacional mayor para evaluar el verdadero impacto sobre desenlaces materno-fetales o que es posible que el impacto del polimorfismo sobre el producto tuviese influencia a largo plazo en el desarrollo de comorbilidad metabólica o cardiovascular, debido a interacciones epigenéticas y ambientales.

Existen reportes por parte de Bytautiene et al. que han determinado un efecto de la obesidad antes del embarazo y la preeclampsia asociada con SNPs de SFI1 en la función cardiovascular de productos en modelos animales, así como una asociación del incremento de la presión arterial y amplificación de la reactividad vascular en productos de madres que se alimentaron de dietas altas en grasa con o sin la sobre-expresión de SFI1 durante el embarazo.³³ Al menos en nuestro estudio no encontramos asociación entre el gen y desenlaces materno fetales.

Andersson EA et al. (2010)³⁴ observaron en su metaanálisis la asociación existente entre el peso bajo al nacer y DMT2 materna con alelos de riesgo de genes HHEX-IDE y CDKAL1. A un nivel genético, *CDKAL1* se ha asociado con el riesgo al desarrollo de diabetes gestacional y los SNPs del gen *CDKAL1* asociados con una reducción del riesgo (alelos protectores) de diabetes gestacional son rs4712527,

rs7748720, rs9350276, y rs6938256, mientras que otros, como rs9295478, rs6935599, y rs7747752, elevan el riesgo.³⁵ De hecho, en nuestro trabajo encontramos que las madres con alelo homocigoto recesivo (AA) del polimorfismo CDKAL1 rs9460550 presentan un factor protector para el desarrollo de DMT2 en el recién nacido ($P = 0.046$; OR 0.34, IC 95% 0.11-0.98). De manera un poco decepcionante, el resto de los polimorfismos evaluados en nuestro estudio no fueron asociados en términos de riesgo con el desarrollo de la patología en la madre, ni con influencia en el desarrollo de comorbilidad en el producto, aunque esto pueda requerir un seguimiento a largo plazo.

En resumen, estos hallazgos han demostrado la amplia complejidad de la fisiopatología de la enfermedad metabólica y la investigación centrada en hispanos.¹ Si bien, encontramos que el alelo recesivo AA del SNP rs9460550 del gen CDKAL1 parece sugerir ser un factor protector para el desarrollo de DMT2, se necesita más evidencia para demostrar el verdadero impacto de este polimorfismo sobre la presentación clínica de la DMT2 y la relevancia de ser utilizado como un marcador pronóstico. Para ello, se requiere un seguimiento de las pacientes seleccionadas para determinar el desarrollo de obesidad y/o DMT2 durante un periodo largo de tiempo y relacionar el impacto que tienen los polimorfismos identificados sobre la cohorte de pacientes a largo plazo.

CAPITULO IX

CONCLUSION

Entre tres SNP pan poblacionalmente asociados al riesgo de DMT2, solo alelo de riesgo rs9460550 del SNP CDKAL1 fue encontrado estadísticamente significativo, pero como un factor protector para el desarrollo de DMT2. Por otro lado, el resto de los polimorfismos [TCF7L2 (rs7903146) y SFL1 (rs2236033)] evaluados en nuestro estudio no se relacionaron en términos de riesgo con el desarrollo de la patología.

No encontramos un riesgo aumentado de presentar peso bajo o grande al nacer en el recién nacido ante la presencia de los diferentes alelos de los polimorfismos de TCF7L2 (rs7903146), CDKAL1 (rs9460550) y SFL1 (rs2236033) en su madre.

CAPITULO X

BIBLIOGRAFIA

1. Steinthorsdottir V, Thorleifsson G, Sulem P, Helgason H, Grarup N, Sigurdsson A, et al. Identification of low-frequency and rare sequence variants associated with elevated or reduced risk of type 2 diabetes. *Nature Genetics* 2014;46(3):294-300
2. Flannick J, et al. Exome sequencing of 20791 cases of type 2 diabetes and 24440 controls. *Nature* 2018;570.
3. Mahajan A, et al. Refining the accuracy of validated target identification through coding variant fine-mapping In type 2 diabetes. *Nat Genet.* (accepted)
4. Mahajan A, Taliun D, Thurner M, Robertson NR, Torres JM, Rayner NW, et al. Fine-mapping of an expanded set of type 2 diabetes loci to single-variant resolution using high-density imputation and islet-specific epigenome maps. *Nat Genet.* 2018 Nov; 50(11): 1505–1513.
5. Sergio Araujo-Betanzos, Elsa Saldaña-Rivera, José Juan Ceballos-Macias, Javier Ángeles-Martinez, Fabiola Esther G Enriquez-Espinosa, Lucila Maritza Lozano-Trenado, Esaú Floriano-Sánchez. Asociación de los polimorfismos rs1805192(PPARG), rs5219 (KCNJ11) y rs7901695 (TCF7L2) con el fenotipo metabólico de pacientes con DMT2 en una muestra de la población mexicana. *Rev Sanid Milit Mex* 2016;70:122-131.
6. DiMeglio, L. A., Evans-Molina, C., & Oram, R. A. (2018). Type 1 diabetes. *Lancet*

(London, England), 391(10138), 2449–2462. doi:10.1016/S0140-6736(18)31320-5.

7. Rojas-Martínez R, Basto-Abreu A, Aguilar-Salinas CA, Zárata-Rojas E, Villalpando S, Barrientos-Gutiérrez T. Prevalence of previously diagnosed diabetes mellitus in Mexico. *Salud Publica Mex.* 2018 May-Jun;60(3):224-232. doi: 10.21149/8566.

8. Brunetti, A., Chiefari, E., & Foti, D. Recent advances in the molecular genetics of type 2 diabetes mellitus. *World journal of diabetes* 2014; 5(2), 128–140. doi:10.4239/wjd.v5.i2.128.

9. Gallardo-Blanco, H. L., Villarreal-Perez, J. Z., Cerda-Flores, R. M., Figueroa, A., Sanchez-Dominguez, C. N., Gutierrez-Valverde, J. M., ... Martinez-Garza, L. E. Genetic variants in KCNJ11, TCF7L2 and HNF4A are associated with type 2 diabetes, BMI and dyslipidemia in families of Northeastern Mexico: A pilot study. *Experimental and therapeutic medicine* 2017; 13(2): 523–529. doi:10.3892/etm.2016.3990.

10. Avilés-Santa, M. L., Colón-Ramos, U., Lindberg, N. M., Mattei, J., Pasquel, F. J., & Pérez, C. M. From Sea to Shining Sea and the Great Plains to Patagonia: A Review on Current Knowledge of Diabetes Mellitus in Hispanics/Latinos in the US and Latin America. *Frontiers in endocrinology* 2017; 8:298. doi:10.3389/fendo.2017.00298.

11. García-Chapa, E. G., Leal-Ugarte, E., Peralta-Leal, V., Durán-González, J., & Meza-Espinoza, J. P. Genetic Epidemiology of Type 2 Diabetes in Mexican

Mestizos. *BioMed research international* 2017: 3937893.
doi:10.1155/2017/3937893.

12. Palmer, N. D., Ng, M. C., Hicks, P. J., Mudgal, P., Langefeld, C. D., Freedman, B. I., & Bowden, D. W. Evaluation of candidate nephropathy susceptibility genes in a genome-wide association study of African American diabetic kidney disease. *PLoS one* 2014; 9(2): e88273. doi:10.1371/journal.pone.0088273.

13. McDonough, CW, Palmer, ND, Hicks, PJ, Roh, BH, An, SS, Cooke, JN, ... Bowden, DW. Un estudio de asociación de todo el genoma para genes de nefropatía diabética en afroamericanos. *Riñón internacional* 2011; 79 (5): 563–572. doi: 10.1038 / ki.2010.467.

14. Musambil, M., & Siddiqui, K. Genetics and genomics studies in type 2 diabetes: A brief review of the current scenario in the Arab region. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2019 doi:10.1016/j.dsx.2019.03.017.

15. Phani, N. M., Adhikari, P., Nagri, S. K., D'Souza, S. C., Satyamoorthy, K., & Rai, P. S. Replication and Relevance of Multiple Susceptibility Loci Discovered from Genome Wide Association Studies for Type 2 Diabetes in an Indian Population. *PLoS one* 2016; 11(6): e0157364. doi:10.1371/journal.pone.0157364.

16. Franzago M, Fraticelli F, Stuppia L, Vitacolonna E. Nutrigenetics, epigenetics and gestational diabetes: consequences in mother and child. *Epigenetics* 2019; 14(3):215-235.

17. Florez JC. The new type 2 diabetes gene TCF7L2. *Curr Opin Clin Nutr Metab*

Care 2007; 10:391–396

18. Cauchi S, El Achhab Y, Choquet H et al . TCF7L2 is reproducibly associated with type 2 diabetes in various ethnic groups: a global meta-analysis. *J Mol Med* 2007;85:777–782

19. Dabelea D, Bell RA, D'Agostino RB Jr et al. Incidence of diabetes in youth in the United States. *JAMA* 2007; 297:2716–2724

20. Freathy RM, Bennet AJ, Ring SM, Shields B, Groves CJ, Timpson NJ, et al. Type 2 Diabetes Risk Alleles Are Associated With Reduced Size at Birth. *Diabetes* 2019; 58:428-1433.

21. Davey Smith G, Sterne JA, Tynelius P, et al. Birth characteristics of offspring and parental diabetes: evidence for the fetal insulin hypothesis. *J Epidemiol Community Health* 2004; 58: 126 –128

22. Hypponen E, Davey Smith G, Power C. Parental diabetes and birth weight of offspring: intergenerational cohort study. *BMJ*, 2003; 326:19 –20

23. Wannamethee SG, Lawlor DA, Whincup PH, et al. Birthweight of offspring and paternal insulin resistance and paternal diabetes in late adulthood: cross sectional survey. *Diabetologia* 2004; 47:12–18

24. Lindsay RS, Dabelea D, Roumain J, et al. Type 2 diabetes and low birth weight: the role of paternal inheritance in the association of low birth weight and diabetes. *Diabetes* 2000;49:445– 449

25. Hattersley AT, Beards F, Ballantyne E, et al. Mutations in the glucokinase gene of the fetus result in reduced birth weight. *Nat Genet* 1998; 19:268 –270
26. Weedon MN, Clark VJ, Qian Y, et al. (2006). A common haplotype of the glucokinase gene alters fasting glucose and birth weight: association in six studies and population-genetics analyses. *Am J Hum Genet* 2006; 79:991– 1001
27. Freathy RM, Weedon MN, Bennett A, et al. Type 2 diabetes TCF7L2 risk genotypes alter birth weight: a study of 24,053 individuals. *Am J Hum Genet* 2006; 80:1150 –1161
28. Bennett AJ, Sovio U, Ruukonen A, et al. No evidence that established type 2 diabetes susceptibility variants in the PPARG and KCNJ11 genes have pleiotropic effects on early growth. *Diabetologia* 2008; 51:82– 85
29. Lin PC, Lin WT, Yeh YH, Wung SF. Transcription Factor 7-Like 2 (TCF7L2) rs7903146 Polymorphism as a Risk Factor for Gestational Diabetes Mellitus: A Meta-Analysis. *PLoS One* 2016; 11(4): 30153044.
30. Weedon MN. The importance of TCF7L2. *Diabetic Medicine* 24 (10): 1062-1066.
31. Michalak-Wojnowska M, Gorczyca-Siudak D, Gorczyca T, Mosiewicz B, Kwasniewska A, Filip A, et al. Association between rs7901695 and rs7903146 polymorphisms of the TCF7L2 gene and gestational diabetes in the population of Southern Poland. *Ginekologia Polska* 2016;87(11):745-750.
32. Cauchi S, Meyre D, Choquet H, Deghmoun S, Durand E, Gaget S, et al. TCF7L2

rs7903146 variant does not associate with smallness for gestational age in the French population. *BMC Medical Genetics* 2007; 8(37)

33. Bytautiene E. Prenatal Exposure To Maternal Obesity And Sflt-1 Overexpression And Cardiovascular Function In The Adult Offspring. Disertación presentada en la Universidad de Texas 2010.

34. Andersson EA, Pilgaard K, Pisinger C, Harder MN, Grarup N, Faerch K, et al. Type 2 diabetes risk alleles near ADCY5, CDKAL1 and HHEX-IDE are associated with reduced birthweight. *Diabetologia* 2010; 52:1908-1916.

35. Wang K, Chen Q, Feng Y, Yang H, Wu W, Zhang P, et al. Single Nucleotide Polymorphisms in CDKAL1 Gene Are Associated with Risk of Gestational Diabetes Mellitus in Chinese Population. *Journal of Diabetes Research* 2019: 3618103.

CAPITULO XI

ANEXOS

ANEXO 1. Encuesta.



Generación de biobanco y base de datos de recién nacidos atendidos en el Hospital Universitario “Dr. Jose E. Gonzalez” para la búsqueda de cambios epigenéticos asociados a desarrollo de enfermedades futuras.

Número de expediente del neonato: _____ Fecha: _____

I. INFORMACIÓN MATERNA

1. Nombre: _____
2. Registro: _____
3. Edad: 1(<18 años). 2(19-34 años). 3(>35 años)
4. Dirección: _____
5. Municipio: 1. Monterrey 2. Area metropolitana(Guadalupe, San Nicolás, Santa Catarina, San Pedro, Apodaca, Escobedo). 3.Zona rural. 4.Otro estado
6. Teléfono: _____
7. Ocupación: 1. Ama de casa. 2. Obrera. 3. Empleada. 4.Otro: _____
8. Ocupación pareja: 1. Desempleado. 2. Obrero. 3.Empleado. 4.Negocio propio
9. Estado civil: 1. Unión Libre 2. Casada. 3. Soltera. 4.Viuda
10. Escolaridad: 0. Ninguna. 1.Primaria. 2.Secundaria. 3. Preparatoria/Técnica 4.Licenciatura
11. Originaria: 1.Nuevo Leon. 2.Tamaulipas. 3.Coahuila. 4.SLP. 5. Otro: _____
12. Residente: 1.Monterrey. 2.Área metropolitana. 3.Zona citrícola. 4.Otro estado: _____
13. Antecedente no patológico: 1.Tabaquismo activo. 2. Tabaquismo pasivo. 3.Alcoholismo activo. 4.Alcoholismo pasivo. 5.Drogas
14. En caso de respuesta previa afirmativa contestar:
1.Primer trimestre. 2.Segundo trimestre. 3.Tercer trimestre.
4.Todo el embarazo
15. Enfermedades previas al embarazo: 1.DM1. 2.DM2.
3.Obesidad/Sobrepeso. 4.Desnutrición. 5.Dislipidemia.
6.HTA. 7. Alergias. 8.Autoinmune
Describir: _____
16. Enfermedades durante el embarazo: 1.Diabetes gestacional. 2.Hipertensión.
3.Preclampsia. 4.Eclampsia. 5.Infeccion
17. Medicamentos: _____

18. En caso de contestar positivo a la pregunta anterior, contestar durante que periodo se ingirió el medicamento:
 1. Primer trimestre. 2.Segundo trimestre. 3.Tercer trimestre.
 4.Todo el embarazo
19. FUM: _____
20. Control prenatal: 0. Ninguna. 1. 1-4 consultas. 2. 5-9 consultas.
 3. >10 consultas
21. Peso antes del embarazo: _____Kg
22. Peso al termino del embarazo: _____ Kg
23. Glicemia durante embarazo: 1er trimestre: _____mg/dl. 2do trimestre: _____
 mg/dl. 3er trimestre: _____mg/dl
24. Talla: _____m
25. Gesta: _____
26. Peso de otros hijos: _____ g. _____g. _____ g.
27. Patrón de ganancia de peso del producto durante el embarazo:
 1er trimestre: _____g 2do trimestre: _____g. 3er trimestre: _____g

II. ORIGEN DE FAMILIARES

28. Padre: 1. Nuevo León. 2.Tamaulipas. 3.Coahuila. 4.SLP.
 5.Otro: _____
29. Abuelo paterno: 1.Nuevo Leon. 2.Tamaulipas. 3.Coahuila. 4.SLP.
 5.Otro: _____
30. Abuela Paterna: 1.Nuevo Leon. 2.Tamaulipas. 3.Coahuila. 4.SLP.
 5.Otro: _____
31. Abuelo Materno: 1.Nuevo Leon. 2.Tamaulipas. 3.Coahuila. 4.SLP.
 5.Otro: _____
32. Abuela Materna: 1.Nuevo Leon. 2.Tamaulipas. 3.Coahuila. 4.SLP.
 5.Otro: _____

III. INFORMACIÓN DEL NEONATO

1. Producto: 1.Único. 3.Múltiple monocorionico-monocorionico.
 4.Multiple monocorionico-biamniotico. 5. Multiple bicorionico-biamniotico
2. Género: 1.Masculino. 2.Femenino
3. Vía Nacimiento: 0.Fortuito. 1.Parto. 2.Cesárea de Urgencia.
 3.Cesárea electiva 4.Cesárea con trabajo de parto
4. Sufrimiento fetal: 1.No. 2.Si
5. Capurro: _____SDG
6. Apgar primer minuto: 1. 0-5. 2. 6-7. 3. 8-10
7. Apgar cinco minutos: 1. 0-5. 2. 6-7. 3. 8-10
8. Peso: _____g
9. Clasificación peso: 1.Bajo para edad gestacional.
 2.Adecuado para edad gestacional 3.Grande para edad gestacional
10. Perímetro cefálico: _____cm
11. Talla: _____cm

12. Patología asociada: 0.Ninguna. 1.Prematurez. 2.Postermino
13. Rutina del recién nacido: 1.RN Normal. 2.RN Hijo de madre diabética con buen control. 3. RN hijo de madre diabética con mal control.
4.RN Macrosomico. 5.RN hijo de madre Rh(-).
6. RN con líquido amniótico teñido de meconio sin asfixia (APGAR 7-10 a los 5 minutos)
14. Malformación: 1.Si. 2.No
Describir:_____

ANEXO 2. Consentimiento informado.



Formato de Consentimiento Informado escrito,
 Facultad de Medicina y Hospital Universitario
 "Dr. José Eleuterio González"
 Universidad Autónoma de Nuevo León



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Estudio	Generación de biobanco y base de datos de recién nacidos atendidos en el Hospital Universitario "Dr. José E. González" para la búsqueda de cambios epigenéticos asociados al desarrollo de enfermedades futuras.
Nombre del Investigador Principal	Dra. Med. Consuelo Treviño Garza
Institución	Facultad de Medicina y Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González. Universidad Autónoma de Nuevo León"
Servicio/Departamento	Pediatría
Teléfono de Contacto	83485421
Persona de Contacto	Dr. David Eugenio Román Cañamar

Esta forma de consentimiento informado puede contener palabras que usted no entienda. Por favor pídale a su médico del estudio o al personal del estudio que le explique cualquier palabra o información que no le quede clara. Su participación en este estudio es voluntaria. Es importante que lea y entienda la siguiente explicación de los procedimientos propuestos. Este documento describe el propósito, los procedimientos, beneficios, riesgos conocidos, molestias, precauciones del estudio incluyendo la duración y la naturaleza de su participación. También describe las terapias o tratamientos alternativos conocidas que pueden estar disponibles y su derecho a retirarse del estudio en cualquier momento. No se pueden dar garantías respecto a los resultados del estudio de investigación. Para ingresar al estudio, Usted como sujeto debe de firmar y fechar este documento con la presencia de dos testigos y finalmente recibirá una copia del mismo.

1.- PROPOSITO DEL ESTUDIO

El propósito del estudio al cual se le está invitando a participar es crear un biobanco con las muestras de sangre obtenidas a partir del codón umbilical, además de la información clínica relevante obtenida de ustedes (padre y madre) y de su recién nacido en el Hospital Universitario "Dr. José E. González", que permitirá estudiar los cambios genéticos relacionados con la exposición prenatal a determinados ambientes con el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2, síndrome alcohol fetal, obesidad, síndrome metabólico, asma, enfermedades autoinmune, leucemia mieloblastica aguda en la vida adulta.

Consentimiento informado. Version 2.0

COMITÉ DE ÉTICA
 COMITÉ DE INVESTIGACIÓN



2.- CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION

El médico del estudio verificará que Usted cumpla con los siguientes requisitos antes de considerar su ingreso al estudio de investigación.

Criterios de inclusión: Se incluirá a todos los recién nacidos en el Hospital Universitario "Dr. José E. González", obtenidos por parto natural o cesárea, de sexo masculino o femenino, de todas las edades de gestación (termino, prematuro o postmaturo) que se encuentren aparentemente sanos.

Criterios de exclusión: Se excluirá del estudio a todos los recién nacidos en otra institución que no sea el Hospital Universitario "Dr. José E. González", que presenten deformidades congénitas graves, o que presente evento médico que comprometa la vida.

3.- MEDICAMENTO/DISPOSITIVO DE ESTUDIO

No aplica

4.- PROCEDIMIENTOS

Toda la información, así como las muestras obtenidas serán utilizadas para la línea de investigación que busca estudiar los cambios en el material genético (responsable de la herencia) asociados al desarrollo de enfermedades futuras como la diabetes mellitus tipo 2, asma, leucemia mieloblastica aguda, síndrome alcohol fetal, obesidad, síndrome metabólico. Una vez obtenido el consentimiento informado, se realizarán unas preguntas para realizar la historia clínica. Una vez obtenido el consentimiento informado se tomara muestra de 10ml de sangre venosa periférica de la madre a partir de la canalización realizada propia de su internamiento e inmediatamente después del nacimiento del bebe y ya pinzado y cortado el cordón umbilical se procederá a obtener de la vena del cordón umbilical el cual se encuentra unido a la placenta con una jeringa para obtener 10 ml de sangre. Las muestras de sangre de la mama como la del bebe se almacenarán 5ml en un tubo de tapa morada que contiene anticoagulante y 5ml en un tubo de tapa roja sin anticoagulante.

Posteriormente la información de la historia clínica será vaciada en una base de datos con un código interno para mantener la confidencialidad de las muestras e información de los sujetos en estudio. Las muestras de sangre serán transportadas al laboratorio "Unidad de Biotecnología Médica" (UBM) que se encuentra a cargo de la Dra. C. María de Lourdes Garza Rodríguez, aquí las muestras se procesarán para separar el suero y plasma así como también extraer el material genético (ADN y ARN) y almacenarlo en congeladores para así realizar su análisis genético. Las muestras recolectadas serán utilizadas solo para la línea de investigación de este protocolo, el cual será realizado en diferentes

En las diferentes fases se realizará el estudio de cada una de las enfermedades antes mencionadas (diabetes mellitus 2, síndrome alcohol fetal, obesidad,

Consentimiento informado. Version 2.0





síndrome metabólico, asma, enfermedades autoinmune, leucemia mieloblastica aguda).

Este protocolo iniciará con la primera fase que corresponde al estudio de los cambios genéticos relacionados a determinadas exposiciones prenatales con el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2.

Como se mencionó anteriormente este protocolo constará de diferentes fases de estudio. Cada una de estas fases podrá hacer uso de las muestras de ADN, ARN, plasma y suero, así como de la información clínica recolectada en este momento y la cual se encuentra almacenada en la base de datos. En caso de llevarse a cabo el estudio de otra fase de este protocolo se deberá hacer referencia al protocolo madre inicial y se deberá contar con la autorización del investigador principal Dra. Med. Consuelo Treviño Garza, para garantizar el correcto fin aquí descrito de las muestras e información almacenada y ningún otro investigador podrá beneficiarse de las muestras e información propias de este estudio.

En caso de que usted desee retirar el consentimiento del estudio, podrá hacerlo en cualquier momento que así lo quiera sin tener repercusión alguna y en dicho caso las muestras serán destruidas en el incinerador y la información de la historia clínica será rotas y desechadas a la basura.

5.- TERAPIAS ALTERNATIVOS

No aplica

6.- RIESGOS Y MOLESTIAS

La participación del bebe no presenta riesgos ni molestias, ya que las muestras de sangre serán obtenidas a partir de la vena umbilical del cordón umbilical ya pinzado y cortado del recién nacido.

7.- POSIBLES BENEFICIOS

Usted puede verse beneficiado por su participación en este estudio, aunque no hay garantías de que tenga un beneficio directo por participar en este estudio.

Al participar en este estudio el sujeto en estudio así como los padres del mismo no recibirán remuneración o apoyo económico alguno por su participación en el estudio y/o resguardo de las muestras. Sin embargo si podrá verse beneficiado recibiendo información, producto de la investigación misma sobre el posible riesgo que pueda presentar el recién nacido de desarrollar alguna enfermedad de las antes mencionadas, por presentar alguna de las modificaciones genéticas estudiadas.

8.- NUEVOS HALLAZGOS

Consentimiento informado. Version 2.0

SUB-DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN
COMITÉ DE ÉTICA
COMITÉ DE ESTADÍSTICA



El médico del estudio le informará a usted o a su representante legal acerca de cualquier hallazgo significativo que se desarrolle durante el transcurso de este estudio que pudiera afectar el deseo de seguir participando en este estudio. Usted tiene el derecho de conocerla y tomar la decisión si continúa o no en el estudio.

9.- RETIRO Y TERMINACIÓN

Su participación es estrictamente voluntaria. Si desea suspender su participación, puede hacerlo con libertad en cualquier momento. Si elige no participar o retirarse del estudio, su atención médica presente y/o futura no se verá afectada y no incurrirá en sanciones ni perderá los beneficios a los que usted tendría derecho de algún otro modo.

El médico podrá suspender su participación en el estudio, sin su consentimiento, por cualquiera de las siguientes circunstancias:

- 1.- Que el patrocinador del estudio cancele el estudio.
- 2.- Que el médico considere que es lo mejor para Usted.
- 3.- Que necesita algún procedimiento o medicamento que interfiere con esta investigación.
- 4.- Su participación se suspende para cumplir con los requisitos del estudio.
- 5.- Que no ha seguido las indicaciones del médico lo que pudiera traer como consecuencias problemas en Usted.

Se Usted decide retirarse de este estudio, deberá realizar lo siguiente:

- 1.- Notificar a su médico tratante del estudio
- 2.- Deberá de regresar todo el material que su médico le solicite.

Si su participación en el estudio se da por terminada, cualquier que sea la razón, el médico por su seguridad, continuará con seguimientos clínicos, además de podrá utilizar la información médica que se recabó antes de su terminación.

10.- COSTOS, REEMBOLSOS Y PAGOS

Los medicamentos, procedimientos y pruebas relacionadas con el estudio no tendrán ningún costo.

Sin embargo puede incurrir en gastos propios a la atención que normalmente recibiría.

El paciente y sus familiares o tutores legales no recibirán algún tipo de pago o reembolso por su participación en este estudio, ni por el resguardo de las muestras ni información clínica.

11.- CONFIDENCIALIDAD/EXPEDIENTE CLINICO

Si acepta participar en la investigación, el médico del estudio recabará y registrará información personal confidencial acerca de su salud y de su tratamiento. Esta información no contendrá su nombre completo ni su domicilio,

Consentimiento informado. Version 2.0

SUBDIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN

COMITÉ DE ÉTICA
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN



UANL

Formato de Consentimiento Informado escrito.
Facultad de Medicina y Hospital Universitario
"Dr. José Eleuterio González"
Universidad Autónoma de Nuevo León



pero podrá contener otra información acerca de Usted, tal como iniciales y su fecha de nacimiento. Toda esta información tiene como finalidad garantizar la integridad científica de la investigación. Su nombre no será conocido fuera de la Institución al menos que lo requiera nuestra Ley.

Usted tiene el derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo a la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La solicitud será procesada de acuerdo a las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto con la finalidad de proteger la integridad del Estudio.

La Facultad de Medicina y Hospital Universitario así como el Investigador serán los responsables de salvaguardar la información de acuerdo con las regulaciones locales. Usted tiene el derecho de solicitar por escrito al medico un resumen de su expediente clínico.

La información personal acerca de su salud y de su tratamiento del estudio podrá procesarse o transferirse a terceros en otros países para fines de investigación y de reportes de seguridad, incluyendo Agencias reguladoras (Secretaría de Salud SSA) locales así como a comité de Ética en Investigación y de Investigación de nuestra Institución.

Para los propósitos de este estudio, autoridades sanitarias como Secretaría de Salud y Comité de Ética en Investigación y de Investigación de nuestra Institución podrán inspeccionar el expediente clínico, incluso los que fueron recabados antes de su inicio de participación, los cuales pueden incluir su nombre, domicilio y otra información personal. En caso necesario estas auditorías o inspecciones podrán hacer fotocopias de parto o de todo su expediente clínico. La razón de esto es asegurar que el estudio se está llevando a cabo apropiadamente con la finalidad de salvaguardar sus derechos como pacientes en investigación.

Los resultados de este estudio de investigación podrán presentarse en reuniones o en publicaciones.

La información recabada durante este estudio será recopilada en bases de datos del investigador, los cuales podrán ser usados en otros estudios en el futuro. Estos datos no incluirán información médica personal confidencial. Se mantendrá el anonimato.

Al firmar este documento, Usted así como su representante autorizan las revelaciones de la información acerca de su estado de salud y tratamiento identificado en esta forma de consentimiento. No perderá ninguno de sus

SUB-DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN
COMITÉ DE ÉTICA
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

Consentimiento informado. Version 2.0



derechos legales como sujeto de investigación. Si hay cambios en el uso de su información, su médico le informará.

12.- INTERVENCIÓN DEL MEDICO FAMILIAR

Se le informará a su médico de cabecera acerca de su participación en este estudio, enviándole la información médica pertinente si lo solicita así como cualquier información médica relevante.

Para que los médicos de la Institución conozcan de su participación en el estudio, los expedientes clínicos cuentan con un identificador para que el médico de cabecera se ponga en contacto con el Investigador.

13.- COMPENSACION Y TRATAMIENTO DE LESIONES

Si se enferma o se lesiona debido a una complicación o adversidad que sea resultado directo del uso del medicamento/dispositivo o procedimiento en estudio, deberá Usted notificar a su Médico para que el proporcione los cuidados necesarios para el tratamiento de dicha complicación. El tratamiento recibido no tendrá ningún costo y será cubierto por la Institución, así como la indemnización a la cual tendría derecho en caso de requerirla.

Si desea mayor información podrá contactar Lic. Antonio Zapata de la Riva al teléfono (81) 83294050 exts 2870 a 2874.

13.- DECLARACIÓN

Reconozco que me han dado la oportunidad de hacer preguntas relacionadas al estudio de investigación y que todas estas se me han respondido de manera clara y precisa.

Entiendo además si tengo preguntas relacionadas al estudio, así como en el caso de lesiones o complicaciones deberé de notificar de inmediato al investigador con la siguiente información de contacto.

Nombre del Investigador Principal	Dra. Med. Consuelo Treviño Garza
Teléfono de Contacto	(81) 83485421
Teléfono de emergencias	(044)8112122169

Además entiendo que el Comité de Ética en Investigación cuenta con un número de emergencias para estos casos y que podré contactarlos para notificar de una complicación.

Urgencias Médicas. Comité de Ética en Investigación. Teléfono 044-811085802

SUB-DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN



COMITÉ DE ÉTICA
COMITÉ DE INVESTIGACIÓN

CAPITULO XII

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Dr. Carlos Josué Velásquez Palacios

Candidato para el Grado de Especialidad en Pediatría

Tesis: Evaluación de 3 SNPs asociados al riesgo de desarrollar diabetes mellitus.

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Biografía:

Nacido en Tegucigalpa, Francisco Morazán, Honduras, el 03 de enero de 1989, hijo de Carlos Armando Velásquez Zepeda y Yolanda Palacios Meza.

Egresado de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras de la carrera Médico Cirujano y Partero en el año 2014.