

# AYUDAS A LA INVESTIGACIÓN IGNACIO H. DE LARRAMENDI

---

CONVOCATORIA AÑO 20  
(Salud)

Fundación  
**MAPFRE**

## MEMORIA FINAL

Investigador Principal: " h

Entidad: @U-8-V

País: U

Agradecimientos

Ayudas a la investigación “Ignacio H. de Larramendi”, Fundación MAPFRE

Autores

**Dra. Berenice Palacios González**

bpalacios@inmegen.gob.mx

Cursó la licenciatura en: la Universidad Iberoamericana; obtuvo el grado de Lic. Nutrición y Ciencia de los Alimentos, Maestría en Ciencias Bioquímicas de la Facultad de Química en la Universidad Nacional Autónoma de México y el Doctorado en Ciencias Bioquímicas de la Facultad de Química en la Universidad Nacional Autónoma de México. Actualmente es Investigadora en Ciencias Médicas "D", adscrita a la Unidad de Vinculación Científica de la Facultad de Medicina UNAM-INMEGEN del INMEGEN.

Ha publicado 32 artículos de investigación en revistas internacionales y nacionales y 2 capítulos de libro. Sus líneas de investigación incluyen: Implicaciones en la salud materna y en la descendencia de la diabetes gestacional; Mecanismos involucrados en el desarrollo de diabetes gestacional; Microbiota intestinal en diabetes gestacional; Firmas metabólicas para la detección temprana de diabetes gestacional y Biomarcadores epigenéticos para la detección de la descendencia expuesta a diabetes gestacional

**Dra. Noemí Meraz Cruz**

nmeraz@inmegen.gob.mx

Cursó la Licenciatura de Biología en la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México; obtuvo el grado de Maestría y Doctorado en Ciencias Biomédicas en el área de Bioquímica y Biología Molecular en la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Realizó un posdoctorado en Albert Einstein College of Medicine. Yeshiva University- Liver Center, New York, USA. Actualmente es Investigadora en Ciencias Médicas - Profesor Titular "A" de Tiempo Completo, adscrito a la Unidad de Vinculación Científica de la Facultad de Medicina, UNAM en el INMEGEN.

En 2014 inició y colabora en las líneas de investigación de Genómica del parto prematuro, Proteómica y Genómica del microbioma, englobando proyectos dirigidos al estudio del nacimiento pretérmino, mecanismos de activación de enzimas que participan en la degradación de las membranas fetales al término de la gestación y estudios de microbioma en la infancia temprana, entre otros temas. Estas líneas han tenido contribuciones importantes, tales como el ser invitado a formar parte del consorcio internacional Preterm Birth Genome Project (PGP), en conjunto con la March Of Dimes Foundation y el Preterm Birth International Collaborative (PREBIC).

Ha publicado 25 artículos de investigación en revistas internacionales y nacionales y 1 capítulo de libro.

**cDra. Melissa Razo Azamar**

melraz81@gmail.com

Cursó la licenciatura en: la Universidad Anáhuac; obtuvo el grado de Médico Cirujano, Maestría en Bioquímica Clínica de la Facultad de Química en la Universidad Nacional Autónoma de México y actualmente cursa el Doctorado en Ciencias Biomédicas de la Facultad de Medicina en la Universidad Nacional Autónoma de México.

Ha publicado 2 artículos de investigación en revistas internacionales. Sus línea de investigación incluyen: Exosomas placentarios involucrados en el desarrollo de diabetes gestacional; Firmas metabólicas para la detección temprana de diabetes gestacional y Biomarcadores epigenéticos para la detección de la descendencia expuesta a diabetes gestacional

## Índice general

<b>Objeto y alcance .....</b>	<b>5</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>6</b>
<b>Introducción y antecedentes .....</b>	<b>7</b>
<b>Objetivo general.....</b>	<b>10</b>
<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>10</b>
<b>Materiales y metodología .....</b>	<b>10</b>
<b>Resultados .....</b>	<b>12</b>
<b>Discusión .....</b>	<b>21</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>23</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>23</b>

## Objeto y alcance

La diabetes gestacional (DG) es la alteración metabólica más frecuente en el embarazo, se caracteriza por intolerancia a la glucosa en grados variables, iniciada o reconocida por primera vez durante la gestación y que puede o no resolverse después de ésta. En México, la prevalencia de este padecimiento ha ido en aumento pasando de 4% a 30% en los últimos treinta años. Aunado a lo anterior, la falta de programas de detección ocasiona que muchas mujeres no sean diagnosticadas ni reciban tratamiento.

La importancia clínica de la DG radica en su asociación con las complicaciones tanto maternas como fetales. La relación directa que existe entre la presencia de DG y el desarrollo de mayor susceptibilidad para obesidad pone de manifiesto las consecuencias transgeneracionales de las enfermedades metabólicas y la creación de un círculo vicioso en el que una madre con obesidad y diabetes gestacional podría generar descendientes con mayor susceptibilidad para desarrollar estas mismas condiciones en su vida adulta. Este panorama exige un nuevo abordaje, que permita la implementación de estrategias preventivas y/o detección temprana de riesgos en la infancia, la cual se considera un periodo de oportunidad para la prevención.

La evidencia actual sugiere que el vínculo, entre el entorno prenatal y el desarrollo de enfermedades metabólicas en la etapa adulta, se encuentra en las modificaciones epigenéticas que ocurren *in utero*. Es importante mencionar que para poder considerar un cambio epigenético ocurrido *in utero* como un biomarcador potencial, para la identificación de sujetos expuestos a un ambiente adverso durante la gestación, el cambio deberá ser persistente y detectable en la etapa postnatal.

A falta de un diagnóstico gestacional de DG, la identificación de los niños que estuvieron expuestos a este ambiente intrauterino adverso, nos permitiría detectar de forma temprana a aquellos individuos con mayor riesgo de desarrollar enfermedades metabólicas en la adultez. Es bien sabido que intervenciones en la infancia temprana son de crucial importancia para disminuir los factores de riesgo a enfermedades crónicas tales como la diabetes, obesidad y enfermedad cardiovascular.

## **Abstract**

Gestational diabetes (GD) is the most common metabolic complication during pregnancy. Several studies have shown that epigenetic modifications can be detected before the clinical diagnosis of the disease through association studies of candidate genes. However, whether these epigenetic changes will prevail during extrauterine life and whether these changes will be a risk factor for developing metabolic diseases in adult life remain unclear. Therefore, this study aimed to identify epigenetic markers in preschool children exposed to gestational diabetes. No significant differences were observed between the groups regarding maternal characteristics, at the time of birth and current data of the offspring. Interestingly, mothers diagnosed with gestational diabetes more frequently reported the presence of type 2 diabetes in their fathers. This data must be taken with caution because, in this study, we did not corroborate the presence of diabetes or obesity in direct relatives. Children from pregnancies with gestational diabetes have lower methylation compared to children who do not come from pregnancies with gestational diabetes. Regarding the methylation patterns, 41 differentially methylated promoter regions were observed statistically significantly between both groups; 15 promoter regions presented hypomethylation, and 26 promoter regions showed hypermethylation. In general, exposure to gestational diabetes modified genes involved in energy metabolism, cell cycle, endoplasmic reticulum protein processing, lipid metabolism, autophagy, and inflammatory processes. It is important to mention that some of the genes found have been related to cancer development. In conclusion, exposure to gestational diabetes induces a methylation pattern that can be detected in preschool children. These biomarkers could be helpful for the subsequent identification of children exposed to this adverse intrauterine environment. Finally, this identification would allow us to detect early those individuals with a higher risk of developing metabolic diseases in adulthood.

## **Introducción y antecedentes**

Durante la gestación se presentan diversas adaptaciones metabólicas por parte de la madre, con el fin de proveer al feto de sustratos energéticos para permitir el desarrollo adecuado del mismo. El desarrollo de resistencia a la insulina es una de estas adaptaciones, sin embargo, cuando la madre es incapaz de compensar las necesidades de insulina mediante el incremento en la secreción de esta hormona se diagnostica diabetes gestacional (DG).

La DG constituye la alteración metabólica más frecuente en la gestación, se caracteriza por intolerancia a la glucosa en grados variables, iniciada o reconocida por primera vez durante la gestación y que puede o no resolverse después de ésta. En México, diversos estudios señalan que la prevalencia de este padecimiento ha ido en aumento (1), sin embargo, los estudios no son comparables entre sí, debido a que los protocolos y criterios diagnósticos difieren entre las instituciones. Por lo tanto, es probable que desconozcamos la incidencia real de DG en nuestro país.

La DG ha sido asociada con complicaciones tanto maternas como fetales. Se ha propuesto por la teoría de la programación de los Orígenes del Desarrollo de la Salud y la Enfermedad (DOHaD por sus siglas en inglés) que los niños de madres con antecedente de DG presentan mayor riesgo para de desarrollar obesidad, resistencia a la insulina y diabetes tipo 2 en la edad adulta (2). El incremento en la prevalencia de obesidad en niños y adultos tiene implicaciones importantes en la perpetuidad del ciclo de obesidad en generaciones subsecuentes. La evidencia actual sugiere que el vínculo, entre el ambiente intrauterino y el desarrollo de enfermedades metabólicas en la etapa adulta, se encuentra en las modificaciones epigenéticas que ocurren in utero. Los estudios en animales señalan que ciertos factores ambientales de tipo transitorio, como la dieta durante el embarazo, pueden producir cambios permanentes en las marcas epigenéticas, las cuales tienen consecuencias fenotípicas de por vida (3, 4). Aún no está del todo claro si los embarazos afectados por DG tienen efectos similares a largo plazo en el epigenoma de la descendencia, sin embargo, estudios realizados en cordón umbilical provenientes de mujeres con diagnóstico de DG presentan un patrón diferencial de metilación (5).

Por lo que, este proyecto tiene como objetivo identificar marcas epigenéticas permanentes en la descendencia de mujeres que transcurrieron su embarazo con diabetes gestacional.

### *Antecedentes*

El embarazo es un estado que involucra diversas adaptaciones metabólicas que permiten asegurar el aporte de nutrimentos para un correcto desarrollo y maduración del feto y la placenta, y al mismo tiempo el mantenimiento de la salud materna (1). Dentro de estas adaptaciones, el metabolismo de los hidratos de carbono cambia drásticamente durante el embarazo y ejerce un estrés adicional sobre las células  $\beta$ . Durante la gestación se observa un aumento progresivo de la resistencia a la insulina

que se contrarresta con un aumento de la secreción de esta hormona. También se observa una disminución de la glucosa en ayuno a pesar del aumento de la producción de glucosa hepática.

El embarazo puede ser clasificado en dos fases: la fase anabólica (hasta la semana 20 de gestación/gestación temprana) y la fase catabólica (a partir de la semana 20 hasta la resolución del embarazo/gestación tardía) (1,2,3). La fase anabólica (la cual ocurre durante los primeros dos trimestres de gestación <20sdg), se caracteriza por el incremento en la sensibilidad a la insulina en tejidos periféricos. Durante la fase catabólica las principales adaptaciones metabólicas desarrolladas en dicha fase para mantener la homeostasis de la glucosa cambian drásticamente debido a que se desarrolla una resistencia a la insulina fisiológica en tejidos periféricos e hiperinsulinemia por parte de las células  $\beta$  pancreáticas para compensar dicha resistencia a la insulina (disminución del 40-60% en la sensibilidad a la insulina conforme avanza la gestación) (4,5), sin embargo, cuando la madre es incapaz de compensar adecuadamente la resistencia a la insulina, es entonces cuando se desarrolla hiperglucemia y consecuentemente diabetes gestacional (DG); caracterizada por alteración en la respuesta a la insulina, disminución de la supresión hepática de la producción de glucosa durante la infusión de insulina, disminución de la captación de glucosa estimulada por la insulina en el músculo esquelético, así como una incapacidad de las células  $\beta$  pancreáticas para incrementar la secreción de insulina cuando son estimuladas por glucosa (7-10).

La DG se define como la intolerancia a los carbohidratos con severidad variable, con inicio o primer reconocimiento durante el embarazo (7). En México, la prevalencia de DG ha ido en aumento y actualmente su frecuencia se reporta en 17.7% (8). Este tipo de diabetes es la alteración metabólica más frecuente en la gestación y su importancia clínica radica en su asociación con complicaciones tanto maternas como fetales, en las que se incluyen: preeclampsia, macrosomía, nacimiento por cesárea, nacimiento prematuro y muerte fetal. Generalmente la alteración metabólica se termina con el parto. Sin embargo, se ha observado que el 60% de las mujeres que tuvieron DG, desarrollan en el futuro diabetes tipo 2 (11-13). Además, la presencia de DG durante el embarazo incrementa la susceptibilidad en los hijos de presentar resistencia a la insulina, obesidad e hipertensión, lo que perpetúa el ciclo obesidad  $\leftrightarrow$  diabetes tipo 2 y pone en evidencia los efectos transgeneracionales de la diabetes gestacional en generaciones subsecuentes.

La obesidad infantil se ha asociado con la aparición de alteraciones metabólicas a edades tempranas. Existen estudios donde se considera a la infancia un periodo de gran sensibilidad, debido a que la adiposidad aumentada durante esta etapa incrementa 30% el riesgo de tener anomalías metabólicas como intolerancia a la glucosa, hipertensión, dislipidemias, resistencia a la insulina, inflamación crónica, hiperuricemia e hígado graso no alcohólico durante la adultez (14-17).

Actualmente la teoría de la programación de los Orígenes del Desarrollo de la Salud y la Enfermedad (DOHaD por sus siglas en inglés: Developmental Origins of Health and Disease) sostiene que la exposición intrauterina a un ambiente obesogénico, induce cambios epigenéticos y metabólicos



permanentes en el feto que promueven el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas en la etapa adulta (18, 19). A diferencia del genoma, que es sumamente estable, el epigenoma es susceptible a sufrir modificaciones en respuesta a señales tanto endógenas como ambientales. Por lo tanto, se han propuesto a las modificaciones epigenéticas como un mecanismo molecular de memoria a exposiciones ambientales que ocurren in útero (20, 21).

Las modificaciones epigenéticas son aquellas que son heredables a través de las divisiones celulares y que tienen la capacidad de regular la expresión génica, sin que se presenten cambios en la secuencia de DNA. Estas incluyen modificaciones de histonas (ej. Metilación, fosforilación y acetilación), y metilación de DNA, entre otras. Las marcas epigenéticas tienen la capacidad de modificar la estructura de la cromatina a través del reclutamiento de remodeladores de la cromatina, factores de transcripción y de coreguladores, resultando en estados transcripcionales más o menos permisivos.

Durante etapas críticas del desarrollo, algunas modificaciones en la metilación del DNA no persisten a lo largo de toda la vida, sino que suceden de modo temporal y coordinado, lo que contribuye a una expresión espaciotemporal específica para cada etapa crítica del desarrollo y en cada tipo celular, principalmente en células pluripotenciales (22-25). El avance en la identificación de mecanismos involucrados en la programación fetal en humanos ha sido limitado debido a la dificultad técnica y ética del acceso a células fetales, cuyo material genético pudiera reflejar la “memoria epigenética”. Aunque la metilación del DNA es tejido específico, a menudo la metilación del DNA en sangre periférica refleja una huella epigenética de los tejidos. Para dar sustento a esta idea, se ha demostrado que individuos que estuvieron expuestos in utero a la hambruna holandesa, presentaron seis décadas posteriores a la exposición, disminución en la metilación de IGF2 al compararlo con individuos que no estuvieron expuestos (26). Por otro lado, estudios realizados en cordón umbilical y placenta provenientes de mujeres con diagnóstico de DG presentan un patrón diferencial de metilación, sin embargo, estos estudios no son concluyentes (4).

A continuación, se muestran algunos genes que se ven afectados por la presencia de diabetes gestacional

**Tabla 1.** Conjunto de genes diferencialmente metilados

Gene	Nombre	Tejido estudiado	Población estudiada	Patrón de metilación	Referencia
<i>ESM1</i> <i>MS4A3</i>	Endothelial cell specific molecule 1 Membrane spanning 4-domains A3	Sangre	Descendencia	Hipometilación	Hjort <i>et al.</i> 2018

<i>HNF4A</i>	Hepatocyte nuclear factor 4 alpha	Sangre	Descendencia	Hipermetilación	Kim <i>et al.</i> 2017
<i>ADIPOQ</i>	Adiponectin, C1Q and collagen domain containing	Tejido adiposo, Sangre de cordón umbilical, y sangre	Madres y descendencia	Hipermetilación	Ott <i>et al.</i> 2018
<i>IR</i>	Insulin Receptor	Tejido adiposo y Sangre	Madres y descendencia	Hipometilación	Ott <i>et al.</i> 2018
<i>SH3PXD2 A</i>	SH3 and PX domains 2A	Sangre y sangre de cordón umbilical	Descendencia	Hipometilación	Yang <i>et al.</i> 2018
LEP	Leptin	Sangre de cordón umbilical	Descendencia	Hipermetilación	Mansell <i>et al.</i> 2019
GNAS	Guanine nucleotide binding protein	Sangre de cordón umbilical	Madres y descendencia	Hipermetilación	Chen <i>et al.</i> 2014

### Objetivo general

Identificar marcadores epigenéticos en pacientes preescolares expuestos a diabetes gestacional.

### Objetivos específicos

1. Evaluar clínica, hormonal y bioquímicamente a hijos mujeres que cursaron su embarazo con y sin diagnóstico de diabetes gestacional.
2. Caracterizar el metiloma de niños expuestos y no expuestos in útero a diabetes gestacional.
3. Comparar el metiloma de los niños expuestos y no expuestos in útero a diabetes gestacional.

### Materiales y metodología

El diseño del presente estudio es: analítico, observacional, con selección de sujetos a partir de la exposición.

Tipo de población: Niños preescolares divididos en dos grupos: expuestos a diabetes gestacional y no expuestos a esta patología.

Universo de la muestra: 200 pacientes; el 17% deberán ser hijos de madres con diagnóstico corroborado de diabetes gestacional mediante la prueba estándar de referencia diagnóstica de un paso con una carga de 75g de glucosa, según los criterios de la Asociación Americana de Diabetes.

Muestreo: No probabilístico, de elección razonada.

Protocolo clínico.

Para este estudio el niño será citado en su Hospital de referencia como parte de su seguimiento pediátrico, en esta consulta se obtendrá:

- 1) Expediente Clínico de acuerdo con la norma institucional.
- 2) Medidas antropométricas: se tomará peso y talla, para la determinación de peso para la edad (P/E), talla para la edad (T/E), peso para la talla (P/T) e índice de masa corporal (IMC). Se calcularán los puntajes Z para las medidas antropométricas actuales (peso, talla) y se interpretarán utilizando los puntos de corte establecidos para los patrones de crecimiento de la Organización Mundial de la Salud (OMS). El cálculo de puntajes Z y su interpretación con los valores de referencia se realizarán mediante el programa WHO-Anthro.
- 3) Determinación de parámetros bioquímicos. En esta consulta se obtendrán dos gotas de sangre (40ul), 20ul serán procesados inmediatamente para la determinación de glucosa, triacilglicéridos, colesterol total, c-HDL y c-LDL mediante el equipos CardioCheck Plus®, los 20ul restantes de sangre serán colocados en papel filtro para la extracción de DNA. Para la obtención de la muestra de sangre capilar: Se esterilizará el dedo anular del niño con alcohol y se dejará secar. Se puncionará el área con una lanceta estéril de 2 mm de largo, una vez formada la gota de sangre (20µl), esta se colocará directamente en el casete para la determinación de los parámetros bioquímicos y en el papel filtro hasta llenar completamente un círculo de papel filtro con sangre para que esta sature el papel en todo su espesor. Se dejará secar la muestra a temperatura ambiente, en posición horizontal, sobre una superficie plana y limpia durante 2 horas; protegidas del calor, la luz solar y contaminantes.
- 4) Extracción de DNA, conversión con bisulfito y metilación de DNA. Para la extracción del DNA se utilizará el kit QIAamp 96 DNA Sangre (Qiagen). Para conocer la concentración e integridad del DNA, se cuantificará el DNA mediante fluorometría y se realizará una electroforesis en gel con 2% de agarosa. El DNA aislado será convertido con bisulfito utilizando el kit EZ-DNA Methylation Gold kit (Zymo). La metilación del DNA se determinará empleando el arreglo Illumina, Infinium Methylation EPIC kit.

Análisis estadísticos.

Se evaluará la normalidad de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Los datos que tengan distribución normal serán presentados como media  $\pm$  SD y se analizarán con la prueba t de Student de dos colas. Los datos no paramétricos se presentarán como mediana y rango intercuartil

y se analizarán con la prueba U-Mann-Whitney. Para el análisis de los datos de metilación se emplearán modelos de regresión lineal múltiple, para conocer el efecto de las variables confusoras (peso al nacer, tiempo de lactancia, vía de nacimiento, edad gestacional, sexo, edad, IMC-pregestacional, edad materna, paridad) sobre la metilación de la descendencia. Para conocer si la DG tiene efecto sobre la metilación permanente en la descendencia, se realizarán análisis de regresión ajustando por el sexo, la edad, e IMC. Los resultados serán presentados como coeficientes  $\beta$  e IC. Todos los análisis estadísticos se realizarán con el software estadístico SPSS y R se considerará una  $P \leq 0.05$  como estadísticamente significativa.

## Resultados

A continuación, se muestran los resultados de 152 participantes. En la Tabla 1 se describen las características de la madre, así como los antecedentes heredofamiliares. Hasta el momento no se observan diferencias significativas entre los grupos respecto a las características materna. De forma interesante, las madres diagnosticadas con diabetes gestacional reportaron con mayor frecuencia la presencia de diabetes tipo 2 en su padres. Este dato debe ser tomado con cautela debido a que en este estudio no corroboramos la presencia de diabetes u obesidad en los familiares directos.

**Tabla 1.** Características de la madre y antecedentes heredofamiliares

Característica	DG (n=21)	Sin DG (n=131)	P
<b>Edad (años)</b>	30.40 ± 6.91	28.27 ± 6.17	0.62 *
<b>Número de gestas</b>	2.40 ± 1.67	2.05 ± 1.17	0.71 +
<b>Antecedentes heredofamiliares</b>			
<b>Obesidad</b>	%	%	
Abuela materna	20.00	5.41	0.32
Abuelo materno	20.00	5.41	0.32
Abuela paterna	0.00	5.41	1.00
Abuelo paterno	20.00	8.11	0.41
Hermanos	20.00	0.00	0.11
<b>Sobrepeso</b>			
Madre	20.00	21.62	1.00
Abuela materna	0.00	16.22	1.00
Abuelo materno	0.00	8.11	1.00
Padre	20.00	13.51	0.55
Abuela paterna	0.00	16.22	1.00
Abuelo paterno	0.00	8.11	1.00
Hermanos	0.00	2.70	1.00
<b>Diabetes tipo 2</b>			
Abuela materna	0.00	5.41	0.32
<b>Abuelo materno</b>	<b>60.00</b>	<b>16.22</b>	<b>0.05</b>
Padre	0.00	2.70	1.00
Abuela paterna	20.00	18.92	1.00
Abuelo paterno	0.00	13.51	1.00
<b>HTA</b>			
Abuela materna	40.00	21.62	0.57
Abuelo materno	0.00	8.11	1.00

Padre	0.00	8.11	1.00
Abuela paterna	0.00	13.51	1.00
Abuelo paterno	0.00	5.41	1.00

Resultados en medias  $\pm$  SD. \* t Student independiente. +U de Mann Whitney. Resultados en porcentajes. F exacta de Fisher

En la Tabla 2 observamos las características del niño al nacer. Hasta el momento no se observan diferencias significativas entre los grupos respecto a las características al nacimiento y sólo se observan tendencias, por lo que es importante mencionar que el tamaño de muestra comprometido es mayor (200 participantes), con lo cual se estima que los cambios entre los grupos sean significativo.

**Tabla 2.** Características del niño al nacer

Característica	DG (n=21)	Sin DG (n=131)	p
<b>Semanas de gestación</b>	37.8 $\pm$ 2.28	39.22 $\pm$ 1.25	0.14 *
<b>Desenlace del embarazo</b>	%	%	1.00 +
Parto	40.0	51.35	
Cesárea	60.0	48.64	
<b>Complicaciones clínicas</b>	40.0	13.51	0.18 +
<b>Sexo</b>	%		0.31 +
Masculino	40.0	70.27	
Femenino	60.0	29.73	
<b>Peso (g)</b>	3225.00 $\pm$ 278.29	3137.14 $\pm$ 640.51	0.50 *
<b>Longitud (cm)</b>	49.60 $\pm$ 3.05	49.71 $\pm$ 3.40	0.96 **

Resultados en medias  $\pm$  SD para variables continuas y porcentajes para variables nominales. \* U de Mann Whitney; +F exacta de Fisher; \*\*t de Student muestras independientes

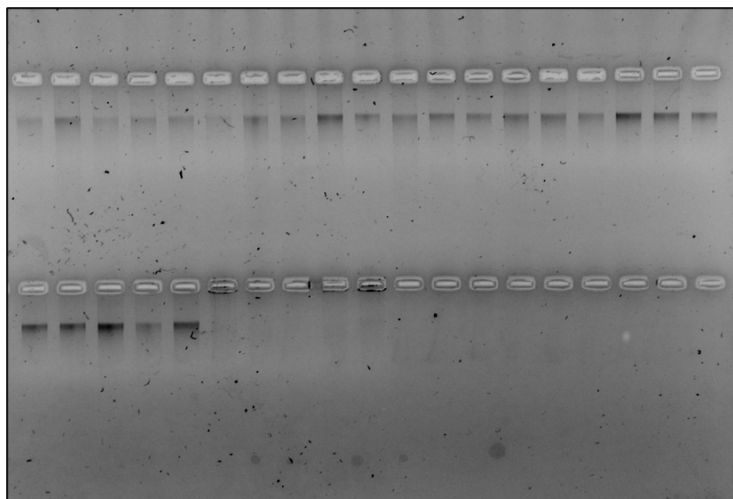
Con lo que respecta a las características actuales de los niños participantes, estas se muestran a continuación en la Tabla 3. Hasta el momento no se observan diferencias significativas entre los grupos.

**Tabla 3.** Características del niño actuales y puntajes Z para los patrones de crecimiento de la OMS

Característica	DG (n=21)	Sin DG (n=131)	p
<b>Edad (meses)</b>	22.3 $\pm$ 4.01	23.5 $\pm$ 2.71	0.36 +
<b>Peso (Kg)</b>	11.10 $\pm$ 2.83	11.89 $\pm$ 2.24	0.56 *
<b>Longitud (cm)</b>	80.33 $\pm$ 2.32	83.06 $\pm$ 4.02	0.45 *

Resultados en medias  $\pm$  SD. \* t de student muestras independientes + U de Mann Whitney

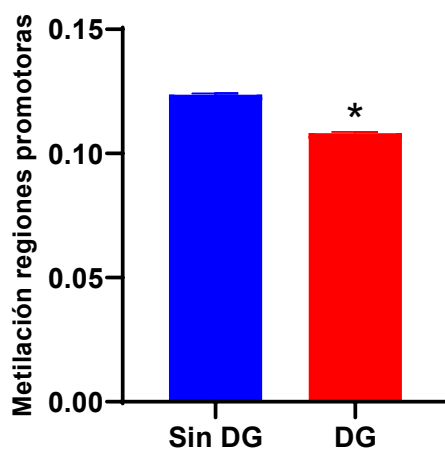
En la Figura 1 se muestra un gel de electroforesis representativo de las muestras que se llevan colectadas. El DNA genómico aún no es convertido con Bisulfito, en nuestra experiencia la vida útil del DNA convertido es de alrededor 2 semanas. Por este motivo, estamos en espera de recolectar las muestras faltantes, para convertir todas las muestras al mismo tiempo y disminuir el sesgo por lote.



**Figura 1.** Electroforesis en gel de agarosa al 2 % de DNA genómico obtenido de sangre total.

### *Patrones de metilación*

La metilación de las regiones promotoras es crucial para la regulación de la expresión génica. En el presente estudio se evaluaron 116,235 regiones promotoras, los niños expuestos a DG presentaron significativamente ( $<0.0001$ ) menor metilación en las regiones promotoras (Figura 2).

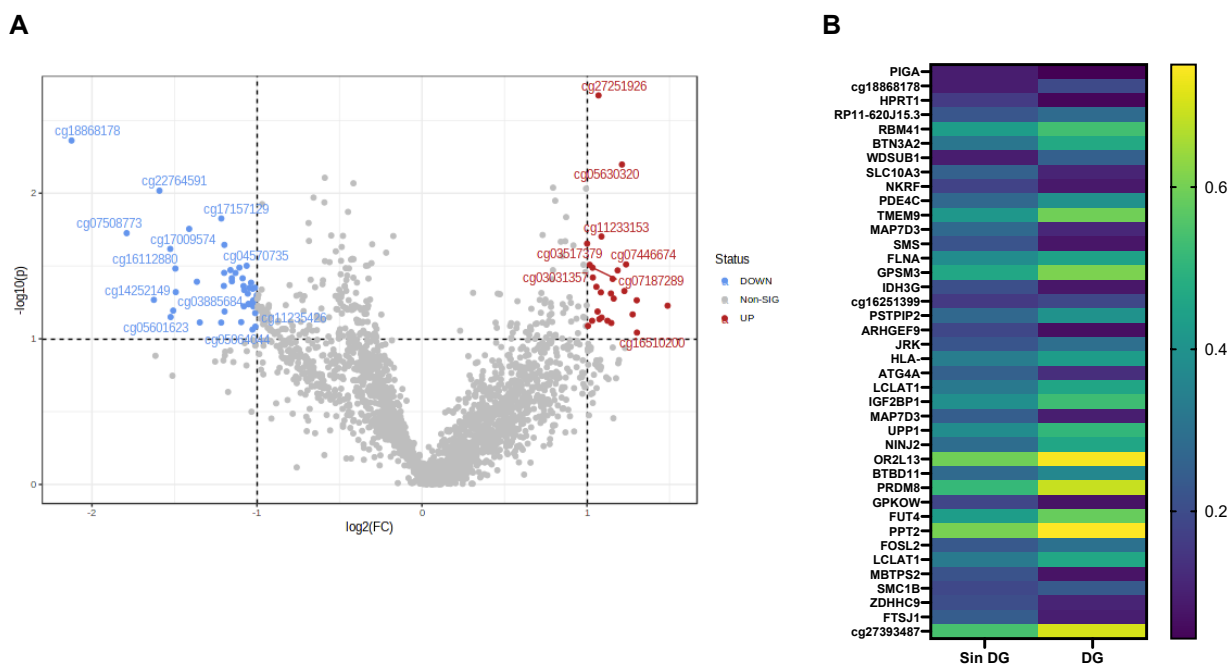


**Figura 2.** Porcentaje de metilación de regiones promotoras. Resultados en medias  $\pm$  SEM.

\* t de student muestras independientes + U de Mann Whitney ( $p < 0.0001$ ).

Se determinaron las regiones promotoras que presentaban mayor cambio de magnitud y fueran estadísticamente significativas, entre los grupos. Se observaron 41 regiones promotoras candidatas (Figura 3). Los hijos provenientes de embarazos con diabetes gestacional presentan de forma significativa hipometilación en los siguientes genes: WDSUB1, TMEM9, SLC10A3, NINJ2, NKRF, OR2L13, ZDHHC9, PRDM8, RBM41, RP11-620J15.3, MAP7D3, PSTPIP y 3 genes que a la fecha no han sido identificados), e hipermetilación de 26 regiones promotoras de los siguientes genes: PPT2, PIGA, IDH3G, FTSJ, JRK, SMS, LCLAT1, HPRT1, ATG4A, LCLAT1, IGF2BP1, FOSL2,

SSR4, MBTPS2, BTN3A2, ARHGEF9, GPSM3, HLA-L, PDE4C, FUT4, MAP7D3, SMC1B;RIBC2, GPKOW, FLNA, BTBD11 y UPP1).



**Figura 3.** Genes diferencialmente expresados entre los grupos. A) Volcano plot de regiones promotoras. Representado el FC frente al p-value de las 116,235 regiones promotoras analizadas, resaltando aquellos genes con una expresión diferencial significativa ( $p < 0.05$ ). Los círculos rojos representan mayor metilación en los hijos provenientes de embarazos con diabetes gestacional. Los círculos azules representan menor metilación en los hijos provenientes de embarazos con diabetes gestacional. B) Mapa de calor de los genes diferencialmente expresados. El color amarillo indica 100% de metilación mientras que el color azul indica 0% de metilación.

Con la finalidad de conocer en que vías metabólicas se encuentran involucrados los genes diferencialmente expresados, se realizó un MSEA (Tabla 4).

**Tabla 4.** Vías metabólicas enriquecidas en niños expuestos a diabetes gestacional.

Vía	valor p
Vía metabólicas	0.00143
Metabolismo de fármacos	0.0127
Metabolismo de purinas	0.0323
Metabolismo del ácido 2-oxocarboxílico	0.0389
Biosíntesis de O-glicanos de tipo manosa	0.0494
Procesamiento de proteínas en retículo	0.0499
Biosíntesis de glicosilfosfatidilinositol (GPI)	0.0536
Elongación de ácidos grasos	0.0578
Biosíntesis de glicoesfingolípidos	0.0578
Ciclo de ácidos tricarboxílicos	0.064

A continuación, se muestra las veces de cambio, los valores de p, la función y el porcentaje de metilación de los genes diferencialmente encontrados en este estudio.

**Tabla 5.** Genes diferencialmente expresados

Nombre	log2(FC)	log(pvalue)	Función	% de Metilación		REF
				Sin DG	DG	
cg27393487	1.06	1.31	Aún no ha sido descrita	28%	12%	34
WDSUB1	1.79	1.73	WDSUB1 codifica para la ubiquitina ligasa U-box, involucrada en la unión de ADN específica de secuencia y en la actividad de la ubiquitina-proteína transferasa. Se encuentra expresada en tejido adiposo de sujetos con obesidad mórbida.	25%	10%	35
TMEM9	1.53	1.62	El gen TMEM9 es una proteína transmembrana tipo 1 localizada en los lisosomas y cuerpos multivesiculares (MVBs). TMEM9 activa la señalización de Wnt/ $\beta$ -catenina para promover la regeneración de hígado a través de degradación lisosomal de la proteína APC.	25%	10%	36
SLC10A3	-1.09	1.70	Pertenece a la familia 10 de transportadores de solutos (SLC) (SLC10). La enfermedad de la arteria coronaria (CAD) disminuye la expresión del gen SLC10A3. Se ha observado que la resistencia a la quimioterapia correlaciona con el incremento en la expresión de SLC10A3	26%	11%	37
NINJ2	1.36	1.39	Ninjurin2, se asocia a un riesgo incrementado para enfermedad inflamatoria intestinal (IBD).	23%	8%	38
cg16251399	1.49	1.48	Aún no ha sido descrita	22%	8%	34
NKRF	-1.00	1.65	Este gen codifica para el factor represor de NF-kappa-B (NRF). La proteína se localiza predominantemente en el nucléolo con una pequeña fracción que se encuentra en el nucleoplasma y el citoplasma. Durante la obesidad se observa menor expresión de este gen, lo que disminuye la respuesta antiinflamatoria y exacerba la respuesta proinflamatoria.	21%	8%	39
OR2L13	1.04	1.39	Receptor olfativo, familia 2, subfamilia L, miembro 13. En sangre de cordón umbilical proveniente de embarazos con diabetes gestacional se observa hipometilación en la región promotora de OR2L13.	26%	13%	40
ZDHHC9	-1.08	1.32	ZDHHC9 ha sido identificado como un regulador de las funciones neurológicas. La deficiencia de ZDHHC9 en cultivos de hipocampo conduce a árboles dendríticos más cortos y menos sinapsis inhibitorias.	19%	7%	41
PRDM8	1.08	1.36	Proteína de dedo de zinc de dominio PR 8, por similitud es probable que sea una histona metiltransferasa, actuando preferentemente sobre 'Lys-9' de la histona H3. Un	19%	8%	42

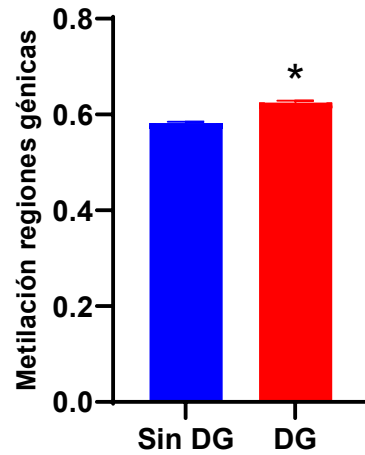


			estudio demostró que posterior a una restricción calórica se observó hipermetilación de PRDM8 en biopsias de tejido adiposo.			
cg18868178	2.12	2.36	Aún no ha sido descrita	16%	5%	34
RBM41	1.22	1.83	RNA binding motif protein 41; Incrementa su expresión en islotes pancreáticos cuando son expuestos a citocinas proinflamatorias.	21%	11%	43
RP11-620J15.3	1.59	2.02	La sobreexpresión de este gen se relaciona con mal pronóstico e infiltración inmune del hepatocarcinoma.	21%	11%	44
MAP7D3	-1.24	1.51	El consumo de berberina en un estado inflamatorio disminuye la expresión de MAP7D3, eso significaría que en un estado inflamatorio existe mayor expresión de MAP7D3 y por lo tanto estaría menos metilado	18%	9%	45
PSTPIP	1.16	1.47	PSTPIP1 es una proteína adaptadora expresada en la mayoría de los linajes de células inmunitarias. Mutaciones en este gen se asocian con enfermedades autoinmunes	10%	4%	46
PPT2	1.05	1.35	Palmitoil-proteína tioesterasa 2, esta enzima elimina los grupos acilo graso enlazados con tioéster de varios sustratos, incluido S-palmitoil-CoA. Tiene la mayor actividad de S-tioesterasa para los grupos acilo ácido palmítico y mirístico seguido de otros sustratos de acilo de cadena corta y larga.	16%	19%	47
PIGA	-1.07	2.67	Biosíntesis de glicosilfosfatidilinositol (GPI), pertenece a la familia de las glicosiltransferasas del grupo 1. Mutaciones en este gen conducen a hemólisis, anemia y trombosis.	19%	24%	48
IDH3G	-1.03	1.49	Isocitrato deshidrogenasa (IDH) del ciclo de Krebs. Se ha observado menor expresión de este gen en tejido adiposo y músculo esquelético proveniente de sujetos con diabetes tipo 2.	23%	29%	49
FTSJ	-1.15	1.31	ARNt putativo (citidina(32)/guanosa(34)-2'-O)-metiltransferasa, se encarga de metilar la 2'-O-ribose de los nucleótidos en las posiciones 32 y 34 en la región del anticodón de ARNt. Pertenece a la superfamilia de metiltransferasa de unión a SAM de clase I. Este gen se encuentra disminuido en diabetes gestacional, lo que podría indicar que se encuentra hipermetilado.	38%	45%	50
PSCA	1.20	1.45	En cáncer de páncreas se expresa antígeno de células madre de próstata (PSCA).	23%	31%	51
SMS	-1.02	1.51	Espermina sintasa; se asocia de forma positiva con el HOMA-IR, la espermina se relaciona significativamente con los niveles de insulina pero no con los niveles de glucosa, los niveles de espermina se asocian a un mayor riesgo de DT2.	23%	30%	52
HPRT1	-1.21	2.20	Metabolismo de purinas; La hipoxantina Fosforibosiltransferasa 1 cataliza la conversión de hipoxantina en monofosfato de inosina y de guanina en monofosfato de guanosa mediante la transferencia del grupo 5-fosforribosilo del 5-fosforribosilo 1-pirofosfato. Esta enzima juega un papel central en la generación de nucleótidos de purina a través de la vía de recuperación de purina. La deficiencia parcial de esta	34%	43%	53

			enzima puede dar lugar a la sobreproducción de ácido úrico que conduce a una forma grave de gota, mientras que la ausencia provoca el síndrome de Lesch-Nyhan,			
PSMD10	-1.04	1.42	La sobreexpresión de este gen promueve la autofagia a través de la vía de la Adenosina 5'-monofosfato cinasa e inhibe la vía de AKT. Aumenta la proliferación y disminuye la apoptosis en células epiteliales.	10%	20%	54
LCLAT1	1.15	1.42	Lisocardiopina aciltransferasa-1; Se aumenta su regulación por el estrés oxidativo y obesidad inducida por la dieta, reduce la fosforilación de AKT estimulada por insulina, que lleva a resistencia a la insulina e hiperglucemia.	43%	54%	55
IGF2BP1	1.09	1.42	La proteína de unión al ARNm del factor 2 de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF2BP1) se correlaciona con el riesgo para desarrollar diabetes.	28%	40%	56
FOSL2	1.03	1.34	FOSL2 (también llamado Fra-2) pertenece a la familia de factores de transcripción AP-1 que incluye las diversas isoformas de Fos y Jun. La KO de FOSL2 en adipocitos humanos maduros disminuye la expresión del gen LEP.	28%	40%	57
SSR4	-1.03	1.49	Subunidad delta de proteína asociada a translocón. La menor expresión del complejo TRAP $\delta$ /SSR4, disminuye los niveles de proinsulina e insulina	38%	51%	58
MBTPS2	-1.23	1.33	En presencia de estrés en el retículo endoplásmico, ATF6 es escindido del RER gracias a las proteasas (MBTPS1, también conocido como S1P y MBTPS2, también conocido como S2P) creando el factor de transcripción activo que permite la transcripción de las proteínas chaperonas involucradas en el plegamiento de proteínas para disminuir el estrés del RER presente durante la obesidad.	33%	46%	59
BTN3A2	1.41	1.75	Butirofilina, subfamilia 3, miembro A2. Inhibe la liberación de IFNG (proinflamatoria) de las células T activadas. Los miembros de la familia de la butirofilina (BTN) son moléculas similares a las inmunoglobulinas, que actúan como moduladores de puntos de control inmunitarios y juegan un papel en la autotolerancia. La expresión de BTN3A2 en enfermedades alérgicas y autoinmunes neonatales tiene una relación causal.	33%	46%	60
ARHGEF9	-1.19	1.47	ARHGEF9, también conocido como colibistina, es una GTPasa similar a Rho que cambia entre el estado activo (unido a GTP) y el estado inactivo (unido a GDP) para regular CDC42 y otros genes. Está involucrado en el desarrollo cerebral.	39%	53%	61
GPSM3	1.11	1.49	Interactúa con la subunidad de las proteínas G(i) alfa y regula la activación de las proteínas G(i) alfa. Este gen se encuentra más metilado en madres con obesidad.	61%	75%	62
HCG17	1.13	1.45	HCG17 es un ARN largo no codificante (lncRNA), considerado como un biomarcador de accidente cerebrovascular isquémico.	60%	74%	63
PDE4C	1.20	1.65	Estimula la secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS), por lo tanto si se encuentra más metilado habrá menor secreción de insulina	46%	61%	64

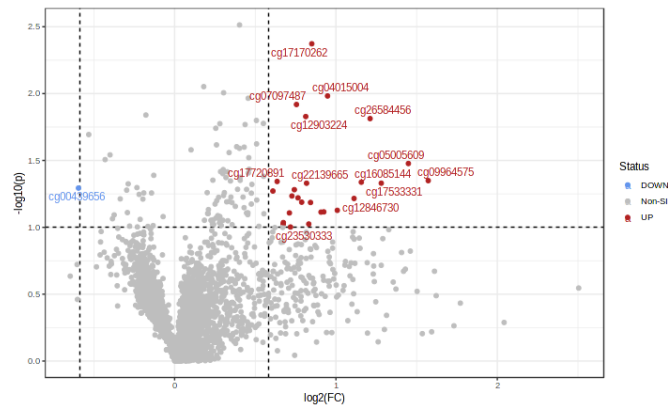
FUT4	1.01	1.35	Fucosiltransferasa 4, participa en el reclutamiento de leucocitos dependiente de selectina en el contexto de la inflamación, su expresión se ha correlacionada con apoptosis celular.	32%	47%	65
RIBC2	1.49	1.32	La sobreexpresión de RIBC2 lleva a un aumento en la regulación del gen TRIM37 que se asocia con oncogenesis y puede promover el crecimiento y la migración de células de cáncer pancreático.	10%	26%	66
GPKOW	-1.06	1.36	GPKOW es una proteína de unión a ARN que se une al ARN de forma regulada por PKA. Junto con nuestros resultados anteriores que demuestran que la PKA regula el empalme del ARNm previo, nuestros resultados sugieren que la fosforilación de la PKA está involucrada en la regulación del procesamiento del ARN en varios pasos.	54%	71%	67
FLNA	1.06	1.50	FLNA inhibe la señalización de la insulina mediante la vía de señalización de MAPK. A mayor metilación menor expresión.	29%	46%	68
BTBD11	1.20	1.36	Repetición de anquirina y proteína que contiene el dominio BTB/POZ. Se ha asociado con la predicción de sobrepeso/obesidad.	52%	69%	69
UPP1	1.15	1.39	Uridina fosforilasa 1, cataliza la escisión fosforolítica reversible de uridina y desoxiuridina a uracilo y ribosa o desoxirribosa-1-fosfato. La uridinólisis (escisión fosforolítica de la uridina por UPP1), permite que se lleve a cabo la gluconeogénesis, así como la glucólisis en ausencia de glucosa. Estudios previos han demostrado que una dieta rica en uridina conduce a la acumulación de glucógeno, mayor gluconeogénesis, desarrollo de hígado graso y estados de prediabetes en ratones.	42%	60%	70

Respecto a la metilación de las regiones génicas se observó que los niños expuestos a DG presentaron significativamente ( $<0.0001$ ) mayor metilación en estas regiones (Figura 4).



**Figura 4.** Porcentaje de metilación de regiones génicas. Resultados en medias  $\pm$  SEM.  
\* t de student muestras independientes + U de Mann Whitney ( $p < 0.0001$ ).

Se determinaron las regiones génicas que presentaban mayor cambio de magnitud y fueran estadísticamente significativas, entre los grupos. Con la finalidad de conocer en que vías metabólicas se encontraban involucrados los genes diferencialmente expresados, se realizó un MSEA (Tabla 6).



**Figura 5.** Genes diferencialmente expresados entre los grupos. A) Volcano plot de regiones génicas. Representado el FC frente al p-value de las 4,850 regiones génicas analizadas, resaltando aquellos genes con una expresión diferencial significativa ( $p < 0.05$ ). Los círculos rojos representan mayor metilación en los hijos provenientes de embarazos con diabetes gestacional. Los círculos azules representan menor metilación en los hijos provenientes de embarazos con diabetes gestacional.

**Tabla 6.** Vías metabólicas enriquecidas en niños expuestos a diabetes gestacional.

<b>Vía</b>	<b>valor p</b>
Degradación de lisina	0.0594
Secreción de ácidos biliares	0.0721
Peroxisoma	0.0827
Síntesis y secreción de aldosterona	0.097
Toxoplasmosis	0.111
Proteólisis mediada por ubiquitina	0.133
Hepatitis C	0.15
Procesamiento de proteínas en retículo	0.158
Influenza A	0.16

### **Discusión**

La diabetes gestacional (DG) es un problema de salud mundial que afecta a las mujeres embarazadas y a sus hijos. En 2019, esta complicación afectó a 17 millones de recién nacidos en todo el mundo. De acuerdo con el Atlas de Diabetes publicado en 2019 por la Federación Internacional de Diabetes se indica que el 15.8% de los nacidos vivos en 2019 se vieron afectados por hiperglucemia durante el embarazo, de los cuales el 83.6% se debió a diabetes gestacional, el 8.5% se debió a diabetes detectada por primera vez en embarazo, y el 7.9% se debieron a diabetes detectada antes del embarazo, aumentando la susceptibilidad a desarrollar enfermedades crónicas en su vida adulta (71,72).

La obesidad, la desnutrición, el exceso de peso gestacional, el sedentarismo y el estrés favorecen la resistencia a la insulina en el embarazo y el desarrollo de DG. Si bien es cierto, que la DG puede desaparecer después del parto, las mujeres que presentaron DG durante el embarazo pueden tener un mayor riesgo de desarrollar diabetes tipo 2, preeclampsia y parto prematuro (72).

La evidencia sugiere que los mecanismos epigenéticos pudieran estar implicados en las consecuencias de la DG tanto para la madre como para la descendencia. Así, por ejemplo, se ha demostrado que en sangre de cordón umbilical de recién nacidos expuestos a DG presentan menor metilación en los genes OR2L13 y CYP2E1 (40). Con lo que respecta a la metilación de la región promotora del gen OR2L13 nuestros resultados concuerdan con la evidencia. Lo anterior, podría implicar que el patrón de metilación de este gen se mantiene hasta la edad preescolar y podría ser utilizado como un biomarcador para la identificación de los niños expuestos a DG.

Recientemente, Vastrad y colaboradores observaron que la expresión del gen FTSJ se encontraba disminuida en DG (50). En el presente estudio observamos que los niños expuestos a DG presentaban mayor porcentaje de metilación en comparación con los niños controles. Este gen es relevante en el aspecto epigenético debido a que pertenece a la familia de las metiltransferasas de clase 1 y al estar mayormente metilado podría impactar en el % de metilación del DNA.

Como se mencionó anteriormente, la obesidad pregestacional es un factor de riesgo para el desarrollo de DG. La obesidad es una condición que se caracteriza por la presencia de inflamación sistémica crónica de bajo grado. Un estudio realizado en placentas provenientes de embarazos con DG indica que el perfil de metilación de la adipocina leptina (LEP) y genes involucrados en procesos inflamatorios como la fosfodiesterasa 4B 3',5'-cíclica específica de AMPc (PDE4B), se asocia con la exposición a la hiperglucemia materna (73,74). En el presente estudio observamos que la descendencia expuesta a diabetes gestacional presenta cambios en los patrones de metilación de genes implicados en la respuesta inflamatoria (NINJ2, RBM41, MAP7D3, FUT4) (38, 43, 45, 65), así como en genes relacionados con el porcentaje de masa grasa, la ganancia de peso y el IMC (WDSUB1, NKRF, PRDM8, MBTPS2, GPSM3, BTBD11) (35, 39,42,59, 62, 69). Por otro lado, aunque no se observaron cambios en el porcentaje de metilación del gen LEP, el gen FOSL2 que regula la expresión del LEP, se encontró mayormente metilado en los niños expuestos a DG.

Se ha propuesto que el estado inflamatorio presente en la obesidad condiciona para el desarrollo de otras patologías como la resistencia a la insulina, dislipidemias e hígado graso (75). Adicionalmente, los hijos expuestos a DG presentan mayor riesgo para el desarrollo de obesidad, DT2, enfermedades cardiovasculares y asma (76). De forma interesante en nuestro estudio observamos que los niños expuestos a DG presentaban mayor porcentaje de metilación en la región promotora de genes asociados a la secreción y señalización de la insulina, al desarrollo de resistencia a la insulina y diabetes tipo 2 (IDH3G, SMS, LCLAT1, IGF2BP1, SSR4, PDE4C, FLNA y UPP1).

Un hallazgo que llamo nuestra atención en el presente estudio fue el cambio en el porcentaje de metilación de genes involucrados en procesos oncológicos, autoinmunes y neuronales. Lo anterior, posee diversas implicaciones en la salud futura de los niños expuestos a DG. Para el caso particular de los cánceres infantiles la prevención es un reto para el sistema de salud debido a que aún no se comprenden completamente las causas. Estudios realizados en adultos señalan que la presencia de obesidad y/o diabetes son factores de riesgo para el desarrollo de algunos tipos de cáncer (77). Recientemente Auger y colaboradores observaron que los niños expuestos a diabetes gestacional presentaban 20% más de riesgo de desarrollar cáncer antes de los 14 años. Para el caso de la leucemia los autores indican que el riesgo puede aumentar entre un 38% y un 90%, según el subtipo de leucemia (78). Lo anterior resalta la importancia del control glucémico durante el embarazo, así como la diagnóstico oportuno de DG.

## Conclusiones

La exposición a la diabetes gestacional induce un patrón de metilación que puede detectarse en niños en edad preescolar. Estos biomarcadores podrían ser útiles para la posterior identificación de niños expuestos a este ambiente intrauterino adverso. Finalmente, esta identificación permitiría detectar de forma temprana a aquellos individuos con mayor riesgo de desarrollar enfermedades metabólicas en la edad adulta.

## Bibliografía

1. Dainelli L, Prieto-Patron A, Silva-Zolezzi I, Sosa-Rubi SG, Espino YSS, Reyes-Munoz E, et al. Screening and management of gestational diabetes in Mexico: results from a survey of multilocation, multi-health care institution practitioners. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2018;11:105-16.
2. Burton GJ, Fowden AL, Thornburg KL. Placental Origins of Chronic Disease. *Physiol Rev.* 2016;96(4):1509-65.
3. Waterland RA, Jirtle RL. Transposable elements: targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. *Mol Cell Biol.* 2003;23(15):5293-300.
4. Sinclair KD, Allegrucci C, Singh R, Gardner DS, Sebastian S, Bispham J, et al. DNA methylation, insulin resistance, and blood pressure in offspring determined by maternal periconceptional B vitamin and methionine status. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(49):19351-6.
5. Lehnen H, Zechner U, Haaf T. Epigenetics of gestational diabetes mellitus and offspring health: the time for action is in early stages of life. *Mol Hum Reprod.* 2013;19(7):415-22.
6. Zeng Z, Liu F, Li S. Metabolic Adaptations in Pregnancy: A Review. *Ann Nutr Metab.* 2017;70(1):59-65.
7. Association AD. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care.* 2018;41(Supp 1):15.
8. IMSS. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes en el embarazo. In: IMSS, editor. México: IMSS; 2016.
9. Gupta Y, Kalra B, Baruah MP, Singla R, Kalra S. Updated guidelines on screening for gestational diabetes. *Int J Womens Health.* 2015;7:539-50.
10. NOM-015-SSA2-2010. Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. 2010. NOM-007-SSA2-2016. Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida. 2016.
11. Moon JH, Kwak SH, Jang HC. Prevention of type 2 diabetes mellitus in women with previous gestational diabetes mellitus. *Korean J Intern Med.* 2017;32(1):26-41.
12. Kim C. Maternal outcomes and follow-up after gestational diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2014;31(3):292-301.
13. Goisis A, Sacker A, Kelly Y. Why are poorer children at higher risk of obesity and overweight? A UK cohort study. *Eur J Public Health.* 2016;26(1):7-13.
14. Perng W, Rifas-Shiman SL, Kramer MS, Haugaard LK, Oken E, Gillman MW, et al. Early Weight Gain, Linear Growth, and Mid-Childhood Blood Pressure: A Prospective Study in Project Viva. *Hypertension.* 2016;67(2):301-8.
15. Srinivasan SR, Myers L, Berenson GS. Predictability of childhood adiposity and insulin for developing insulin resistance syndrome (syndrome X) in young adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Diabetes.* 2002;51(1):204-9.
16. Zhang H, Zhang T, Li S, Li Y, Hussain A, Fernandez C, et al. Long-term Impact of Childhood Adiposity on Adult Metabolic Syndrome Is Modified by Insulin Resistance: The Bogalusa Heart Study. *Sci Rep.* 2015;5:17885.

17. Agosti M, Tandoi F, Morlacchi L, Bossi A. Nutritional and metabolic programming during the first thousand days of life. *Pediatr Med Chir.* 2017;39(2):157.
18. Vickers MH. Early life nutrition, epigenetics and programming of later life disease. *Nutrients.* 2014;6(6):2165-78.
19. Indrio F, Martini S, Francavilla R, Corvaglia L, Cristofori F, Mastrolia SA, et al. Epigenetic Matters: The Link between Early Nutrition, Microbiome, and Long-term Health Development. *Front Pediatr.* 2017;5:178.
20. Kerr B, Leiva A, Farias M, Contreras-Duarte S, Toledo F, Stolzenbach F, et al. Foetoplacental epigenetic changes associated with maternal metabolic dysfunction. *Placenta.* 2018;69:146-52.
21. Iurlaro M, von Meyenn F, Reik W. DNA methylation homeostasis in human and mouse development. *Curr Opin Genet Dev.* 2017;43:101-9.
22. Reik W. Stability and flexibility of epigenetic gene regulation in mammalian development. *Nature.* 2007;447(7143):425-32.
23. Greenberg MVC, Bourc'his D. The diverse roles of DNA methylation in mammalian development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2019;20(10):590-607.
24. Feinberg AP, Irizarry RA. Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Stochastic epigenetic variation as a driving force of development, evolutionary adaptation, and disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107 Suppl 1:1757-64.
25. Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(44):17046-9.
26. Gutiérrez JPR-DJ. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. In: Publica INdS, editor. Mexico: INP; 2012.
27. Hjort L, Martino D, Grunnet LG, Naeem H, Maksimovic J, Olsson AH, et al. Gestational diabetes and maternal obesity are associated with epigenome-wide methylation changes in children. *JCI Insight.* 2018;3(17).
28. Kim E, Kwak SH, Chung HR, Ohn JH, Bae JH, Choi SH, et al. DNA methylation profiles in sibling pairs discordant for intrauterine exposure to maternal gestational diabetes. *Epigenetics.* 2017;12(10):825-32.
29. Ott R, Stupin JH, Melchior K, Schellong K, Ziska T, Dudenhausen JW, et al. Alterations of adiponectin gene expression and DNA methylation in adipose tissues and blood cells are associated with gestational diabetes and neonatal outcome. *Clinical Epigenetics.* 2018;10(1).
30. Ott R, Melchior K, Stupin JH, Ziska T, Schellong K, Henrich W, et al. Reduced insulin receptor expression and altered DNA methylation in fat tissues and blood of women with GDM and offspring. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2018;104(1):137-49.
31. Yang IV, Zhang W, Davidson EJ, Fingerlin TE, Kechris K, Dabelea D. Epigenetic marks of in utero exposure to gestational diabetes and childhood adiposity outcomes: The Epoch Study. *Diabetic Medicine.* 2018;35(5):612-20.
32. Mansell T, Ponsonby A-L, Collier F, Burgner D, Vuillermin P, Lange K, et al. Genetic variation, intrauterine growth, and adverse pregnancy conditions predict leptin gene DNA methylation in blood at birth and 12 months of age. *International Journal of Obesity.* 2019;44(1):45-56.
33. Chen D, Zhang A, Fang M, Fang R, Ge J, Jiang Y, et al. Increased methylation at differentially methylated region of gnasin infants born to gestational diabetes. *BMC Medical Genetics.* 2014;15(1).
34. Mulder, R.H. et al. Epigenome-wide change and variation in DNA methylation from birth to late adolescence. *Hum Mol Genet.* 2021 Mar 25;30(1):119-134. <http://epidelta.mrcieu.ac.uk/>
35. Gerhard GS, Styer AM, Strodel WE, Roesch SL, Yavorek A, Carey DJ, Wood GC, Petrick AT, Gabrielsen J, Ibele A, Benotti P, Rolston DD, Still CD, Argyropoulos G. Gene expression profiling in subcutaneous, visceral and epigastric adipose tissues of patients with extreme obesity. *Int J Obes (Lond).* 2014 Mar;38(3):371-8. doi: 10.1038/ijo.2013.152. Epub 2013 Aug 16. PMID: 23949615; PMCID: PMC3925764.



36. Zou G, Park JI. WNT Signaling in Liver Regeneration, Disease, and Cancer. *Clin Mol Hepatol*. 2022 Jul 4. doi: 10.3350/cmh.2022.0058. Epub ahead of print. PMID: 35785913.
37. He J, Li X, Zhang Y, Zhang Q, Li L. Comprehensive Analysis of ceRNA Regulation Network Involved in the Development of Coronary Artery Disease. *Biomed Res Int*. 2021 Jan 14;2021:6658115. doi: 10.1155/2021/6658115. PMID: 33511207; PMCID: PMC7822659.
38. Margolis KG, Stevanovic K, Karamooz N, Li ZS, Ahuja A, D'Autréaux F, Saurman V, Chalazonitis A, Gershon MD. Enteric neuronal density contributes to the severity of intestinal inflammation. *Gastroenterology*. 2011 Aug;141(2):588-98, 598.e1-2. doi: 10.1053/j.gastro.2011.04.047. Epub 2011 Apr 28. PMID: 21635893; PMCID: PMC4459707.
39. Sun D, Chen J, Wu W, Tang J, Luo L, Zhang K, Jin L, Lin S, Gao Y, Yan X, Zhang C. MiR-802 causes nephropathy by suppressing NF- $\kappa$ B-repressing factor in obese mice and human. *J Cell Mol Med*. 2019 Apr;23(4):2863-2871. doi: 10.1111/jcmm.14193. Epub 2019 Feb 7. PMID: 30729676; PMCID: PMC6433720.
40. Lizárraga D, García-Gasca A. The Placenta as a Target of Epigenetic Alterations in Women with Gestational Diabetes Mellitus and Potential Implications for the Offspring. *Epigenomes*. 2021 May 10;5(2):13. doi: 10.3390/epigenomes5020013. PMID: 34968300; PMCID: PMC8594713.
41. Hu L, Tao Z, Wu X. Insights into auto-S-fatty acylation: targets, druggability, and inhibitors. *RSC Chem Biol*. 2021 Aug 25;2(6):1567-1579. doi: 10.1039/d1cb00115a. PMID: 34977571; PMCID: PMC8637764.
42. Ouni, M., Schürmann, A., 2020. Epigenetic contribution to obesity. *Mammalian Genome* 31, 134–145.. doi:10.1007/s00335-020-09835-3
43. Eizirik DL, Szymczak F, Alvelos MI, Martin F. From Pancreatic  $\beta$ -Cell Gene Networks to Novel Therapies for Type 1 Diabetes. *Diabetes*. 2021 Sep;70(9):1915-1925. doi: 10.2337/dbi20-0046. Epub 2021 Aug 20. PMID: 34417266; PMCID: PMC8576417.
44. Zhu HX, Lu WJ, Zhu WP, Yu S. Comprehensive analysis of N6 -methyladenosine-related long non-coding RNAs for prognosis prediction in liver hepatocellular carcinoma. *J Clin Lab Anal*. 2021 Dec;35(12):e24071. doi: 10.1002/jcla.24071. Epub 2021 Nov 5. PMID: 34741346; PMCID: PMC8649367.
45. Xu X, Zhang L, Zhao Y, Xu B, Qin W, Yan Y, Yin B, Xi C, Ma L. Anti inflammatory mechanism of berberine on lipopolysaccharide induced IEC 18 models based on comparative transcriptomics. *Mol Med Rep*. 2020 Dec;22(6):5163-5180. doi: 10.3892/mmr.2020.11602. Epub 2020 Oct 14. PMID: 33174609; PMCID: PMC7646980.
46. Manso, J.A., Marcos, T., Ruiz-Martín, V., Casas, J., Alcón, P., Sánchez Crespo, M., Bayón, Y., De Pereda, J.M., Alonso, A., 2022. PSTPIP1-LYP phosphatase interaction: structural basis and implications for autoinflammatory disorders. *Cellular and Molecular Life Sciences* 79.. doi:10.1007/s00018-022-04173-w
47. Yun HR, Jo YH, Kim J, Nguyen NNY, Shin Y, Kim SS, Choi TG. Palmitoyl Protein Thioesterase 1 Is Essential for Myogenic Autophagy of C2C12 Skeletal Myoblast. *Front Physiol*. 2020 Oct 15;11:569221. doi: 10.3389/fphys.2020.569221. PMID: 33178040; PMCID: PMC7593845.
48. Oved, J.H., Stanley, N., Babushok, D.V., Huang, Y., Duke, J.L., Monos, D.S., Teachey, D.T., Olson, T.S., 2019. Development of hemolytic paroxysmal nocturnal hemoglobinuria without graft loss following hematopoietic stem cell transplantation for acquired aplastic anemia. *Pediatric Transplantation* 23, e13393.. doi:10.1111/petr.13393
49. Diamanti K, Cavalli M, Pereira MJ, Pan G, Castillejo-López C, Kumar C, Mundt F, Komorowski J, Deshmukh AS, Mann M, Korsgren O, Eriksson JW, Wadelius C. Organ-specific metabolic pathways distinguish prediabetes, type 2 diabetes, and normal tissues. *Cell Rep Med*. 2022 Oct 18;3(10):100763. doi: 10.1016/j.xcrm.2022.100763. Epub 2022 Oct 4. PMID: 36198307; PMCID: PMC9589007.
50. Vastrad, B., Vastrad, C., 2021. Identification of differentially expressed genes and signaling pathways in gestational diabetes mellitus by integrated bioinformatics analysis.. doi:10.1101/2021.11.24.469869

51. Quoc Lam, B., Shrivastava, S.K., Shrivastava, A., Shankar, S., Srivastava, R.K., 2020. The Impact of obesity and diabetes mellitus on pancreatic cancer: Molecular mechanisms and clinical perspectives. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 24, 7706–7716.. doi:10.1111/jcmm.15413
52. Fernandez-Garcia JC, Delpino-Rius A, Samarra I, Castellano-Castillo D, Muñoz-Garach A, Bernal-Lopez MR, Queipo-Ortuño MI, Cardona F, Ramos-Molina B, Tinahones FJ. Type 2 Diabetes Is Associated with a Different Pattern of Serum Polyamines: A Case-Control Study from the PREDIMED-Plus Trial. *J Clin Med*. 2019 Jan 10;8(1):71. doi: 10.3390/jcm8010071. PMID: 30634588; PMCID: PMC6352090.
53. Torres, R.J., Puig, J.G., 2007. Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiency: Lesch-Nyhan syndrome. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2, 48.. doi:10.1186/1750-1172-2-48
54. Yan C, Zhao J, Qin Y, Zhao F, Ji L and Zhang J: Overexpression of ATG4a promotes autophagy and proliferation, and inhibits apoptosis in lens epithelial cells via the AMPK and Akt pathways. *Mol Med Rep* 22: 1295-1302, 2020
55. Baca, P., Barajas-Olmos, F., Mirzaeicheshmeh, E. et al. DNA methylation and gene expression analysis in adipose tissue to identify new loci associated with T2D development in obesity. *Nutr. Diabetes* 12, 50 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41387-022-00228-w>
56. Kang J, Lee CN, Li HY, Hsu KH, Lin SY. Genome-wide DNA methylation variation in maternal and cord blood of gestational diabetes population. *Diabetes Res Clin Pract*. 2017 Oct;132:127-136. doi: 10.1016/j.diabres.2017.07.034. Epub 2017 Aug 9. PMID: 28834773.
57. Wrann CD, Eguchi J, Bozec A, Xu Z, Mikkelsen T, Gimble J, Nave H, Wagner EF, Ong SE, Rosen ED. FOSL2 promotes leptin gene expression in human and mouse adipocytes. *J Clin Invest*. 2012 Mar;122(3):1010-21. doi: 10.1172/JCI58431. Epub 2012 Feb 13. PMID: 22326952; PMCID: PMC3322535.
58. Huang Y, Xu X, Arvan P, Liu M. Deficient endoplasmic reticulum translocon-associated protein complex limits the biosynthesis of proinsulin and insulin. *FASEB J*. 2021 May;35(5):e21515. doi: 10.1096/fj.202002774R. PMID: 33811688; PMCID: PMC8106808.
59. Lemmer IL, Willemsen N, Hilal N, Bartelt A. A guide to understanding endoplasmic reticulum stress in metabolic disorders. *Mol Metab*. 2021 May;47:101169. doi: 10.1016/j.molmet.2021.101169. Epub 2021 Jan 20. PMID: 33484951; PMCID: PMC7887651.
60. Lin Y, Zhou H, Li S. BTN3A2 Expression Is Connected With Favorable Prognosis and High Infiltrating Immune in Lung Adenocarcinoma. *Front Genet*. 2022 Jul 6;13:848476. doi: 10.3389/fgene.2022.848476. PMID: 35873496; PMCID: PMC9298880.
61. Ibaraki, K., Mizuno, M., Aoki, H., Niwa, A., Iwamoto, I., Hara, A., Tabata, H., Ito, H., Nagata, K.-I., 2018. Biochemical and Morphological Characterization of a Guanine Nucleotide Exchange Factor ARHGEF9 in Mouse Tissues. *ACTA HISTOCHEMICA ET CYTOCHEMICA* 51, 119–128.. doi:10.1267/ahc.18009
62. Martin CL, Jima D, Sharp GC, McCullough LE, Park SS, Gowdy KM, Skaar D, Cowley M, Maguire RL, Fuemmeler B, Collier D, Relton CL, Murphy SK, Hoyo C. Maternal pre-pregnancy obesity, offspring cord blood DNA methylation, and offspring cardiometabolic health in early childhood: an epigenome-wide association study. *Epigenetics*. 2019 Apr;14(4):325-340. doi: 10.1080/15592294.2019.1581594. Epub 2019 Mar 26. PMID: 30773972; PMCID: PMC6557549.
63. Zheng Y, Sun S, Yu M, Fu X. Identification of potential hub-lncRNAs in ischemic stroke based on Subpathway-LNCE method. *J Cell Biochem*. 2019 Aug;120(8):12832-12842. doi: 10.1002/jcb.28554. Epub 2019 Mar 18. PMID: 30882937.
64. Heimann E, Jones HA, Resjö S, Manganiello VC, Stenson L, Degerman E. Expression and regulation of cyclic nucleotide phosphodiesterases in human and rat pancreatic islets. *PLoS One*. 2010 Dec 1;5(12):e14191. doi: 10.1371/journal.pone.0014191. PMID: 21152070; PMCID: PMC2995729.
65. Stepanova M, Hossain N, Afendy A, Perry K, Goodman ZD, Baranova A, Younossi Z. Hepatic gene expression of Caucasian and African-American patients with obesity-related non-alcoholic

- fatty liver disease. *Obes Surg.* 2010 May;20(5):640-50. doi: 10.1007/s11695-010-0078-2. Epub 2010 Jan 30. PMID: 20119733.
66. M. Xiong, Y.-Y. Wang, W.-W. Guo, S.-W. Cai, X.-Y. Ning, H.-Y. Yang, X.-W. Chen, B. Li, M. Xu A common variant rs2272804 in the 5'UTR of RIBC2 inhibits downstream gene expression by creating an upstream open reading frame
  67. Aksaas AK, Larsen AC, Rogne M, Rosendal K, Kvissel AK, Skålhegg BS. G-patch domain and KOW motifs-containing protein, GPKOW; a nuclear RNA-binding protein regulated by protein kinase A. *J Mol Signal.* 2011 Aug 31;6:10. doi: 10.1186/1750-2187-6-10. PMID: 21880142; PMCID: PMC3179746.
  68. Motallebipour M, Enroth S, Punga T, Ameer A, Koch C, Dunham I, Komorowski J, Ericsson J, Wadelius C. Novel genes in cell cycle control and lipid metabolism with dynamically regulated binding sites for sterol regulatory element-binding protein 1 and RNA polymerase II in HepG2 cells detected by chromatin immunoprecipitation with microarray detection. *FEBS J.* 2009 Apr;276(7):1878-90. doi: 10.1111/j.1742-4658.2009.06914.x. PMID: 19292868.
  69. Lee YC, Christensen JJ, Parnell LD, Smith CE, Shao J, McKeown NM, Ordovás JM, Lai CQ. Using Machine Learning to Predict Obesity Based on Genome-Wide and Epigenome-Wide Gene-Gene and Gene-Diet Interactions. *Front Genet.* 2022 Jan 3;12:783845. doi: 10.3389/fgene.2021.783845. PMID: 35047011; PMCID: PMC8763388.
  70. Jourdain, A.A., Skinner, O.S., Kawakami, A., Goodman, R.P., Shen, H., Kemény, L.V., Joesch-Cohen, L., Rees, M.G., Roth, J.A., Fisher, D.E., Mootha, V.K., 2021. Salvage of Ribose from Uridine or RNA Supports Glycolysis when Glucose is Limiting.. doi:10.1101/2021.06.10.447789
  71. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas, 9th ed.*; International Diabetes Federation: Brussels, Belgium, 2019; p. 53.
  72. Ott, R., Stupin, J.H., Loui, A., Eilers, E., Melchior, K., Rancourt, R.C., Schellong, K., Ziska, T., Dudenhausen, J.W., Henrich, W., Plagemann, A., 2018. Maternal overweight is not an independent risk factor for increased birth weight, leptin and insulin in newborns of gestational diabetic women: observations from the prospective 'EaCH' cohort study. *BMC Pregnancy and Childbirth* 18.. doi:10.1186/s12884-018-1889-8
  73. Bouchard, L., Thibault, S., Guay, S.-P., Santure, M., Monpetit, A., St-Pierre, J., Perron, P., Brisson, D., 2010. Leptin Gene Epigenetic Adaptation to Impaired Glucose Metabolism During Pregnancy. *Diabetes Care* 33, 2436–2441. doi:10.2337/dc10-1024
  74. Cardenas, A., Gagné-Ouellet, V., Allard, C., Brisson, D., Perron, P., Bouchard, L., Hivert, M.-F., 2018. Placental DNA Methylation Adaptation to Maternal Glycemic Response in Pregnancy. *Diabetes* 67, 1673–1683.. doi:10.2337/db18-0123
  75. Marcos-Gómez B, Bustos M, Prieto J, Martínez JA, Moreno-Aliaga MJ. Obesidad, inflamación e insulino-resistencia: papel de los ligandos del receptor gp 130 [Obesity, inflammation and insulin resistance: role of gp 130 receptor ligands]. *An Sist Sanit Navar.* 2008 May-Aug;31(2):113-23. Spanish. doi: 10.4321/s1137-66272008000300002. PMID: 18953360.
  76. Gomes, D., Von Kries, R., Delius, M., Mansmann, U., Nast, M., Stubert, M., Langhammer, L., Haas, N.A., Netz, H., Obermeier, V., Kuhle, S., Holdt, L.M., Teupser, D., Hasbargen, U., Roscher, A.A., Ensenauer, R., 2018. Late-pregnancy dysglycemia in obese pregnancies after negative testing for gestational diabetes and risk of future childhood overweight: An interim analysis from a longitudinal mother-child cohort study. *PLOS Medicine* 15, e1002681.. doi:10.1371/journal.pmed.1002681
  77. Zhang, A.M.Y., Wellberg, E.A., Kopp, J.L., Johnson, J.D., 2021. Hyperinsulinemia in Obesity, Inflammation, and Cancer. *Diabetes & Metabolism Journal* 45, 285–311.. doi:10.4093/dmj.2020.0250
  78. Huang, X., Hansen, J., Lee, P.-C., Wu, C.-K., Federman, N., Arah, O.A., Li, C.-Y., Olsen, J., Ritz, B., Heck, J.E., 2022. Maternal diabetes and childhood cancer risks in offspring: two population-based studies. *British Journal of Cancer* 127, 1837–1842.. doi:10.1038/s41416-022-01961-w