

ORIGINALES

Modulación genética sobre los cambios hemostáticos en la diabetes gestacional

M. de la Flor^a, R.M. Miralles^a, C. Gutiérrez-Fornés^b, J.J. Vendrell^b y J. Galera^a

^aServicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Universitari de Tarragona Joan XXIII. Tarragona. ^bUnitat de Recerca. Hospital Universitari de Tarragona Joan XXIII. Tarragona. España.

ABSTRACT

Objective: To determine the genetic susceptibility of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and glycoprotein (GP) IIb/IIIa platelet receptor genes in the pathogenesis of the coagulation system activation in gestational diabetes (GD).

Material and methods: Samples were taken from 151 pregnant women, n = 74 gestational diabetes and n = 77 control group. The genetic polymorphisms for the GP IIb/IIIa and PAI-1 genes were determined and coagulation system parameters (tissue factor, S protein, C protein, antithrombin III, factor II, fibrinogen, TPTA, thromboplastin and D-dimers) were measured. Statistical significance was if a computed two-tailed probability was less than 5% (p = 0.05).

Results: 4G allele was associated with a greater risk factor for developing complications in women with GD (32% vs 53.1% for the presence and absence of complications, respectively). In the GD group the fibrinogen values were significantly different for the A1A1 genotype and the A1A1/5G5G haplotype (p < 0.05).

Conclusions: The association of some allelic-genotype combinations of the markers analyzed in the GD group seems to have a genetic participation in the variability of some coagulation parameters in this population.

cardiovascular¹. En la DM se puede producir una activación del sistema de la coagulación mediada por la lesión del endotelio vascular que puede causar las hiperglucemias². Los cambios que sufre la célula endotelial (EC) en la DM se han descrito ampliamente; sin embargo, se dispone de escasos datos sobre las alteraciones del endotelio y el sistema hemostático en la diabetes gestacional (DG). El cuadro fisiopatológico que se produce en la DM puede superponerse a algunos casos de DG, sobre todo en pacientes insulinodependientes con complicaciones materno-fetales^{3,4}. Por tanto, una detección temprana del inicio de la lesión de la célula endotelial a través de las alteraciones del sistema hemostático podría poner sobre aviso del grupo de DG que pueden sufrir complicaciones durante el embarazo.

Por otro lado, algunos autores han postulado que la presencia de determinados alelos del receptor de la glucoproteína de membrana plaquetaria IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) se relacionan con el desarrollo de alteraciones en el sistema hemostático y síntomas de enfermedad coronaria en la población general^{5,6}. De la misma manera, algunos estudios señalan el papel de los distintos polimorfismos del gen del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) y su susceptibilidad para desarrollar enfermedad coronaria⁷.

De este modo, parece que existe una variabilidad interindividual considerable en la activación del proceso arteriosclerótico y el daño tisular, así como en los mecanismos de regulación del fenómeno de la coagulación. Esta mayor o menor susceptibilidad viene determinada parcialmente por mecanismos de control genético. Dado que el daño endotelial puede desencadenar la activación del sistema de la coagulación creemos que sería interesante evaluar el papel que puede desempeñar la susceptibilidad genética en la DG en la patogenia de la activación del sistema de la coagulación.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) se ha incluido dentro de los factores de riesgo para desarrollar enfermedad

Aceptado para su publicación el 3 de febrero de 2004.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se tomaron muestras de sangre en la vena antecubital de las pacientes mediante vacutainer en tubos con citrato sódico y con ácido etilendiaminetetracético (EDTA), entre las semanas 16 y 36 de embarazo. El ADN se extrajo del tubo con EDTA, y las muestras se congelaron a -20°C . Todas las muestras para la determinación de los parámetros de la coagulación se centrifugaron en las 4 h siguientes a su extracción a 3.500 rpm y durante 15 min, y se congelaron a -80°C hasta su utilización. Posteriormente, atendiendo a la evolución de la gestación y a los resultados perinatales, los grupos se dividieron en gestantes sin enfermedad asociada ($n = 77$) y mujeres con DG ($n = 74$), según los criterios del National Diabetes Data Group⁸; este último grupo se subdividió en gestantes con DG con complicaciones en los controles ($n = 35$) y sin ellas ($n = 39$). Se consideraron DG complicadas las que presentaron oligoamnios o polihidramnios, fetos pequeños para la edad gestacional (PEG) o grandes para la edad gestacional (GEG) y necesidad de insulinización materna.

Extracción del ADN

Inicialmente se lisaron las células por incubación de la muestra en agitación y se procedió a la precipitación del ADN. Se recuperó el ADN y se cuantificó mediante lectura de la absorbancia de la muestra.

Detección por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del gen del receptor de la GP IIb/IIIa

El polimorfismo consiste en una mutación puntual de la citosina por timidina en la posición 198 en el exón 2 del gen en el cromosoma 17q21. Se sometió el ADN a los procesos de amplificación, desnaturalización, hibridación y extensión, sucesivamente. La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 50 μl con 100 ng de muestra, 1,6 mM de MgCl_2 , 0,1 nM de cada dNTP (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania), 0,1 mM de cada oligonucleótido y 1 U de Taq polimerasa (Gibco BRL). Se procedió a la electroforesis con un gel de agarosa y a la aplicación de un campo eléctrico de 120 V, con 10 V/cm de gel durante 30-60 min. Una vez asegurada la amplificación, se procedió a la digestión de parte del producto con la enzima de restricción MspI. Se preparó un nuevo gel y se obtuvo un polimorfismo dialélico con 3 bandas de distinto tamaño: una de 106 pb correspondiente al alelo A1 (ausencia de sitio de restricción) y un con-

junto de 67 y 39 pb del alelo A2 (presencia de sitio de restricción).

Detección por PCR del gen del PAI-1 (inserción/delección C de la región promotora 7q)

El gen del PAI-1 se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 7 (7q). Se trata de un polimorfismo de inserción/delección de una sola base, la citosina, situada en la región promotora, 675 pb por encima del sitio de inicio de la transcripción. La inserción se denomina 5G y la delección, 4G. La técnica que se utiliza se denomina ASO-PCR (oligonucleótidos específicos de alelo) y consiste en una doble amplificación con unos alelos comunes que sirven como control y un oligonucleótido específico para el alelo que se quiera amplificar. Cada reacción se llevó a cabo en un volumen final de 25 μl , con 1,5 mM de MgCl_2 , 0,2 nM de cada dNTP (Boehringer Mannheim, Mannheim, Alemania), 0,2 μM de cada oligonucleótido y 1 U de Taq polimerasa (Gibco BRL). El ADN se sometió, sucesivamente, a una desnaturalización, una amplificación, una hibridación y una extensión. Los productos de la PCR se sometieron a una electroforesis con gel. El alelo que se esté amplificando dará lugar a una banda de 139 pb, y la banda de control tendrá 267 pb.

Parámetros de la coagulación

– *Factor tisular (TF)*: su determinación se llevó a cabo con la técnica de ELISA, mediante el *kit* comercial (IMUBIND Tissue Factor. American Diagnostica, Inc., Greenwich, Estados Unidos), que cuantifica el TF libre, el unido a las apoproteínas y el unido al factor VII. Su variabilidad intraensayo es del 4,2-6%, y la interensayo, del 5-5,6%.

– *Proteína S libre*: se determina mediante la técnica EIA (ensayo inmunoenzimático) de Sandwich, en un solo paso (Asserachrom Free Protein S, Boehringer Mannheim-Diagnostica, Stago, Francia), que es un método antigénico. Su variabilidad intraensayo es del 1,4-2,1%, y la interensayo, del 1,5-2,5%.

– *Proteína C total*: se utiliza un ensayo inmunoenzimático (Asserachrom, Protein C, Boehringer Mannheim-Diagnostica, Stago, Francia), basado en el método de Sandwich. Su variabilidad intraensayo es del 3-6%, y la interensayo, del 5-10%.

– *Antitrombina III (AT III)*: se utiliza un método funcional amidolítico (IL test. Instrumentation Laboratory, Italia). Su variabilidad intraensayo es del 4-5%, y la interensayo, del 5-5,3%.

TABLA I. Variables epidemiológicas y clínicas consideradas en los distintos grupos

	GESTANTES II Y III T (N = 77)	GESTANTES CON DIABETES GESTACIONAL (N = 74)	p
Edad	30 (20-41)	32 (27-44)	NS
Paridad			
Múltipara	46,5%	55,1%	NS
Nulípara	53,5%	44,9%	NS
IMCi (kg/m ²)	23,5 (15,94-42,22)	23,5 (18,13-43,28)	NS
IMCf (kg/m ²)	27,7 (22,42-43,55)	28,22 (23,04-44,82)	NS
EG muestra (semanas)	25 (16-36)	31 (16-36)	NS
EG inicio tratamiento (semanas)		32 (16-36)	NS
Duración tratamiento (semanas)		7,2 (1-22)	NS

Medias y desviación estándar en las variables de distribución normal. Medianas, máximo y mínimo en las variables no normales y porcentajes en la paridad.

NS: no significativo; IMCi: índice de masa corporal al inicio del embarazo; IMCf: índice de masa corporal al final del embarazo; EG: edad gestacional.

– *Fibrinógeno*: determinación mediante trombo-plastina cálcica de alta sensibilidad para la cuantificación simultánea del fibrinógeno y el tiempo de protrombina (TP) (IL test, Instrumentation Laboratory, Italia). Su variabilidad intraensayo es del 4,5-5,3%, y la interensayo, del 1,4-8,9%.

– *Tiempo parcial de tromboplastina activada (TPTA)*: se utiliza un activador de contacto que estimula la producción del factor XIIa y el desencadenamiento de las reacciones para la formación del coágulo (IL test, Instrumentation Laboratory, Italia). Su variabilidad intraensayo es del 1,08-2,1%, y la interensayo, del 0,89-1,2%.

La recogida de datos se llevó a cabo mediante la utilización de la hoja de cálculo del paquete informático Excel 97 para Windows 98. El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS/PC 9.0 para Windows. La normalidad de las variables se comprobó mediante la prueba de Shapiro-Wilks. Para las variables con distribución normal se utilizaron las pruebas de Student-Fisher y ANOVA. Para las variables que no se distribuyeron con una curva de normalidad se utilizaron los tests de la U de Mann Whitney y de Kruskal Wallis, con un intervalo de confianza (IC) de la media del 95%. El nivel de significación aceptado fue de $p < 0,5$.

RESULTADOS

Datos epidemiológicos y clínicos

Los datos epidemiológicos y clínicos de cada grupo se recogen en la tabla I. Del grupo de DG, en un 10,4% del total el parto se inició con una inducción o una cesárea electiva. La mayoría de los partos del grupo de gestantes sin enfermedad se inició de forma

espontánea (94,6%). El porcentaje de fetos GEG fue del 4,1% en el grupo de DG, y del 2,6% en el de gestantes control, diferencia que no fue significativa. Los fetos PEG quedaron claramente incluidos en el grupo de mujeres con complicaciones. Del total de PEG, un 65% perteneció al grupo de DG.

Estudio de los polimorfismos genéticos del receptor de la GP IIb/IIIa

Las frecuencias genotípicas observadas en el grupo de gestantes sanas no mostraron diferencias significativas al compararlas con las del grupo de DG. El 79,7% de las gestantes sanas presentaba la combinación A1/A1, frente a un 73,6% en el grupo de gestantes con DG, y en un 18,8% de éstas se observó la combinación A1/A2, frente a un 25% en el grupo de DG.

Asimismo, tampoco se observaron diferencias cuando se comparó la distribución genotípica entre las pacientes con DG con y sin complicaciones: presencia de la combinación A1/A1 en un 72,5% de las DG sin complicaciones frente a un 75% en el grupo con complicaciones, y presencia de un 27,5% de A1A2 en el grupo de DG sin complicaciones frente a un 21,9% en las DG con alguna complicación.

Al clasificar a las pacientes según la presencia en su genotipo del alelo A2, tal como se había descrito en la población normal como marcador de riesgo trombótico, no se observaron diferencias entre las pacientes con DG con y sin complicaciones. El 72,5% de las pacientes con DG sin complicaciones presentó la combinación A1/A1, frente a un 75% de las DG con complicaciones, y en un 27,5% de las DG sin complicaciones se observó el resto de las combinaciones genotípicas, frente a un 25% del grupo de DG con complicaciones.

TABLA II. Distribución de frecuencias para los alelos analizados en el PAI-1 en la diabetes gestacional con y sin complicaciones

	GRUPO DE DIABETES GESTACIONAL SIN COMPLICACIONES (N = 39) (%)	GRUPO DE DIABETES GESTACIONAL CON COMPLICACIONES (N = 35) (%)
4G	37,2	53,1
5G	62,8	46,9

Fisher: $p < 0,05$ ($p = 0,041$). PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno-1.

Estudio de los polimorfismos para el PAI-1

Si se comparan las frecuencias genotípicas en el PAI-1 en los grupos de gestantes normales y con DG, no se obtienen diferencias significativas. El 28,8% de las gestantes sanas presenta genotipo 4G/4G frente a un 26,8% de las embarazadas con DG, y un 30,5% de las sanas presenta la combinación 5G/5G frente a un 38% de las DG.

Si se comparan los mismos genotipos del PAI-1 entre DG con y sin complicaciones, tampoco se obtienen diferencias significativas entre los grupos. El genotipo 4G/4G aparece en un 20,5 y un 34,4% de las DG sin y con complicaciones, respectivamente, y un 46,2 y un 28,1%, respectivamente, de las mujeres sin y con complicaciones presentaron el genotipo 5G/5G.

Igualmente, al separar al grupo de mujeres con el genotipo 5G/5G, considerado como de menor riesgo trombótico, frente a otras combinaciones genéticas, en las DG con y sin complicaciones (el 28,1 y el 46,1%, respectivamente), no se observaron diferencias significativas, a pesar de que se evidenció una cierta tendencia en el grupo de DG con complicaciones a presentar los genotipos con-

TABLA III. Distribución de frecuencias para el haplotipo de riesgo y el resto en las DG con y sin complicaciones

	GRUPO DE DIABETES GESTACIONAL SIN COMPLICACIONES (N = 39) (%)	GRUPO DE DIABETES GESTACIONAL CON COMPLICACIONES (N = 35) (%)
Ausencia de riesgo	38,5	15,6
Resto	61,5	84,4

Fisher: $p < 0,05$ ($p = 0,029$).

siderados de mayor riesgo trombótico (un 53,8 y un 71,8% en las DG sin y con complicaciones, respectivamente).

La presencia del alelo 4G se asoció de forma estadísticamente significativa con mayor riesgo de presentar complicaciones entre las DG (tabla II)

Polimorfismos para el haplotipo GPIIb/IIIa más PAI-1

La distribución de frecuencias para el haplotipo considerado de no riesgo (5G/5G y A1/A1) frente al resto de combinaciones mostró diferencias significativas entre los grupo de DG sin y con complicaciones. Los resultados se recogen en la tabla III.

Estudio de las relaciones entre los parámetros de la hemostasia analizados y los diferentes genotipos para la GP IIB/IIIa y el PAI-1 en el grupo de gestantes sin enfermedad

En la tabla IV se analizan los valores de los distintos parámetros de la hemostasia analizados en el grupo de gestantes en el segundo y el tercer trimestres sin enfermedad asociada, en relación con los distintos

TABLA IV. Grupo control. Valores de la hemostasia en los distintos genotipos estudiados en gestantes II- IIIIT sin patología

	GLUCOPROTEÍNA		PAI-1		GLUCO-PAI	
	A1/A1	RESTO	5G/5G	RESTO	5G/5G-A1/A1	RESTO
Plaquetas (1.000/ l)	209,5 (65-395)	250 (146-353)	224 (146-395)	205 (65-353)	224 (153-395)	205 (65-353)
F II (%)	119 (96-211)	111 (102-123)	118 (105-164)	115 (96-211)	120 (111-164)	114 (96-211)
Fibrinógeno (mg/dl)	485 (157-722)	472 (436-564)	499 (416-590)	471 (157-722)	511 (416-590)	471 (157-722)
Proteína C (%)	82,2 (71-91,4)	78,9 (73,4-90,2)	83,1 (73,4-90,2)	80,2 (71-91,4)	83,1 (80,5-89,4)	79,9 (71-91,4)
Proteína S (%)	57,9 (32-85)	51,5 (42,8-69,5)	58,4 (32-69,5)	54,5 (42,7-85)	59,8 (32-69,5)	54,1 (42,7-85)
AT III (%)	117 (83-142)	113 (95-139)	120,5 (98-142)	113 (83-139)	120 (98-142)	113 (83-139)
TP (s)	11,05 (10,2-12,5)	11,1 (10-12,5)	11 (10,2-12,5)	11 (10-12,5)	10,8 (10,2-11,4)	11 (10-12,5)
TPTA (s)	29,1 (24,1-43,7)	28,8 (25,4-31,1)	28,2 (25,4-35,3)	29,2 (24,1-43,7)	28,2 (25,7-35,3)	29,1 (24,1-43,7)
TF (pg/ml)	54,4 (29,5-160,6)	47,7 (26,1-79,6)	55,7 (36-160,6)	53,7 (26,5-102,4)	54,3 (36-160,6)	54 (26,5-102,4)

U de Mann-Whitney. PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno-1; TF: factor tisular; TP: tiempo de protrombina; TPTA: tiempo parcial de tromboplastina activada; F II: factor II; AT III: antitrombina III.

TABLA V. Valores de la hemostasia en los diferentes genotipos en el grupo de gestantes con diabetes gestacional

	GLUCOPROTEÍNA		PAI-1		GLUCO-PAI	
	A1/A1	RESTO	5G/5G	RESTO	5G/5G-A1/A1	RESTO
Plaquetas (1.000/ l)	204 (131-369)	240 (123-295)	210 (131-280)	231 (123-369)	200 (131-280)	235 (123-369)
F II (%)	174,5 (104-240)	182 (111-205)	159 (122-198)	184 (104-240)*	159 (122-190)	185,5 (104-240)*
Fibrinógeno (mg/dl)	532 (362-735)*	474,5 (327-563)	487 (362-712)	521 (327-735)	505,5 (362-712)	514 (327-735)
Proteína C (%)	78,6 (68,2-88,2)	75,45 (64,6-80,2)	76 (70,1-83,1)	78,7 (64,6-88,2)	75,8 (70,1-83,1)	78,6 (64,6-88,2)
Proteína S (%)	46,7 (29,3-55,8)	43,7 (34,7-48)	42,4 (29,3-55,1)	46,4 (31-55,8)	46,4 (29,3-55,1)	46,1 (31,1-55,8)
AT III (%)	102,5 (61-143)	100 (84-131)	99 (84-132)	102 (61-143)	104 (85-132)	102 (61-143)
TP (s)	9,1 (8,3-11,8)	10 (8,3-11,4)	9,4 (8,5-11,6)	9,4 (8,3-11,8)	9,3 (8,5-11,6)	9,6 (8,3-11,8)
TPTA (s)	28,5 (24,1-33,9)	27,9 (25,2-32,7)	28,7 (25-33,5)	28,2 (24,1-33,9)	28,5 (26,1-33,5)	28,4 (24,1-33,9)
TF (pg/ml)	47,7 (26,1-79,6)	47,39 (34,58-74,32)	46,5 (27,9-79,6)	48,2 (26,1-74,3)	47,1 (27,9-79,6)	47,9 (26,1-74,3)

*p < 0,05. U de Mann-Whitney. PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno-1; TF: factor tisular; TP: tiempo de protrombina; TPTA: tiempo parcial de tromboplastina activada; F II: factor II; AT III: antitrombina III.

genotipos estudiados en el receptor de la GPIIb/IIIa plaquetaria y el PAI-1. Como se puede ver, no se detectan diferencias significativas entre los distintos genotipos en los parámetros estudiados.

Estudio de las relaciones entre los parámetros de la hemostasia analizados y los diferentes genotipos para la GP IIb/IIIa y el PAI-1 en el grupo de gestantes con diabetes gestacional

En la tabla V se comparan los valores de los parámetros de la hemostasia entre los distintos genotipos para el grupo de gestantes con DG. Se obtienen diferencias significativas en los valores de fibrinógeno para el genotipo A1/A1 y en los valores de F II para el haplotipo de mayor riesgo tromboembólico (p < 0,05).

DISCUSIÓN

El receptor GP IIb/IIIa de las plaquetas se ha identificado como uno de los principales mediadores de la agregación plaquetaria. La adhesión plaquetaria es el primer paso en la hemostasia y se inicia por exposición de la pared vascular y del colágeno, así como de otros componentes de la matriz subendotelial al flujo vascular⁹. Desde que se localizó la secuencia de ADN que codificaba al péptido GPIIb/IIIa se han identificado nuevos polimorfismos de los genes que codifican esta proteína³ y se ha especulado que estas variaciones genéticas, posiblemente, alteren la función de la GPIIb/IIIa y se modifique la trombogenicidad plaquetaria^{5,10}.

Weiss et al⁵ estudiaron la prevalencia del alelo A2 del receptor de la GP IIb/IIIa plaquetaria, y observaron que éste se presenta en el 40% de la población con enfermedad coronaria y que al estratificar por la

edad este porcentaje aumenta hasta el 50% en los menores de 60 años con esta sintomatología. De la misma manera, Carter et al⁶ detectaron una asociación del alelo A2 con el infarto en sujetos jóvenes. Pero no todos los trabajos corroboran esta asociación; así, otros estudios no han encontrado diferencias significativas en la frecuencia alélica del PL(A) entre el grupo control y el grupo con enfermedad coronaria¹¹.

Se han publicado varios estudios en que se intenta demostrar la reducción en la capacidad fibrinolítica, debida, principalmente, al aumento del PAI-1 en el plasma¹². Eriksson et al⁷ estudiaron, en una población con enfermedad coronaria, el papel que desempeña un determinado polimorfismo del gen del PAI-1, capaz de variar la transcripción del gen, modificando los valores finales del producto proteínico. Estos autores detectaron un incremento de la actividad del PAI-1 ante la presencia del alelo 4G, de modo que los pacientes homocigotos para el 4G presentan más actividad de PAI-1 que los homocigotos 5G.

Como ya es sabido, la hiperglucemia de la DM puede derivar en una activación de las vías de la coagulación, pero el mecanismo por el que se produce es incierto. Estos pasos en la cascada fisiopatológica de la DM podrían superponerse a las alteraciones que se producen en algunos casos de DG, sobre todo en los que derivan en complicaciones maternofetales. Por tanto, una detección temprana del inicio de estas alteraciones en una DG nos podría poner sobre aviso de las DG que pueden sufrir complicaciones durante el embarazo. Por otro lado, la DM es una enfermedad con una importante carga genética y, una vez establecida la posible relación entre la DM y la DG, la participación genética en la susceptibilidad de presentar una DG puede desempeñar un papel importante en la patogenia de dicha enfermedad. Así, centramos nues-

tro interés principal en la evidencia que parecía que tenían algunos de los polimorfismos de los genes de la GP IIb/IIIa y del PAI-1 sobre la mayor incidencia de complicaciones cardiovasculares.

En este trabajo se procedió a la agrupación genotípica de los genes de la GPIIb/IIIa y del PAI-1, en relación con lo que se ha determinado como genotipo de riesgo cardiovascular^{6,7,13}. Concretamente, para el gen de la GPIIb/IIIa se agrupó a la población entre las portadoras homocigotas del alelo A1 frente al resto de genotipos, y para el gen del PAI-1, entre las portadoras homocigotas del alelo 5G frente al resto de genotipos. El grupo de DG sin complicaciones no puso de manifiesto una distribución de ambos polimorfismos diferente al grupo de DG con complicaciones. No obstante, al fijarnos en la distribución alélica en la que incrementamos el tamaño de la muestra, el gen del PAI-1 mostró que las mujeres que desarrollaban complicaciones en la DG durante el embarazo presentaban mayor incidencia de la presencia del alelo 4G en su genotipo con respecto al grupo sin complicaciones (el 37,2 y el 53,1% para el alelo 4G en las DG sin y con complicaciones; $p < 0,05$). Al analizar la comparación de genotipos múltiples para el gen de la GP IIb/IIIa y del PAI-1 mediante la distribución de frecuencias para la combinación considerada sin riesgo frente al resto de combinaciones, se observa una diferencia significativa entre el grupo de DG con una mayor frecuencia de la combinación genotípica considerada sin riesgo entre las DG que no presentaron complicaciones durante el embarazo (tabla III; $p < 0,005$).

Así, hasta el momento, las observaciones descritas indican que los polimorfismos de estos genes analizados en el estudio no representan un determinante genético de susceptibilidad para presentar DG; sin embargo, la presencia del alelo 4G del gen del PAI-1 y la combinación de genotipos considerados de riesgo, junto con el gen de la GP IIb/IIIa, parecen determinar un subgrupo de DG con mayor tendencia a desarrollar hiperglucemias durante el embarazo y, presumiblemente, más complicaciones. El análisis de los parámetros de la hemostasia y la coagulación, en relación con las frecuencias genotípicas analizadas, ha ofrecido una serie de resultados interesantes para ambos genes. Concretamente el gen de la GPIIb/IIIa en el grupo de gestantes con DG que transportaban en su genotipo 2 alelos A1 (considerados de menor riesgo cardiovascular) ha presentado unos valores de fibrinógeno plasmático significativamente superiores al resto de genotipos. Lo mismo sucedió con la combinación haplotípica de los genes de la GPIIb/IIIa y del PAI-1, cuando se asociaron los 2 genotipos de riesgo frente al resto (532 frente a 474,5 mg/dl, respectiva-

mente) (tabla V). Inicialmente, estos resultados pueden parecer un tanto contradictorios, puesto que los valores más elevados de fibrinógeno están asociados con las pacientes con un genotipo, en teoría, considerado de bajo riesgo en la población general. Sin embargo, recientemente se ha publicado un trabajo en el que se ha observado que las mujeres que poseen en su genotipo el alelo A2 del gen del GP IIb/IIIa presentaban, curiosamente, valores menores de fibrinógeno y menor incidencia de enfermedad tromboembólica, y precisamente la presencia de dicho alelo fue un factor protector en las mujeres⁶. Una de las posibles explicaciones que argumentan estos autores está basada en la potencial alteración en la estructura del fibrinógeno en las mujeres que transportan el alelo A2, lo que las haría más sensibles a la lisis de la plasma. Estos resultados son coherentes con los obtenidos en el grupo de DG analizados en nuestro estudio; de esta forma se deduce que los factores de riesgo predictores para las complicaciones tromboembólicas, incluso desde el punto de vista genético, muestran claras diferencias en los varones y en las mujeres.

Respecto a las variables de la hemostasia obtenidas en los distintos genotipos del gen del PAI-1, hay que destacar que no se observaron diferencias significativas en ninguno de los parámetros, a excepción de los valores de F II (el 159 frente al 184%) (tablas IV y V). Asimismo, al realizar la agrupación genotípica de ambos marcadores genéticos, observamos que los valores de F II continuaban siendo significativamente superiores en las pacientes con DG que transportaban en su genotipo alguno de los alelos considerados de mayor riesgo de enfermedad tromboembólica descritos previamente (el 153,22 frente al 175,86% de ausencia y presencia de riesgo, respectivamente) (tabla V).

Estos resultados hacen pensar en la posible participación o modulación de base genética que pueden presentar las pacientes con DG para intentar explicar la variabilidad de algunos parámetros de la hemostasia que presenta este grupo poblacional. Más aun, si tenemos en cuenta que no se observó ninguna diferencia en las variables analizadas en el grupo de gestantes sanas del segundo y tercer trimestre (tabla V), lo que hace más específicos los hallazgos en relación con el grupo de DG. Es posible que, en un contexto adverso, como puede ser la presencia de una diabetes en el transcurso del embarazo, acentúe algunas de las diferencias observado en las variables de la hemostasia a partir de un determinante genético específico.

Entendemos que se hace necesario seguir profundizando, mediante estudios de variabilidad genética, en

las posibles alteraciones de los parámetros de la hemostasia que pueden presentar las pacientes con DG, mediante la exploración de nuevos marcadores genéticos implicados en los procesos de la aterogenia y la trombogenia.

RESUMEN

Objetivo: Determinar la susceptibilidad genética ejercida por el inhibidor del activador del plasminógeno-1 y el receptor GP IIb/IIIa de las plaquetas en la patogenia de la activación del sistema de la coagulación en la diabetes gestacional.

Material y métodos: Se seleccionaron muestras biológicas de 151 gestantes; 74 con diabetes gestacional y 77 del grupo control. Se analizaron los polimorfismos genéticos para el gen de la GP IIb/IIIa y el inhibidor del activador del plasminógeno-1, y el estudio de los parámetros de la coagulación TF, proteína S, proteína C, antitrombina III, factor II, fibrinógeno, tiempo parcial de tromboplastina activada y tiempo de protrombina.

Resultados: La presencia del alelo 4G se asoció con un mayor riesgo de presentar complicaciones entre las diabetes gestacionales (el 37,2 frente al 53,1%, para la ausencia y la presencia de complicaciones, respectivamente). En el grupo de diabetes gestacional se obtuvieron diferencias significativas en los valores de fibrinógeno para el genotipo A1/A1 y el haplotipo A1/A1-5G/5G ($p < 0,05$).

Conclusiones: La asociación de determinadas combinaciones alélico-genotípicas de los marcadores analizados en el grupo de pacientes con diabetes gestacional hace pensar en la existencia de una participación genética en la variabilidad de determinados parámetros de la hemostasia en esta subpoblación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Schorör K. Blood vessel wall interactions in diabetes. *Diabetes* 1997;46(Suppl 2):115-8.
2. Reverter J, Reverter J, Tàssies D, et al. Thrombomodulin and induced tissue factor expression on monocytes as markers of diabetic microangiopathy: a prospective study on hemostasis and lipoproteins in insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Hematol* 1997;56:93-9.
3. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes* 1991;40:405-12.
4. Corcoy R, Cabero LI, De Leiva A. Diabetes gestacional: fisiopatología, repercusiones, diagnóstico y tratamiento. En: Cabero Roura LI, editor. *Perinatología*. Barcelona: Salvat, 1989; p. 41-5.
5. Weiss E, Bray PF, Tayback M, et al. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med* 1996;334:1090-4.
6. Carter AM, Ossei-Gerning N, Wilson IJ, Grant PJ. Association of the platelet PI(A) polymorphism of glycoprotein IIb/IIIa and the fibrinogen Bbeta 448 polymorphism with myocardial infarction and extent of coronary artery disease. *Circulation* 1997;96:1424-31.
7. Eriksson P, Kallin B, Van Hooft F, Bavenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:1851-5.
8. National Diabetes Data Group. Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes* 1979;28:1039-57.
9. Lefkowitz J, Plow EF, Topol EJ. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine. *N Engl J Med* 1995;332,23:1553-9.
10. Von dem Borne AEG, Decary F. Nomenclature of platelet specific antigens. *Transfusion* 1990;30:477.
11. Ridker PM, Hennekens Ch, Schmitz Ch, Stampfer M, Lindpaintner K. PI_{A1/A2} polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis. *Lancet* 1997;349:385-8.
12. Scarabin PY, Bara L, Ricard S, et al. Genetic variation at the fibrinogen concentrations and risk of myocardial infarction. The ECTIM study. *Arterioscler Thromb* 1993;13:886-91.
13. Weiss PAM, Haeusler M, Kainer F, Pürster P, Haas J. Toward universal criteria for gestational diabetes: relationships between seventy-five and one hundred gram glucose loads and between capillary and venous glucose concentrations. *Am J Obstet Gynecol* 1998;178:830-5.