



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Odontología

Centro de Investigación de Estudios Avanzados
en Odontología "Dr. Keisaburo Miyata"

**"Efecto del consumo de sacarosa en la respuesta
inflamatoria y estrés oxidante en un modelo murino con
Diabetes Gestacional"**

TESIS

Que para obtener el grado de
Doctor en Ciencias de la Salud

Presenta:

Mtro. en C.S. Cristian Angel Rosales Gómez

Directora:

Dra. en I.M. Beatriz Elina Martínez Carrillo

Co-Directora:

Dra. en C.S. Ana Laura Guadarrama López

Tutor

Dr. en C.B.C. Aldo Arturo Reséndiz Albor



2022-2026

Toluca, Estado de México, abril de 2024

ÍNDICE

| | | |
|--------|--|----|
| 1. | RESUMEN | 1 |
| 2. | ANTECEDENTES..... | 3 |
| 2.1. | Aspectos generales de Diabetes Gestacional..... | 3 |
| 2.2. | Definición de Diabetes Mellitus Gestacional | 4 |
| 2.3. | Factores de riesgo y complicaciones de DMG..... | 4 |
| 2.4. | Fisiopatología de la DMG | 5 |
| 2.5. | Consumo de sacarosa..... | 6 |
| 2.6. | Diabetes Mellitus Gestacional, respuesta inflamatoria y estrés oxidante..... | 7 |
| 2.6.1. | Respuesta Inflamatoria en la Diabetes Mellitus Gestacional | 7 |
| 2.6.2. | Diabetes Gestacional y estrés oxidante | 9 |
| 3. | PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 10 |
| 4. | JUSTIFICACIÓN..... | 12 |
| 5. | HIPÓTESIS..... | 13 |
| 6. | OBJETIVOS..... | 14 |
| 6.1. | General..... | 14 |
| 6.2. | Específicos | 14 |
| 7. | MATERIAL Y MÉTODOS | 15 |
| 7.1. | Diseño de estudio..... | 15 |
| 7.2. | Universo de trabajo..... | 15 |
| 7.3. | Límite de espacio..... | 15 |
| 7.4. | Método..... | 15 |
| 7.5. | Variables de estudio..... | 16 |
| 7.6. | Operacionalización de variables..... | 16 |
| 7.7. | Desarrollo | 20 |
| 7.8. | Obtención y procesamiento de muestras..... | 22 |
| 8. | RECOLECCIÓN DE DATOS | 27 |
| 9. | ANÁLISIS DE DATOS..... | 28 |
| 10. | IMPLICACIONES BIOÉTICAS | 29 |
| 11. | RESULTADOS..... | 31 |
| 11.1. | Artículo aceptado | 31 |
| 11.2. | Carta de aceptación de artículo | 31 |
| 11.3. | Artículo enviado | 32 |

| | | |
|-------|-----------------------------------|----|
| 11.4. | Carta de envío del artículo | 33 |
| 12. | DISCUSIÓN GENERAL | 35 |
| 13. | CONCLUSIONES GENERALES | 38 |
| 14. | REFERENCIAS | 39 |

1. RESUMEN

Introducción: La Diabetes Mellitus Gestacional (DMG) es una complicación frecuente en la que se desarrolla hiperglucemia espontánea durante el embarazo, se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa y se caracteriza por una alteración del metabolismo de hidratos de carbono que inicia durante el embarazo y afecta principalmente a mujeres en el segundo y tercer trimestre de embarazo; sin embargo, puede presentarse en cualquier momento de la gestación. El consumo de azúcares simples como la sacarosa, puede tener un impacto negativo en la DMG, se sugieren que el consumo de sacarosa puede provocar un mayor transporte de glucosa al feto, aumento de adiposidad en el producto y un mayor riesgo de macrosomía, además de la resistencia a la insulina y la elevación de la glucosa en sangre, la DMG también se caracteriza por un estado inflamatorio sistémico de bajo grado; por otra parte, el ambiente hiperglucémico e hiperlipémico puede generar especies reactivas de oxígeno que dañan la estructura de las biomoléculas afectando su función lo que puede contribuir al desarrollo de complicaciones como preclamsia, parto prematuro y restricción del crecimiento intrauterino. **Objetivo:** El objetivo fue analizar el efecto del consumo de sacarosa sobre la respuesta inflamatoria y la producción de estés oxidante en un modelo murino con y sin Diabetes Gestacional. **Metodología:** Se utilizaron 24 ratones CD1 hembras a las cuales se les indujo Diabetes Mellitus (DM) con 230 mg de Estreptozotocina (STZ)/Kg por vía subcutánea, se dividieron en dos grupos: Control (CL) y DMG. Cada grupo se subdividió en 2 subgrupos: a) Sin Sacarosa y b) Con Sacarosa. Se determinaron: peso corporal, Índice de Masa Corporal (IMC), Glucosa, hormonas (insulina, adiponectina y leptina), linfocitos T CD3⁺, citocinas (IL-1 β , IL-6, IFN- γ y TNF- α), anticuerpos IgA e IgG, así como sistemas Redox (CAT, Catalasa, Glutación Reductasa, SOD, TBARS y AGE). **Resultados:** El consumo de sacarosa incremento el HOMA-IR, así como la secreción de insulina, adiponectina y leptina, además se observó un aumento en la secreción de citocinas proinflamatorias y la producción de anticuerpos IgA e IgG, se tuvo una disminución de la actividad de la enzima Glutación Reductasa y aumento la producción de TBARS y AGE alterando los sistemas Redox. **Conclusiones:** La administración de una dosis única de 230

mg/kg de peso por vía subcutánea para inducir DMG supone ventajas respecto a modelos utilizados anteriormente ya que disminuye el estrés fisiológico por la manipulación de los ratones y los costos al no requerir dosis repetidas ni dietas elevadas en lípidos como adyuvantes; además, el consumo elevado de sacarosa incrementa la respuesta inflamatoria mediada principalmente por linfocitos CD8⁺ y la producción de citocinas proinflamatorias, lo que puede desencadenar una respuesta humoral compensatoria y alterar los mecanismos Redox provocando un estado de Estrés Oxidante.

2. ANTECEDENTES

2.1. Aspectos generales de Diabetes Gestacional

Actualmente 1 de cada 11 adultos viven con diabetes, de los cuales cerca de un 5% no cuentan con un diagnóstico. Para el año 2040, se estima que la cifra de personas con diabetes aumente a 642 millones.¹

México ocupa actualmente el sexto lugar a nivel mundial de personas con diabetes y es considerada un problema de salud que se presenta cada vez a edades más tempranas. La proporción de niños y jóvenes con diagnóstico de DM crece a diario debido a malos hábitos de alimentación y estilos de vida no saludables.¹⁻³

La Diabetes Mellitus (DM) es una de las enfermedades metabólicas no transmisibles de mayor prevalencia en el mundo, hoy en día afecta a más de 425 millones de personas en todo el mundo y provoca cerca de 4.8 millones de muertes al año.² Se estima que 28 millones de mujeres en edad reproductiva tienen Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2). Es de gran preocupación que la mayoría de estos casos (80%) se concentran en países de ingresos bajos y medios.^{1,3,4}

La prevalencia de todos los tipos de DM en el embarazo (Tipo 1, Tipo 2 y Diabetes Gestacional) se reporta a nivel mundial entre el 5% a 20%, específicamente la prevalencia de Diabetes Mellitus Gestacional (DMG) es del 1% al 14% a nivel mundial.^{3,5}

En México se ha reportado una prevalencia similar que oscila entre el 8.7% a 17.7%, la mujer mexicana está en mayor probabilidad de desarrollar DMG debido a que pertenece a un grupo étnico de alto riesgo.^{6,7} El informe de la Federación Internacional de Diabetes (FID 2015) mostró que aproximadamente el 16.2% de las mujeres tenían algún tipo de hiperglucemia durante el embarazo, del cual la DMG es responsable del 13.7%.⁸

Las mujeres que desarrollan DMG tienen alto riesgo de desarrollar DM2 en 5 a 10 años posteriores al embarazo⁵, con las consecuencias relacionadas a esta patología, por lo que es importante la reclasificación y el seguimiento de estas pacientes a largo plazo.⁹

2.2. Definición de Diabetes Mellitus Gestacional

La Diabetes Mellitus Gestacional (DMG) es una complicación frecuente en la que se desarrolla hiperglucemia espontánea durante el embarazo.¹⁰ Se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa, es un padecimiento caracterizado por una alteración del metabolismo de hidratos de carbono que inicia durante el embarazo^{5,11,12} y afecta principalmente a mujeres en el segundo y tercer trimestre de embarazo, sin embargo, puede presentarse en cualquier momento de la gestación.¹³ La acción de la insulina se ve disminuida (resistencia a la insulina) debido a la producción de hormonas placentarias y se presenta como un trastorno transitorio durante el embarazo y desaparece al final de la gestación.^{11,14}

Durante el inicio de la gestación, la sensibilidad a la insulina aumenta, lo que promueve la absorción de glucosa en las reservas adiposas en preparación para las demandas de energía del embarazo posterior¹⁵, a medida que avanza el embarazo, un aumento de las hormonas locales y placentarias, incluidos estrógeno, progesterona, leptina, cortisol, el lactógeno placentario y la hormona del crecimiento placentario, en conjunto promueven un estado de resistencia a la insulina.¹⁶

Bellamy y colaboradores concluyeron en 2009, que las mujeres embarazadas con DMG tienen siete veces más riesgo de padecer Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2) en comparación con mujeres con tolerancia normal a la glucosa. Los bebés nacidos de madres con DMG presentan mayor riesgo de desarrollar enfermedades no transmisibles como obesidad y DM2 a lo largo de la vida.¹¹

2.3. Factores de riesgo y complicaciones de DMG

Los factores de riesgo asociados a la aparición de la DMG incluyen: edad materna igual o mayor de 25 años, multiparidad, un Índice de Masa Corporal (IMC) mayor a 30 kg/m² antes del embarazo, antecedentes familiares de DM2 y antecedentes

personales de DMG en embarazos previos, ganancia de peso excesiva durante la gestación, dislipidemia⁴, sedentarismo, malos hábitos de alimentación.^{5,6,17,18}

La DMG está asociada con complicaciones materno-fetales que incluyen retinopatía, neuropatía y vasculopatía en la mujer embarazada; en el producto, se relaciona con malformaciones congénitas, macrosomía, prematuréz, hipoglucemia, hipocalcemia, ictericia, síndrome de distrés respiratorio, muerte fetal e incremento en la mortalidad neonatal.^{12,14,19,20}

2.4. Fisiopatología de la DMG

La resistencia a la insulina y el daño en la función de las células beta pancreáticas son los principales mecanismos en la generación de la DMG, el metabolismo materno se ajusta para satisfacer las necesidades nutricionales del feto y la madre.¹⁸ Aumenta la secreción de insulina como resultado de hiperplasia de las células beta pancreáticas por mayores concentraciones de inulina, al igual que la estimulación por altas concentraciones de estrógeno y progesterona. Surge un antagonismo de insulina por el aumento del lactógeno humano placentario o somatomamotropina coriónica.^{19,21}

Durante el embarazo se presenta una serie de modificaciones hormonales que van reduciendo paulatinamente la sensibilidad de la insulina; a partir de la séptima semana en que comienza la elevación del lactógeno placentario y el cortisol, comienza el aumento de la resistencia a la insulina que llega a su máxima expresión en el tercer trimestre de embarazo.²²

Los factores que contribuyen al aumento de la resistencia a la insulina son la elevación de los ácidos grasos libre resultado de la lipólisis y un insuficiente acoplamiento entre la activación del receptor de insulina (IR) y la translocación de los receptores GLUT 4 a la superficie celular. Estos cambios son responsables de la aparición de hiperglucemia, lipólisis e hiper cetonemia existente en este periodo.²³

El cortisol y el lactógeno humano placentario son diabetogénicos y el momento de su efecto máximo se manifiesta a las 24 semanas de gestación (SDG). La progesterona

es otra hormona anti insulínica que ejerce su máximo efecto de acción en la semana 32 de gestación.²⁴

Las hormonas placentarias disminuyen la fosforilación del sustrato receptor de insulina 1 (ISR-1) lo que contribuye a la resistencia a la insulina, el papel de estas hormonas en el embarazo normal es el incremento en el tamaño de la placenta, en la DMG se han relacionado con el agravamiento del estado metabólico de la embarazada a través del curso de la gestación.^{21,23}

En el proceso fisiopatológico de la DMG se ha involucrado también a algunas citocinas proinflamatorias como el Factor de Necrosis Tumoral Alfa (TNF- α) el cual está relacionado con la resistencia a la insulina. Los adipocitos secretan moléculas activas denominadas adipocinas las cuales contribuyen en la secreción de la insulina y su actividad, estas están relacionadas con la ganancia de peso y la resistencia a la insulina. Entre las adipocinas más relacionadas con la DMG se encuentran la Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-18 (IL-18), TNF- α , leptina y adiponectina.²⁴

Se ha descrito que existe una correlación entre los niveles de IL-6, la adiposidad y la resistencia a la insulina, en mujeres embarazadas con DMG se han identificado niveles elevados de leptina, IL-6, TNF- α y bajos niveles de adiponectina comparadas con mujeres embarazadas sin DMG.²⁵

2.5. Consumo de sacarosa

El papel de los azúcares simples en la dieta se ha convertido en un problema de salud pública cada vez más grande en los últimos años, esto ha llevado a muchas organizaciones gubernamentales y de salud de todo el mundo a revisar la evidencia sobre los azúcares de la dieta en relación con enfermedades no transmisibles como la obesidad y la DM.²⁶

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), los azúcares libres se definen como monosacáridos y disacáridos presentes de forma natural en la miel, jarabes, jugos o concentrados de frutas, los cuales son agregados a alimentos y bebidas de forma industrializada o por el consumidor.²⁷ La sacarosa se refina a partir del azúcar de

remolacha y del azúcar de caña que se utiliza como ingrediente en muchos alimentos y bebidas procesadas.²⁸

Los hidratos de carbono durante la gestación representan una fuente importante de energía tanto para la madre gestante como para el producto;²⁹ sin embargo, en el caso de la DMG se requiere una atención especial a la calidad y cantidad de esta fuente de energía, ya que el consumo de azúcares simples incrementa de forma rápida las concentraciones plasmáticas de glucosa en sangre.³⁰

Estudios realizados en modelos animales de DMG sugieren efectos negativos del consumo de sacarosa en el producto: provoca un mayor transporte de glucosa al feto, aumento de adiposidad en el producto y un mayor riesgo de macrosomía.³¹

No está clara la relación específica del consumo de sacarosa con la inmunología de la DMG, pero sí se sabe que la dieta altera la composición de la microbiota intestinal al proporcionar nutrimentos que promueven la expansión de microorganismos particulares.

Townsend y colaboradores en 2019, demostraron que la fructuosa disminuye la abundancia de un regulador de la colonización de *Bacteroides thetaiotaomicron* en el intestino humano.³²

2.6. Diabetes Mellitus Gestacional, respuesta inflamatoria y estrés oxidante

2.6.1. Respuesta Inflamatoria en la Diabetes Mellitus Gestacional

La característica principal de la DMG es la resistencia a la insulina y la elevación de la concentración plasmática de glucosa, sin embargo, también existe un estado inflamatorio sistémico de bajo grado que provoca un desequilibrio entre la respuesta Th1 y Th2 desencadenando una respuesta proinflamatoria.^{33,34}

Durante la gestación se incrementa la secreción de citocinas proinflamatorias Th1: Interferón- γ (IFN- γ), Interleucina 2 (IL-2) y Factor de Necrosis Tumoral *alpha* (TNF- α),

lo cual provoca una disminución de la respuesta Th2 principalmente al momento de la implantación y el parto.^{35,36}

Existe evidencia de que las citocinas proinflamatorias alteran la señalización de la insulina e inhiben su liberación por las células β - pancreáticas. Estos factores provocan resistencia a la insulina por la disminución de la actividad de la tirosina quinasa del receptor de insulina (IR), lo cual aumenta la fosforilación de la serina del IRS-1, o mediante la vía STAT3 - SOCS3, que degrada el IRS-1.^{37,38}

El TNF- α plasmático se encuentra fuertemente relacionado con la resistencia a la insulina.³⁹ En la DMG el TNF- α circulante y la IL-6 se han relacionado inversamente con la sensibilidad a la insulina, lo que sugiere un papel importante de los factores inflamatorios en la patogénesis de la misma; otras adipocinas como la leptina se han encontrado elevadas en la DMG.⁴⁰⁻⁴²

La placenta secreta leptina durante el embarazo, es responsable de la mayor secreción de la leptina plasmática durante el embarazo.⁴³ El aumento de la producción de leptina placentaria durante la DMG es resultado de la resistencia a la insulina en la placenta, lo cual contribuye a una hiperleptinemia. Esta condición puede facilitar el transporte de aminoácidos a través de la placenta, lo cual contribuye a la macrosomía fetal.⁴⁴

Un estudio realizado por Sifnaios y colaboradores en 2019, donde se compararon dos grupos de mujeres embarazadas con y sin DMG, concluyó que el 30% de la descendencia del grupo con DMG, había desarrollado dermatitis atópica, alergia alimentaria o proctocolitis alérgica en comparación con las mujeres embarazadas sin DMG.⁴⁵

En contraste, la adiponectina mejora la señalización de la insulina, la oxidación de los ácidos grasos e inhibe la gluconeogénesis,⁴⁶ estimula la secreción de insulina mediante la expresión del gen de la insulina y la exocitosis de los gránulos de insulina en las células β - pancreáticas.⁴⁷

2.6.2. Diabetes Gestacional y estrés oxidante

El estrés oxidante (EOx) se caracteriza por un incremento de radicales libres con una disminución de los sistemas antioxidantes de las células del organismo, lo que provoca una acumulación de especies reactivas de oxígeno (ERO's) como el anión superóxido (O₂⁻), radicales de hidroxilo (HO) y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), los cuales dañan la membrana celular.^{48,49}

Las ERO's inhiben la captación de glucosa ya que interfieren en la fosforilación del ISR-1 y la expresión de los receptores GLUT4 en la membrana celular lo que favorece un estado hiperglucémico en el organismo.⁵⁰

El ambiente hiperglucémico e hiperlipémico que rodea al embrión genera sustancias oxidantes con alta capacidad para dañar la estructura de las biomoléculas y altera las funciones en las que ellas participan.⁵¹

Un estudio publicado en 2018 concluyó que en las pacientes con DMG, el EOx tiene implicaciones en la madre, en la función placentaria y en el bienestar del producto; estas complicaciones están asociadas con la formación de productos finales de glicación avanzada (AGE) asociados con el EOx.⁵²

La placenta humana es susceptible al EOx y el daño oxidante, en la gestación temprana contribuye a la aparición de afecciones y complicaciones como preclamsia, parto prematuro y restricción del crecimiento intrauterino, causando problemas agudos o crónicos para la madre y con la probabilidad de pérdida fetal o problemas postnatales.⁵³

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

México tiene una alta prevalencia de Diabetes Gestacional, los factores sociodemográficos, geográficos, hábitos alimentarios y sedentarismo, por encima de algunos factores que en general presenta la población mexicana, predisponen a la mujer en edad reproductiva a desencadenar enfermedades no transmisibles como sobrepeso, obesidad, Diabetes Mellitus y Diabetes Mellitus Gestacional.^{54,55}

El embarazo es una condición metabólica compleja que incluye cambios significativos en el ambiente humoral, así como cambios en las adipocinas y las citocinas inflamatorias; está asociado con un aumento significativo en los niveles de estrógeno, progesterona, prolactina, cortisol, hormona de crecimiento, leptina, TNF- α y marcadores de estrés oxidante.²¹

La Diabetes Mellitus Gestacional es la complicación perinatal metabólica y endócrina más común y es un problema de salud cada vez más creciente en todo el mundo.⁵⁶

Se asocia con un aumento de los marcadores inflamatorios y, por lo tanto, una mayor respuesta inflamatoria. La literatura actual sugiere un papel emergente para el uso de biomarcadores inflamatorios, inmunológicos, bioquímicos y hormonales para mejorar la comprensión de la fisiopatología de los resultados adversos del embarazo incluido el impacto del sobrepeso y la obesidad en relación con múltiples factores alimentarios.

Sin embargo, hay pocas investigaciones que estudien el consumo de macronutrientes específicos en relación con biomarcadores de respuesta inflamatoria y estrés oxidante en mujeres embarazadas con hiperglucemia.⁵⁷

Las técnicas modernas de estudio y procesamiento de biomarcadores, citocinas e inmunoglobulinas nos acercarán al conocimiento de la relación de la Diabetes Mellitus Gestacional con nutrientes específicos como la sacarosa, determinarán las pautas nutricionales durante esta condición fisiológica, para preservar un embarazo saludable y evitar complicaciones, sabiendo que las mujeres con Diabetes Mellitus Gestacional corren mayor riesgo de desarrollar Diabetes Mellitus Tipo 2 a corto plazo.

Los modelos animales de diabetes han confirmado el importante papel del estrés oxidante en la etiología de malformaciones congénitas. La Diabetes Mellitus Gestacional es una inflamación sistémica de bajo grado con una respuesta proinflamatoria del sistema inmune.^{27,58}

Es importante investigar si el consumo de sacarosa durante el embarazo con la presencia de Diabetes Mellitus Gestacional influye en la respuesta inflamatoria y los marcadores de estrés oxidante, por lo cual surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es el efecto del consumo elevado de sacarosa en la respuesta inflamatoria y el estrés oxidante en un modelo murino con y sin diabetes gestacional?

4. JUSTIFICACIÓN

El consumo de azúcares simples en la dieta de la población mexicana representa un balance energético positivo y se ha convertido en un problema de salud pública.

Esto ha despertado el interés de la investigación científica y la de organizaciones gubernamentales y de salud de todo el mundo para revisar la evidencia sobre el efecto de los azúcares en la dieta en relación con enfermedades no transmisibles.

Faltan estrategias efectivas de prevención, tratamiento y comprensión de procesos inmunológicos, biológicos, hormonales, inflamatorios y alergénicos de la Diabetes Mellitus Gestacional, que esclarezcan su relación con la alimentación, en particular con el consumo de sacarosa.

El tratamiento nutricional es fundamental para el control de la hiperglucemia y la prevención de complicaciones de la Diabetes Mellitus Gestacional, a pesar de las investigaciones realizadas respecto a este tema, este campo es un área de investigación dinámica y requiere mayor investigación actualizada para minimizar complicaciones maternas y fetales.

5. HIPÓTESIS

Un mayor consumo de sacarosa generará incremento en la secreción de citocinas proinflamatorias y de los parámetros de estrés oxidante en el grupo de ratonas con Diabetes Gestacional en comparación con el grupo sin Diabetes Gestacional.

Un consumo bajo de sacarosa no modificará la secreción de citocinas proinflamatorias, con ausencia de estrés oxidante en el grupo de ratonas con Diabetes Gestacional en comparación con el grupo sin Diabetes Gestacional.

6. OBJETIVOS

6.1. General

Analizar el efecto del consumo de sacarosa sobre la respuesta inflamatoria y la producción de estrés oxidante en un modelo murino con y sin Diabetes Gestacional.

6.2. Específicos

- Cuantificar el consumo de alimento y determinar el peso corporal de forma semanal para relacionarlo con los parámetros de perfil de lípidos, glucosa en sangre y hemoglobina glucosilada.
- Cuantificar citocinas proinflamatorias y perfil hormonal para identificar la respuesta inflamatoria en los grupos con y sin Diabetes Gestacional.
- Cuantificar las concentraciones en plasma de TBARS, catalasa, proteínas carboniladas y glutatión peroxidasa para identificar la presencia de estrés oxidante en los grupos con y sin Diabetes Gestacional.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1. Diseño de estudio

Estudio experimental comparativo.

7.2. Universo de trabajo

Se trabajó con 24 ratones hembra de la cepa CD1 libres de patógenos de 10 semanas de vida, se siguieron durante todo el periodo de gestación (19 - 21 días).

7.3. Límite de espacio

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Investigación en Nutrición y el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México.

7.4. Método

Se utilizaron machos y hembras reproducidos en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México, para el apareamiento se colocaron un macho por cada dos hembras por jaula por un periodo de 48 a 72 horas, se verificó el estado gestacional mediante citología vaginal y presencia de tapón vaginal para confirmar que las hembras se encontraran preñadas.⁵⁹

Los roedores se manipularon bajo los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, y en las guías internacionales Animal Research: Reporting In Vivo Experiments 2.0 (ARRIVE guidelines 2.0).

Al inicio del estudio se tomaron muestras sanguíneas para establecer los valores basales para cada una de las variables de estudio, se integraron 4 grupos de manera aleatoria: grupo Control sin Sacarosa, grupo Control con Sacarosa, grupo Diabetes Gestacional sin Sacarosa y grupo Diabetes Gestacional con Sacarosa, con una $n= 6$ para cada grupo.

Los grupos se alimentaron con una dieta normal estándar (Rodent Laboratory Chow 501 de Purina [3.02 Kcal/g]) y agua *ad libitum*; se alojaron por pares en 3 jaulas para cada grupo en condiciones controladas a 19 – 21°C con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas por ciclo.

Semanalmente se cuantificó la ingestión de alimento y el consumo de agua, se determinó la glucemia postprandial con glucómetro Select Plus Flex de la marca One Touch® en un periodo de 60 minutos posterior a la ingestión de alimento, en un horario de 8:00 a 9:00 am, conforme se establece en las recomendaciones por la ADA, mediante punción en vena caudal.

7.5. Variables de estudio

- Independiente:
 - Consumo de sacarosa
- Dependiente:
 - Glucosa.
 - Respuesta Inflamatoria.
 - Respuesta Humoral.
 - Perfil hormonal.
 - Estrés Oxidante.

7.6. Operacionalización de variables

| | Definición conceptual | Definición operacional | Tipo de variable | Niveles de medición | Análisis estadístico |
|-------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------|---------------------|----------------------|
| <i>Variable Independiente</i> | | | | | |

| | | | | | |
|--|---|------------------------|-----------------------|-------|---------------------------------|
| Sacarosa | Disacárido constituido por una molécula de δ -glucosa y otra de δ -fructosa unidas mediante un enlace glucosídico. | Consumo de sacarosa | Cuantitativa continua | mg/mL | Comparación de medias por ANOVA |
| <i>Variable dependiente</i> | | | | | |
| Glucosa | Monosacárido, considerado un azúcar simple, es la primera fuente de energía en el cuerpo. | Glucemia | Cuantitativa continua | mg/dL | Comparación de medias por ANOVA |
| Interleucina 1 β (IL-1 β) | Proteínas de bajo peso molecular (15-25kDa) secretadas por diversas células inmunitarias, median el crecimiento celular, la inflamación, la diferenciación, la migración y la reparación. | Respuesta inflamatoria | Cuantitativa continua | pg/mL | Comparación de medias por ANOVA |
| Interleucina 6 (IL-6) | | | Cuantitativa continua | | |
| Factor de necrosis tumoral α (TNF- α) | | | Cuantitativa continua | | |
| Interferón γ (INF- γ) | | | Cuantitativa continua | | |

| | | | | | |
|-------------------------|---|-------------------|-----------------------|-------------|---------------------------------|
| Inmunoglobulina G (IgG) | Proteínas de unión a epítopos que existen en dos formas, como constituyentes unidos a membrana de las células B o como moléculas solubles secretadas por las células plasmáticas. | Respuesta humoral | Cuantitativa continua | pg/mL | Comparación de medias por ANOVA |
| Inmunoglobulina A (IgA) | | | Cuantitativa continua | | |
| Insulina | Hormona secretada por las células β de los islotes de Langerhans del páncreas, regula las concentraciones de glucosa en sangre. | Perfil Hormonal | Cuantitativa continua | μ UI/mL | Comparación de medias por ANOVA |
| Leptina | Hormona secretada por el adipocito, actúa regulando el apetito y el consumo energético, está correlaciona con la cantidad de tejido graso, interviene en el proceso metabólico. | | Cuantitativa continua | pM/L | Comparación de medias por ANOVA |

| | | | | | |
|--|---|-----------------|-----------------------|------------------|---------------------------------|
| Adiponectina | Hormona secretada por los adipocitos, regula el metabolismo energético del organismo, estimula la oxidación de ácidos grasos, reduce los niveles de triglicéridos plasmáticos y mejora el metabolismo de la glucosa mediante un aumento de la sensibilidad a la insulina. | | Cuantitativa continua | pM/L | Comparación de medias por ANOVA |
| Especies reactivas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) | Sustancias oxidantes resultado de la peroxidación de lípidos | | Cuantitativa continua | μmol/L | Comparación de medias por ANOVA |
| Catalasa | Enzima antioxidante, presente en los peroxisomas, descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, protegiendo a la célula de su efecto tóxico. | Estrés Oxidante | Cuantitativa continua | UCAT/mg proteína | Comparación de medias por ANOVA |

| | | | | | |
|------------------------|--|--|-----------------------|-----------|---------------------------------|
| Proteínas carboniladas | Son el producto directo de la acción de los radicales libres sobre las proteínas | | Cuantitativa continua | pmoles/dL | Comparación de medias por ANOVA |
| -Glutación peroxidasa | Enzimas que participa en la transformación de especies reactivas del oxígeno, catalizando la reducción del peróxido o lipoperóxido, para lo cual utiliza como agente reductor al glutatión reducido. | | Cuantitativa continua | mg/dL | Comparación de medias por ANOVA |

7.7. Desarrollo

La Diabetes Mellitus Gestacional se indujo farmacológicamente con la administración de estreptozotocina (STZ), se preparó en una solución Buffer de Citrato 0.1M a pH 4.5, y se administró por vía subcutánea como se describió en estudios previos⁶⁰⁻⁶² con el animal bajo anestesia general inducida con una mezcla de 5mg/Kg de peso de Xilacina y 100 mg/Kg de peso de Ketamina vía intramuscular⁶³, se utilizó una dosis única a una concentración de 230 mg/kg de peso.

La administración de la estreptozotocina se realizó a las 10 semanas de vida de los ratones CD1 hembras una vez apareados y se integraron los grupos de estudio, se cuantificó la glucosa, el peso corporal, se calculó el Índice de Masa Corporal (IMC), el consumo de alimento y agua por los 5 días posteriores a la administración de la estreptozotocina y se estableció el diagnóstico de diabetes con una concentración de glucosa postprandial ≥ 200 mg/dL y la presencia de síntomas clásicos de diabetes

conforme a los criterios diagnóstico de la American Diabetes Association (ADA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS).

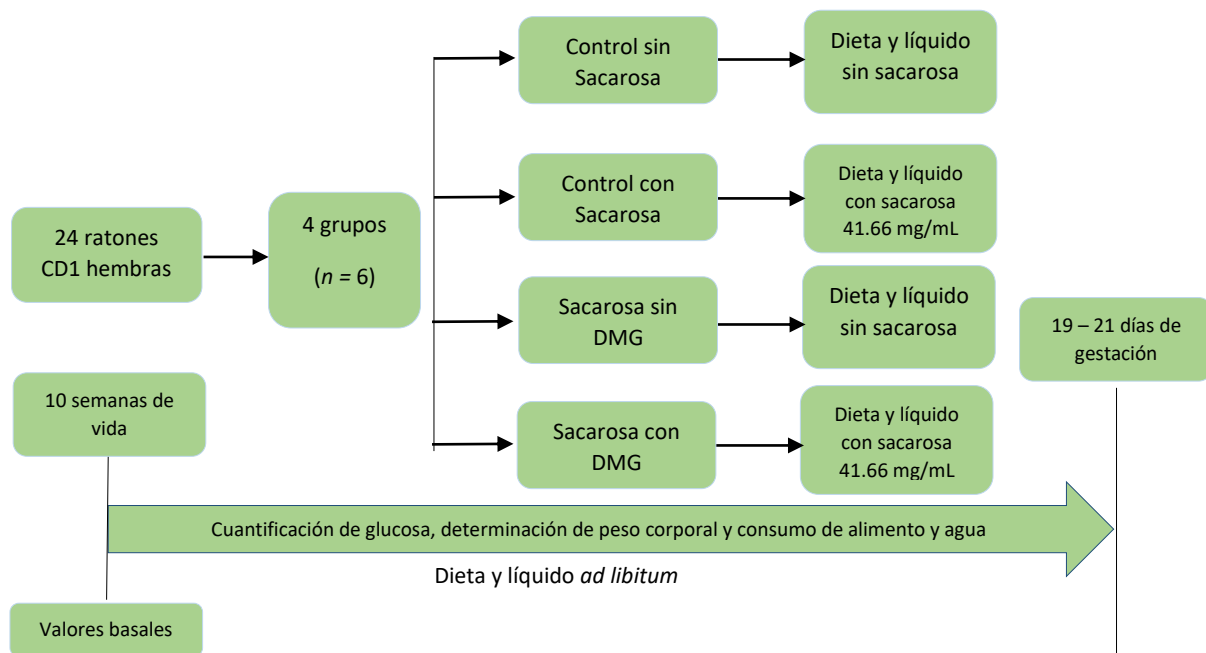
Aquellos ratones CD1 hembras que no fueron preñadas o no desarrollaron Diabetes Mellitus, fueron eliminados del estudio y se indujo la eutanasia por dislocación cervical como se establece en la NOM-062-ZOO-1999 en el numeral 9.5.3.2.1.

Para la suplementación con sacarosa, se preparó una solución con agua ultrapura y sacarosa a una concentración de 41.66 mg/mL, considerando las recomendaciones establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011 Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias.

Se administró un volumen de 500µL de la solución de sacaros por deposición oral diariamente en un horario de 8:00 am durante todo el periodo de gestación a partir de la confirmación de diabetes mellitus gestacional.

7.8. Obtención y procesamiento de muestras

Las muestras de sangre se obtuvieron a partir de la semana 11 de vida de las ratonas posteriormente a la inducción de diabetes, se cuantificó la glucosa semanalmente y se tomó una muestra de sangre inicial a los 8 días de apareamiento y una muestra final al término de la gestación (19 - 21 días).



Todas las muestras iniciales se tomaron a través punción en plexo ocular con micropipeta Pasteur previamente heparinizada, se administró una mezcla de 5 mg/Kg de peso de Xilacina y 100 mg/Kg de peso de Ketamina vía intramuscular⁶³ como anestésico general. Las muestras finales se obtuvieron por punción cardiaca con jeringa para insulina previamente heparinizada, la eutanasia se llevó a cabo por el método de sobredosis de anestésico inhalado con cámara de éter en campana de extracción conforme se establece en la NOM-062-ZOO-199 numeral 9.4.1.2.1., se utilizó sangre total para determinación de glucosa, la cuantificación de citocinas periféricas y se obtuvo suero para cuantificar el perfil hormonal, así como marcadores de estrés oxidante. Las crías obtenidas de todos los grupos de estudio se utilizaron para un análisis complementario.

Obtención de suero

- Se dejó en reposo la muestra hasta que coaguló.
- Se centrifugó por 10 minutos a 2500 RPM.
- Con pipeta de transferencia se recuperó el suero de la muestra.

Cuantificación de Glucosa

La concentración de glucosa se cuantificó con ayuda de un glucómetro Select Plus Flex de la marca One Touch®.

Concentración de citocinas y adipocinas

Las citocinas proinflamatorias se cuantificaron mediante citometría de flujo con el uso de anticuerpos marcados con fluorocromos específicos.

En el caso de leptina se midió por el método Enzyme-Linked Immuno Sorbet Assay (ELISA) con un kit Mouse Recombinant Leptin (from *E. coli*) siguiendo las recomendaciones del proveedor.

Cuantificación de Leptina, Adiponectina e Insulina

La concentración adiponectina se cuantificó por el método Enzyme-Linked Immuno Sorbet Assay (ELISA) con el kit Mouse Recombinant Adiponectin (from *E. coli*) siguiendo las recomendaciones del proveedor.

Para conocer la concentración de Insulina se utilizó el método Enzyme-linked Immuno Sorbet Assay (ELISA) con el kit Insulin ELISA de la marca ENZO.

Determinación de Respuesta Humoral

La actividad humoral se determinó mediante la cuantificación de anticuerpos específicos IgA e IgG mediante el método Enzyme-linked Immuno Sorbet Assay (ELISA) como se describe a continuación:

- Se determinó la concentración de proteína de cada muestra.
- Se calcularon las diluciones para obtener una concentración de 25µg/mL de proteína por muestra.

- Se forraron las placas con 100µL de muestra y se incubaron por 12 hora a 4°C.
- Posterior a la incubación, se realizaron 3 lavados con PBS Tween 20® al 5% y otro lavado con PBS 1x.
- Se bloquearon las placas con 100µL de leche Svelty al 5% y se incubaron por 1 hora a 37°C.
- Posterior a la incubación, se realizaron 3 lavados con PBS Tween 20® y otro lavado con PBS 1x.
- Se adicionaron 100µL del anticuerpo correspondiente con una dilución 1:3000 en leche Svelty al 5% y se incubó por 1 hora y 37 minutos a 37°C.
- Posterior a la incubación, se realizaron 3 lavados con PBS Tween® 20 y otro lavado con PBS 1x.
- Se agregaron 100µL de sustrato de Ortofenilendiamina y se colocó en placa de agitación por 15 minutos.
- Posterior a la agitación, se agregaron 100µL de Ácido Sulfúrico 2.5M para detener la reacción.
- Se revelaron las placas en Lector de Microplacas a una longitud de onda de 492 nm.

Determinación de Estrés Oxidante

La determinación de estrés oxidante se realizó mediante la cuantificación de sustancias oxidantes en suero,

- Ácido tiobarbitúrico: la concentración de especies reactivas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) se cuantificó con el kit QuantiChrom™ TBARS Assay Kit (DTBA – 100) siguiendo las recomendaciones del fabricante.
- Catalasa: la actividad de la catalasa se estimó mediante el kit EnzyChrom™ Catalase Assay Kit (ECAT – 100) siguiendo las recomendaciones del fabricante.
- Glutación peroxidasa: la cuantificación del glutación se realizó con el kit QuantiChrom™ Glutathione Assay Kit (DIGT – 250) siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Una vez procesadas todas las muestras se procederá a la lectura con ayuda de un Lector de Microplacas para Absorbancia BioTek ELX800 y el análisis de la lectura se realizará con apoyo del Software para Análisis de Datos Gen5™ de BioTek.

Para determinar el daño oxidante en proteínas se utilizó un método espectrofotométrico de carbonilación de linfocitos de la sangre periférica con la siguiente técnica:

- Se diluyeron 500µl de sangre en 500µl de suero fisiológico.
- En 2ml de ficoll, se adicionó la sangre diluida sin que se mezclara.
- Se centrifugó por 25 minutos a 1200rpm (0 freno/0 aceleración)
- Se extrajo la banda de linfocitos con pipeta Pasteur.
- Se adicionaron 3ml de medio Hanks frío.
- 1er lavado: se centrifugó por 5 minutos a 2000rpm.
- Se eliminó el sobrenadante y se agregaron 1500µl de solución de lisis almacenado durante 2 minutos en hielo.
- Posterior a los 2 minutos agregaron 3ml de medio Hanks frío.
- Se centrifugó por 5 minutos a 2000rpm y tiró el sobrenadante.
- Se resuspendió el botón en 1ml de medio Hanks frío y trasvasó a tubos Falcon.
- Se centrifugó por 5 minutos a 2000rpm y eliminó el sobrenadante.
- Se agregaron 500 µL de solución salina.
- Se incubó por 1 hora y cada 15 minutos se agitaba.
- Se agregó 1mL de ácido tricloroacético al 10%.
- Se centrifugó por 5 minutos a 2500rpm y eliminó sobrenadante.
- Se agregó 1mL de ácido tricloroacético al 5% y homogeneizar.
- Se centrifugó por 5 minutos a 2500rpm y desechó sobrenadante.
- Se agregaron 2mL de solución etanol-acetato de etilo (1:1).
- Se centrifugó por 5 minutos a 2500rpm y eliminó sobrenadante.
- Se disolvió en 1mL de guanidina y se incubó por 10 minutos a temperatura ambiente.
- La lectura se realizó en espectrofotómetro a longitud de onda de 370nm.

En paralelo se realizó la determinación de proteínas por la técnica de Lowry con reactivo de Folin Fenol:

- Se agregaron 50µL de muestra a cada tubo.
- Se adicionó 1mL de solución cuproalcalina.
- Por último, se agregaron 100µl de Folin 1N.
- Se agitó en Vortex y se incubó por 45 minutos.
- La lectura se realizó en espectrofotómetro a una longitud de onda de 550nm.

La carbonilación de las proteínas se calculó con la siguiente fórmula:

$$\frac{[(\text{Blanco} - \text{Problema}) \times 45.45] \times 1000\text{mL de muestra utilizados}}{(\text{Proteínas de Lowry} \times 10)} = \text{pmoles/dL}$$

8. RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos se registraron en un formato correspondiente para consumo de alimento y líquido durante todo el periodo de estudio, se registraron las concentraciones de glucosa, citocinas, hormonas y estrés oxidante para posteriormente construir una base de datos utilizando el programa estadístico IBM SPSS Statistics Versión 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.

9. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos recabados se capturaron utilizando el software estadístico SPSS.22 para Windows, su procesamiento se llevó a cabo por medio de análisis de varianza de medidas repetidas (ANOVA) y HSD de Tukey. Las diferencias se consideraron significativas con un valor de $p < 0.05$.

10. IMPLICACIONES BIOÉTICAS

El trabajo se sometió a revisión por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina obteniendo la aprobación con el número de registro 009.2022, el desarrollo del presente estudio se llevó a cabo siguiendo los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud que señala:

TÍTULO SÉPTIMO

De la investigación que incluya la utilización de animales de experimentación.

CAPITULO ÚNICO

Artículo 121.- En las investigaciones experimentales con animales, referidas a la salud humana, se deberán llenar los requisitos que establezcan las normas de las propias instituciones de salud, autorizadas por la Secretaría y satisfacer lo señalado en éste capítulo.

Artículo 122.- Las investigaciones se diseñarán a modo de evitar el máximo sufrimiento de los animales.

Artículo 123.- Cuando sea necesario sacrificar a un animal de experimentación, se empleará un procedimiento que asegure en lo posible su muerte sin sufrimiento.

Artículo 124.- Los bioterios deberán estar de acuerdo con la especie, conformación corporal, hábitos, preferencias posturales y características locomotoras de los animales, para proporcionar comodidad, excepto cuando las variables experimentales justifiquen otras situaciones.

Artículo 125.- Los bioterios de producción o mantenimiento crónico serán supervisados por profesionales calificados y competentes en la materia y deberán permitir el crecimiento, maduración, reproducción y comportamiento normal de los animales, de conformidad con las normas que la propia institución emita.

Artículo 126.- El titular de la institución de salud en donde se realice la investigación a la que se refiere este capítulo, deberá establecer y vigilar el cumplimiento de las medidas de seguridad para el cuidado y manejo de los animales, así como las medidas de profilaxis y vacunación necesarias para protección del personal ocupacionalmente expuesto.

Así mismo, se tuvieron en consideración las recomendaciones establecidas en las guías internacionales Animal Research: Reporting In Vivo Experiments 2.0 (ARRIVE guidelines 2.0).

Los Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos (RPBI) que se generaron durante el desarrollo del presente estudio, se manejaron conforme a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección Ambiental - Salud Ambiental - Residuos Peligrosos Biológicos-Infeciosos – Clasificación y Especificaciones de Manejo.

11. RESULTADOS

11.1. Artículo aceptado

Título: "Pharmacological induction of Diabetes Mellitus in pregnant female mice: a comparison of two doses and routes of administration"

11.2. Carta de aceptación de artículo

De: redazione.journals <redazione.journals@verduci.it>
Enviado: viernes, febrero 09, 2024 02:24 AM
Para: beatriz elina martinez <martinez_elina9@hotmail.com>
Asunto: R: Manuscript status #32495 entitled "Pharmacological induction of Diabetes Mellitus in pregnant female mice: a comparison of two doses and routes of administration"

Dear Dr,

Yes, the article was accepted on January 30. You can proceed with the payment.

Best regards,

Alessia De Rosa

Journal Editorial Team

Verduci Publisher
Via Gregorio VII, 186
00165 – Rome, Italy
<https://www.europeanreview.org>
www.verduci.it

Publishing Manager

Home Your Articles Contact us FAQ Logout

Home / Your Articles

| # | Title | Status | Type | Submission date | Actions |
|-------|--|---|-------------|------------------------|----------------------|
| 32495 | Pharmacological induction of Diabetes Mellitus in pregnant female mice: a comparison of two doses and routes of administration | Accepted Payment status: To pay | Resubmitted | 2024-01-28 17:56:15 | Pay now |

+ Upload new article

Journals where you can publish

| | |
|---|--|
| 1 | European Review for Medical and Pharmacological Sciences |
|---|--|

Add journal

Copyright © 2024 Publishing Manager

VISA V DAY Mastercard UnionPay PayPal Alipay WeChat Pay

Abstract

Objective: To compare two routes of administration and different dosage with Streptozotocin (STZ) for the pharmacological induction of Gestational Diabetes Mellitus (GDM) in pregnant CD1 females. **Material and Methods:** We worked with 35 female CD1 mice divided into 5 groups (n = 7). Diabetes *Mellitus* (DM) was induced with STZ

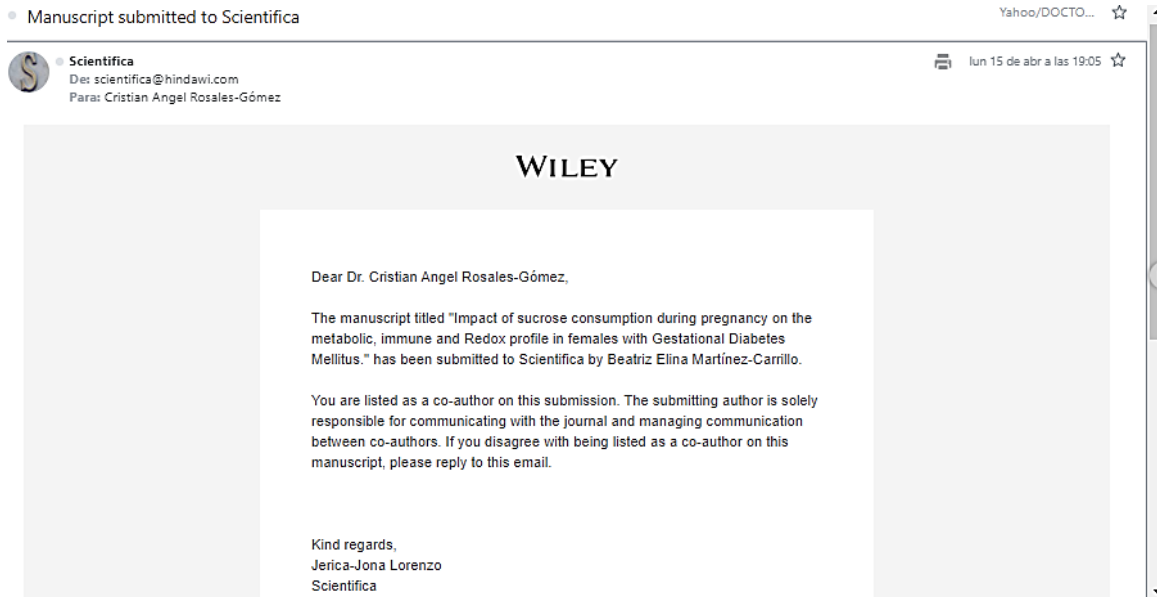
by two routes and two doses: 1) Control Group without administration of STZ (CL), 2) Intraperitoneal Group with 200 mg of STZ / Kg of weight (IP200), 3) Intraperitoneal Group with 230 mg of STZ / Kg of weight (IP230), 4) Subcutaneous Group with 200 mg of STZ / Kg of weight (SC200) and 5) Subcutaneous Group with 230 mg of STZ / Kg of weight (SC230). Body Weight, food and water intake, glycaemia, Insulin Resistance Index (HOMA-IR), survival and birth rate were identified. **Results:** The SC230 group turned out to be the most effective dose and route for the induction of GDM in pregnant females. This scheme managed to reproduce sustained hyperglycaemia with high HOMA-IR, presence of polyphagia, polydipsia and weight loss. In addition, the birth rate and survival were high compared to the other doses and routes of administration. **Conclusions:** The administration of a single dose of 230 mg / kg of weight by subcutaneous route, supposes advantages compared to previously used models, since it decreases the physiological stress due to manipulation, the costs, since it does not require repeated doses or adjuvants such as high lipid diets to potentiate the diabetogenic effect of STZ.

Key words: Gestational Diabetes *Mellitus*, Pharmacology Induction, Streptozotocin, Insulin Resistance, Survival.

11.3. Artículo enviado

Título: Impact of sucrose consumption during pregnancy on the metabolic, immune and Redox profile in females with Gestational Diabetes Mellitus.

11.4. Carta de envío del artículo



Abstract

The consumption of simple carbohydrates during pregnancy represents an important source of energy for the mother-child pair. However, this consumption can also have various effects such as generating gestational diabetes mellitus (GDM), increased body weight and inflammation. This consumption increases glucose transport to the fetus, adiposity and the risk of macrosomia. Thus, the objective was to research the Impact of sucrose consumption during pregnancy on the metabolic, immune and Redox profile in females with Gestational Diabetes Mellitus. 24 female CD1 mice were used, they were divided into two groups: Control (CL) and DMG. Each group was subdivided into 2 subgroups: a) Without Sucrose and b) With Sucrose. The following were determined: body weight, Body Mass Index (BMI), Glucose, hormones (insulin, adiponectin and leptin), CD3+ T lymphocytes, cytokines (IL-1 β , IL-6, IFN- γ and TNF- α), IgA antibodies, and IgG, as well as Redox systems (CAT, Catalase, Glutathione Reductase, SOD, TBARS and AGE). The Sucrose consumption increases HOMA-IR and the secretion of insulin, adiponectin and leptin, it also increased the secretion of proinflammatory cytokines and the production of IgA and IgG antibodies, decreased the activity of the Glutathione Reductase enzyme and increased the production of TBARS and AGE.

High sucrose consumption increases the inflammatory response mediated mainly by CD8+ lymphocytes and the production of proinflammatory cytokines, it can trigger a compensatory humoral response and alter Redox mechanisms causing a state of Oxidant Stress.

Key words: Gestational Diabetes *Mellitus* Gestacional, Sucrose, Immune response, Redox mechanisms.

12. DISCUSIÓN GENERAL

El embarazo desencadena una serie de adaptaciones metabólicas para garantizar un suministro adecuado de nutrientes al feto en crecimiento. Uno de los cambios clave es la resistencia a la insulina, que aumenta progresivamente a lo largo del embarazo debido a la producción de hormonas placentarias que reducen la sensibilidad a la insulina, esto trae como resultado una disminución de hasta un 60% en la sensibilidad a la insulina en el segundo trimestre.

Además, el metabolismo de la glucosa se ve afectado, al inicio del embarazo las concentraciones de glucosa en ayunas pueden disminuir debido al aumento de la volemia materna; sin embargo, a medida que avanza el embarazo y aumentan las reservas de tejido adiposo materno, aumenta el riesgo de desarrollar diabetes mellitus gestacional.

Estos cambios metabólicos también pueden traer consecuencias como hipertensión, preeclampsia, cesáreas y parto prematuro en la madre gestante, en el feto puede aumentar el riesgo de distocia, síndrome de distrés respiratorio, ictericia e hiperglucemia neonatal.

Ganancia de peso e índice de masa corporal

La ganancia de peso durante el embarazo está influenciada por el trimestre de gestación y la ingesta de alimentos de la madre. Los hidratos de carbono son una fuente importante de energía durante el embarazo, pero una mayor ingesta de hidratos de carbono simples puede provocar un aumento acelerado de la glucosa en sangre después de la ingesta de comida, lo que lleva a una respuesta hiperglucemia posprandial más pronunciada.

No hay datos concluyentes sobre la relación entre la ingesta de hidratos de carbono simples y la ganancia de peso durante el embarazo, se ha observado que las mujeres con diabetes gestacional tienden a ganar menos peso que aquellas sin diabetes, esta misma situación lo pudimos observar en nuestro estudio, tanto los grupos con diabetes

gestacional como el grupo control suplementado con sacarosa mostraron una menor ganancia de peso en comparación con el grupo control sin suplementación.

Resistencia a la insulina

En la diabetes gestacional, la resistencia a la insulina está relacionada con una secreción deficiente de insulina por parte de las células beta pancreáticas y el tejido adiposo de la mujer embarazada, los resultados de nuestro estudio muestran una mayor resistencia a la insulina en los grupos con diabetes gestacional, independientemente del peso o el índice de masa corporal. Además, la suplementación con sacarosa no tuvo un impacto significativo en la secreción de insulina, lo que sugiere que otros factores pueden estar influyendo en la resistencia a la insulina durante la diabetes gestacional.

Cambios en la respuesta inmunitaria

El sistema inmunitario experimenta cambios durante el embarazo para evitar el rechazo del feto, sin embargo, la presencia de hiperglucemia puede alterar la función inmunológica y aumentar el riesgo de infecciones y complicaciones en las mujeres con diabetes gestacional.

Se ha observado una respuesta inflamatoria en la diabetes gestacional, caracterizada por la infiltración de células T en el tejido adiposo visceral y la producción de citocinas proinflamatorias. Nuestros resultados sugieren que la respuesta inmunitaria puede verse afectada por la ingesta de azúcares simples, ya que los grupos con diabetes y aquellos que recibieron sacarosa mostraron un aumento en el porcentaje de linfocitos y la producción de citocinas proinflamatorias.

Estrés Oxidante

Durante la diabetes gestacional, los niveles elevados de glucosa pueden desencadenar una serie de trastornos metabólicos que afectan el equilibrio de los sistemas de oxidación y reducción (Redox).

Al inicio, una dieta rica en sacarosa puede inducir una respuesta antioxidante, aumentando la actividad de enzimas como la Super Óxido Dismutasa (SOD), la Catalasa y la Glutación Peroxidasa (GPx). Sin embargo, este efecto se revierte después de unas semanas, con una marcada reducción de SOD y Catalasa, y una ligera disminución de GPx. Esto indica que la ingesta prolongada de sacarosa puede desequilibrar los sistemas Redox, generando estrés oxidativo a corto plazo.

Nuestro estudio mostró resultados contradictorios en relación con la respuesta antioxidante. Encontramos que la hiperglucemia y la ingesta de sacarosa aumentaron la Capacidad Antioxidante Total y la actividad de la SOD, con cambios mínimos en la actividad de la Catalasa y una disminución en la actividad de la Glutación Reductasa.

Además, observamos que el consumo prolongado de sacarosa aumentó la producción de TBARS y la formación de Productos Finales de Glicación Avanzada (AGE), independientemente de la presencia de diabetes gestacional. Curiosamente, la generación de AGE fue menor en el grupo con diabetes gestacional sin suplementación que en los otros grupos de estudio.

13. CONCLUSIONES GENERALES

La DMG aunado con el consumo elevado de sacarosa afectan la secreción de adiponectina y leptina, también ejerce un efecto potencial sobre el sistema inmunitario ya que aumenta la respuesta inflamatoria, principalmente mediada por los linfocitos CTD8+ y la producción de citocinas proinflamatorias. También puede inducir una respuesta inmune humoral compensatoria mediante la producción de anticuerpos IgA e IgG.

Además, altera los mecanismos Redox, generando Estrés Oxidativo, aumento de la producción de Productos Finales de Glicación Avanzada (AGE) y de Especies Reactivas de Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), lo que incrementa las complicaciones del embarazo para la madre y el feto.

Lo hallazgos de nuestra investigación podría ofrecer una comprensión más completa de los efectos adversos del consumo elevado de sacarosa durante la etapa de gestación aún sin la presencia de alguna condición metabólica como la Diabetes Mellitus Gestacional, se necesita mayor investigación para determinar si estos cambios persisten después del parto y si la respuesta inmune humoral produce anticuerpos específicos contra la glucosa plasmática y la sacarosa en el tracto digestivo y pueden ser transferidos a la progenie, lo cual puede dar pauta para futuras investigaciones complementarias.

14. REFERENCIAS

1. Silva-Zolezzi I, Samuel TM, Spieldenner J. Maternal nutrition: opportunities in the prevention of gestational diabetes. *Nutr Rev.* 2017; 75(1): 32 – 50.
2. Kanguru L, Bezawada N, Hussein J, et al. The burden of diabetes mellitus during pregnancy in low- and middle-income countries: a systematic review. *Glob Health Action.* 2014; 7: 23987.
3. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas*, 8th edition. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2017 [Consultado 2020 Jul 20] Disponible en: <http://www.diabetesatlas.org>
4. 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.
5. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes - 2019 *AbriDMGed for Primary Care Providers*, *Clin Diabetes*, 2019; 37(1): 11 – 34.
6. Martínez-Cruz N, Rapisarda AMC, Soriano-Ortega KP, Arce-Sánchez L, Cianci A, Ortega-Gonzalez C, et al. Perinatal Outcomes in Mexican Women with Untreated Mild Gestational Diabetes Mellitus Diagnosed by the International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups Criteria. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2019; 2: 2667 – 2674.
7. Dainelli L, Prieto-Patrón A, Silva-Zolezzi I, Sosa-Rubi SG, Espino Y Sosa S, Reyes-Muñoz 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; 5(11): 105 – 116.
8. Hedderson MM, Darbinian JA, Ferrara A. Disparities in the risk of gestational diabetes by race-ethnicity and country of birth. *Pediatr Perinat Epidemiol.* 2010; 24(5): 441 – 8.
9. Guariguata L, Linnenkamp U, Beagley J, Whiting D, Cho N. Global estimates of the prevalence of hyperglycaemia in pregnancy. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014; 103(2): 176 – 85.

10. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes 2018. *Diabetes Care* 2018; 41(1): S13 - S27.
11. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, Williams D. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*. 2009; 373(9677): 1773 – 1779.
12. 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.
13. Sevket O, Sevket A, Ozel A, Dansuk R, Kelekci S. The use of HbA1c as an aid in the diagnosis of gestational diabetes mellitus. *J Obstet Gynaecol*. 2014; 34(8): 690 – 2.
14. Claesson R, Ignell C, Shaat N, Berntorp K. HbA1c as a predictor of diabetes after gestational diabetes mellitus. *Prim Care Diabetes*. 2017; 11(1): 46 – 51.
15. Wang Q, Würtz P, Auro K, Mäkinen VP, Kangas AJ, Soininen P, et al. Metabolic profiling of pregnancy: cross-sectional and longitudinal evidence. *BMC Med*. 2016; 14(1): 205.
16. Forbes S, Barr SM, Reynolds RM, Semple S, Gray C, Andrew R, et al. Convergence in insulin resistance between very severely obese and lean women at the end of pregnancy. *Diabetologia* 2015; 58(11): 2615 – 26.
17. Muche AA, Olayemi OO, Gete YK. Prevalence and determinants of gestational diabetes mellitus in Africa based on the updated international diagnostic criteria: a systematic review and metaanalysis. *Arch Public Health*. 2019; 77: 36.
18. Baz B, Riveline JP, Gautier JF. Endocrinology of pregnancy: Gestational diabetes mellitus: definition, etiological and clinical aspects. *Eur J Endocrinol*. 2016; 174(2): R43 – 51.
19. Dolatkhah N, Hajifaraji M, Shakouri SK. Nutrition Therapy in Managing Pregnant Women With Gestational Diabetes Mellitus: A Literature Review. *J Family Reprod Health*. 2018; 12(2): 57 – 72.

20. Saldana TM, Basso O, Hoppin JA, Baird DD, Knott C, Blair A, et al. Pesticide exposure and self-reported gestational diabetes mellitus in the Agricultural Health Study. *Diabetes Care*. 2007; 30(3): 529 – 34.
21. Evensen AE. Update on gestational diabetes mellitus. *Prim Care*. 2012; 39(1): 83 – 94.
22. Roca-Rodríguez MM, López-Tinoco C, Fernández-Deudero A, Murri M, García-Palacios MV, García-Valero MA, et al. Adipokines and metabolic syndrome risk factors in women with previous gestational diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev*. 2012; 28(6): 542 – 8.
23. Ornoy A, Becker M, Weinstein-Fudim L, Ergaz Z. Diabetes during Pregnancy: A Maternal Disease Complicating the Course of Pregnancy with Long-Term Deleterious Effects on the Offspring. A Clinical Review. *Int J Mol Sci*. 2021; 22(6): 2965.
24. Winhofer Y, Kiefer FW, Handisurya A, Tura A, Klein K, Schneider B, et al. CTX (crosslaps) rather than osteopontin is associated with disturbed glucose metabolism in gestational diabetes. *PLoS One*. 2012; 7 (7): e40947.
25. Plows JF, Stanley JL, Baker PN, Reynolds CM, Vickers MH. The Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*. 2018; 19 (11): 3342.
26. Newens KJ, Walton J. A review of sugar consumption from nationally representative dietary surveys across the world. *J Hum Nutr Diet*. 2016; 29(2): 225 – 40.
27. Aranceta-Bartrina J, Pérez-Rodrigo C. Relación entre el consumo de sacarosa y cáncer: una revisión de la evidencia [Association between sucrose intake and cancer: a review of the evidence]. *Nutr Hosp* 2013; 28(4): 95 – 105.
28. Key TJ, Spencer EA. Carbohydrates and cancer: an overview of the epidemiological evidence. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61(1): S112 – 21.
29. Trumbo P, Schlicker S, Yates AA, Poos M. Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine, The National Academies. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. *J Am Diet Assoc*. 2002; 102(11): 1621 – 30.

30. Lovegrove A, Edwards CH, De Noni I, Patel H, El SN, Grassby T, et al. Role of polysaccharides in food, digestion, and health. *Crit. Rev. Food Sci Nutr.* 2017; 57(2): 237 – 253.
31. Mustad VA, Huynh DT, López-Pedrosa JM, Campoy C, Rueda R. The role of dietary carbohydrates in Gestational Diabetes. *Nutrients.* 2020; 12(2): 385.
32. Townsend GE 2nd, Nathan WH, Varsha S, Barry NA 3rd, Goodman AL, Groisman EA. Dietary sugar silences a colonization factor in a mammalian gut symbiont. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2019; 116(12): 233 – 238.
33. Lekva T, Norwitz ER, Aukrust P, Ueland T. Impact of systemic inflammation on the progression of gestational diabetes mellitus. *Curr Diab Rep.* 2016; 16(4): 26.
34. Richardson AC, Carpenter MW. Inflammatory mediators in gestational diabetes mellitus. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2007; 34(2): 213 – 224.
35. Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M: Th1/Th2/Th17 and regulatory T-Cell paradigm in pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 2010; 63(6): 601 – 10.
36. Barañao RI. Inmunología del embarazo [Immunology of pregnancy]. *Invest. Clín.* 2011; 52(2): 175 – 94.
37. Barbour LA, McCurdy CE, Hernandez TL, Kirwan JP, Catalano PM, Friedman JE. Cellular mechanisms for insulin resistance in normal pregnancy and gestational diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30 (2): S112 – 9.
38. Kim JH, Bachmann RA, Chen J. Interleukin-6 and insulin resistance. *Vitam. Horm.* 2009; 80: 613 – 33.
39. Kirwan JP, Hauguel-De Mouzon S, Lepercq J, Challier JC, Huston-Presley L, Friedman JE, et al. TNF-alpha is a predictor of insulin resistance in human pregnancy. *Diabetes* 2002; 51: p.2207–2213.
40. Friedman JE, Kirwan JP, Jing M, Presley L, Catalano PM. Increased skeletal muscle tumor necrosis factor-alpha and impaired insulin signaling persist in obese women with gestational diabetes mellitus 1 year postpartum. *Diabetes.* 2008; 57(3): 606 – 13.
41. Atègbo JM, Grissa O, Yessoufou A, Hichami A, Dramane KL, Moutairou K, et al. Modulation of Adipokines and Cytokines in Gestational Diabetes and Macrosomia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(10): 4137 – 43.

42. Maple-Brown L, Ye C, Hanley AJ, Connelly PW, Sermer M, Zinman B, et al. Maternal pregravid weight is the primary determinant of serum leptin and its metabolic associations in pregnancy, irrespective of gestational glucose tolerance status. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97(11): 4148 – 55.
43. Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, et al. Nonadipose tissue production of leptin: Leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med.* 1997; 3: 1029 – 1033.
44. Pérez-Pérez A, Maymó JL, Gambino YP, Guadix P, Dueñas JL, Varone CL, et al. Activated translation signaling in placenta from pregnant women with gestational diabetes mellitus: Possible role of leptin. *Horm Metab Res.* 2013; 45: 436 – 42.
45. Sifnaios E, Mastorakos G, Psarra K, Panagopoulos ND, Panoulis K, Vitoratos N, et al. Gestational Diabetes and T-cell (Th1/Th2/Th17/Treg) Immune Profile. *In Vivo.* 2019; 33(1): 31 – 40.
46. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med.* 2002; 8(11): 1288 – 95.
47. Kishida K, Funahashi T, Shimomura I. Molecular mechanisms of diabetes and atherosclerosis: Role of adiponectin. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2012(2); 12: 118 – 31.
48. Lappas M, Hiden U, Desoye G, Froehlich J, Hauguel-de Mouzon S, Jawerbaum A. The role of oxidative stress in the pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal.* 2011; 15(12): 3061 – 100.
49. Zhu C, Yang H, Geng Q, Ma Q, Long Y, Zhou C, et al. Association of oxidative stress biomarkers with gestational diabetes mellitus in pregnant women: A case-control study. *PLoS ONE.* 2015; 10(4): e0126490.
50. Manea A, Tanase LI, Raicu M, Simionescu M. Transcriptional regulation of NADPH oxidase isoforms, Nox1 and Nox4, by nuclear factor-kappaB in human aortic smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; 396(4): 901 – 7.

51. Harsem NK, Braekke K, Torjussen T, Hanssen K, Staff AC. Advanced glycation end products in pregnancies complicated with diabetes mellitus or preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2008; 24(8): 374 – 86.
52. Terrones MC, Rodríguez-Gustavo M, Rosas-Cabral A, Góngora-Ortega J, Serna-Vela F, Reyes- Robles ME, et al. Comparación del estrés oxidativo en mujeres con diabetes gestacional versus embarazos normoevolutivos. *Lux Médica*. 2018; 37: p.27-8.
53. Badehnoosh B, Karamali M, Zarrati M, Jamilian M, Bahmani F, Tajabadi-Ebrahimi M, et al. The effects of probiotic supplementation on biomarkers of inflammation, oxidative stress and pregnancy outcomes in gestational diabetes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2018; 31(9): 1128 – 1136.
54. Medina-Pérez EA, Sánchez-Reyes A, Hernández-Peredo AR, Martínez-López MA. Diabetes gestacional. Diagnóstico y tratamiento en el primer nivel de atención. *Med Int Méx*. 2017; 33 (1): p.91-98.
55. Khalafallah A, Phuah E, Al-Barazan AM, Nikakis I, Radford A, Clarkson W, et al. Glycosylated haemoglobin for screening and diagnosis of gestational diabetes mellitus. *BMJ Open*. 2016; 6(4): e011059.
56. Alfadhli EM. Gestational diabetes mellitus. *Saudi Med J*. 2015; 36(4): 399 – 406.
57. Abell SK, De Courten B, Boyle JA, Teede HJ. Inflammatory and Other Biomarkers: Role in Pathophysiology and Prediction of Gestational Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*. 2015; 16(6): 13442 – 73.
58. Gui ZH, Zhu YN, Cai L, Sun FH, Ma YH, Jing J, et al. Sugar-Sweetened beverage consumption and risks of obesity and hypertension in Chinese children and adolescents: A National Cross-Sectional Analysis. *Nutrients*. 2017; 9(12): 1302.
59. Byers SL, Wiles MV, Dunn SL, Taft RA. Mouse estrous cycle identification tool and images. *PLoS One*. 2012;7(4): e35538.
60. Fujii M, Shibazaki Y, Wakamatsu K, Honda Y, Kawauchi Y, Suzuki K, et al. A murine model for non-alcoholic steatohepatitis showing evidence of association between diabetes and hepatocellular carcinoma. *Med Mol Morphol*. 2013;46(3):141-52.

61. Baba H, Kurano M, Nishida T, Hatta H, Hokao R, Tsuneyama K. Facilitatory effect of insulin treatment on hepatocellular carcinoma development in diabetes. *BMC Res Notes*. 2017;10(1):478.
62. Kakehashi A, Chariyakornkul A, Suzuki S, Khuanphram N, Tatsumi K, Yamano S, *et al*. Cache Domain Containing 1 Is a Novel Marker of Non-Alcoholic Steatohepatitis-Associated Hepatocarcinogenesis. *Cancers (Basel)*. 2021;13(6):1216.
63. Parasuraman S, Raveendran R, Kesavan R. Blood sample collection in small laboratory animals. *J Pharmacol Pharmacother*. 2010;1(2):87-93.