



## Efecto de la diabetes materna en el desarrollo fetal de humanos y ratas

Ana Cecilia Polanco Ponce,\* María Cristina Revilla Monsalve,\*\* Miguel Ángel Palomino Garibay,\* Sergio Islas Andrade\*\*

### RESUMEN

La diabetes es una enfermedad metabólica, genéticamente determinada, con hiperglucemia en ayuno debida a la falta relativa o absoluta de insulina. Con el uso de insulina exógena se han logrado gestaciones a término en mujeres diabéticas; sin embargo, persisten problemas de difícil control, como: abortos espontáneos, mortalidad perinatal y malformaciones congénitas. Las malformaciones más frecuentes son: síndrome de regresión caudal, alteraciones en el cierre del tubo neural y cardiovasculares. La diabetes gestacional aumenta la grasa corporal fetal, acompañada de macrosomía, hiperinsulinemia, hipoglucemias, hipoxia, acidosis metabólica y aumento de las muertes perinatales. Durante la vida adulta, los hijos de madres diabéticas tienen obesidad, intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. Actualmente hay modelos animales de diabetes que permiten estudiar los mecanismos etiopatogénicos de estas alteraciones. La diabetes materna en las ratas afecta el desarrollo fetal en forma semejante a lo que sucede en los humanos. Los factores que más influyen en la embriopatía diabética son la hiperglucemias, que ocasiona daños al ADN al aumentar el estrés oxidativo y la hiperketonemia, que actúa sinérgicamente con la glucosa para inducir malformaciones congénitas. Los antioxidantes, como las vitaminas C y E, reducen la tasa de malformaciones. Durante la vida adulta las crías de ratas diabéticas sufren alteraciones en el metabolismo de la glucosa y en la función reproductora. Es deseable comprender las alteraciones de los hijos de madres diabéticas y cómo se producen y proporcionar elementos para prevenirlas y ofrecerles mejor calidad de vida.

**Palabras clave:** diabetes materna, desarrollo fetal, humanos, ratas.

### ABSTRACT

Diabetes is a genetically determined metabolic disease with fasting hyperglycemia due to relative or absolute absence of insulin. With the use of exogenous insulin, successful gestations are now possible. Nevertheless, there are still severe problems associated, such as spontaneous abortion, perinatal mortality and congenital malformations. Caudal regression syndrome, disclosure of the neural tube and cardiovascular alterations are the most common malformations. Gestational diabetes can induce increased fetal corporal fat and macrosomia with hyperinsulinemia, hypoglycemic, hypoxia, metabolic acidosis and perinatal death. During adult life, diabetic mothers' children can develop obesity, glucose intolerance and type 2 diabetes. In order to study fetuses' alterations during diabetic gestations we now have animal models of diabetes. Maternal diabetes in rats alters fetal development in a very similar manner to that of humans. Although we do not accurately know the pathogenic mechanism by which diabetes produces fetuses' abnormal development, hyperglycemia and hyperketonemia had been mentioned to have predominant roles. Hyperglycemia damages DNA and increases oxidative stress and hyperketonemia increases the rate of embryo malformations. The addition of antioxidants such as C and E vitamins can reduce this damage. During adult life, diabetic rats' cubs have alterations in glucose metabolism and in reproductive function. The understanding of mechanisms by which maternal diabetes affects fetuses development, can help us to prevent complications and improve mothers' and children's life quality.

**Key words:** maternal diabetes, fetus development, human, rats.

### RÉSUMÉ

Le diabète est une maladie métabolique, génétiquement déterminée, avec hyperglycémie à jeûne amenée par le manque relatif ou absolu d'insuline. Avec l'emploi d'insuline exogène on a réussi des gestations à terme dans des femmes diabétiques ; cependant, il persiste des problèmes de contrôle difficile comme des avortements spontanés, mortalité périnatale et malformations congénitales. Les malformations les plus fréquentes sont : syndrome de régression caudale, altération dans la fermeture du tube neural et altérations cardiovasculaires. Le diabète gestatoire augmente la graisse corporelle foetale, accompagnée de macrosomie, hyperinsulinémie, hypoglycémie, hypoxie, acidose métabolique et augmentation des décès périnataux. Pendant la vie adulte, les fils des mères diabétiques présentent obésité, intolérance au glucose et diabète type 2. Actuellement il y a des modèles animaux de diabète qui permettent d'étudier les mécanismes étiopathogéniques de ces altérations. Le diabète maternel dans les rats affecte le développement foetal de forme semblable à ce qui se passe dans les humains. Les facteurs les plus influents dans l'embryopathie diabétique sont l'hyperglycémie, qui cause des dommages sur l'ADN en augmentant le stress oxydatif et l'hypercétonémie qui agit synergiquement avec le glucose pour induire des malformations congénitales.

Les antioxydants, comme les vitamines C et E, réduisent le taux des malformations. Pendant la vie adulte, la portée des rats diabétiques présente des altérations dans le métabolisme du glucose et dans la fonction reproductive. Comprendre les altérations des fils des mères diabétiques et comment se produisent nous donne des éléments pour les prévenir et pouvoir leur offrir une meilleure qualité de vie.

**Mots-clé :** diabète maternel, développement fœtal, humains, rats.

## RESUMO

A diabete é uma doença metabólica, geneticamente determinada com hiperglicemia em jejum causada pela falta relativa ou absoluta de insulina, com o uso de insulina exogênica têm se conseguido gestações a término em mulheres diabéticas; contudo, persistem problemas de difícil controle como abortos espontâneos, mortalidade perinatal e malformações congénitas. As malformações de maior frequência são síndrome de regressão caudal, alterações no fechamento do tubo neural e alterações cardiovasculares. A diabete gestacional acrescenta a gordura corporal fetal, acompanhada de macrosomia, hiperinsulemia, hipoglicemia, hipóxia, acidose metabólica e aumento nas mortes perinatais. Durante a vida adulta, os filhos das mães diabéticas apresentam obesidade, intolerância à glicose e diabete tipo 2. Hoje existem modelos animais de diabete que permitem estudar os mecanismos etiopatogénicos de tais alterações. A diabete materna nas ratas afeta o desenvolvimento fetal de maneira semelhante a como acontece com os humanos. Os fatores de maior influência na embriopatia diabética são a hipoglicemia, que causa estrago ao ADN ao acrescentar o estresse oxidativo e a hipercetonemia que atua sinergicamente com a glicose para induzir malformações congénitas. Os anti-oxidantes, tais como as vitaminas C e E, diminuem a taxa de malformações. Durante a vida adulta os filhotes de ratas diabéticas apresentam alterações no metabolismo da glicose e na função reprodutiva. Compreender as alterações dos filhos de mães diabéticas e como é que se reproduzem fornece-nos de elementos para as prever e poder oferecê-lhes uma melhor qualidade de vida.

**Palavras chave:** diabete materna, desenvolvimento fetal, humanos, ratas.

**L**a diabetes es una enfermedad determinada genéticamente, con alteraciones del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas junto con deficiencia relativa o absoluta de la secreción de insulina, con grados variables de resistencia. Se distingue por hiperglucemia en ayuno y síntomas como poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida inexplicable de peso. En pacientes con larga evolución aparecen complicaciones microangiopáticas, en especial renales y oculares, así como macroangiopáticas con afectación de las arterias coronarias, enfermedad vascular periférica y neuropatía. La gravedad de la enfermedad depende de la patogénesis subyacente, del grado de deficiencia de la acción de la insulina, de la participación de factores ambientales y del daño progresivo de diversos tejidos.<sup>1</sup>

La diabetes gestacional tiene como característica el inicio durante la segunda mitad del embarazo de mujeres no diabéticas y puede o no remitir después del parto. La fisiopatología de esta afección está relacionada con hormonas placentarias, como: somatotropina coriónica placentaria, prolactina, cortisol y glucagón, que tienen efecto antagonista a la acción de la insulina, lo cual disminuye la tolerancia a la glucosa e incrementa la resistencia a esta hormona, por lo que pueden bloquearla parcialmente a partir de la vigésima cuarta semana de la gestación humana –por eso se dice que el embarazo es un estado diabetogénico *per se*.<sup>2</sup>

La gestación en mujeres previamente diabéticas es un suceso diferente: se considera embarazo de alto riesgo ya que las complicaciones que pueden llegar a sufrir la madre y los hijos son muy graves.

## DIABETES Y GESTACIÓN

Al final del siglo XIX era imposible concebir la idea de que la diabetes y la gestación pudieran coexistir porque las mujeres diabéticas tenían serios problemas para embarazarse y, en caso de lograrlo, la tasa de mortalidad materno-infantil era tan elevada que no llegaban al final de la gestación. Con el descubrimiento y la comercialización de la insulina, el pronóstico de las pacientes con diabetes mejoró en

\* Maestro en Biología de la Reproducción.

\*\* Doctor en Ciencias.

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Metabólicas, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correspondencia: M en C Ana Cecilia Polanco Ponce. Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Metabólicas, Centro Médico Nacional Siglo XXI. Av. Cuauhtémoc 330, colonia Doctores, CP 06720, México, DF.

Recibido: febrero, 2005. Aceptado: septiembre, 2005.

La versión completa de este artículo también está disponible en internet: [www.revistasmedicasmexicanas.com.mx](http://www.revistasmedicasmexicanas.com.mx)

forma importante, lo que además permitió que el embarazo fuera posible. Con ello, disminuyó la mortalidad materno infantil. Sin embargo, persistían complicaciones de difícil manejo. La hipertensión y la toxemia ocurrían con más frecuencia en la población general, la mortalidad infantil era del 18%, y más del 50% de los recién nacidos eran macrosómicos. La tasa de malformaciones congénitas mayores, múltiples y mortales era cuatro a seis veces mayor que en la población en general y ocupaba los primeros lugares como causa de mortalidad infantil en hijos de madres diabéticas. Actualmente, la incidencia de malformaciones congénitas es, por lo menos, dos a cuatro veces mayor que en el resto de la población, y la mortalidad infantil sigue siendo un problema de difícil control. Sin embargo, se ha avanzado notablemente en el cuidado neonatal intensivo, lo que ha reducido la mortalidad infantil y permite observar alteraciones a largo plazo en los hijos de madres diabéticas. A pesar de dichos progresos, estos niños sufren disfunciones metabólicas durante la vida adulta que pueden variar desde intolerancia a la glucosa hasta diabetes manifiesta.<sup>3</sup>

## ALTERACIONES EN HIJOS DE MADRES DIABÉTICAS

Las alteraciones en los hijos de madres diabéticas dependen de la gravedad de la diabetes, el grado de descontrol metabólico y el momento de la gestación en la que se inicia la diabetes. Cuando la madre es diabética antes de la gestación existe mayor incidencia de abortos espontáneos, mortalidad perinatal y malformaciones congénitas.<sup>4</sup> Cuando se trata de diabetes gestacional hay aumento en la cantidad de grasa corporal, macrosomía, hiperinsulinismo fetal, hipoglucemia fetal, hipoxia, acidosis metabólica y aumento en el índice de muertes perinatales. En la etapa final de la gestación la muerte intrauterina y perinatal es cuatro veces más frecuente. Las principales causas de morbilidad y mortalidad perinatal son: la hipoxia y la acidosis fetal (síndrome de insuficiencia respiratoria del recién nacido), la hipoglucemia e hipocalcemia. La macrosomía y el mal control de la diabetes materna durante el embarazo también influyen en la mortalidad perinatal. La macrosomía que ocurre en el último trimestre de la gestación se ha ex-

plicado por la transferencia placentaria de mayor cantidad de glucosa y otros nutrientes. Este aporte adicional de nutrientes acelera la maduración secretora de los islotes fetales y provoca hiperinsulinismo fetal, lo que aumenta el potencial anabólico en el feto y, al mismo tiempo, produce hipoglucemias neonatales.<sup>2</sup>

Las alteraciones que sufren los hijos de madres diabéticas en la vida adulta dieron pie a la idea de “programación intrauterina” de algunas enfermedades con la participación predominante de factores ambientales, más que de factores genéticos. Entre los padecimientos que se pueden “programar” *in utero* destacan la obesidad –que aparece desde la infancia hasta la vida adulta– y las alteraciones en la tolerancia a la glucosa e incluso diabetes tipo 2.<sup>2,3</sup> En el área neurológica los hijos de madres diabéticas pueden sufrir alteraciones psicomotoras y psicosociales.<sup>2</sup>

### Malformaciones congénitas en hijos de madres diabéticas

La mayor parte de las malformaciones congénitas en hijos de madres diabéticas ocurre entre la cuarta y séptima semanas de gestación, un periodo crítico en el desarrollo porque se producen procesos teratogénicos. Las malformaciones más comunes se enlistan en el cuadro 1, la más frecuente es el síndrome de regresión caudal (agenesia o hipoplasia del fémur y de las últimas vértebras).<sup>5,6</sup>

Los mecanismos etiopatogénicos de las malformaciones congénitas aún no se conocen con certeza. Puede ser que existan factores genéticos concomitantes que predispongan a los embriones a padecer estas alteraciones o que sean los factores ambientales los que influyan en el desarrollo anormal. Lo más probable es que ambos interactúen.<sup>7</sup>

Se consideró a la insulina, *per se*, factor teratogénico; sin embargo, se demostró que la placenta es una barrera efectiva para evitar el paso de insulina materna al feto, por lo que tendría que ser la insulina fetal la que estuviera produciendo las alteraciones. La producción de insulina fetal se inicia después de haber concluido el periodo crítico para el desarrollo de malformaciones, alrededor de la semana ocho y diez de la gestación. La hiperinsulinemia fetal sólo ocurre durante la segunda mitad de la gestación; es decir, cuando el feto ya pasó la etapa embriogénica, por lo

que lo afecta en su crecimiento más que en su desarrollo.<sup>5</sup>

Se propuso que la glucosa podría ser el factor ambiental que más afecta el desarrollo durante la embriogénesis. En los hijos de madres diabéticas con pobre control metabólico existe mayor incidencia de malformaciones congénitas; incluso una mínima elevación de la glucosa en etapas tempranas de la gestación provoca aumento en la frecuencia de malformaciones congénitas.<sup>8</sup>

**Cuadro 1.** Principales alteraciones en los hijos de madres diabéticas (modificado de Reece y col.)<sup>6</sup>

#### Músculo-esquelético

- Síndrome de regresión caudal
- Labio leporino con o sin paladar hendido
- Costilla bifida
- Costilla "ondulada"
- Extremidades cortas
- Gastrosquisis
- Craneosinostosis

#### Cardiovascular

- Trasposición de los grandes vasos con o sin defectos del septum ventricular
- Defectos del septum ventricular
- Coartación de la aorta
- Defectos del septum auricular
- Hipoplasia del corazón izquierdo
- Tetralogía de Fallot
- Estenosis pulmonar

#### Nervioso central

- Defectos del tubo neural, excepto anencefalia
- Anencefalia con o sin hernias de elementos neurales
- Hidrocefalia
- Hidranencefalia
- Microcefalia
- Espina bifida

#### Renal

- Agenesia renal
- Riñón poliquístico
- Duplicación de uréter
- Situs inversus*
- Hidronefrosis
- Reflujo vésico-ureteral

#### Gastrointestinal

- Atresia duodenal
- Atresia anorrectal
- Síndrome del colon izquierdo pequeño
- Malrotación intestinal

#### Otros

- Retraso en el crecimiento fetal
- Pseudohermafroditismo
- Hipospadias
- Atresia vaginal
- Arteria umbilical única

El papel de la placenta en el desarrollo anormal de los productos de madres diabéticas es muy importante. Las placenas de madres diabéticas tienen alteraciones estructurales y funcionales, son de mayor tamaño y tienen mayor cantidad de factor de crecimiento placentario (PIGF) que está relacionado con neovascularización.<sup>9</sup> También se han observado alteraciones en la expresión de las proteínas de unión celular vascular de la placenta, lo que sugiere alteraciones en el funcionamiento de la barrera placentaria. Las placenas de madres diabéticas tienen mayor cantidad de glucógeno con aumento en la actividad de la tiroxinasa del receptor placentario de insulina, lo que a su vez aumenta la capacidad de unión de la insulina a la placenta. Estos estudios se realizaron en mujeres con diabetes gestacional y en placenas a término, asociándose con productos macrosómicos.<sup>10</sup> En cambio, en madres con diabetes tipo 1 no se encontraron alteraciones en la concentración de PIGF, hallazgo que aún no se ha explicado pero que se sugiere tiene que ver con la falta de insulina materna.<sup>9</sup> En ratas se han realizado estudios en un modelo semejante a la diabetes tipo 1 en el que los cambios de la placenta se asocian con disminución del peso fetal y retraso en el crecimiento.<sup>11</sup>

Se sugirió que la transmisión materna de autoanticuerpos anti-isloote aumenta el riesgo de padecer diabetes tipo 1.<sup>12</sup> En el estudio BABYdiab los recién nacidos que resultaron positivos a anticuerpos del isloote y anticuerpos de insulina transferidos de la madre tuvieron disminución del riesgo de generar anticuerpos anti-isloote múltiples (que en muchos casos preceden a la diabetes tipo 1) y posteriormente diabetes, lo que sugiere que los anticuerpos maternos pueden proveer a los hijos de cierta inmunidad contra la diabetes.<sup>13</sup>

#### Alteraciones de los hijos de madres diabéticas en la vida adulta

Parece que algunas enfermedades metabólicas del adulto, como la diabetes, pueden tener origen fetal. La hiperplasia de las células  $\beta$  e hiperinsulinismo que se observa en los fetos de madres diabéticas inducen cambios irreversibles en el páncreas, lo que ocasiona intolerancia a la glucosa, obesidad, e incluso diabetes tipo 2.<sup>2</sup> De hecho, las alteraciones en la tolerancia a la

glucosa persisten hasta por lo menos la tercera generación (cuadro 2).<sup>14</sup>

El concepto de “transmisión intrauterina” de la enfermedad, en especial con respecto a las alteraciones en el metabolismo de la glucosa, diabetes tipo 2, diabetes gestacional y síndrome metabólico, se debe considerar problema de salud pública, pero si las concentraciones de glucosa en la madre se logran controlar óptimamente, la transmisión a los hijos e inclusive a los nietos puede prevenirse.<sup>14</sup>

Se le ha dado gran importancia a las alteraciones en el desarrollo neurológico de los hijos de madres diabéticas. La información con la que se cuenta actualmente apunta a que pueden padecer retraso, de moderado a medio, en su desarrollo psicomotor y psicosocial, aunque tienden a compensarse con el tiempo. Parece que el origen de estas alteraciones es consecuencia del desarrollo en un ambiente hiperglucémico.<sup>15</sup>

## MODELOS ANIMALES DE DIABETES

La naturaleza de las alteraciones de la diabetes asociadas al embarazo y al desarrollo del feto hace necesario el estudio de aspectos fundamentales como áreas de prioridad en la investigación. La complejidad de la enfermedad, sus muy variadas formas de manifestación y la imposibilidad ética de realizar estudios en humanos obligan a recurrir a animales que sirvan como modelos de diabetes. Las diferencias in-

herentes entre especies y lo heterogéneo de la diabetes humana hacen inevitable el hecho de que no exista modelo animal para diabetes. Es necesario definir el problema a estudiar y, con base en ello, utilizar el modelo que más se ajuste a las necesidades del investigador, para de esa manera analizar cuidadosamente los resultados en su extrapolación a humanos.<sup>16</sup>

### Modelos animales de diabetes gestacional

Por desgracia, no hay síndrome de diabetes en animales que se ajuste a los patrones tan específicos de la diabetes gestacional humana. Sin embargo, varios modelos pueden proporcionar ayuda útil para estudiar la patogénesis de esta enfermedad.<sup>17</sup>

Se utilizaron varios modelos de diabetes gestacional sin interferencia de factores genéticos, con la finalidad de determinar si la diabetes puede ser transmitida a la siguiente generación únicamente por alteraciones en el medio de desarrollo fetal (ambiente hiperglucémico). La inducción de diabetes durante la gestación con estreptozaotocina se utiliza ampliamente, la manera más simple de hacerlo es inyectar a las ratas en algún momento de la gestación y estudiar las alteraciones en el desarrollo de sus fetos. Los resultados obtenidos con este método de inducción deben tomarse con precaución ya que la estreptozaotocina puede atravesar la barrera placentaria y ocasionar daños en el producto, en general, y en las células pancreáticas en desarrollo, en particular. Una manera de evitar esto es inyectar a las ratas antes del sexto día

**Cuadro 2.** Persistencia de las alteraciones en la tolerancia a la glucosa (Modificado de Aerts et al).<sup>14</sup>

1 <sup>a</sup> generación	Madre diabética (medio ambiente adverso)	Diabetes moderada ( $\geq 140 < 199$ mg/dL)	Diabetes severa ( $\geq 200$ mg/dL)
2 <sup>a</sup> generación	<b>Feto</b> (alteraciones nutricionales o endocrinas) <b>Adulto</b> (factores de riesgo, por ejemplo, obesidad) <b>Gestante</b> (medio ambiente adverso)	Células $\beta$ hiperactivas Hiperinsulinemia Macrosomía Respuesta deficiente de insulina Prueba de tolerancia a la glucosa alterada	Células $\beta$ sobre-estimuladas Hiper/hipoinsulinemia Microsomía Respuesta excesiva de insulina Resistencia a la insulina Diabetes gestacional
3 <sup>a</sup> generación	<b>Feto</b> <b>Adulto</b>	Hiperinsulinemia Macrosomía Prueba de tolerancia a la glucosa alterada	

de gestación, es decir, antes de la implantación, lo cual da como resultado que las alteraciones observadas en los embriones sean consecuencia de la hiperglucemia materna y no de la acción de la estreptozotocina.<sup>18</sup> Otra forma en la que se intentó inducir diabetes gestacional fue inyectando dosis subdiabetogénicas de insulina hasta en 50% y del número de células  $\beta$  en 65%, comparado con ratas sanas, las cuales posteriormente son apareadas. Estas ratas son normoglucémicas pero con intolerancia a la glucosa durante la gestación. Se demostró que tienden a la recuperación, ya que durante la gestación mostraron curvas normales de tolerancia a la glucosa.<sup>19</sup>

A fin de emular lo que sucede en humanos se desarrolló un modelo de insuficiencia útero-placentaria en ratas. Esto se hace mediante el ligamiento bilateral de las arterias uterinas en el día 19 de la gestación, lo que provoca reducción en el peso de las crías (IUGR por sus siglas en inglés de *intrauterine growth retarded*) desde el nacimiento hasta la semana siete de vida extrauterina. Entre las semanas siete y diez estas crías sobrepasan en peso a las controles, y para la semana 26 ya son obesas con concentraciones elevadas de glucosa. La masa relativa de células  $\beta$  en las ratas IUGR para la semana 15 es del 50% y para la semana 26 es de 1/3 de la de las controles.<sup>19</sup> Las ratas hembras IUGR tienen, durante la gestación, hiperglucemia progresiva e hiperinsulinemia acompañada de alteraciones en la tolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina, y sus crías son más pesadas al nacer y durante toda su vida con el desarrollo de resistencia a la insulina a edades muy tempranas y la consecuente alteración en la homeostasis de la glucosa.<sup>20</sup>

Existen animales que padecen diabetes en forma espontánea, pero su utilidad está limitada ya que por lo regular tienen serios problemas de infertilidad. Sin embargo, los ratones diabéticos obesos de Nueva Zelanda y Kasukabe llegan a tener crías a pesar de la obesidad y la intolerancia a la glucosa.<sup>17</sup>

Las ratas Bio-Breder con diabetes espontánea, las cuales desarrollan diabetes semejante a la tipo 1, pueden llegar a mantener concentraciones normales de glucosa en sangre con inyecciones de insulina subcutánea, con lo que se ha logrado la gestación en ciertos casos. Una vez gestantes, la dosis de insulina requerida normalmente es doble y a pesar de esto, el control

metabólico no siempre es óptimo. Este modelo se utiliza para investigar el efecto al suspender la insulina en diversas etapas de la gestación. Se observó que periodos cortos sin insulina provocan alteraciones severas en los productos, con aumento de la tasa de malformaciones congénitas, disminución de la tasa de productos viables, del peso de las crías y del número de centros de osificación, lo que indica que hay retraso en el crecimiento fetal, acompañado de aumento del peso de la placenta.<sup>16</sup>

#### **ALTERACIONES EN LAS CRÍAS DE LAS RATAS DIABÉTICAS**

Al igual que en humanos, la diabetes materna afecta el desarrollo de los fetos de rata, lo cual produce aumento del número de reabsorciones, disminución del número de crías por camada, disminución del peso de las crías, retraso en el crecimiento y aumento de la frecuencia de malformaciones congénitas.<sup>21</sup> El mecanismo que ocasiona las alteraciones en el desarrollo en los embriones de madres diabéticas aún no se conoce; sin embargo, parece ser multifactorial.<sup>18,22</sup>

La hiperglucemia *per se* tiene gran poder teratogénico. Actúa en diferentes campos celulares, lo cual provoca daño en el ADN<sup>23</sup> y produce cierto grado de estrés oxidativo que redundan en aumento en la producción de especies reactivas de O<sub>2</sub> (ROS)<sup>24</sup> y óxido nítrico (NO),<sup>25</sup> así como en la peroxidación de lípidos y la carboxilación de proteínas,<sup>26</sup> y disminuye al mismo tiempo los sistemas de amortiguación<sup>27</sup> y los de antioxidantes.<sup>24</sup>

En etapas tempranas del desarrollo la glucosa puede dañar el ADN y provocar mutaciones que impidan la expresión de genes críticos para la embriogénesis normal. Este daño puede retrasar la duplicación del ADN y, por lo tanto, la división celular, lo que interrumpe los tiempos de los programas del desarrollo necesarios para la organogénesis. De hecho, aun la hiperglucemia moderada durante un periodo corto es capaz de producir mutaciones al ADN.<sup>22</sup>

Se comprobó que el aumento en la formación de ROS y NO tiene gran influencia en el desarrollo de la embriopatía diabética. Aunque no se conoce el mecanismo mediante el cual la hiperglucemia genera aumento en la formación de radicales libres de oxíge-

no en los embriones de madres diabéticas, hay pruebas de cómo se producen en tejidos como el endotelio de los vasos sanguíneos. Hay tres rutas metabólicas mediante las cuales las mitocondrias producen superóxido, que a su vez activa la proteincinasa C y aumenta la producción de los productos finales de la glucólisis (AGEs), que en conjunto son los responsables de los daños a este tejido en pacientes diabéticos. En la diabetes materna el aumento de las concentraciones de ROS afecta la producción de la enzima glicolítica gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH). En embriones de ratas diabéticas se observó *in vivo* e *in vitro* disminución en la producción de la GAPDH, lo que se correlaciona directamente con aumento en la frecuencia de malformaciones congénitas. De hecho, la adición de iodoacetato, inhibidor de la acción de la GAPDH, produce efecto similar al que presentan los embriones cultivados en ambiente hiperglucémico.<sup>25</sup>

Un efecto muy importante de la sobreproducción de ROS podría ser el aumento en la peroxidación de lípidos. Los productos principales de la peroxidación de los lípidos, los hidroperóxidos (estimulantes de la biosíntesis de prostaglandinas pero inhibidores de prostaciclinas), producen desequilibrio perjudicial para el embrión. Desde 1990, en que se describieron los isoprotanos, se utilizan como marcadores de la peroxidación lipídica. Los isoprotanos son isómeros de las prostaglandinas que se forman a través de la reacción no enzimática del ácido araquidónico con radicales libres. En ratas madres diabéticas y sus fetos, se encontró el isoprotano 8-iso-prostaglandina F-2 $\alpha$  mucho más elevado que en ratas control, lo que indica aumento en las concentraciones de peroxidación lipídica. También se observó aumento en la carboxilación proteica –que se relaciona con daño tisular en el estrés oxidativo– en las madres diabéticas y en sus fetos. Estos dos parámetros correlacionan positivamente con el aumento en las malformaciones congénitas y en las reabsorciones, lo que indica la participación de la sobreproducción de ROS en la génesis de la embriopatía diabética.<sup>26</sup>

La hiperglucemia disminuye la eficiencia de los mecanismos amortiguadores de las especies reactivas de O<sub>2</sub>, además de aumentar la producción de ROS. En cultivos de embriones de rata diabética se observó dis-

minución de enzimas antioxidantes, específicamente la superóxido-dismutasa (SOD) y la catalasa, lo que correlaciona positivamente con el aumento en la incidencia de malformaciones congénitas, disminución del peso y del contenido de proteínas de los productos. También se comprobó que la adición de citolina, SOD, catalasa y glutatión peroxidasa tiene efecto protector en embriones de ratas cultivados en suero diabético; sobre todo la SOD, que disminuye el retraso en el crecimiento y las malformaciones embrionarias.<sup>27</sup> Además, existe disminución del glutatión, el cual está en la mayor parte de las células y juega un papel importante en la defensa celular contra el estrés oxidativo, ya que actúa como amortiguador contra ROS. Se detectó también disminución en los antioxidantes de bajo peso molecular tanto en el saco vitelino como en los embriones de ratas diabéticas.<sup>24</sup> La adición de antioxidantes, como las vitaminas C –molécula hidrofilica que puede amortiguar varios radicales– y E –antioxidante lipofílico que interfiere con la reacción en cadena de la peroxidación lipídica– al medio de cultivo diabético puede disminuir el efecto de la diabetes en la organogénesis.<sup>28</sup>

Además de la hiperglucemia, el ambiente intrauterino está alterado por la sobreproducción de cuerpos cetónicos, en especial del  $\beta$ -hidroxibutirato, que es el producido en mayor cantidad en los fetos de ratas diabéticas. Tanto la glucosa como los cuerpos cetónicos actúan sinérgicamente para producir retraso en el crecimiento e inducir malformaciones. Se demostró que la adición de  $\beta$ -hidroxibutirato a los cultivos de embriones de ratas diabéticas aumenta hasta 29% la tasa de malformaciones en comparación con los cultivos en los que únicamente se utilizó suero hiperglucémico; por otro lado, la adición de los inhibidores de somatomedina exacerbaba la inducción de malformaciones producidas por los cuerpos cetónicos y la glucosa.<sup>29</sup>

Se estudió el papel de la placenta en la transferencia de grandes cantidades de glucosa en fetos de ratas diabéticas y su relación con las alteraciones embrionarias que sufrieron. Se observó que las placas de ratas diabéticas son más grandes y pesadas que las de los controles,<sup>18</sup> con mayor cantidad de glucógeno desde el día 16 hasta el 22, así como de contenido de ADN, lo que sugiere que estas placas continúan con el proceso de síntesis del ADN mucho

después que éste terminó en las placetas controles. Se observó que el flujo sanguíneo total de la placenta se encuentra disminuido, para lo cual se aseveró que la placenta aumenta de tamaño para compensar la disminución del flujo. A pesar de que el flujo sanguíneo en las placetas de madres diabéticas se encuentra disminuido, no se modifica la transferencia placentaria de grandes cantidades de glucosa hacia el feto. Las placetas de ratas diabéticas también acumulan grandes cantidades de glucógeno, lo que se debe a la hiperglucemia de la madre. Estas placetas tienen anomalías estructurales como: degeneración cística del espongiotrofoblasto, aumento en el volumen de la capa laberíntica e hipervasculares, así como células gigantes del trofoblasto en etapas en las que éstas no deberían estar presentes. Últimamente se encontraron alteraciones en proteínas de matriz extracelular (como laminina y fibronectina) en placetas de ratas diabéticas que pueden explicar, en parte, las alteraciones morfológicas y funcionales en las mismas (Palomino MA, datos sin publicar). Estas modificaciones se observaron en placetas de ratas con diabetes semejante a la tipo 1 y correlacionan positivamente con la disminución en el peso y la talla de los fetos.<sup>11</sup>

#### **Alteraciones en la vida adulta**

Al igual que en humanos, las crías de ratas diabéticas tienen alteraciones en el metabolismo de la glucosa, que va desde alteraciones en la tolerancia a la glucosa hasta diabetes tipo 2. Se reportó hiperglucemia en los fetos de madres diabéticas, lo cual se explica por la transferencia placentaria de grandes cantidades de glucosa de la madre al feto. Sin embargo, hasta 40% de las crías de madres diabéticas sufren hiperglucemia durante la vida extrauterina. Esto se explica por el daño pancreático producido durante el desarrollo fetal. Estas ratas mueren antes de los 30 días de vida extrauterina. Las ratas que superviven tienen glucosa de ayuno normal, aunque 45% de las crías hembras muestran alteraciones en la curva de tolerancia a la glucosa durante su gestación (Polanco A, datos sin publicar). Esto se debe, tal vez, a que durante el desarrollo fetal estas crías estuvieron expuestas al aumento en la transferencia de glucosa de la madre al feto, lo que provocaría hipertrofia de los islotes fetales con la subsiguiente hiperinsulinemia fetal. Ésta sería responsable

de la “programación intrauterina” de las diversas enfermedades encontradas en el adulto, tales como intolerancia a la glucosa e inclusive diabetes tipo 2.<sup>30</sup> El peso relativo de la genética vs el ambiente intrauterino aún se discute, pero al menos en modelos animales, la prevención de la hiperglucemia durante la gestación reduce en forma significativa la prevalencia de la diabetes en la siguiente generación.<sup>2</sup>

En cuanto a la función reproductiva en los hijos de ratas diabéticas se demostró retraso en la secreción de las hormonas liberadora de gonadotropinas y luteinizante, lo que demora el inicio de la etapa reproductiva.<sup>31</sup> En un estudio en marcha se observó disminución significativa del tamaño de los testículos y los ovarios de las crías de rata desde el nacimiento hasta la etapa reproductiva, así como retraso en el inicio de la pubertad en las crías hembras (Polanco A, datos sin publicar). Se observaron alteraciones en los testículos de fetos de ratas diabéticas de 21 días de gestación, en los que se encontró reducción y redistribución en el número de cordones seminíferos, con reducción en el número de espermatogonias y alteración en la distribución de células de Sertoli.<sup>32</sup>

Aún falta estudiar más la patogénesis de las alteraciones de las crías de madres diabéticas que puedan explicar la aparición de complicaciones perinatales y la embriopatía diabética (abortos y malformaciones congénitas), así como las alteraciones que suceden en la edad adulta con la finalidad de prevenirlas y ofrecer a la madre y al hijo mejores condiciones y calidad de vida.

#### **REFERENCIAS**

1. Islas S, Revilla MC. Diabetes mellitus: Concepto y nueva clasificación. En: Islas S, Revilla-Monsalve C, editores. Diabetes mellitus. 3<sup>a</sup> ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 2004;Sección I,cap.1;pp:3-20.
2. García-Carrapato MR. The offspring of gestational diabetes. J Perinat Med 2003;31:5-11.
3. Holness MJ, Langdown ML, Sugden MC. Early-life programming of susceptibility to dysregulation of glucose metabolism and the development of type 2 diabetes mellitus. Biochem J 2000;349:657-65.
4. Rosenn B, Miodovnik M, Combs CA, Khoury J, Siddiqi TA. Glycemic thresholds for spontaneous abortion and congenital malformation in insulin dependent diabetes mellitus. Obstet Gynecol 1994;84:515-20.
5. Mills JL, Baker L, Goldman AS. Malformations in infants of

- diabetic mothers occur before the seventh gestational week. Implications for treatment. *Diabetes* 1979;28(4):292-3.
6. Reece EA, Homko CJ, Wu YK, et al. Metabolic fuel mixtures and diabetic embryopathy. *Clin Perinatol* 1993;20(3):517-32.
  7. Jaquet D, Tregouet DA, Godefroy T, et al. Combined effects of genetic and environmental factors on insulin resistance associated with reduced fetal growth. *Diabetes* 2002;51:3473-8.
  8. Nordstrom L, Spetz E, Wallstrom K, et al. Metabolic control and pregnancy outcome among women with insulin-dependent diabetes mellitus. A twelve-year follow-up in the country of Jamtland, Sweden. *Acta Obst Gynecol Scand* 1998;77:284-9.
  9. Ong CYT, Lao TT, Spencer K, Nicolaides KH. Maternal serum level of placental growth factor in diabetic pregnancies. *J Reprod Med* 2004;49(6):477-80.
  10. Babawale MO, Lovat S, Mayhew TM, et al. Effects of gestational diabetes on junctional adhesion molecules in human term placental vasculature. *Diabetologia* 2000;43:1185-96.
  11. Loredo E. Efecto de la diabetes materna sobre la estructura de la placenta de 20 días de desarrollo. Tesis para obtener la licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, UNAM, México, 2003.
  12. Von Herrath M, Bach JF. Juvenile autoimmune diabetes: a pathogenic role for maternal antibodies? *Nat Med* 2002;8:331-3.
  13. Koczwara K, Bonifacio E, Ziegler AG. Transmission of maternal islet antibodies and risk of autoimmune diabetes in offspring of mothers with type 1 diabetes. *Diabetes* 2004;53(1):1-4.
  14. Aerts L, Van Assche FA. Intra-uterine transmission of disease. *Placenta* 2003;24:905-11.
  15. Rizzo TA, Metzger BE, Dooley SL, et al. Early malnutrition and child neurobehavioral development: Insight from the study of children of diabetic mothers. *Child Dev* 1997;68:26-38.
  16. Baird JD, Aerts L. Research priorities in diabetic pregnancy today: the role of animal models. *Biol Neonate* 1987;51:119-27.
  17. Hellerstrom C, Swenne I, Eriksson UJ. Is there an animal model for gestational diabetes? *Diabetes* 1985;34(Suppl 2):28-31.
  18. Polanco A. Efecto de la diabetes inducida sobre la gestación y el desarrollo de las crías de ratas. Tesis presentada para obtener el grado de Maestría en Biología de la Reproducción, Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, UNAM, México, 2001.
  19. Ziegler B, Noack S, Diaz-Alonso JM, et al. Effect on pregnancy on B-cell replication and insulin content in normoglycemic rats with a reduced B-cell mass. *Diabetologia* 1983;25:129-207.
  20. Boloker J, Gertz SJ, Simmons RA. Gestational diabetes leads to the development of diabetes in adulthood in the rat. *Diabetes* 2002;51:1499-506.
  21. Palomino-Garibay MA, Revilla-Monsalve MA, Cárdenas-Sánchez A, et al. Efecto de la diabetes inducida sobre la reproducción y el desarrollo. *Ginecol Obstet Méx* 1998;66(10):403-6.
  22. Buchanan TA, Denno KM, Sipos GF, et al. Diabetic teratogenesis. In vitro evidence for a multifactorial etiology with little contribution from glucose *per se*. *Diabetes* 1994;43:656-60.
  23. Lee AT, Plump A, Cerami A, et al. Diabetes-induced teratogenesis: Role of DNA damage in a transgenic mouse model. *Diabetes* 1993;42(suppl 1):85A.
  24. Ornoy A, Zaken V, Kohen R. Role of reactive oxygen species (ROS) in the diabetes-induced anomalies in rat embryos *in vitro*: reduction in antioxidant enzymes and low-molecular-weight antioxidants (LMWA) may be the causative factor for increased anomalies. *Teratology* 1999;60(6):376-86.
  25. Wentzel P, Ejdesjo A, Eriksson UJ. Maternal diabetes *in vivo* and high glucose *in vitro* diminish GAPDH activity in rat embryos. *Diabetes* 2003;52:1222-8.
  26. Cederberg J, Basur S, Eriksson UJ. Increased rate of lipid peroxidation and protein carbonylation in experimental diabetic pregnancy. *Diabetologia* 2001;44:766-74.
  27. Eriksson UJ, Borg LA. Protection by free oxygen radical scavenging enzymes against glucose-induced embryonic malformations *in vitro*. *Diabetologia* 1991;34:325-31.
  28. Cederberg J, Siman CM, Eriksson UJ. Combined treatment with vitamin E and vitamin C decreases oxidative stress and improves fetal outcome in experimental diabetic pregnancy. *Pediatr Res* 2001;49:755-62.
  29. Freinkel N, Crockroft DL, Lewis MJ, et al. The 1986 McCollum award lecture. Fuel-mediated teratogenesis during early organogenesis: the effect of increased concentrations of glucose, ketones or somatomedin inhibitor during rat embryo culture. *Am J Clin Nutr* 1986;44:986-95.
  30. Gauguier D, Bihoreau MT, Ktorza A, et al. Inheritance of diabetes mellitus as consequence of gestational hyperglycemia in rats. *Diabetes* 1990;39(6):734-9.
  31. Babichev VN, Shishkina IV. Development of the reproductive system in the progeny of rats with streptozotocin diabetes. *Prob Endokrinol (Mosk)* 1994;40(2):60-62.
  32. Palomino MA. Tesis presentada para obtener el grado de Maestría en Biología de la Reproducción, Facultad de Estudios Superiores, Iztacala, UNAM, México, 2001.