



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

**“PARTICIPACIÓN DEL ÓXIDO NÍTRICO Y PROSTAGLANDINAS
ENDOTELIALES EN AORTA TORÁCICA DE CRÍAS DE RATA
DIABÉTICA”**

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE
LICENCIADO EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA**

PRESENTA:

JOSEFINA PAULINA NÚÑEZ DÍAZ

DIRECTORES DE LA TESIS:

**D. en C. DANIEL GODÍNEZ HERNÁNDEZ
Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas**

**D. en C. MARCIA YVETTE GAUTHEREAU TORRES
Facultad de Ciencias Médicas y Biológicas “Dr. Ignacio Chávez”**



**MORELIA, MICHOACÁN.
ENERO, 2017.**

“Nunca consideres el estudio como una obligación, si no como una oportunidad para penetrar el bello y maravilloso mundo del saber”

-Albert Einstein

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por haberme dado la paciencia para recorrer este camino del conocimiento y aprendizaje.

A mis padres que son mi pilar más grande, gracias brindarme su apoyo incondicional en cada una de las decisiones que he tomado a lo largo de estos años, que gracias a su esfuerzo y esmero tuve la oportunidad de pertenecer a esta hermosa institución. Por sus consejos y mantenerme firme en este largo camino y nunca dejarme sola, pero sobre todo por creer en mí y nunca poner en duda mis capacidades.

A mis abuelos, a los que están y ya no están presentes, gracias por todo el cariño y afecto que me brindaron, por sus consejos y complicidad, por reconfortarme y apoyarme cuando más lo necesitaba y brindarme esa calma para seguir adelante.

A mis hermanos, por ser la motivación e inspiración de seguir adelante y superarme continuamente, por permitirme ser su guía y apoyo cuando lo necesitan.

A Jair, gracias por estar conmigo y acompañarme en este largo camino, por apoyarme incondicionalmente, escucharme y creer en mí todo este tiempo. Gracias por dejarme terminar un proyecto que iniciamos juntos.

A mis amigos, gracias por su amistad y apoyo durante toda la carrera, gracias por dejarme caminar con ustedes en este largo y hermoso trayecto de aprendizaje.

Agradezco al D. en C. Daniel Godínez por haber tenido la dicha de tenerlo como profesor durante mi formación académica y haberme brindado la oportunidad de realizar este proyecto y adquirir nuevos conocimientos, a mi co-asesora la D. en C. Marcia Yvette Gauthereau por haberme aceptado en su laboratorio y ser una motivación para todas mujeres en el campo de la investigación.

A mis sinodales M. en F.B Blanca, al D. en C. Zurisaddai, al D. en C. Asdrubal, al D. en C. Luis Fernando y al D. en C. Rosalio Camargo, haberse tomado el tiempo de revisar mí trabajo y ser excelentes profesores.

ÍNDICE GENERAL

ABREVIATURAS.....	1
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	4
I. RESUMEN.....	5
II. ABSTRACT.....	6
III. INTRODUCCIÓN	7
1.- Enfermedades crónicas no transmisibles.....	7
2.- Estadísticas de diabetes mellitus	7
3.- Diabetes mellitus	8
3.1.- Clasificación.....	9
3.2.- Criterios para el diagnóstico de diabetes mellitus.....	9
4.- Diabetes mellitus tipo 1	10
4.1.- Diabetes mediada por inmunidad	10
4.2.- Diabetes idiopática	11
5.- Diabetes mellitus tipo 2	11
6.- Otros tipos específicos de diabetes.....	12
a) Defectos genéticos de las células β	12
b) Defectos genéticos de la acción de la insulina	12
c) Enfermedades del páncreas exocrino	13
d) Endocrinopatías.....	13
e) Diabetes inducida por fármacos o sustancias químicas	13
f) F) Infecciones	13
g) Formas poco comunes de diabetes mediada por inmunidad	13
h) Otros síndromes genéticos asociados a la diabetes.....	13
7.- Diabetes mellitus gestacional.....	14
7.1.- Factores de riesgo para desencadenar DMG.....	14
7.2.- Diagnóstico.....	15
7.3.- Cambios presentados durante la gestación en mujeres con DMG.....	15
7.4.- Ambiente intrauterino durante la DMG y cambios en la placenta	16
7.5.- Alteraciones y malformaciones congénitas en hijos de madre diabética	17
8.- Estreptozotocina (STZ).....	19
9.- Diabetes experimental y alteraciones en crías de ratas diabéticas	21
10.- Alteraciones en crías de ratas diabéticas durante la vida adulta	24

11.- Consecuencias a largo plazo en hijos de madres diabéticas	24
12.- Sistema cardiovascular	25
13.- Vasos sanguíneos	26
13.1.- Estructura de la pared vascular	27
13.2.- Clasificación de las arterias	28
14.- Endotelio	28
14.1.- Función del endotelio	29
15.- Óxido nítrico	30
15.1.- Síntesis enzimática de óxido nítrico	30
15.2.- Síntesis no enzimática de óxido nítrico	32
16.- Prostaglandinas	32
17.- Disfunción endotelial	33
18.- El papel de la hiperglucemia en la disfunción endotelial	35
IV. JUSTIFICACIÓN	36
V. HIPÓTESIS	36
VI. OBJETIVOS:	36
Objetivo general	36
Objetivos específicos	36
VII. MATERIAL Y METODOS	37
Animales de estudio	37
VIII. INDUCCIÓN DE DIABETES EXPERIMENTAL EN RATAS GESTANTES	37
IX. PREPARACIÓN DE TEJIDO	38
X. PREPARACIÓN DE TEJIDO AISLADO	38
Curva concentración-respuesta a la fenilefrina	39
XI. RESULTADOS	40
Características de las madres durante la gestación	40
Características de las crías	41
Peso y niveles de glucosa de crías control y crías de rata diabética de 4 semanas de nacimiento	42
Peso y niveles de glucosa de crías control y crías de rata diabética de 16 semanas de nacimiento. .	43
Curvas concentración-respuesta a la fenilefrina en anillos de aorta torácica	44
Curvas concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica de CRC y CRD con y sin endotelio	45
Curvas concentración-respuesta a la fenilefrina en anillos de aorta torácica, en presencia y ausencia de L-NAME	46

Curvas concentración-respuesta a la fenilefrina en anillos de aorta torácica, en presencia y ausencia de indometacina.....	48
XII. DISCUSIÓN	50
XIII. RESUMEN DE RESULTADOS	56
XIV. CONCLUSIÓN.....	56
XV. REFERENCIAS.....	57

ABREVIATURAS

• A1C	Hemoglobina glicosilada
• Ach	Acetilcolina
• ADA	Asociación Americana de Diabetes
• AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
• ANG-II	Angiotensina II
• BH4	Tetrahidrobiopterina
• BPN	Bajo peso al nacer
• Ca²⁺_i	Calcio intracelular
• CaM	Calmodulina
• CE	Células endoteliales
• CMLV	Células del musculo liso vascular
• CO₂	Dióxido de carbono
• CRD	Crías de rata control
• CRD	Crías de rata diabética
• CTGO	Curva de tolerancia a la glucosa oral
• DCCT	Diabetes control and complications trial
• DE	Disfunción endotelial
• DG	Diabetes gestacional
• DM	Diabetes mellitus
• DM1	Diabetes mellitus tipo 1
• DM2	Diabetes mellitus tipo 2
• DMG	Diabetes mellitus gestacional
• EDHF	Factor hiperpolarizante derivado del endotelio
• EDRF	Factor relajante derivado del endotelio
• Emax	Efecto máximo
• EO	Estrés oxidativo
• ERO	Especies reactivas de oxígeno
• ET- 1	Endotelina 1
• FAD	Flavina adenina dinucleotido
• FE	Fenilefrina
• FGF	Factor de crecimiento de fibroblastos
• FID	Federación Internacional de Diabetes
• FMN	Flavina mononucleotido

• GA	Glucosa en ayunas
• GAD	Glutamato descaboxilasa
• GAPDH	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa
• Glu	Glucosa
• GPA	Glucosa plasmática en ayunas
• HDL	Lipoproteínas de alta densidad
• H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
• IADPSG	International Association of the Diabetes and Pregnancy Study
• IC	Insuficiencia cardiaca
• ICAM-1	Molécula de adhesión intercelular 1
• ICAM-2	Molécula de adhesión intercelular 2
• IFN- γ	Interferón gamma
• IGF-I	Factor 1 de crecimiento similar a la insulina
• IL-1	Interleucina 1
• IL-8	Interleucina 8
• IMC	Índice de masa corporal
• IP	Vía intraperitoneal
• LDL	Lipoproteínas de baja densidad
• L-NAME	L-N ^G -Nitroarginina metil éster
• LPL	Lipasa de lipoproteínas
• MC	Malformaciones congénitas
• MCP-1	Proteína quimiotáctica de monocitos
• MEC	Matriz extracelular
• MLCK	Miosina de cadena liviana
• MLV	Musculo liso vascular
• MODY	Maturity onset diabetes of the young
• NA	Noradrenalina
• NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotido fosfato
• NGSP	National Glycohemoglobin Standardization Program
• NO	Óxido nítrico
• O₂⁻	Anión superóxido
• O₂	Oxígeno
• ONOO⁻	Peroxinitrito
• pD2	sensibilidad a la fenilefrina
• PG's	Prostaglandinas

• PGD₂	Prostaglandina D2
• PGDF	Factor de crecimiento derivado de plaquetas
• PGE₂	Prostaglandina G2
• PGE₂	Prostaglandina E2
• PGF₂α	Prostaglandina F2α
• PGH₂	Prostaglandina H2
• PGH₂	Prostaglandina H2
• PGI₂	Prostaciclina
• PKA	Proteína cinasa A
• PKB	Proteína cinasa B
• PKG	Proteína cinasa G
• PTH	Hormona paratiroides
• RCIU	Restricción de crecimiento intrauterino
• RL	Radicales libres
• RLO	Radicales libres de oxígeno
• ROS	Especies reactivas de oxígeno
• Ser	Serina
• SNC	Sistema nervioso central
• STZ	Estreptozotocina
• TGF-α	Factor de transformación de crecimiento alfa
• Thr	Treonina
• TNF-α	Factor de necrosis tumoral α
• t-PA	Factor activador del plasminógeno
• TXA₂	Tromboxano A2
• Tyr	Tirosina
• VCAM-1	Molécula de adhesión vascular 1
• VCI	Vena cava inferior
• VCS	Vena cava superior

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figura # 1. Molécula de estreptozotocina.

Figura # 2. Circulación mayor y menor.

Figura # 3. Estructura anatómica de vasos sanguíneos.

Figura # 4. Disfunción endotelial.

Figura # 5. Cámara de órgano aislado.

Figura # 6. Niveles sanguíneos de glucosa se ratas madre controles y diabéticas durante la gestación.

Figura # 7. Peso corporal de ratas madre controles y diabéticas durante la gestación.

Figura # 8. Peso corporal de CRC y CRD de 4 semanas de edad.

Figura # 9. Niveles sanguíneos de glucosa de CRC y CRD de 4 semanas de edad.

Figura # 10. Peso corporal de CRC y CRD de 16 semanas de edad.

Figura # 11. Niveles sanguíneos de glucosa de CRC y CRD de 16 semanas de edad.

Figura # 12. Curva concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica de CRC y CRD con y sin endotelio.

Figura # 13. Curva concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica de CRC y CRD con y sin endotelio.

Figura # 14. Curva concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica de CRC con y sin endotelio, en presencia y ausencia de L-NAME.

Figura # 15. Curva concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica de CRD con y sin endotelio, en presencia y ausencia de L-NAME.

Figura # 16. Curva concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica de CRC con y sin endotelio, en presencia y ausencia de INDOMETACINA.

Figura # 17. Curva concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica de CRD con y sin endotelio, en presencia y ausencia de INDOMETACINA.

Tabla # 1. Valores de sensibilidad al agonista.

Tabla # 2. Valores de efecto máximo al agonista.

I. RESUMEN

La Diabetes Mellitus (DM) es un problema global de salud que se ha incrementado en los últimos años y representa una causa de mortalidad y morbilidad prematura. El descontrol glucémico durante esta enfermedad deriva principalmente del estilo de vida y hábitos alimenticios, afectando la calidad y tiempo de vida de los pacientes que la padecen.

Existen varios tipos de DM, entre ellas, la Diabetes Mellitus Gestacional (DMG), se caracteriza por la intolerancia a la glucosa con diversos grados de severidad, inicia durante la segunda mitad del embarazo y se resuelve después del parto, las mujeres pueden desarrollar DM2 en los próximos años o padecer de nuevo DMG en su próximo embarazo. La DMG incrementa el riesgo de aparición de defectos congénitos en el feto durante su desarrollo intrauterino, debido a anomalías en el transporte de glucosa durante la gestación y la lactancia, modifica el crecimiento y predispone a la aparición de enfermedades en la vida adulta.

Durante la gestación se produce un estado diabetogénico debido al incremento de hormonas hiperglucemiantes que provocan resistencia a la insulina en la madre. Este incremento hormonal se requiere para dirigir los nutrientes de la madre al feto y permitir su adecuado crecimiento. Si la reserva pancreática materna responde normalmente, no habrá alteraciones en el metabolismo de la glucosa, pero si ésta se encuentra disminuida aparecerá la DMG.

La alteración de la biodisponibilidad de nutrientes durante el embarazo adapta el desarrollo del feto, generando bajo peso al nacer, el cual se asocia con el riesgo de padecer DM, dislipidemia, hipertensión, enfermedad arterial coronaria y accidentes cerebrovasculares en la vida adulta.

En el presente trabajo se estudió el efecto de la DMG sobre las respuestas contráctiles de aortas de crías de madres diabéticas (CRD) y la participación del óxido nítrico y las prostaglandinas en las posibles alteraciones observadas.

Se realizaron curvas concentración-respuesta a fenilefrina usando como inhibidores el L-NAME (inhibidor de la NOS) e indometacina (inhibidor de la COX). La DMG indujo un incremento en la tasa de mortalidad de CRD disminuyendo así las crías por camada, incremento de muerte perinatal y un retardo del crecimiento hasta la cuarta semana de edad en comparación con las crías de ratas control (CRC). Al nacer presentaron microsomnia, así como una disminución del peso. También mostraron una alteración en el metabolismo, observado como un aumento en los niveles de glucosa, colesterol y lípidos totales en sangre hasta la 4 semana de edad.

La condición patológica de las madres condujo a alteraciones en la contracción de los vasos sanguíneos. Encontrándose también un aumento en la respuesta contráctil por fenilefrina en la aorta torácica de CRD, lo que nos hace pensar que existe una disminución de sustancias vasodilatadoras como el NO y PGI₂ y posible aumento de vasoconstrictores vasculares como el TXA₂ y PGH₂, el aumento de contracción también pudo deberse al aumento de Ca²⁺ debido al desequilibrio de sustancias vasculares.

PALABRAS CLAVE: Diabetes gestacional, hiperglucemia, hipertensión, óxido nítrico, prostaglandinas.

II. ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a global health problem that has increased in the last years and represents a cause of premature mortality and morbidity in the world. Glycemic decontrol, during the disease is mainly derived by the lifestyle and feeding habits. It affects economic income, quality and lifetime of patients who suffer this disease.

There are several types of DM, including gestational diabetes mellitus (GDM). It is characterized by glucose intolerance with varying degrees of severity, it starts during the second half of pregnancy and may or not be resolved after delivery. GDM increases the risk of birth defects in the fetus during intrauterine development, since exposure to suboptimal environment due to abnormalities of glucose transport along pregnancy and lactation and modifies growth and predisposes to development of diseases in adult life.

During pregnancy, a diabetogenic state is established as a consequence of increased hormones that induce insulin resistance in the mother. This hormonal rise is required to drive nutrients from the mother to the fetus and allow an adequate growth. If pancreatic maternal reserve responds normally, glucose metabolism is not altered, but if it is decreased, gestational diabetes will appear.

Alterations in bioavailability of nutrients during pregnancy induce an adaptive effect on fetal development and develop low birth weight, which is associated with the risk of setting DM, dyslipidemia, hypertension, coronary artery disease and stroke in adult life.

In the present work, we studied the effect of DMG on the contractile responses of aortas of offspring of diabetic mothers (CRD) and the participation of nitric oxide and prostaglandins in the possible alterations observed.

They were performed concentration-response curves to phenylephrine using L-NAME (NOS inhibitor) and indomethacin (COX inhibitors). In the offspring of diabetic rat, we observed a significant mortality rate, decreased offspring per litter, increased perinatal death and growth delay until the fourth week of age. When born, microsomy was presented, as well as decreased weight. Also CDR showed alterations in metabolism, denoted as changes in glucose levels, cholesterol and total blood lipids measured up to 4 weeks age.

The pathological condition of mothers leads to alterations in the contraction of blood vessels. We also found an increase in contractile response by phenylephrine in the thoracic aorta of CRD, because of decreased vasodilator such as NO and PGI₂, and possible increase in vascular vasoconstrictor as TXA₂ and PGH₂. The observed increased contraction could also be because of increased Ca²⁺ due to imbalance of vascular substances.

III. INTRODUCCIÓN

1.- Enfermedades crónicas no transmisibles

En varios países las transformaciones sociales, económicas, demográficas y epidemiológicas en las últimas décadas han contribuido a la aparición de nuevas prioridades de salud. Entre estas destacan las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), que son un grupo de padecimientos que contribuyen a la mortalidad mediante un grupo pequeño de problemas como la *diabetes*, *enfermedades cardiovasculares*, *enfermedad vascular cerebral*, *cáncer*, entre otros (Ferrer y col., 2011; Córdova y col., 2008).

La diabetes de tipo 2 es una de las principales causas de incapacidad prematura, ceguera, insuficiencia renal terminal y amputaciones no traumáticas y una de las 10 causas más frecuentes de hospitalización en adultos y desde el año 2000 la cardiopatía isquémica y la diabetes son las causas más frecuentes de muerte en México.

Existen algunos criterios para definir a los sujetos con riesgo de sufrir una ECNT:

Individuos en riesgo de desarrollar diabetes : familiares de primer grado de individuos con la afección ; peso mayor al saludable (IMC ≥ 25 kg/m² en adultos o superior al percentil 85 en niños); colesterol-HDL ≤ 40 mg/dl o triglicéridos ≥ 150 mg/dl; intolerancia a la glucosa o glucosa anormal de ayuno; hipertensión arterial ($\geq 140/90$ mmHg); hiperuricemia; síndrome de ovarios poliquísticos en mujeres con IMC ≥ 25 kg/m² ; mujeres con antecedente de *diabetes gestacional* o que tuvieron un producto macrosómico o un embarazo complicado por preeclampsia.

Individuos con factores de riesgo cardiovascular: antecedentes familiares de cardiopatía isquémica prematura en un familiar de primer grado; tabaquismo; hipercolesterolemia y hombres mayores de 44 años o mujeres mayores de 54.

Es posible reducir la mortalidad consecutiva a las ECNT al combinar la prevención y el tratamiento eficaz, además la detección de los afectados o en riesgo, la evaluación integral y acciones para disminuir la incidencia de diabetes, sus complicaciones y la enfermedad cardiovascular (Córdova y col., 2008).

2.- Estadísticas de diabetes mellitus

La prevalencia de la diabetes mellitus (DM) se ha vuelto un problema global de salud que ha incrementado en los últimos años. El descontrol glucémico durante esta enfermedad se asocia principalmente al estilo de vida y costumbres, afectando los ingresos, la calidad y el tiempo de vida de los pacientes que padecen esta enfermedad, permaneciendo como causa importante de morbilidad y mortalidad prematura en todo el mundo (FID, 2013).

En el 2013, la Federación Internacional de Diabetes (FID) estimó que aproximadamente 382 millones de personas en el mundo sufren diabetes y que incrementará a unos 592 millones de personas para el año 2035 y el 80% vive en países de ingresos medios y bajos, quedando México el sexto lugar con esta enfermedad en el 2013. Casi la mitad de todos los adultos con diabetes tienen entre 40 y 59 años de edad. Unos 175 millones de personas o cerca de la mitad a nivel mundial desconocen que padecen esta enfermedad, la mayoría padece diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (FID, 2013).

La diabetes y sus complicaciones son las principales causas de muerte prematura en la mayoría de los países, siendo las enfermedades cardiovasculares como las principales causas de muerte en las personas con diabetes. En el 2013 aproximadamente 5.1 millones de personas de edades entre 20 y 79 años murieron a causa de la diabetes, representando el 8.4% de la mortalidad de todas las causas a nivel mundial, siendo las mujeres en mayor proporción que los hombres (FID, 2013).

En México, de 1998 al 2012 se observó un incremento de 4.7%, de una tasa de morbilidad pasando de 342.1 a 358.2 por cada 100 mil habitantes, siendo el sexo femenino de entre edades de 50-59 años el más afectado (SSA, 2013). Los datos de la ENSANUT 2012 identificaron a 6.4 millones de adultos con diabetes, es decir, 9.2% de los adultos en México han recibido un diagnóstico de diabetes (ENSANUT, 2012), siendo para el 2012 la segunda causa de muerte reportada por el INEGI en nuestro país, con una tasa de mortalidad de 75 defunciones por cada 100 mil habitantes (SSA, 2013). En México, de los individuos con diabetes, 47 % han recibido diagnóstico de hipertensión del total de la población de 20 años o más, 4.3 % (cerca de 3 millones) viven con diabetes e hipertensión (ENSANUT, 2012).

3.- Diabetes mellitus

La diabetes mellitus (DM) es un grupo de enfermedades caracterizadas por la aparición de hiperglucemia secundaria por defectos en la secreción de la insulina, la acción de insulina o ambas. Aunque la alteración del metabolismo hidrocarbonado es el más significativo, también afecta el metabolismo proteico y lipídico (Tébar y Escobar, 2009).

La duración y gravedad de hiperglucemia crónica de la diabetes mellitus (DM) es un factor importante en la aparición a mediano y largo plazo de complicaciones. Las manifestaciones clínicas más evidentes son: **la pérdida gradual de la visión** que puede llegar a ceguera; **afectación renal** que puede llegar a insuficiencia renal terminal que precise en hemodiálisis y trasplante renal; **afectación de los grandes vasos** que condiciona a patologías como insuficiencia arterial de extremidades inferiores y amputación de miembros; **cardiopatía isquémica con infarto al miocardio** o enfermedad vascular cerebral, además de enfermedad isquémica intestinal y **complicaciones en el sistema nervioso** (Tébar y Escobar, 2009).

La falta de acción de la insulina, induce a un mal metabolismo y utilización de la glucosa se manifestándose por: poliuria, polidipsia, polifagia, pérdida de peso, visión borrosa, afectación de órganos y aparatos (Tébar y Escobar, 2009). La hiperglucemia crónica puede alterar el crecimiento y predisponer a infecciones y cetoacidosis. Las complicaciones a largo plazo son retinopatía, nefropatía, riesgo de neuropatía periférica, articulaciones de Charcot y neuropatía autonómica causante de síntomas gastrointestinales, genitourinarios y cardiovasculares, además de disfunción sexual, mayor incidencia de hipertensión, aterosclerosis cardiovascular, arterial y enfermedad cerebrovascular (ADA, 2013).

3.1.- Clasificación

La Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) han propuesto nuevos criterios para el diagnóstico y clasificación Diabetes en cuatro tipos:

- 1) **Diabetes mellitus tipo 1 (DM1)** debido a la destrucción de las células β del páncreas, deficiencia absoluta de insulina.
- 2) **Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)** debido a un defecto progresivo de la secreción de insulina y/o resistencia a ella.
- 3) **Otros tipos específicos de la diabetes** causada por defectos genéticos en la función de las células β , defectos genéticos en la acción de la insulina, enfermedades del páncreas exocrino (tales como fibrosis quística), exposición a drogas o inducido por productos químicos (tales como en el tratamiento del VIH / SIDA o después de un trasplante de órganos).
- 4) **Diabetes mellitus gestacional (DMG)** diabetes diagnosticada durante el embarazo que no es la diabetes claramente manifiesta (ADA, 2014).

3.2.- Criterios para el diagnóstico de diabetes mellitus

El diagnóstico de la diabetes mellitus se hace basándose en criterios glucosa en plasma, ya sea la con los parámetros de la *glucosa plasmática en ayunas (GPA)* o *curva de tolerancia a la glucosa oral (CTGO)*, 2h postprandial con ingesta de 75 g de glucosa oral. Recientemente, un comité internacional de expertos añade la hemoglobina glicosilada (A1C; $\geq 6.5\%$) como una tercera opción para diagnosticar la diabetes. El examen de la A1C le sirve al médico para determinar cómo ha sido el control glucémico de una persona con diabetes en los últimos tres meses, además tiene la ventaja de que la prueba no requiere ayuno (ADA, 2015).

La ADA propuso los siguientes criterios para el diagnóstico y detección de la diabetes mellitus (DM):

- **Glucosa plasmática en ayunas** (GPA) ≥ 126 mg/dl (7.0 mmol/L) con un ayuno de al menos 8 horas.
- **Curva de tolerancia a la glucosa oral** (CTGO) con la ingesta de 75 g de glucosa anhidra a las 2 horas ≥ 200 mg/ dl (11.1 mmol/L).
- **Hemoglobina glicosilada (A1C)** $\geq 6.5\%$, debe realizarse en un laboratorio utilizando un método que está certificado por el National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP) y estandarizado por el ensayo Diabetes Control and Complications Trial (DCCT).
- **Glucosa plasmática al azar** ≥ 200 mg / dl (11.1 mmol / L) en un paciente con síntomas clásicos de la hiperglucemia o crisis hiperglicémica (ADA, 2014).

4.- Diabetes mellitus tipo 1

La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) resultante de la destrucción autoinmune por células de las β del páncreas, anteriormente abarcaba el término diabetes insulino dependiente o diabetes juvenil. Este tipo de diabetes representa del 5-10% de las personas que padecen diabetes (ADA, 2014). Este tipo se compone de 2 subtipos:

4.1.- Diabetes mediada por inmunidad

Esta forma representa al 95% de la DM1, aparece como consecuencia de una destrucción autoinmune de las células β del páncreas. Aparecen en sangre anticuerpos dirigidos contra las células (anticuerpos anti-isletos o ICA), contra la insulina (anti-insulina), contra la carboxilasa del ácido glutámico (anti-GAD 65) o contra las tirosin-fosfatasa (anti- IA-2 e IA-2 β). Normalmente uno o más están presentes en el 85-90% de individuos con hiperglucemia en ayunas (Tébar, 2009).

La velocidad de aparición de la enfermedad es variable y depende de la destrucción de las células β , siendo rápida en algunos individuos (lactantes y niños) y lenta en otros (adultos). En pacientes especialmente los niños y adolescentes pueden presentar cetoacidosis como primera manifestación de la enfermedad, además de síntomas como poliuria, polidipsia y polifagia que aparecen en pocos días o semanas (ADA, 2014).

En pacientes con hiperglucemia moderada en ayunas puede cambiar con rapidez a hiperglucemia grave y/o cetoacidosis grave en presencia de infección u otro tipo de estrés. Especialmente los adultos pueden tener una función residual en las células β , que puede prevenir la cetoacidosis durante años; finalmente estos pacientes se convierten en dependientes de insulina y con riesgo de cetoacidosis. En esta última etapa de la enfermedad, existe poca o ninguna secreción de insulina y se manifiesta por niveles bajos o indetectables de péptido C en plasma. Este tipo de diabetes es común en la infancia y la adolescencia, pero puede ocurrir a cualquier edad, incluso en la octava y novena década de la vida (ADA, 2014).

La destrucción autoinmune de las células β tiene múltiples predisposiciones genéticas y está relacionada con factores ambientales no bien definidos. Los pacientes rara vez son obesos cuando se presentan con este tipo de diabetes, aunque la presencia de la obesidad no es incompatible con el diagnóstico. Estos pacientes son propensos a otras enfermedades autoinmunes, como la enfermedad de Graves, la tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Addison, vitíligo, la enfermedad celíaca, la hepatitis autoinmune, la miastenia grave y la anemia perniciosa (ADA, 2014).

4.2.- Diabetes idiopática

Algunas formas de diabetes tipo 1 no tienen etiologías conocidas. Algunos de estos pacientes tienen insulinopenia permanente y son propensos a la cetoacidosis, pero no tienen evidencia de autoinmunidad. Sólo una minoría de pacientes con DM1 están en esta categoría, la mayoría son de ascendencia africana o asiática. Las personas con esta forma de diabetes sufren de la cetoacidosis episódica y presentan distintos grados de deficiencia de insulina entre los episodios, es fuertemente heredada, carece de evidencia inmunológica para la autoinmunidad de células β y no están asociadas al HLA (antígenos leucocitarios humanos) y el requerimiento absoluto de terapia de reemplazo de la insulina en pacientes afectados puede aparecer o desaparecer (ADA, 2014).

5.- Diabetes mellitus tipo 2

Es el tipo más frecuente (representa el 90-95 % de las personas con diabetes) y es conocida como diabetes no insulino dependiente, diabetes tipo 2, o diabetes de comienzo en el adulto, incluye a personas con resistencia a la insulina y deficiencia relativa (no absoluta) de insulina. Al comienzo y muchas veces durante su vida, no necesitan tratamiento con insulina para sobrevivir. Hay muchas causas diferentes de esta forma de diabetes. La etiología específica no se conoce, no hay destrucción autoinmune de las células β y los pacientes con esta diabetes no tienen ninguna de las otras causas de diabetes (ADA, 2014).

La mayoría de los pacientes con este tipo de diabetes son obesos, la obesidad en sí provoca un cierto grado de resistencia a la insulina. Los pacientes que no son obesos según los criterios, pueden tener un mayor porcentaje de grasa corporal en la región abdominal. Este tipo de diabetes rara vez se produce cetoacidosis espontánea, por lo general suele estar asociada con el estrés de otra enfermedad, como una infección (ADA 2014).

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad progresiva que se inicia años antes de ser diagnosticada. La hiperglucemia se desarrolla de forma gradual y no suele ser grave y la mayoría de los pacientes se mantienen asintomáticos. Sin embargo los pacientes tienen mayor riesgo de desarrollar complicaciones macrovasculares, microvasculares y neuropatías

(Casanueva, 2008). La secreción de insulina es defectuosa en estos pacientes e insuficiente para compensar la resistencia a la insulina. La resistencia a la insulina puede mejorar con la reducción de peso y el tratamiento farmacológico de la hiperglucemia, pero rara vez recupera la normalidad (ADA 2014).

La resistencia a la insulina es la manifestación en la captación y metabolismo de glucosa por tejidos sensibles a insulina, sobre todo tejido adiposo, músculo e hígado. Al inicio se compensa con un aumento en la secreción de insulina, manteniendo las concentraciones normales de glucosa, pero más tarde se presenta un descenso en su producción. En estos casos hay una elevación en la glucosa postprandial y después un aumento de la glucemia en ayuno. La hiperglucemia conlleva glucotoxicidad que afecta a la sensibilidad y secreción de la insulina. Se ha demostrado en personas con resistencia a la insulina hay lipólisis y elevación de ácidos grasos circulantes (lipotoxicidad), incremento que reduce más la sensibilidad a la insulina a nivel celular, deteriora la secreción de insulina pancreática y aumenta la producción de glucosa hepática, contribuyendo al desarrollo y progresión de la DM2 (Casanueva y col., 2008). El riesgo de desarrollar esta forma de diabetes aumenta con la edad, obesidad y falta de actividad física. Se produce con mayor frecuencia en mujeres con DMG previa e individuos con hipertensión o dislipidemia y su frecuencia varía en subgrupos raciales y étnicos. Se asocia con una predisposición genética; sin embargo su genética es compleja y no está claramente definida (ADA 2014).

6.- Otros tipos específicos de diabetes

Esta categoría incluye la diabetes relacionada con síndromes genéticos específicos, cirugías, fármacos, destrucción de las células β , infecciones y otras enfermedades. Representa de 1 a 2 % de casos registrados de este padecimiento y se presenta antes de los 25 años. (Casanueva y col., 2008).

a) Defectos genéticos de las células β

Se asocia con defectos monogénicos en la función de las células β , aparece antes de los 25 años y se conoce como diabetes juvenil de comienzo en la madurez (MODY, Maturity Onset Diabetes of the Young). Se caracteriza por deterioro en la secreción de insulina, pero no por defectos en su acción, causado por un defecto genético que se hereda con patrón autosómico dominante (ADA 2014; Tébar y Escobar, 2009; Casanueva y col., 2008).

b) Defectos genéticos de la acción de la insulina

Causas frecuentes asociadas con mutaciones del receptor de la insulina varían desde la hiperinsulinemia y la hiperglucemia leve a diabetes graves. Algunas personas con estas mutaciones pueden presentar acantosis nigricans, leprechaunismo o síndrome de Donohue, síndrome de Rabson-Mendenhall y en mujeres síndrome de ovario poliquístico (ADA 2014; Tébar y Escobar, 2009).

c) Enfermedades del páncreas exocrino

Cualquier proceso dañino al páncreas puede ocasionar DM. Algunos de los procesos incluyen pancreatitis, trauma, infección y el carcinoma de páncreas. Con excepción del cáncer, el daño debe de ser extenso, lo que implica la reducción en la masa celular β . La fibrosis quística y la hemocromatosis también dañan las células y la secreción de insulina (ADA 2014).

d) Endocrinopatías

Las concentraciones hormonales como la hormona del crecimiento, glucagón, cortisol o catecolaminas antagonizan la acción insulínica, dando lugar a hiperglucemia y DM. (Tébar, 2009). La acromegalia, el síndrome de Cushing, la glucagonoma y el feocromocitoma causan diabetes, ocurre en individuos con defectos preexistentes de la secreción de insulina, cuando se normaliza el exceso hormonal la hiperglucemia se resuelve (ADA, 2014).

e) Diabetes inducida por fármacos o sustancias químicas

Algunas sustancias o fármacos (ácido nicotínico, glucocorticoides, hormonas tiroideas, antagonistas α y β adrenérgicos, tiacidas, pentamidina, dilantina, vacor o interferón α) pueden afectar la secreción de insulina o destruir las células β , desencadenando diabetes (Tébar y Escobar, 2009).

f) F) Infecciones

Ciertos virus se han asociado a la destrucción de células β . Pacientes con rubeola congénita pueden desarrollar diabetes. Algunos virus como: virus Coxsackie B, citomegalovirus, adenovirus y paroiditis se han implicado en ciertos casos de diabetes (ADA, 2014).

g) Formas poco comunes de diabetes mediada por inmunidad

Hay dos entidades conocidas: el Síndrome de hombre rígido o Stiff man, afecta en SNC y los pacientes suelen tener anticuerpos GAD (glutamato descaboxilasa) y un tercio desarrolla diabetes y los lo que anticuerpos anti-receptor, boquean la acción de la insulina e impiden la unión de insulina a su receptor e induce a la hiperglucemia, se encuentran en pacientes con lupus eritematoso. Los pacientes con anticuerpos anti-receptor de insulina pueden tener acantosis nigricans (ADA, 2014).

h) Otros síndromes genéticos asociados a la diabetes

Síndromes genéticos se acompañan de una mayor incidencia de diabetes, como las anomalías cromosómicas del síndrome de Down, Klinefelter y Turner. El síndrome de Wolfram es un trastorno autosómico recesivo, caracterizado por deficiencia de insulina. También se incluye la diabetes insípida, el hipogonadismo, la atrofia óptica y sordera neurológica (ADA, 2014).

7-. Diabetes mellitus gestacional

La diabetes mellitus gestacional (DMG) es una patología que involucra al sistema biológico materno, al tejido placentario y al feto (Sánchez, 2011), caracterizada por la intolerancia a la glucosa con diversos grados de severidad, que inicia durante la segunda mitad del embarazo y que puede o no resolverse después del parto (Font, 2010; Polanco, 2005). Las mujeres que padecieron DMG tienen mayor riesgo de sufrir diabetes tipo 2 después (Nazer, 2005) o en los 10 años posteriores del embarazo (Font, 2010), hipertensión y síndrome metabólico (Sánchez y Hernández, 2011).

La DMG excluye las diversas formas de diabetes pregestacional (tipo 1 o 2), debido a que es diagnosticada por primera vez durante el transcurso de la gestación, dando lugar a un embarazo de alto riesgo debido a que las manifestaciones clínicas en la madre y el feto son muy graves (García, 2008). Actualmente la diabetes mellitus y obesidad han llevado a más casos de diabetes tipo 2 en mujeres de edad fértil y el número de embarazadas con DM2 no diagnosticada va en aumento (ADA 2014).

La prevalencia de DMG en el mundo se ha estimado en 7% de los embarazos y va en aumento. En México, dependiendo de los criterios de diagnóstico utilizado se ha informado entre 3 y 19.6% con un promedio de 7% (Font y col., 2010), siendo las adolescentes embarazadas las que tienen una prevalencia mayor de DMG que las adultas (Casanueva y col., 2008).

7.1-. Factores de riesgo para desencadenar DMG

Las pacientes embarazadas se clasifican en tres grupos de riesgo para desarrollar diabetes gestacional:

- **Bajo riesgo** : pacientes de grupo étnico de bajo riesgo, edad \leq 25 años, peso normal al nacer, sin antecedentes de diabetes en familiares de primer grado, peso normal antes del embarazo (IMC $<$ 25 kg/m²), sin historia de tolerancia anormal a la glucosa y sin historia de malos resultados obstétricos (óbito, macrosomía o polihidramnios).
- **Riesgo moderado**: mujeres que no cumplen criterios de bajo ni alto riesgo.
- **Riesgo alto**: pacientes de grupo étnico de alto riesgo (pacientes mexicanas), obesidad severa, antecedentes de diabetes en familiares de primer grado, diabetes gestacional previa, intolerancia a la glucosa en embarazo, antecedentes de productos macrosómicos (\geq 4 kg al nacer) o glucosuria. En estas pacientes se debe realizar tamizaje genético o curva de tolerancia oral a la glucosa (CTGO) entre la semana 24 y 28 de gestación o en cualquier momento si hay síntomas de hiperglucemia (Font y col., 2010; Sánchez y Hernández, 2011).

7.2.- Diagnóstico

La DMG conlleva a riesgos para la madre y el recién nacido, durante el 2008-2009, la IADPSG (International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups), grupo conformado por organizaciones obstétricas y de diabetes, incluida la ADA desarrollaron el diagnóstico de la DMG. Se recomendó que todas las mujeres que no saben que tienen este padecimiento deben someterse a una sobrecarga de 75 g de glucosa vía oral entre las semanas 24-28 de gestación. Además, se desarrollaron puntos de corte para la glucosa en ayunas (GA) ≥ 92 mg/dl y las glucemias 1 (≥ 180 mg/dl) y 2 (≥ 153 mg/dl) horas postprandial (ADA 2014).

7.3.- Cambios presentados durante la gestación en mujeres con DMG

Durante la gestación, se produce un estado diabetogénico por el aumento de hormonas hiperglucemiantes, provocando resistencia a la insulina, este efecto aumenta a medida que avanza el embarazo. Si la reserva pancreática materna responde normalmente, no habrá alteraciones en el metabolismo de la glucosa, pero si esta se encuentra disminuida aparecerá la diabetes gestacional (Varillas y col., 2005).

La diabetes gestacional se distingue por anomalías en el transporte de glucosa por los tejidos sensibles a la insulina y en la sensibilidad afectada de las células β del páncreas, responsable de la síntesis de esta hormona. El metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos regulado por la insulina, también se ve afectado. Durante el embarazo en la mujer, la disminución de la sensibilidad a la insulina (resistencia a la insulina) y la inadecuada secreción de esta hormona son los mecanismos fisiopatológicos que ocasionan la diabetes mellitus gestacional (Perichart y col., 2006).

El aumento de sustancias producidas durante el periodo de gestación como la *gonadotropina coriónica humana*, *estriol*, (Font y col., 2010), *progesterona*, *lactogeno placentario*, *hormona placentaria del crecimiento*, *prolactina*, *cortisol*, *insulinasa*, *factor de necrosis tumoral α* y *adipocitocinas* (leptina, resistina, visfatina, adiponectina), son las que reprograman la fisiología materna y causan un estado de resistencia a la insulina para dirigir los nutrientes al feto para su desarrollo, sobre todo en la segunda mitad de la gestación (García, 2008). Sin embargo éstas desaparecen después del parto, modificando el ambiente intrauterino y el metabolismo sistémico materno durante el embarazo, ya que puede haber hipoglucemia en el primer trimestre, aumentando los requerimientos de insulina al final y condicionar la necesidad de suspender la insulina inmediatamente en el posparto (Hernández y Zárate, 2005).

En la segunda mitad de gestación se requiere un estado fisiológico de resistencia a la insulina para dirigir los nutrientes almacenados en la madre hacia la unidad feto-placentaria para el crecimiento adecuado del feto. En las mujeres con DMG es más acentuada la resistencia a la insulina, modificando el medio intrauterino y causando crecimiento acelerado del feto, con alto riesgo de macrosomía (García, 2008).

En la mujer embarazada, la hiperglucemia durante la gestación provoca descompensaciones que dan lugar frecuentemente a *cetoacidosis*, *preeclampsia*, *eclampsia*, *infección de vías urinarias*, *polihidramnios*, *agravamiento de procesos microvasculares* (retinopatía, nefropatía y otras), *candidiasis vaginal*, *prematurez y óbito* (Font y col., 2010; Danglot y Gómez, 2004; Sánchez y col., 2008).

El perfil lipídico durante la DMG, las concentraciones de triacilglicéridos aumenta y disminuye el colesterol de alta densidad (HDL). Con la disminución de la utilización de glucosa debido a la resistencia a la insulina al final de la gestación, se promueve la oxidación de lípidos, aumentando la concentración de ácidos grasos libres relacionados con el crecimiento acelerado fetal y el aumento de cuerpos cetónicos que afectan el desarrollo intelectual del recién nacido (RN). La capacidad de la insulina para disminuir la concentración de ácidos grasos plasmáticos es menor en la DMG (Perichart y col., 2006).

7.4.- Ambiente intrauterino durante la DMG y cambios en la placenta

El desequilibrio endocrinológico durante la DMG incrementa el riesgo de aparición de defectos congénitos en el feto durante su desarrollo intrauterino, como las posibles complicaciones a largo plazo (Varillas, 2005). Existen factores teratogénicos que se relacionan con la embriopatía diabética como son, la insulina, hiperglucemia, cuerpos cetónicos, alteraciones en la glucólisis, déficit de ácido araquidónico, inhibición de la somatomedina, entre otros (Nazer y col., 2005).

Las primeras 7 semanas de gestación constituyen el periodo en que la hiperglucemia puede causar mayor teratogénesis (Arizmendi y col., 2012). La exposición a un ambiente intrauterino anormal durante la gestación y la lactancia modifica el crecimiento y predispone al desarrollo de enfermedades en la vida adulta (Zambrano, 2009), este concepto se denomina *programación intrauterina* (Polanco y col., 2005).

El desarrollo y crecimiento fetal está determinado por factores como, el estado nutricional de la madre, la función placentaria y la capacidad del feto para utilizar los nutrientes (Vargas, 2012). La alteración de la disponibilidad de nutrientes durante el embarazo da resultado a la adaptación del desarrollo del feto, pudiendo causar un crecimiento fetal menor (Martínez, 2008).

La malnutrición durante el embarazo, puede producir defectos, como la reducción del número de células de los tejidos, modificación estructural de los órganos, la selección de ciertos clones de células y modificación de en el ajuste de ejes hormonales (Vargas, 2012). Debido a la prevalencia de obesidad durante la DG, la restricción calórica para evitar la excesiva ganancia de peso, puede conferir riesgo como el aumento de cuerpos cetónicos en la sangre y orina y efectos adversos en el crecimiento y desarrollo intelectual del recién nacido (Perichart y col., 2006). La restricción de nutrientes en la vida intrauterina adapta al feto y genera bajo peso al nacimiento que se asocia con el riesgo de padecer diabetes mellitus, dislipidemia, hipertensión, enfermedad arterial coronaria y accidentes cerebrovasculares en la vida adulta (Hernández, 2011).

La hiperglucemia y la hipoglucemia en la embriogénesis precoz, se puede asociar con el bajo peso al nacer. Si se produce una deficiencia en nutrientes durante la mitad de la gestación, afecta al feto pero no a la placenta.

La hipertrofia placentaria es un mecanismo de adaptación para mantener el aporte de nutrientes, al final de la gestación, el efecto de la malnutrición materna es inmediato: se retrasa el crecimiento fetal y se altera la relación entre el feto y la placenta (Vargas, 2012). La función de la placenta en el desarrollo anormal de los productos de madres diabéticas es muy importante. La placenta de madres diabéticas tiene alteraciones estructurales y funcionales, siendo de mayor tamaño y mayor cantidad de factor de crecimiento placentario (PIGF), relacionado con neovascularización. Se han observado alteraciones en la exposición de las proteínas de unión celular vascular de la placenta, lo que sugiere alteraciones en el funcionamiento de la barrera placentaria. Las placentas de madre diabética tienen mayor cantidad de glucógeno con aumento en la actividad de la tirosinasa del receptor placentario de insulina, que a su vez aumenta la capacidad de unión de la insulina a la placenta (Polanco y col., 2005).

Los cambios patológicos observados en la placenta incluyen el engrosamiento significativo de la membrana basal del trofoblasto, separación de la membrana basal en capilares basales, desorganización del espacio perivascular y disminución de la superficie vascular de las vellosidades (García y García, 2009). También se ha observado alteración en la expresión de genes de proteínas de unión celular vascular. La inducción de diabetes modifica la expresión de los genes laminina B y fibronectina en la placenta de ratas diabéticas; cambios demostrados en la placenta de mujeres diabéticas a término, lo que conduce a una alteración en la adhesión celular a este nivel impidiendo el funcionamiento normal del tejido placentario. Los niveles de ET-1 y PGE2 (prostaglandina E2) constrictores vasculares en la placenta diabética, se relaciona con insuficiencia placentaria e hipoxia fetal (García y García, 2009).

7.5.- Alteraciones y malformaciones congénitas en hijos de madre diabética

Las alteraciones en los hijos de madre diabética (HMD) van a depender 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 presenta diabetes antes de la gestación hay mayor incidencia de abortos espontáneos, mortalidad perinatal y malformaciones congénitas (Rosenn y col., 1994). La diabetes materna es un factor de riesgo independiente para la muerte fetal, cerca de la mitad de las muertes fetales ocurre antes de la semana 30 de gestación y la mayoría de los fetos tienen restricción de crecimiento asociado a preeclampsia y/o nefropatía diabética (Arizmendi, 2012). Las principales causas de morbilidad y mortalidad perinatal son la hipoxia y acidosis fetal (síndrome de insuficiencia respiratoria del recién nacido), la hipoglucemia e hipocalcemia. La mayor parte de las malformaciones congénitas (MC) en los HMD ocurre entre la cuarta y séptima semana de gestación, periodo donde se producen procesos teratogénicos (Polanco y col., 2005).

Se consideraba que la insulina *per se* como un factor teratogénico, sin embargo la placenta es una barrera que evita el paso de la insulina materna al feto, considerando que tendría que ser la insulina fetal la que estuviera produciendo alteraciones. La hiperinsulinemia ocurre durante la segunda mitad de gestación, cuando ya paso la etapa embriogénica, afectando su crecimiento y su desarrollo, generando macrosomía y visceromegalia a nivel cardiaco y hepático (Polanco y col., 2005; Arizmendi y col., 2012).

La glucosa materna podría ser el factor que más afecta el desarrollo durante la embriogénesis (Polanco y col., 2005). Existe más de una alteración en el ambiente del embrión de madre diabética capaz de inducir un desarrollo anormal y probablemente la alteración más importante es el incremento de la concentración de glucosa que tiene numerosas consecuencias metabólicas en el embrión (García y García, 2009); en los HMD con pobre control metabólico existe mayor incidencia de MC, una mínima elevación de glucosa en etapas tempranas de la gestación provoca aumento en la frecuencia de MC (Nordstrom y col., 2002).

La exposición del feto a concentraciones elevadas de glucosa plasmática de la madre durante el segundo y tercer trimestre, da como resultado a las complicaciones del HMD, siendo las siguientes las más comunes (Front y col., 2010):

- **Óbito o mortinato:** muerte fetal considerada desde la semana 20 de la gestación hasta el momento del parto.
- **Macrosomía:** RN con peso mayor a 4000 g, se caracteriza por aumento en el tejido graso, incremento de la masa muscular y organomegalia, sin incremento del tamaño de la masa cerebral; con fenotipo característico: son grandes, con peso y talla encima de la media para su edad gestacional. Uno de los marcadores séricos de macrosomía es la leptina, los niveles se encuentran aumentados en sangre de cordón en recién nacidos con peso grande para la edad gestacional, HMD e índice de masa corporal aumentada.
- **Trauma obstétrico:** trabajo de parto prolongado, distocia de hombros o fracturas óseas (clavícula y húmero), asfixia, parálisis del plexo braquial, parálisis diafragmática y hemorragia intracraneana.
- **Prematurez:** producto menor a 37 semanas de gestación.
- **Asfixia perinatal:** afecta el SNC, corazón y riñón (Danglot y Gómez, 2004).
- **Complicaciones metabólicas.**
 - **Hipoglucemia:** glucemias menores a 40 mg/dl después de las 72 hrs. La hiperglicemia fetal resultado de la hiperglicemia materna, al nacer se interrumpe la glucosa, aumenta la secreción de insulina en el páncreas fetal, derivando hipoglucemia fetal.
 - **Hipocalcemia e hipomagnesemia:** concentración de calcio sérico menor a 7mg/dl, e hipomagnesemia con niveles séricos de Mg menores a 1.5 mg/dl. Tras el nacimiento se interrumpe el paso transplacentario de los niveles de calcitonina, PTH, vitamina D y disminución del calcio sérico (Danglot y Gómez, 2004; Salvia y col., 2008; Arizmendi y col., 2012).

- **Alteraciones hematológicas.**
 - **Policitemia:** *hematocrito* mayor al 65% o una hemoglobina mayor a 20 mg/dl, no todos los neonatos presentan hiperviscosidad.
 - **Hiperbilirrubinemia:** concentración mayor de 4 mg/dl de bilirrubina indirecta en sangre del cordón, más de 6 mg/dl en las primeras 12 hrs de vida, presentando ictericia. El HMD presenta mayor masa de células rojas, eritropoyesis inefectiva e inmadurez hepática para la conjugación y excreción de bilirrubina (Danglot y Gomez, 2004; Salvia y col., 2008; Arizmendi y col., 2012).
- **Deficiencia de hierro:** el 65% de HMD cursan anormalidades en el metabolismo de hierro, baja concentración de ferritina y un aumento en la capacidad de unión de hierro, disminución de la saturación de la transferina e incremento en la concentración de protoporfirina libre del eritrocito indicando una acelerada eritropoyesis. La deficiencia de hierro ocasiona riesgo en el neurodesarrollo (Danglot y Gómez, 2004; Salvia col., 2008; Arizmendi y col., 2012).
- **Inmadurez funcional:** retraso sobre la maduración morfológica y funcional de algunos órganos (pulmones, paratiroides e hígado) atribuido a la insulina (Danglot y Gómez, 2004; Salvia y col., 2008; Arizmendi y col., 2012).
- **Alteraciones musculo-esqueléticas:** síndrome de regresión caudal, labio leporino con o sin paladar hendido, costilla bífida, costilla “ondulada”, extremidades cortas, gastrosquisis y craneosinostosis.
- **Alteraciones cardiovasculares:** 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 y estenosis pulmonar
- **Alteraciones del Sistema Nervioso Central:** defectos del tubo neural, anencefalia con o sin hernias de elementos neurales, hidrocefalia, hidranencefalia, microcefalia, espina bífida.
- **Alteraciones renales:** agenesia renal, riñón poliquístico, duplicación de uréter, *situs inversus*, hidronefrosis, reflujo vésico-ureteral.
- **Alteraciones gastrointestinales:** atresia duodenal, atresia anorrectal, síndrome del colon izquierdo pequeño, malrotación intestinal.
- **Otras alteraciones:** retraso en el crecimiento fetal (presentado en diabéticas con vasculopatía y flujo placentario disminuido), pseudohermafroditismo, hipospadias, atresia vaginal, arteria umbilical única (Polanco y col., 2005).

8.- Estreptozotocina (STZ)

En 1963, Rakieten y colaboradores informaron que la estreptozotocina era un agente diabetogénico. Este síndrome de insulinopenia, fue llamado “diabetes por estreptozotocina, causado por la necrosis específica de las células beta pancreáticas, ha sido desde entonces un agente de elección para inducción de diabetes mellitus en animales (Lenzen, 2008).

La estreptozotocina (STZ) es un derivado de nitrosourea aislado de *Streptomyces achromogenes* con actividad antibiótica y antineoplásica. Este agente alquilante interfiere en el transporte de glucosa y la función de la glucocinasa (Arias y Balibrea, 2007).

La STZ induce daño al ADN debido a la alquilación de sitios específicos de sus bases generando radicales libres, como el ON; durante su metabolismo. Se ha encontrado que este compuesto aumenta la generación de radical libre superóxido por el sistema xantina oxidasa de las células pancreáticas, de la misma forma que estimulan la producción de H₂O₂ causando la fragmentación de ADN en los islotes pancreáticos aislados de rata (Mora y col., 2009).

La molécula de STZ consta esencialmente de glucosa ligada a un fragmento reactivo de nitrosourea y es internalizada a través de los transportadores celulares de glucosa. Una vez dentro, el fragmento de nitrosourea es liberado y ejerce su actividad tóxica.

Las células pancreáticas son más activas que las demás en la captación de glucosa, resultando más sensibles al afecto de la STZ (Arias y Balibrea, 2007).

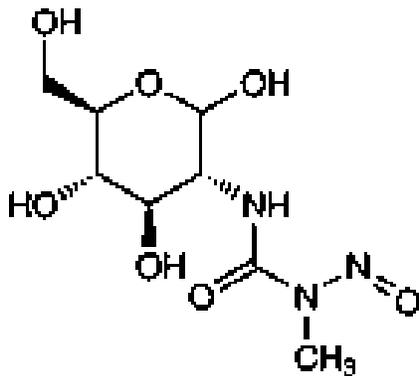


Figura #1. Molécula de estreptozotocina.

Debido al efecto diabetogénico de la STZ para inducir diabetes experimental es capaz de inducir un aumento de los niveles de glucosa a las 48 hrs posterior a la inyección, alcanzando niveles de 350 mg/dl (Flores, 2006). La inducción de diabetes gestacional por STZ debe hacerse con precaución ya que puede atravesar la placenta y ocasionar daños en general y en las células pancreáticas en desarrollo, para evitarlo es recomendable inyectar a las ratas antes del 6^o día de gestación antes de la implantación, para que las alteraciones que se presenten sean a causa de la hiperglucemia y no de la acción de STZ (Polanco y col., 2005). El resultado en animales como consecuencia de la administración de STZ, es que entran a una fase de hiperglucemia sufriendo una mayor disminución de peso corporal. La pérdida de peso en los diabéticos no controlados es el resultado de la pérdida de proteína debido a la imposibilidad de usar los carbohidratos como fuente de energía; también existe relación con la pérdida de peso con la excesiva diuresis característica de la diabetes (Mora y col., 2009).

9.- Diabetes experimental y alteraciones en crías de ratas diabéticas

Se utilizan varios modelos de experimentación de diabetes gestacional con la finalidad de estudiar las alteraciones en el desarrollo de los fetos y determinar si la diabetes puede ser transmitida a la siguiente generación debido al ambiente hiperglicémico.

El método más utilizado para la inducción de diabetes es por medio de STZ en alguna etapa de la gestación (Polanco y col., 2005). La diabetes materna experimental en ratas afecta el desarrollo de los fetos, produciendo un 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 (Palomino y col., 1998).

Cuando las ratas son sometidas a diabetes gestacional severa (destrucción de la mayoría de las células β), los fetos son expuestos a concentraciones elevadas de glucosa. La hiperglucemia induce a la hipertrofia de los islotes de Langerhans y la hiperactividad de las células β , dando resultado a hiperinsulinemia temprana. Las células β son estimuladas excesivamente y la secreción de insulina es más rápida que su biosíntesis, agotando las células β siendo incapaces de secretar insulina dando como resultado hipoinsulinemia fetal, reduciendo la absorción de glucosa fetal y por consiguiente nacimiento con bajo peso. El crecimiento de la masa proteica fetal se suprime y la síntesis de proteína es menor. Las crías de ratas provenientes de diabetes materna fueron crías pequeñas (micrósomáticas) al momento de nacer, el crecimiento fue paralelo a las crías control, pero sin alcanzar el tamaño adecuado; el crecimiento perinatal retardado tiene efecto a largo plazo en el peso corporal (Van Assche, 2001).

Las crías de rata con DG presentaron resistencia a la insulina, la disminución de la sensibilidad a la insulina se observó en el hígado y tejidos extra-hepáticos y la captación de glucosa periférica es reducida en los músculos esqueléticos. La exposición a la diabetes materna durante la vida fetal y neonatal tiene consecuencias en las crías en la función vascular es decir, en la presión arterial y frecuencia cardiaca (Van Assche, 2001).

Estudios sobre la función vascular *in vitro* en arterias mesentéricas aisladas de CRD, mostraron una relajación reducida de dilatadores y dependientes de endotelio y una mayor contracción a la noradrenalina. El medio diabético intrauterino ha conñado a las crías de las ratas diabéticas una predisposición a los trastornos cardiovasculares graves en la edad adulta (Van Assche, 2001). La hiperglucemia *per se* tiene poder teratogénico, provoca daño en el ADN y produce cierto grado de estrés oxidativo (EO), aumentando la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y NO, así como la peroxidación de lípidos y la carboxilación de proteínas, disminuyendo al mismo tiempo los sistemas amortiguadores y antioxidantes. En etapas tempranas del desarrollo, la glucosa puede dañar al ADN y provocar mutaciones que impidan la expresión de genes para la embriogénesis normal, aun la hiperglucemia moderada durante un periodo corto es capaz de producir mutaciones al ADN (Polanco y col., 2005).

La oxidación de glucosa en exceso afecta la expresión de genes del desarrollo como el PAX3. Se considera que el transporte de glucosa mediado por el GLUT2 durante la embriogénesis es responsable de los efectos embriopáticos de la diabetes materna. El aporte incrementado de glucosa a tejidos embrionarios ante la formación del sistema circulatorio, aumenta su metabolismo oxidativo con incremento del consumo de O₂. La hipoxia excede los límites fisiológicos que caracterizan al desarrollo normal. Estas condiciones pueden estimular la producción mitocondrial de radical libre superóxido llevando a un estado de EO como consecuencia de la oxidación de la glucosa en exceso, teniendo efecto embriotóxico (García y García, 2009).

Se ha propuesto que el estrés oxidativo provoca alteraciones en la activación sincrónica de genes en el control de la morfogénesis temprana y por lo tanto, los defectos congénitos se producen por un mecanismo diferente al de inducción de muerte celular directa por daño oxidativo al material genético, rotura de las cadenas del ADN y apoptosis (García y García 2009).

El aumento en la formación de ROS y NO tiene influencia en el desarrollo de la embriopatía diabética. No se conoce el mecanismo mediante el cual la hiperglucemia genera aumento en la formación de radicales libres de O₂ en los embriones de madres diabéticas, hay pruebas de cómo se producen en tejidos como el endotelio de vasos sanguíneos (Polanco y col., 2005).

La formación de productos finales de la glicolisis (AGE) puede causar roturas de cadena simple en el ADN genómico, teniendo serios efectos teratogénicos. Dichos efectos pueden ser estimulados por la glicosilación de las histonas, que tienen un rol estructural en el mantenimiento de los nucleosomas y por consiguiente la integridad del ADN. El aumento de las concentraciones de ROS en la diabetes materna afecta la producción de la enzima glucolítica gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) (Polanco y col., 2005), que actúa como cofactor de transcripción del ciclo celular y puede ser necesario para la inducción de la transcripción del gen PAX3 (García y García, 2009).

En embriones de ratas diabéticas se observó *in vivo* e *in vitro* disminución en la producción de GAPDH, que se relaciona directamente con aumento en la frecuencia de malformaciones congénitas (MC). Un efecto en la sobreproducción de ROS podría ser el aumento en la peroxidación de lípidos. Los productos principales de la peroxidación de lípidos, los hidroperóxidos (estimulantes de la biosíntesis de prostaglandinas, pero no de prostaciclina), producen desequilibrio para el embrión. Los isoprotanos se utilizan como marcadores de la peroxidación lipídica, son isómeros de prostaglandinas que se forman a través de la reacción no enzimática del ácido araquidónico con radicales libres (Polanco y col., 2005). En ratas diabéticas y sus fetos, el isoprotano 8-iso-prostaglandina F_{2α} es más elevado que en los controles, indicando aumento en las concentraciones de peroxidación lipídica (Van Assche, 2001).

También se observó aumento en la carboxilación proteica, que se relaciona con daño tisular en el EO en las madres diabéticas y sus fetos. Estos 2 parámetros correlacionan con el aumento en las MC y en las reabsorciones, lo que indica la participación de la sobreproducción de ROS en la génesis de la embriopatía diabética (Cederberg y col., 2001).

La hiperglucemia disminuye la eficiencia de los mecanismos amortiguadores de las ROS, además de aumentar la producción de ROS. En cultivos de embriones de rata diabética se observó la disminución de enzimas oxidantes como la superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa, lo que se relaciona con el aumento en la incidencia de MC, disminución del peso y del contenido de proteínas de los productos (Eriksson y Borg, 1991).

Se comprobó que la adición de citrulina, SOD, catalasa y glutatión peroxidasa tiene efecto protector en embriones de ratas cultivadas en suero diabético; la SOD disminuye el retraso en el crecimiento y las malformaciones embrionarias (Eriksson y Borg, 1991).

Existe también la disminución de glutatión que se encuentra en la mayor parte de las células, siendo una defensa celular contra el EO, pues actúa como amortiguador contra ROS. La adición de antioxidantes como la vitamina C y E al medio de cultivo diabético puede disminuir el efecto de la diabetes en la organogénesis (Polanco y col., 2005).

El ambiente intrauterino está alterado por la sobreproducción de cuerpos cetónicos, en especial de β -hidroxiburato, producido en mayor cantidad en fetos de ratas diabéticas. La glucosa y los cuerpos cetónicos actúan para producir retraso en el crecimiento e inducir malformaciones. En la placenta de rata diabética se observa que son más grandes y pesadas que las controles, con mayor cantidad de glucógeno desde el día 16 hasta el 22, así como el contenido de ADN, lo que sugiere que continúan con el proceso de síntesis de ADN después de término, en comparación de las controles. El flujo sanguíneo total de la placenta se encuentra disminuido, lo que manifiesta que la placenta aumenta de tamaño para compensar la disminución del flujo. A pesar que el flujo está disminuido, no se modifica la transferencia placentaria de las grandes cantidades de glucosa hacia el feto; también las placentas de rata diabética acumulan grandes cantidades de glucógeno, debido a la hiperglucemia de la madre (Polanco y col., 2005).

Cuando las crías de madre diabéticas se preñaban desarrollaban intolerancia a la glucosa, teniendo niveles altos de glucosa y concentraciones bajas de insulina. Estas crías desarrollan hiperglucemia leve, lo que podría contribuir en la síntesis de radicales libres y peroxidación de lípidos (Van Assche, 2001). La progenie de estas crías será hiperglicémica y microsómica. La transmisión de efectos de madre diabéticas a las siguientes generaciones pasa a través de la vía materna. Los machos provenientes de DG tienen intolerancia a la glucosa, pero no transmiten a su descendencia. Otros investigadores encontraron evidencia de efectos transgeneracionales por vía paterna, concluyendo que tanto la línea materna y paterna pueden transmitir cambios epigenéticos en las crías, sin embargo la línea materna probablemente tenga mayor impacto, dado que esta es la que provee el ambiente intrauterino para el desarrollo de las crías (Zambrano, 2009).

10.- Alteraciones en crías de ratas diabéticas durante la vida adulta

En las crías de rata diabética (CRD) se encuentran alteraciones en el metabolismo de la glucosa, que va desde alteraciones en la tolerancia de la glucosa hasta la DM2. Se reportó hiperglucemia en los fetos de rata diabética, lo cual se explica por la transferencia placentaria de grandes cantidades de glucosa, hasta 40% de las crías de madre diabética 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 vida extrauterina, las ratas sobrevivientes tienen glucosa en ayuno normal, pero 45% presenta alteraciones en la curva de tolerancia a la glucosa durante su gestación. Tal vez se deba, a que durante el desarrollo fetal estas crías estuvieron expuestas al aumento de transferencia de glucosa de la madre al feto, lo que provocaría hipertrofia de los islotes fetales (Polanco y col., 2005).

En la función reproductiva en las CRD se demostró retraso en la secreción de las hormonas liberadoras de gonadotropina y luteinizante, lo que demora el inicio de la etapa reproductiva. También se observó la disminución del tamaño de los testículos y ovarios de las crías desde el nacimiento hasta la etapa reproductiva, así como el retraso del inicio de la pubertad en crías hembras (Polanco y col., 2005).

11.- Consecuencias a largo plazo en hijos de madres diabéticas

Algunas enfermedades metabólicas del adulto, como la DM, pueden tener origen fetal. La hiperplasia de las células β e hiperinsulinismo que se observa en los fetos de madre diabética inducen cambios irreversibles en el páncreas, que ocasiona intolerancia a la glucosa, obesidad, incluso DM2. Las alteraciones en la tolerancia de la glucosa persisten por lo menos hasta la tercera generación (Polanco y col., 2005).

Las causas fundamentales de programación se asocian con la alteración materna durante el embarazo y, por lo tanto, el ambiente fetal. El ambiente fetal subóptimo, debido a la nutrición inadecuada, infección, anemia, hipertensión, inflamación, *diabetes gestacional* o hipoxia en la madre, expone al feto a factores hormonales, de crecimiento, citosinas o adipocinas. Estos afectan los parámetros metabólicos del sistema inmunitario, vasculares, renales, hemodinámicos, del crecimiento y mitocondriales en etapas posteriores a la vida, que originan deficiencia en la homeostasis de la glucosa, resistencia a la insulina, DM2, hipertensión, enfermedad cardiovascular, obesidad y enfermedad cardíaca (Martínez, 2008).

El bajo peso al nacer, cuando es seguido de un crecimiento acelerado durante la infancia y gran adiposidad central en la vida adulta, es un factor de riesgo para sufrir enfermedad cardiovascular y DM2 (Martínez, 2008).

El aumento de peso durante el embarazo por la ingesta excesiva de alimentos favorece el sobrepeso fetal que deriva en obesidad y trastornos endocrinos en la vida adulta. Esto se debe a que el incremento de peso materno altera el ambiente intrauterino produciendo cambios permanentes en el hipotálamo, islotes pancreáticos, el tejido adiposo y el sistema que regulan el peso corporal (Valencia, 2011).

La relación entre el crecimiento intrauterino y la hipertensión arterial (HTA), diversos autores sugieren que las condiciones intrauterinas adversas podrían llevar a un aumento de la presión arterial fetal para mantener la perfusión placentaria persistiendo tras el nacimiento. Se observó que la presión arterial más elevada se producía en personas que habían sido recién nacidos pequeños con placentas grandes. No se sabe que inicia la HTA en la vida intrauterina, pero el cortisol parece desempeñar un papel. El recién nacido con retraso en el crecimiento tiene una concentración de cortisol plasmática elevada, lo que podría inducir en HTA en la vida adulta quizás al mejorar la sensibilidad vascular a la angiotensina II (Vargas, 2012).

12.- Sistema cardiovascular

El sistema cardiovascular está formado por el corazón y vasos que forman una red de transporte de la sangre (figura #2). A través de este sistema, el corazón bombea sangre a través del amplio sistema de vasos del cuerpo. La sangre transporta nutrientes, gases (O_2 , CO_2), electrolitos, hormonas y retira los desechos. Además regula el pH corporal y la temperatura del cuerpo (Ponce, 2004; Moore, 2003).

La sangre a alta presión abandona el corazón y es distribuida en el cuerpo por un sistema ramificado de *arterias* de paredes gruesas. Los vasos distribuidores finales –*arteriolas*- entregan sangre oxigenada a los *capilares*, que forman un lecho capilar donde ocurre el intercambio de oxígeno (O_2), nutrientes, productos de desecho y otras sustancias con el líquido extracelular. La sangre que proviene del lecho capilar pasa a través de las *vénulas* de paredes delgadas que se asemejan a capilares anchos. Las vénulas drenan en *venas* pequeñas que se abren en venas de mayor tamaño. La vena cava superior e inferior (VCS y VCI) retornan sangre poco oxigenada al corazón (Ponce, 2004; Moore y Agur, 2003).

La *gran circulación, general o sistémica* que comprende: el ventrículo izquierdo, la aorta y todas las arterias que de ella originan, los capilares y las venas que conducen la sangre a la aurícula derecha. En esta circulación desembocan los vasos linfáticos: el conducto torácico a la izquierda y el conducto linfático derecho a la derecha.

La *pequeña circulación o pulmonar*, que incluye: el ventrículo derecho, la arteria pulmonar y sus ramas, las venas pulmonares y la aurícula izquierda. En esta circulación, las arterias contienen sangre carboxigenada y las venas, sangre oxigenada: es lo contrario de lo que sucede en la circulación sistémica (Latarjet y Ruiz, 2005).

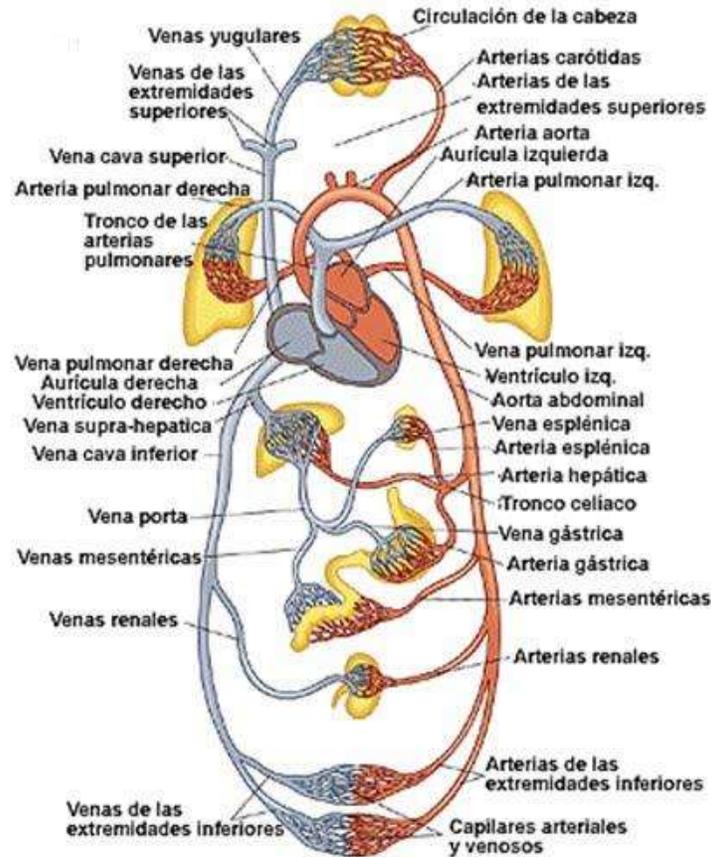


Figura #2. Circulación mayor y menor. El sistema circulatorio efectúa 2 tipos de circulación, denominadas menor o pulmonar y mayor o sistémica. La menor recoge la sangre cargada de desechos y transportarla hasta los pulmones y ser nuevamente renovada. La mayor por su parte conduce a todo el organismo la sangre limpia y oxigenada a todos los rincones del cuerpo.

13.- Vasos sanguíneos

Los cinco tipos principales de vasos sanguíneos son: **las arterias** conducen la sangre desde el corazón hacia otros órganos. Las grandes arterias abandonan el corazón y se dividen en arterias musculares de medio calibre que se distribuyen a diferentes regiones del organismo. Las arterias de mediano calibre se dividen en pequeñas arterias, que se dividen a su vez en arterias más pequeñas llamadas **arteriolas**. Estos a su vez entran en un tejido y se ramifican en vasos llamado **capilares**, que permiten en intercambio de sustancias entre la sangre y tejidos corporales. Los capilares dentro de un tejido se reúnen para formar pequeñas venas llamadas **vénulas**. Estas convergen formando vasos más grandes llamadas **venas**, vasos que transportan la sangre desde los tejidos de regreso al corazón. Los vasos sanguíneos requieren O₂ y nutrientes igual que los tejidos, así que están irrigados por sus propios vasos llamados **vasa vasorum**. (Tortora y Derrickson, 2006).

Los **vasos linfáticos** son conductos de pared fina revestida de epitelio, no contiene células sanguíneas; actúan como sistema de drenaje, devolviendo el líquido de espacios intersticiales a la sangre. También son vía de propagación de enfermedades, al trasladar a las bacterias o células tumorales a sitios distantes (Frederick y col., 2000).

13.1.- Estructura de la pared vascular

Los elementos básicos de la pared vascular son: células endoteliales, fibras musculares lisas y matriz extracelular que contiene macromoléculas como elastina, colágeno, proteoglicanos (dermatán sulfato presente de 60-80 %) y glucoproteínas estructurales (fibronectina, laminina) (Frederick y col., 2000; Dvorkin y col., 2010).

La pared de las arterias está formada por 3 capas o tunicas:

- 1) **Túnica interna o íntima:** contiene un revestimiento llamado endotelio, una membrana basal y una capa de tejido elástico llamada *lámina elástica interna*.
- 2) **Túnica media:** está constituida por fibras elásticas y musculares lisas. También posee una *lámina elástica externa* compuesta por tejido elástico.
- 3) **Túnica externa o adventicia:** compuesta por fibras elásticas y colágenas, fibras nerviosas y vasa vasorum dispersos (Frederick y col., 2000; Dvorkin y col., 2010).

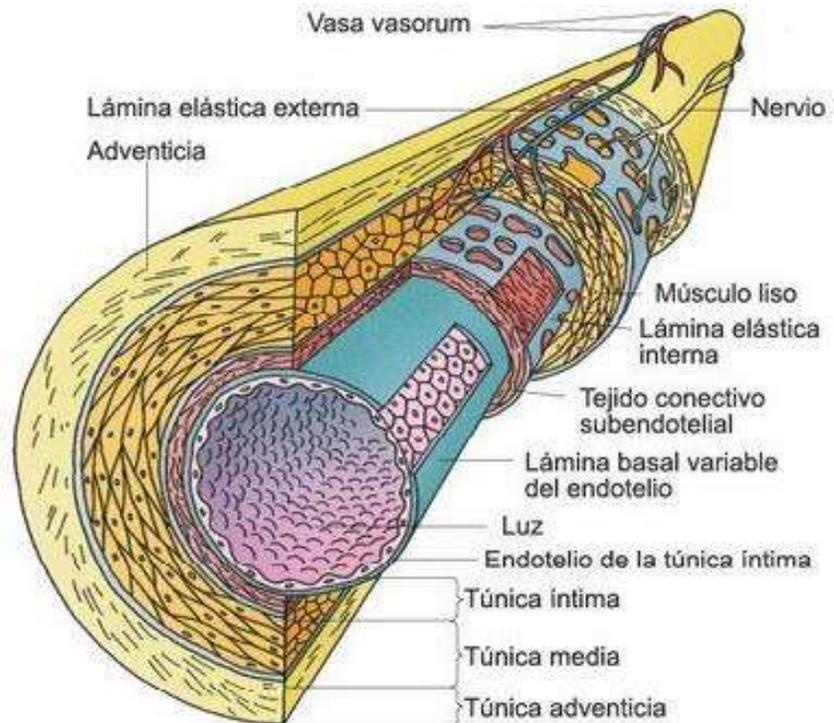


Figura #3. Estructura anatómica de vasos sanguíneos.

13.2.- Clasificación de las arterias

Existen 3 clases de arterias:

- 1) **Arterias gruesas o elásticas:** también se denominan *arterias de conducción*, conducen la sangre desde el corazón hacia las arterias musculares. Su diámetro es superior a 1cm, su *túnica media* contiene una proporción alta de fibras elásticas. Su lámina elástica es incompleta y su *lámina externa* es delgada. Ejemplos de estas arterias son: la *aorta* y tronco braquiocefálico, *carótida común*, *subclavia*, *vertebral pulmonar*, y *arterias iliacas*)
- 2) **Arterias de mediano tamaño o musculares:** también se denominan *arterias de distribución*, distribuyen la sangre hacia el organismo. Diámetro entre 0,1 y 10 mm. Su *túnica media* contiene más músculo liso y menos fibras elásticas, por ello son capaces de una mayor vasoconstricción y vasodilatación. La mayor cantidad de músculo liso, torna las paredes relativamente más gruesas. Poseen una *delgada lámina elástica interna* y una *lámina elástica externa* prominente. Ejemplos de estas arterias son: la *arteria braquial en el bazo* y la *arteria radial en el antebrazo*.
- 3) **Arterias pequeñas** (<2mm de diámetro) discurren en el interior de los tejidos y órganos. (Frederick y col., 2000; Tortora y Derrickson, 2006).

14.- Endotelio

Al endotelio antes solo se consideraba como una capa monocelular inerte y lisa que constituía la parte interna del vaso sanguíneo, que delimitaba el exterior con el interior de los vasos sanguíneos y que actuaba como barrera entre el plasma y el tejido y la única función era evitar que se desgastara el músculo liso vascular, hasta que fue reconocido como un importante regulador de la función vascular (Hurairah y Ferro, 2004).

Fue en el año de 1980, Furchgott y Zawadzki comprobaron en anillos aislados de aorta de conejos, reportaron una respuesta vasodilatadora inducida por acetilcolina (Ach), solo si durante el experimento se tenía cuidado de no dañar el endotelio y una respuesta nula en ausencia del endotelio. Esto dio origen a la idea que el endotelio liberaba una sustancia responsable de la relajación inducida por la Ach, la cual fue llamada "factor relajante derivado del endotelio" (EDRF) (Furchgott y Zawadzki, 1980).

Las células endoteliales (CE) y células musculares lisas (CML) son los principales componentes de las paredes de los vasos sanguíneos. Las células endoteliales forman un monocapa que tapiza la cara luminal interna de las arterias, venas capilares y vasos linfáticos (Esteller, 2005). Su estructura y función son fundamentales para mantener las homeostasis de las paredes vasculares y la función circulatoria, estando orientadas en dirección del flujo sanguíneo en forma longitudinal. Esta disposición, es protectora y permite que la presión pulsátil favorezca la liberación de NO. En las bifurcaciones y ramificaciones de los vasos sanguíneos las CE adoptan una forma romboidal (Frederick col., 2000; Dvorkin y col., 2010).

En el endotelio se encuentra dos zonas especializadas, la apical o luminal y la basal que interaccionan con las proteínas de la matriz extracelular (MEC) de la lámina basal a la que está adherida, anclando las células al subendotelio (Esteller, 2005).

14.1.- Función del endotelio

El endotelio vascular es un órgano que está implicado en distintas actividades por su capacidad de modificar su funcionalidad y regular la síntesis de diversos factores en respuesta a cambios humorales, químicos o mecánicos en la sangre o en las células sanguíneas (Esteller, 2005), siendo las funciones del endotelio las siguientes:

- Mantiene el tono vascular y por lo tanto la presión arterial por medio de la liberación de sustancias **vasodilatadoras** como: NO / EDRF, prostaciclina (PGI₂), factor hiperpolarizante derivado del endotelio (EDHF) y peróxido de hidrogeno (H₂O₂) y sustancias **vasoconstrictoras**: endotelina 1 (ET-1), angiotensina II (Ang-II), tromboxano A₂ (TXA₂), prostaglandina H₂ (PGH₂) y radicales libres de oxígeno (RLO) (Esteller, 2005; Longo y col., 2012).
- Creación de una superficie **antigregante** y **antitrombótica**, por la presencia de cargas eléctricas negativas y síntesis de inhibidores de la agregación plaquetaria. Participando el NO y la PGI₂ y moléculas como el heparán sulfato, proteína C reactiva y el factor activador del plasminógeno (t-PA) (Esteller, 2005).
- Actúa como barrera permeable selectiva que interviene en mecanismos de pinocitosis y fagocitosis (Dvorkin y col., 2010).
- Interviene en la interacción con leucocitos, mediante moléculas de adhesión como las selectinas (P-selectina, E-selectina, L-selectina), superfamilia de inmunoglobulinas (ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1) y secreción de moléculas quimiotácticas (MCP-1, IL-8) (Dvorkin y col., 2010).
- Controla el crecimiento del músculo liso vascular (MLV) mediante factores que inhiben el crecimiento (heparina, glucosaminoglucanos, EDRF NO, TGF- α) y que lo promueven (PGDF, IGF-I, IL-1, FGF, ET-1) (Dvorkin y col., 2010).
- Participa en la homeostasia.
- Interviene en la conversión de angiotensina I en angiotensina II
- Participa en el desarrollo y remodelado de los vasos sanguíneos (angiogénesis)
- Secreta componentes estructurales de la matriz extracelular: colágeno, glucosaminoglucanos, fibronectina
- Interviene en el metabolismo de los lípidos plasmáticos. La lipasa de lipoproteínas (LPL) está ligada a la superficie de la célula endotelial por los heparansulfatos (Dvorkin y col., 2010).

15.- Óxido nítrico

El óxido nítrico (NO) es un gas que se difunde desde las células endoteliales a las células musculares lisas de la pared vascular (Martínez y Sanchez, 2004). El Óxido nítrico posee un electrón no apareado en su estructura molecular por lo que se considera como radical libre. A temperatura ambiente, el NO es un gas y su solubilidad en medio acuoso es similar a la del oxígeno, lo que permite difundir con gran facilidad a través de las membranas biológicas que existen en la naturaleza. Debido a sus propiedades químicas, el NO reacciona con diversos compuestos y elementos como el oxígeno, hierro (grupo hemo), sulfhidrilos (tioles), nitrógeno; por lo que no solo constituye un regulador de funciones celulares, sino también participa de manera directa o indirecta en diversos procesos fisiopatológicos (Hicks, 2007).

El NO es producido por células endoteliales y células del corazón, actúa como regulador paracrino, autocrino e intracrino de la función cardíaca a través de acciones directas sobre los cardiomiocitos y acciones indirectas consecuencia de sus efectos vasculares. En el miocardio el NO regula entre otros procesos el acoplamiento excitación-contracción, la frecuencia cardíaca (FC), el tono vegetativo, la respiración mitocondrial (metabolismo energético), procesos de hipertrofia y apoptosis y la fase tardía del pre-acondicionamiento isquémico (Duin y Sosa, 2010).

A nivel vascular el NO controla el tono vascular por su acción vasodilatadora, de esta manera protege a los vasos sanguíneos de la agregación por la turbulencia de la sangre. También inhibe la agregación plaquetaria, la proliferación de las CML (Jiménez, 2010), antioxidante e inhibidor de la expresión de moléculas de adhesión (CAM) y de la adhesión de monocitos (Badimón y Martínez, 2006).

15.1.- Síntesis enzimática de óxido nítrico

El óxido nítrico se sintetiza en diversas células además de las endoteliales a partir del aminoácido L-arginina por medio de 3 isoformas de la óxido nítrico sintasa (NOS) que son enzimas citosolicas con genes diferentes, dos son dependientes de Ca^{2+} / calmodulina y una independiente de Ca^{2+} inducida por citocinas con propiedades farmacológicas similares al FRDE. Esta reacción compleja necesita oxígeno molecular y diversas coenzimas como: tetrahidrobiopterina (BH₄), nicotinamida adenina dinucleotido fosfato (NADPH), flavina adenina dinucleotido (FAD), flavina mononucleotido (FMN), grupo hemo y calmodulina (CaM) (Sosa, 2005). La estimulación de los receptores endoteliales por neurotransmisores (noradrenalina, acetilcolina, sustancia P y ATP), por autocoides (adenosina, trombina, bradicinina, angiotensina II, histamina, serotonina y endotelina) o por hormonas (insulina, oxitocina, vasopresina y estrógenos) produce liberación de óxido nítrico (Sosa y col., 2005).

También se genera por factores físicos como el flujo sanguíneo (estrés de cizallamiento) a la contracción de los vasos sanguíneos, de esta manera el NO tiene función en la regulación del músculo liso vascular y del flujo hacia los tejidos (Sosa y col., 2005).

Las enzimas óxido nítrico sintasa existen en distintos tejidos y varias isoformas. Existen 2 variedades de NOS constitutivas con características biológicas similares, pero difieren en su localización y en la función realizada por el NO producido por ellas; y una inducible calcio-independiente (Duin y Sosa, 2010):

La **óxido nítrico sintasa endotelial** (*eNOS o tipo III*) está localizada preferentemente en las células endoteliales y células mesagiales renales y está involucrada en la regulación de la homeostasis vascular.

La **óxido nítrico sintasa neuronal** (*nNOS o tipo I*) es de localización nerviosa, tanto en el Sistema Nervioso Central como en el Sistema Nervioso Parasimpático y es productora de un NO que actúa como neurotransmisor.

La **óxido nítrico sintasa inducible** (*iNOS o tipo II*) descrita en macrófagos y hepatocitos, expresada en múltiples células (neutrófilos, fibra muscular lisa vascular, células endoteliales) en respuesta a diferentes estímulos inmunológicos como: interferón gamma (IFN- γ), factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y lipopolisacárido bacteriano (LPS), los cuales genera cantidades de NO que puede ser tóxico en las células tumorales o infectados por virus.

La producción de NO por las células endoteliales pueden influir en la contracción de los vasos sanguíneos, remodelación del endotelio de las arterias y venas aumenta la sensibilidad del músculo liso vascular a diferentes agentes contráctiles. La disminución de la contracción en arterias con endotelio se ha atribuido a la liberación del NO, la inhibición de su síntesis imita los efectos de la remoción del endotelio (Sosa y col., 2005).

La eNOS sintetiza el NO a partir de la L-arginina mediante un paso de oxidación de 5 electrones por medio del intermediario N^G-hidroxi-L-arginina. Los sustratos utilizados por esta enzima son la L-arginina, oxígeno molecular y la nicotinamida adenina dinucleotido fosfato (NADPH). Los cofactores requeridos son la tetrahidrobiopterina (BH₄), la flavina mononucleotido (FMN) y la flavina adenina dinucleótido (FAD). La enzima tiene sitios de enlace para el grupo hemo y la calmodulina esenciales para su actividad (Duin y Sosa, 2010).

La eNOS puede generar superóxido en lugar de NO, debido a la disminución de su cofactor BH₄, denominado desacoplamiento de la oxidación de NADPH en la síntesis de NO. La actividad de la eNOS es regulada por la fosforilación a través de proteínas como la proteína cinasa B (PKB), proteína cinasa A (PKA), proteína cinasa dependiente de GMPc (PKG) y la proteína dependiente de calmodulina de tipo II (CaMKII) (Duin y Sosa, 2010).

El óxido nítrico formado en las células endoteliales activa a la guanililciclase soluble (GCs) en las células musculares lisas vasculares activando el grupo hemo contenido en la GCs produciendo un aumento en la concentración de la monofosfato de guanosina cíclico (GMPc) (Verdejo, 2006).

El GMPc activa la proteincinasa dependiente de la GMPc (PKG), disminuyendo las concentraciones de Ca^{2+} intracelular, causando la relajación del músculo liso y disminuyendo el tono vascular (Verdejo, 2006).

Los efectos biológicos del NO en el control del tono vascular son atenuado por la presencia de especies reactivas de oxígeno (ROS), en particular el anión superóxido (O_2^-) y en menos proporción el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^\cdot). Las células endoteliales pueden liberar O_2^- , generado por varias enzimas incluyendo la propia NOS, cuando la cantidad de L-arginina es deficiente. El oxígeno reacciona rápidamente y espontáneamente con el NO produciendo peroxinitrito (ONOO^-), que es un poderoso agente citotóxico (Hurairah y Ferro, 2004).

15.2.- Síntesis no enzimática de óxido nítrico

Hallazgos sobre los valores de NO aumentados durante la isquemia experimental incluso tras inhibir las NOS, sugiere la presencia de otras vías de síntesis de NO. En un medio ácido (isquemia), los nitritos forman ácido nitroso (HON_2) que puede reaccionar con nitritos o un donador de electrones para formar trióxido de dinitrogeno (N_2O_3) que puede producir NO. La xantino oxidasa del endotelio vascular también puede reducir los nitritos/nitratos a NO, particularmente en presencia de isquemia. Los nitritos pueden reaccionar con la desoxihemoglobina, generando NO en esta reacción (Tamargo y col., 2006).

16-. Prostaglandinas

Las prostaglandinas tienen efectos importantes sobre cuatro tipos de músculo liso: vascular, vías respiratorias, aparato gastrointestinal y aparato reproductor (Sosa y col., 2005). Las prostaglandinas son un derivado del ácido araquidónico presente en los fosfolípidos de la membrana celular. La hidrólisis de fosfolípidos de membrana por la PLA₂ para liberar ácido araquidónico (AA) es el paso limitante en la síntesis de prostanoides (Smith, 1992).

El ácido araquidónico es procesado por las ciclooxigenasas (COX), las lipooxigenasas y las oxigenasas de citocromo p450 a diferentes eicosanoides en los tejidos vasculares y renales (Catalioto, 1996; Schlondorff, 1987; Gimbrone, 1975). Las COX catalizan la formación de prostaglandina H₂ (PGH₂), que después es convertida a tromboxano (TXA₂) por una sintasa de tromboxano, a prostaciclina (PGI₂) por la sintasa de prostaciclina, o a prostaglandina E₂ (PGE₂), prostaglandina D₂ (PGD₂) o prostaglandina F₂α (PGF₂α) por diferentes enzimas (Smith, 1992).

Se conocen 3 tipos de isoformas de ciclooxigenasas:

- a) COX-1: regula la síntesis de prostaciclina (PGI_2), se encuentra vinculada con el tono vascular, la hemodinamia y la integridad de la mucosa gástrica (González, 2002).
- b) COX-2: inducida por agentes pro inflamatorios y vasoactivos, controla la rápida y elevada síntesis de prostanoídes en procesos como la inflamación, destrucción celular parto apoptosis y necrosis pancreática en la diabetes autoinmune (González, 2002).
- c) COX-3: descubierta en la corteza cerebral canina, esta isoforma es inhibida por drogas antipiréticas y analgésicas por lo que podría estar vinculada en el mecanismo central primario por el cual ejercen su acción (Chandrasekaran y col., 2002).

Las prostaglandinas vasodilatadoras PGI_2 y PGE_2 promueven esta acción al disminuir el calcio intracelular del musculo liso. La prostaciclina (PGI_2) vascular es sintetizada por el endotelio y el musculo liso, tiene un metabolismo rápido y es convertida en productos más estables, pero inactivos. La PGE_2 es otro vasodilatador endotelial que se encuentra en la microcirculación, que tiene efectos básicos en el aparato tubular renal en la diuresis de Na^+ . Las prostaglandinas regulan el tono vascular y la homeostasis del agua y sales en los riñones (Sosa y col., 2005).

Los prostanoides cumplen un rol fundamental en el control de la hemostasia a través de la regulación de la activación plaquetaria (Wise H, 2002). El TXA_2 es el responsable de la propagación de la activación y del reclutamiento de las plaquetas hacia el sitio de la agregación. Su unión al receptor plaquetario TP activa el sistema Gq/PLC (fosfolipasa C), estimula la liberación de calcio intracelular en forma dependiente de IP_3 y activa el sistema contráctil $\text{CaM/Ca}^{++}/\text{MLCK}$ (calmodulina/ miosina de cadena liviana) induciendo contracción y la posterior secreción del contenido de los gránulos plaquetarios. En cambio, la prostaciclina producida por las células del endotelio vascular constituye el principal factor antiagregante del organismo (Moncada, 1982). Inhibe la agregación plaquetaria de dos maneras diferentes: a) en las plaquetas se une a su receptor IP, estimula la síntesis de AMPc e inhibe la secreción plaquetaria por fosforilación dependiente de PKA; b) en el lecho vascular suprime la expresión de moléculas quimiotácticas para plaquetas y leucocitos, evitando su adhesión y agregación al endotelio (Murata y col., 1997).

La ANG-II también es capaz de activar a la PLA_2 (Fosfolipasa A2) para la liberación de ácido araquidónico, sobre el cual actúa la COX formando prostanoides (Malkowski y col., 2000).

17-. Disfunción endotelial

La disfunción endotelial (DE) se puede definir como la serie de alteraciones que afectan la síntesis, liberación, difusión o degradación de los factores que genera el endotelio. Los mecanismos de estas alteraciones pueden originarse tanto por los cambios en los receptores como de las señales intracelulares de transducción, incluso modificaciones en la respuesta de células diana de dichos factores. La disfunción endotelial no es homogénea en sus características y distribución, varía en función de la patología asociada y el lecho vascular que se considere (Esteller, 2005).

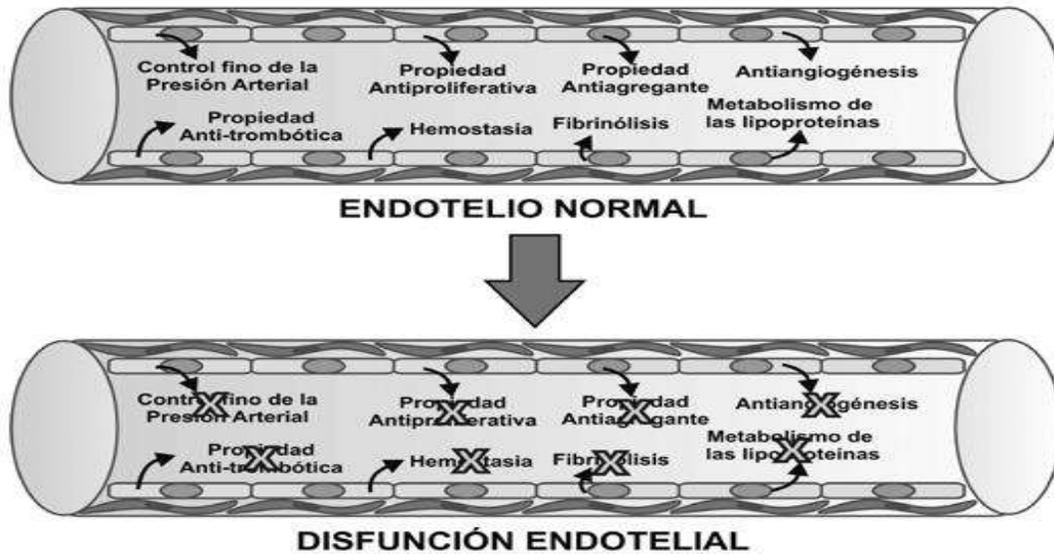


Figura #4. Disfunción endotelial. El endotelio en condiciones normales tiene propiedades antiagregante plaquetaria, antitrombotica y antiaterogénica, lo cual lo hace un órgano esencial en el mantenimiento de la homeostasis del sistema vascular. Bajo condiciones patológicas se producen alteraciones en uno o más de los mecanismos de señalización molecular emitidos por este, lo cual es conocido como disfunción endotelial.

En la DE existe un desequilibrio en la biodisponibilidad de sustancias activas de origen endotelial que predispone a la inflamación vascular, vasoconstricción, incremento de la permeabilidad vascular (Badimón y Martínez, 2006), adherencia leucocitaria, activación plaquetaria, trombosis, mitogénesis, inflamación vascular y finalmente aterosclerosis (González, 1997; Deafield y col., 2005). La disfunción endotelial se manifiesta como una *reducción vasodilatadora* dependiente del endotelio, o una *mayor respuesta constrictora* dependiente o independiente del endotelio, como desequilibrio de los agentes vasodilatadores y vasoconstrictores (Esteller, 2005).

Las diversas formas de disfunción endotelial incluyen (Esteller, 2005):

- a) Menos liberación de NO, prostaciclina o EDFH
- b) Aumento de la liberación de endoperóxidos
- c) Aumento de la producción de RLO
- d) Aumento de liberación de endotelina
- e) Disminución de la sensibilidad del musculo liso vascular a los vasodilatadores de origen endotelial

En las últimas décadas se ha demostrado que factores de riesgo coronario como son el colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL), el tabaquismo, la diabetes, hipertensión y factores emergentes (RLO, homocisteína, infecciones, déficit estrogenico, etc.) producen disfunción endotelial (Contreras y col., 2012).

18-. El papel de la hiperglucemia en la disfunción endotelial

La DM2 está asociada a la disfunción endotelial (DE), la inflamación subclínica parece la causa de DE en la resistencia a la insulina (Badimón y Martínez, 2006). La DM2 está asociada con un riesgo mayor para las arterias coronarias ateroscleróticas y enfermedades cardiovasculares. La hiperglucemia posprandial es un factor independiente para aterosclerosis y enfermedad cardiovascular (Koichi y Teruo, 2009). La disfunción endotelial es la etapa inicial de la aterosclerosis. En el musculo esquelético se ha demostrado una actividad defectuosa de la enzima NOS, que desempeña un papel en la resistencia a la insulina en la DM2. En las CE la insulina estimula la formación de NO, mientras que los valores elevados de glucosa inhiben la formación de NO (Badimón y Martínez, 2006). La insulina tiene acciones vasculares que llevan a vasodilatación, aumento de flujo sanguíneo y aumento de la disponibilidad de glucosa en el músculo esquelético, la mayoría dependiente de NO. Las interacciones entre insulina puede llevar a hipertrofia miocárdica y a un aumento considerable de la masa ventricular izquierda (MVI) a través de distintos caminos, siendo importante el efecto antiproteolítico en el corazón (Contreras y col., 2012). La insulina es capaz de modificar mecanismos fisiológicos que conducen a un aumento o disminución de la presión arterial, además ejerce un efecto vasodilatador a través de liberación de NO del endotelio que induce una relajación de musculo liso de las arteriolas (Contreras y col., 2012).

La hiperglucemia posprandial se caracteriza por picos hiperglucémicos que inducen a EO, que en combinación con productos de glicación avanzada (AGE) y productos de la peroxidación lipídica, actúan activadores de las quinasas que conducen a DE y la expresión de genes inflamatorios. La presencia de aumento en la concentración de glucosa *in vitro* reduce la vasodilatación dependiente del endotelio inducida por acetilcolina de una manera dependiente de la concentración mediante la exposición de niveles altos de la glucosa. Estudios *in vivo* han demostrado que los picos hiperglucémicos inducen a DE los efectos de la hiperglucemia son probablemente son vinculados con la producción y/o disponibilidad reducida del NO como la DE inducida por la hiperglucemia es contrarrestada por una mayor producción de arginina (Koichi y Teruo, 2009).

IV. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes mellitus, se ha vuelto un problema de salud mundial, que ha ido incrementando con los años. El descontrol glucémico se deriva principalmente por el estilo de vida y costumbres, afectando la calidad y tiempo de vida de los pacientes.

La diabetes mellitus también afecta a las mujeres durante la gestación, presentándose en la segunda mitad del embarazo, pero desapareciendo después del parto. Esta patología se relaciona con la mortalidad materna y fetal y el incremento en el desarrollo de malformaciones congénitas durante el periodo intrauterino. La exposición a este ambiente intrauterino anormal, modifica el crecimiento y predispone al desarrollo de enfermedades en la etapa adulta, como son las enfermedades cardiovasculares.

Existen numerosos trabajos que señalan que el aumento de glucosa es el principal agente del daño de los vasos sanguíneos. En nuestro trabajo se determinó la funcionalidad del endotelio inhibiendo la participación de las enzimas óxido nítrico sintasa y las ciclooxigenasas para evaluar el daño a nivel vascular en la descendencia de ratas que presentaron diabetes gestacional.

V. HIPÓTESIS

La diabetes mellitus gestacional disminuye la participación vasodilatadora del óxido nítrico y de las prostaglandinas en aorta torácica de las crías descendientes con diabetes gestacional experimental, reflejándose en un aumento de la contracción vascular.

VI. OBJETIVOS:

Objetivo general

Evaluar la participación del óxido nítrico y prostaglandinas en la contractilidad de la aorta torácica de crías de rata descendiente de madres diabéticas.

Objetivos específicos

- 1) Evaluar la respuesta contráctil inducida por fenilefrina en presencia de L-NAME en aorta con y sin endotelio en cría de rata diabética.
- 2) Evaluar la respuesta contráctil inducida por fenilefrina en presencia de INDOMETACINA en aorta con y sin endotelio en cría de rata diabética.

VII. MATERIAL Y METODOS

Animales de estudio

Los datos utilizados en este estudio con relación al peso y niveles sanguíneos de glucosa de ratas con DMG experimental y controles, así como los resultados de peso y niveles de glucosa de las crías de rata control y crías de rata diabética de 4 semanas fueron obtenidos de un trabajo en conjunto con la estudiante Nayelli Delgado Arellano, quien también los utilizo e incluyo en su trabajo de tesis "**Alteraciones metabólicas post- Diabetes Gestacional, 2013**" realizado en el IIQB de la UMSNH, en el laboratorio de farmacología.

Para la inducción de diabetes gestacional experimental se utilizaron ratas hembra adultas cepa Wistar de 12 semanas de edad con un peso promedio de 300 ± 20 g.

Los animales empleados para este trabajo de investigación para la realización de las curvas a fenilefrina fueron ratas macho de cepa Wistar de 16 semanas de edad provenientes de las ratas con diabetes gestacional y controles, los cuales fueron divididos en grupo crías de rata control (CRC) y grupo de crías de rata diabética (CRD), con un peso promedio de 365 ± 43.82 g para CRC y 360.25 ± 35 g para CRD.

Los animales se mantuvieron en una habitación con temperatura controlada 24.0 ± 2 °C, humedad relativa de 60.0 ± 0.5 %, ciclos de luz y oscuridad de 12 h, provistas de agua y alimento *ad-libitum* dentro del bioterio del Instituto de Químico Biológicas de la UMSNH, siguiendo los protocolos establecidos para el uso de animales de investigación (NOM-062-ZOO-1999).

VIII. INDUCCIÓN DE DIABETES EXPERIMENTAL EN RATAS GESTANTES

La inducción de diabetes experimental mediante agentes químicos permite realizar estudios de eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren durante y después de la inducción de un estado diabético (Ramos, 1994). Las ratas hembras se colocaron junto con un macho en la misma jaula durante toda la noche para su apareamiento. Al día siguiente se confirmó el apareamiento con la presencia de un tapón vaginal. Esto se consideró como día cero de inicio de la gestación. Una vez iniciada la gestación, se separaron a las hembras individualmente en cajas de policarbonato provistas con agua y alimento *ad libitum*.

A un grupo de hembras se les indujo diabetes mediante administración vía intraperitoneal (IP) de estreptozotocina (STZ, antibiótico y antineoplásico con efecto diabetogénico, que destruye selectivamente las células β ; Arias, 2007) con dosis única (45 mg/ kg) disuelta con solución amortiguadora de citrato (45mg/ml, pH 4.5).

Después de un lapso de 48 horas fue medida la glucosa en sangre mediante punción en la vena caudal con ayuda de un glucómetro (Accu-Chek[®] Performa). Se consideraron diabéticas aquellas ratas que presentaron niveles de glucosa ≥ 200 mg/dl.

En estudios realizados anteriormente reportaron niveles iguales o superiores a 243 mg/dl de glucosa en ayuno, como presencia de diabetes mellitus en ratas y ratones (Han, 2008). Es importante señalar que la STZ inyectada a las ratas gestantes, se administró al cuarto día antes de la implantación del blastocito, lo que sucede hacia el sexto día de la gestación en la rata, para que las alteraciones de los embriones sean consecuencia de la hiperglucemia materna y no de la acción de la STZ. Durante el periodo de gestación se realizó un registro diario de peso corporal con ayuda de una balanza granataria (TRIPLE BEAN, marca OHAUS[®]). De igual manera se midió la glucosa 1 vez por semana utilizando el glucómetro, hasta el final de la gestación. Fue registrado el número de crías por camada de cada rata, dejándolas junto con la madre hasta su destete. Las crías a su vez fueron separadas en 2 grupos: crías de ratas control (CRC) y crías de ratas diabéticas (CRD).

IX. PREPARACIÓN DE TEJIDO

Las crías fueron sacrificadas a las 16 semanas de edad, estas fueron anestesiadas con pentobarbital 63 mg/kg para su manejo. Luego se prosiguió con una incisión desde el abdomen hasta el tórax dejando expuestos los órganos, para extraer la arteria aorta torácica. Una vez aislada se limpió para retirar el tejido conectivo y graso, para poder seccionar la arteria en anillos de 4-5 mm de longitud dentro de una caja de Petri con solución Krebs-Henseleit. A la mitad de los anillos se removió el endotelio con ayuda de un dispositivo metálico rugoso frotando la parte interna de la arteria suavemente.

X. PREPARACIÓN DE TEJIDO AISLADO

Los anillos fueron montados en ganchos de acero inoxidable dentro de las cámaras para tejido aislado, que contenían 10 ml de solución Krebs- Henseleit con la siguiente composición (mM): NaCl, 118; KCl, 4.7; CaCl₂, 2.5; MgSO₄, 1.2; KH₂PO₄, 1.2; NaHCO₃, 25; EDTA, 0.026 y glucosa, 11.1.

Dichas cámaras se mantuvieron a una temperatura de 37°C, pH de 7.4 y burbujeo constante de carbógeno (mezcla de 95 % O₂ y 5 % CO₂). Cada anillo arterial se montó con dos ganchos, uno se fijó en la parte inferior a la base de la cámara y el otro en la parte superior a un transductor de tensión (Grass FT03 force displacement transducer: Astro-Med, Inc. West Warwick, RI, USA) acoplado a un sistema de adquisición de datos (MP 100; Biopac Systems Inc. Santa Bárbara, CA, USA) donde se registraron los cambios en la tensión isométrica que se producen los anillos de la arteria.



Figura #5. Cámara de tejido aislado. Proporciona condiciones necesarias para que el tejido sea viable para su estudio. Registra los cambios de tensión mediante un transductor, acoplado a un sistema de adquisición de datos.

Curva concentración-respuesta a la fenilefrina

Una vez montados los anillos dentro de las cámaras se les dio una tensión inicial de 3g y se dejó estabilizar por un lapso de 20 minutos. Luego se realizó la primera sensibilización de los anillos con 100 μl de fenilefrina a una concentración (1×10^{-7} M), luego se realizaron 2 lavados con solución Krebs con intervalos de 5 min y estabilización de 10 min para que se restableciera el tejido, permitiendo que el tejido se contraiga y se estabilice de nuevo. Posteriormente se realizó una segunda sensibilización y se adiciono una solución de carbacol (1×10^{-6} M) para confirmar la presencia o ausencia del endotelio y la integridad del tejido (Furchgott, 1980).

Terminando la última sensibilización se realizaron 2 lavados en intervalos de 5 min con solución Krebs y un intervalo de 10 min para restablecer el tejido y ajustar a 10 ml el volumen de Krebs en las cámaras. Transcurrido este tiempo se realizó la curva control concentración-respuesta a fenilefrina de dosis menor a mayor (1×10^{-9} - 10^{-5} M), luego se lavaron los anillos 2 veces con intervalo de 10 min y la estabilización de los mismos. Posteriormente se incubaron 30 min con solución **L-NAME** (*L-N^G-Nitroarginina metil éster, inhibidor de las NOS*) e Indometacina (*inhibidor no selectivo de las COX*) durante 30 min y se prosiguió con la realización de la curva a fenilefrina.

XI. RESULTADOS

Características de las madres durante la gestación

Durante el periodo de gestación de las ratas tanto en controles y diabéticas, se monitoreó la concentración de glucosa (*Figura #6*) para observar que la diabetes mellitus experimental haya sido inducida correctamente respecto a las ratas control. Se obtuvieron valores de glucosa, tanto de las ratas diabéticas como ratas controles, obteniendo una concentración de glucosa en ratas diabéticas gestantes mayores a 650 mg/dl, valor máximo detectable por el glucómetro.

De igual manera se hizo un registro diario del peso de ambos grupos de ratas gestantes durante todo el embarazo, donde se apreció una disminución significativa de peso en ratas diabéticas con respecto al grupo control (*Figura # 7*).

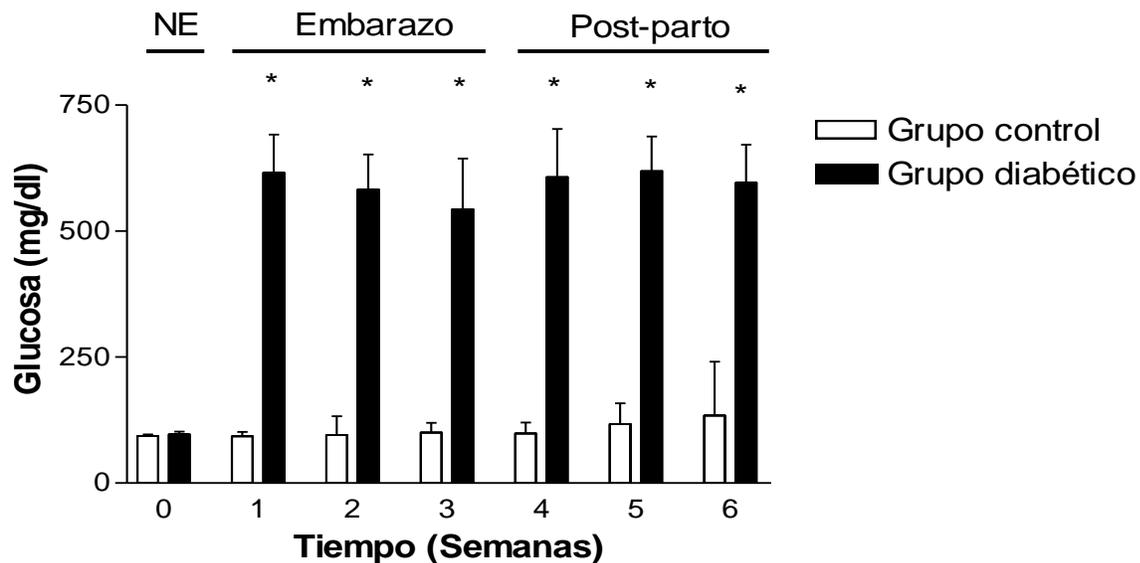


Figura #6. Niveles de glucosa de ratas controles y diabéticas durante la gestación. Los datos representan el promedio \pm el error estándar de 6 ratas por los 2 grupos. * $p < 0.05$, t-Student. (Datos tomados de Delgado N, 2013. Alteraciones metabólicas post- Diabetes Gestacional).

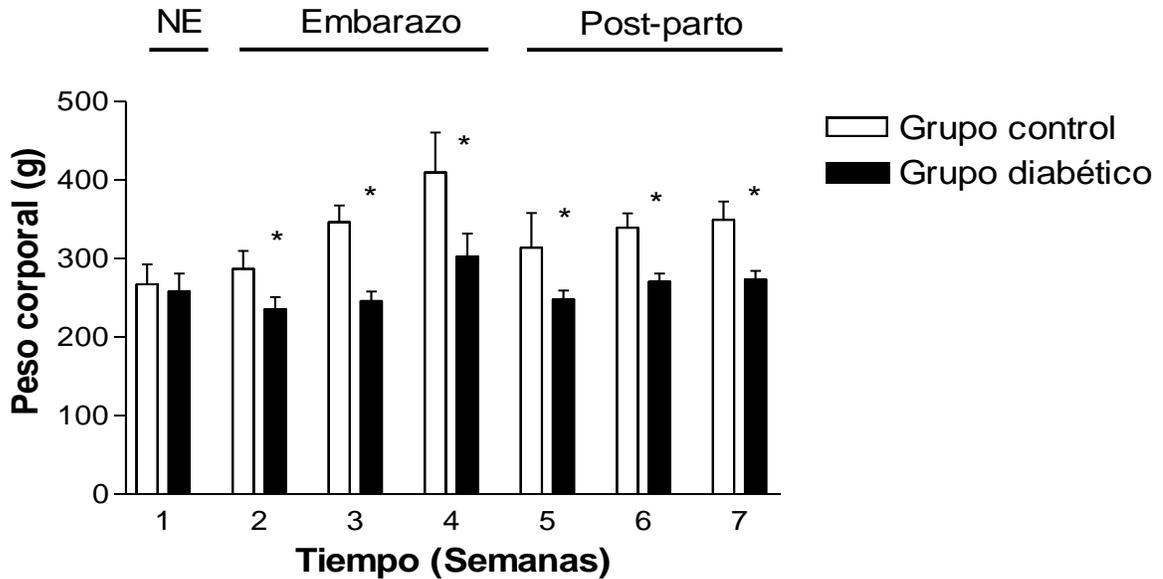


Figura #7. Peso corporal de las ratas madre durante la gestación. Los datos representan el promedio \pm error estándar de 6 ratas por los 2 grupos. * $p < 0.05$, t-Student. (Datos tomados de Delgado N, 2013. Alteraciones metabólicas post- Diabetes Gestacional).

Características de las crías

Durante la reproducción de DMG, se observó una tasa alta de mortalidad de la descendencia de ratas que cursaron con diabetes durante la gestación, algunas crías nacieron muertas, mientras otras fallecieron pocos días después del nacimiento. Esto no fue observado en las crías de rata control (CRC), siendo constante el número de crías hasta el momento del estudio experimental, características encontradas en estudios previos por Van Assche y cols., sobre las consecuencias de la diabetes gestacional y características en su descendencia.

En el monitoreo hasta la cuarta semana post-natal en el peso de las crías, fue observado una disminución significativa de peso en las crías de ratas diabéticas (CRD) comparada con las crías de rata control (CRC), mostrado en la figura #8.

Peso y niveles de glucosa de crías control y crías de rata diabética de 4 semanas de nacimiento.

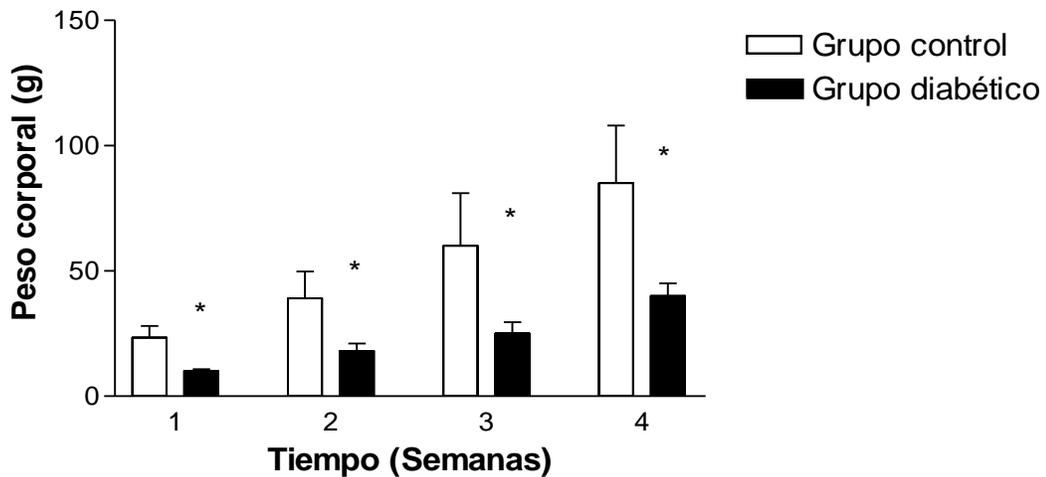


Figura #8. Peso corporal de las crías de las primeras 4 semanas de edad. Los datos representan el promedio \pm error estándar en 5 crías de madre control con 5 crías de madres diabéticas. * $p < 0.05$, t-Student. (Datos tomados de Delgado N, 2013. Alteraciones metabólicas post- Diabetes Gestacional).

Un mes después del nacimiento de las crías, los niveles de glucosa de las crías de ratas diabéticas (CRD) Niveles de glucosa de CRC vs CRD con 1 mes de nacimiento e 4 semanas de nacimiento al m

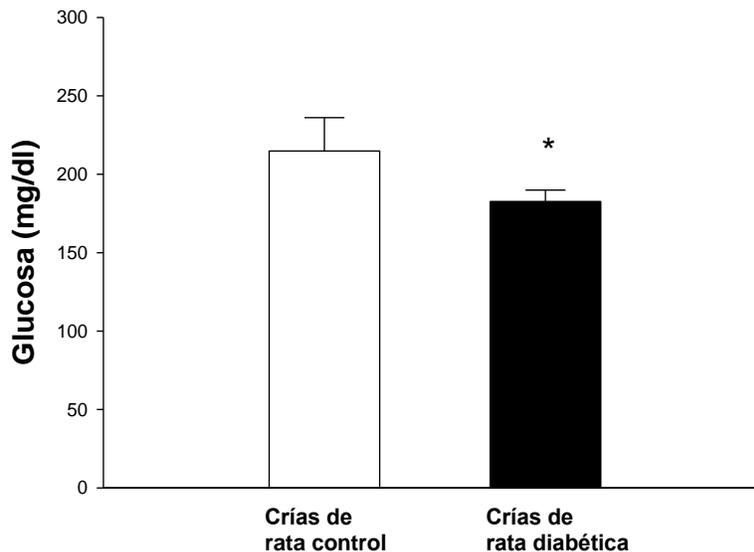


Figura #9. Niveles sanguíneos de glucosa. Se muestra el promedio \pm error estándar en 5 Crías de rata control y 5 Crías de rata diabética de 4 semanas de edad. * $p < 0.05$, t-Student. (Datos tomados de Delgado N, 2013. Alteraciones metabólicas pos- Diabetes Gestacional).

Peso y niveles de glucosa de crías control y crías de rata diabética de 16 semanas de nacimiento.

Se mantuvo un registro del peso hasta el momento del sacrificio (16 semanas) para observar los cambios presentados de las crías de rata control y diabética. Observando que las CRD alcanzaron un peso similar al de las CRC (figura #10), disminuyendo la diferencia encontrada en las primeras 4 semanas (figura #8).

Comparacion de peso entre CRC vs CRD de 16 semanas

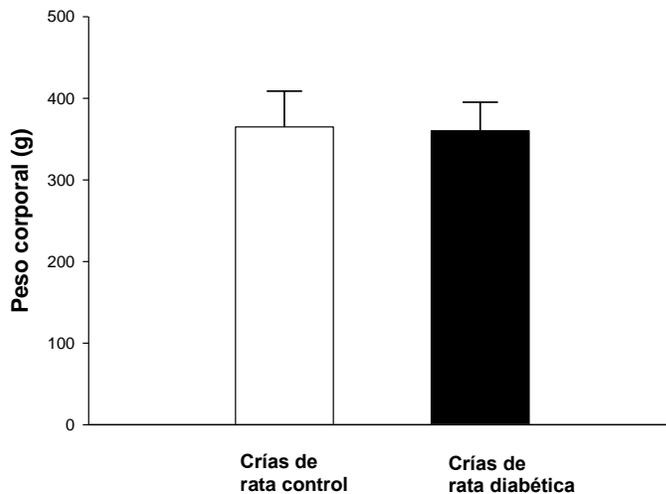


Figura #10. Peso corporal de las crías de 16 semanas. Promedio ± error estándar en 4 crías de madre control con 4 crías de madres diabéticas. *p<0.05, t-Student.

Los niveles sanguíneos de glucosa de las crías de rata control y diabética, no mostraron diferencia significativa a las 16 semana de edad (figura #11), en comparación a la diferencia encontrada en la;

Niveles de Glucosa de CRC vs CRD con 16 semanas de nacimiento

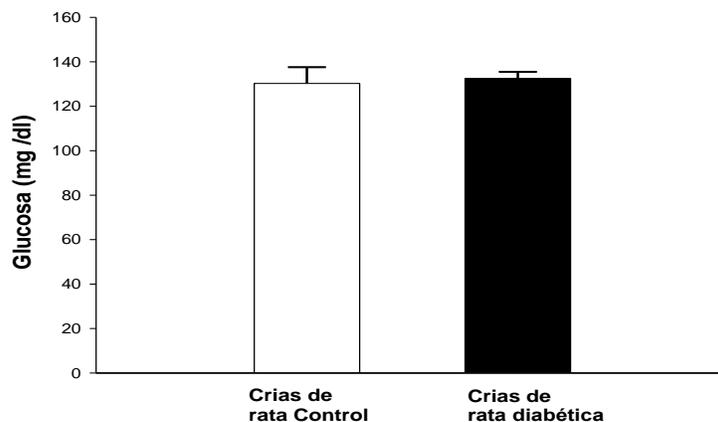


Figura #11. Niveles sanguíneos de glucosa. Los datos representan el promedio ± error estándar en 4 Crías de rata control y 4 Crías de rata diabética de 16 semanas de nacimiento. *p<0.05, t-Student.

Curvas concentración-respuesta a la fenilefrina en anillos de aorta torácica.

Se realizaron curvas concentración-respuesta a fenilefrina (agonista adrenérgico α_1), en anillos de aorta torácica provenientes de cría de rata control (**CRC**) y cría de rata diabética (**CRD**). Se pudo apreciar que la fenilefrina produjo contracción dependiente de la concentración, es decir, conforme aumenta la concentración, también aumenta la respuesta contráctil del tejido vascular en ambos grupos, CRC y CRD.

La sensibilidad a la fenilefrina (**pD₂**) fue mayor en los anillos de CRD en comparación a las CRC. Esto indica que el grupo de CRD necesita menor cantidad de fármaco para producir el 50% del efecto máximo (*tabla #1*). Además, el efecto máximo (**E_{max}**) se vio aumentado en CRD solo en anillos con endotelio; sin embargo en anillos sin endotelio fue mayor en CRC (*tabla #2*).

Por otra parte, se evidenció la participación del endotelio como modulador de la contracción en vasos sanguíneos, observándose una curva hacia la izquierda en arterias sin endotelio (**se**), con respecto a las arterias con endotelio (**ce**). Lo que nos indica que hay un aumento de la pD₂ a fenilefrina en ausencia de endotelio (figura #12).

Tabla #1. Valores de la sensibilidad al agonista (pD₂).

pD ₂	CRIAS DE RATA CONTROL	CRIAS DE RATA DIABETICA
Con endotelio	6.7 ± 0.1	7.4 ± 0.1
Sin endotelio	7.92 ± 0.1	8.24 ± 0.1
L-NAME (ce)	6.97 ± 0.3	7.65 ± 0.1
L-NAME (se)	7.84 ± 0.2	8.09 ± 0.2
INDOMETACINA (ce)	6.79 ± 0.2	7.35 ± 0.1
INDOMETACINA (se)	7.75 ± 0.2	7.79 ± 0.3

Tabla #2. Valores del efecto máximo al agonista (E_{max}).

E _{max}	CRIAS DE RATA CONTROL	CRIAS DE RATA DIABETICA
Con endotelio	1.92 ± 0.2	2.32 ± 0.4
Sin endotelio	3.48 ± 0.2	2.77 ± 0.2
L-NAME (ce)	3.13 ± 0.4	2.90 ± 0.2
L-NAME (se)	2.99 ± 0.4	2.52 ± 0.02
INDOMETACINA (ce)	1.45 ± 0.2	1.92 ± 0.4
INDOMETACINA (se)	3.28 ± 0.3	1.94 ± 0.7

Curvas concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica de CRC y CRD con y sin endotelio.

Las arterias de las CRC sin endotelio, mostraron mayor contracción y aumento de la sensibilidad a fenilefrina. La remoción del endotelio aumenta la sensibilidad del MLV a diferentes agentes contráctiles como la fenilefrina, siendo evidente en el aumento de la respuesta contráctil (figura #12-A). Además esto nos indica la importancia que tiene el endotelio para la regulación del tono vascular.

En la comparación de los anillos con y sin endotelio de CRD, solo encontramos diferencia en la concentración 1×10^{-8} M, lo que nos indica que no hay una diferencia significativa entre el tejido con y sin endotelio, en cambio la sensibilidad se vio aumentada en tejidos de CRD en comparación al de CRC, esto puede ser debido a la presencia de disfunción endotelial (DE) en CRD (figura #12-B).

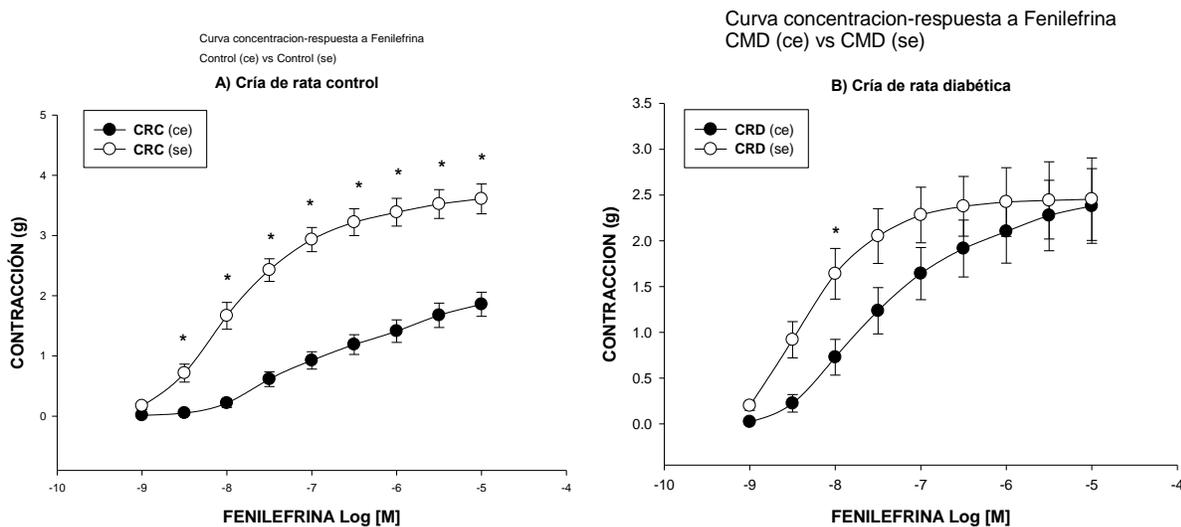
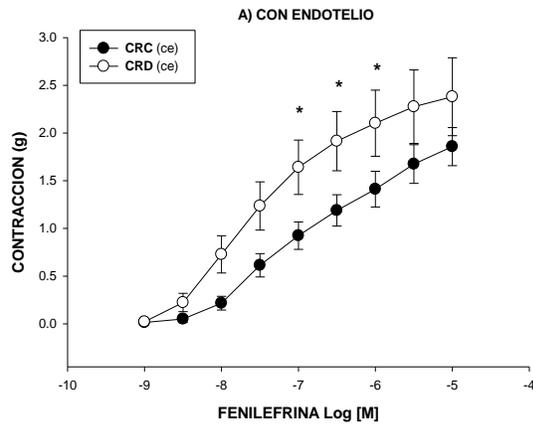


Figura #12. Curva concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica, de *crías de rata control* (A) y *crías de rata diabética* (B) con y sin endotelio, en ausencia de inhibidores. Los datos experimentales representan la media \pm error estándar de 4-6 anillos arteriales, * $p < 0.05$.

Al comparar el tejido vascular de CRD con el proveniente de CRC, observamos que hay diferencias significativas en la respuesta contráctil, siendo mayor en CRD con endotelio, lo que nos hace reafirmar la sospecha de disfunción endotelial en este grupo (figura #13-A).

CRUVA CONCENTRACION RESPUESTA A FENILEFRINA EN ANILLOS DE CRC vs CRD CON ENDOTELIO



Curva concentracion-respuesta a fenilefrina CRC vs CRD sin endotelio

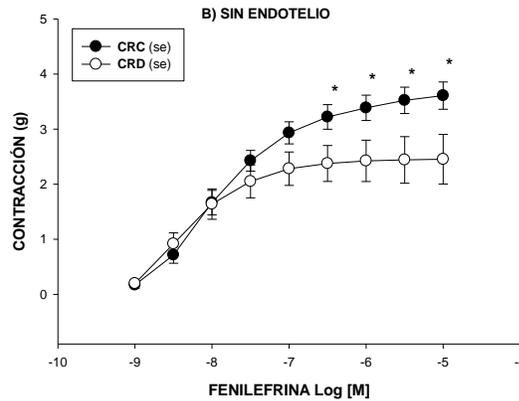


Figura #13. Curva concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica, de **crías de rata control** contra **crías de rata diabética** con (A) y sin (B) endotelio respectivamente, en ausencia de inhibidores. Los datos experimentales representan la media \pm error estándar de 4-6 anillos arteriales, * $p < 0.05$.

Curvas concentración-respuesta a la fenilefrina en anillos de aorta torácica, en presencia y ausencia de L-NAME.

Para evaluar el efecto de la inhibición del NO en la respuesta contráctil en anillos provenientes de CRC y CRD con y sin endotelio, se usó un antagonista no selectivo de la NOS, el L-NAME, para luego realizar la curva dosis-respuesta de fenilefrina. La contracción fue dependiente de la concentración a fenilefrina, el L-NAME eliminó el efecto vasodilatador del NO, a estímulos vasoconstrictores, de manera que se ve aumentada la contracción en las arterias.

Las curvas incubadas con L-NAME de CRC, se desplazaron hacia la izquierda, es decir, la inhibición del NO incremento la sensibilidad a fenilefrina, e imitó la remoción del endotelio traduciéndose en un aumento de la contracción (figura #14-A).

En las curvas en respuesta a fenilefrina de CRC y CRD donde se removió el endotelio y se incubó previamente con L-NAME, no hay modificaciones en la respuesta contráctil, ya que es en el endotelio donde se inhibe la liberación de NO, para la vasodilatación (figura #14-B y #15-B).

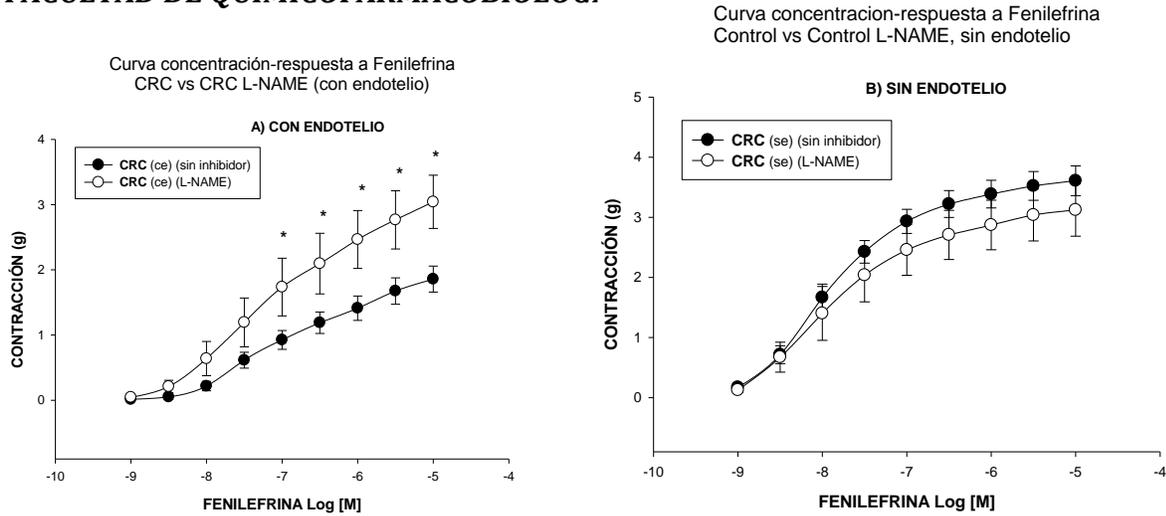


Figura #14. Curva concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica, de **crías de rata control** con (A) y sin (B) endotelio, en ausencia y presencia del inhibidor L-NAME. Los datos experimentales representan la media ± error estándar de 4-6 anillos arteriales, *p<0.05.

En la comparación del tejido con endotelio de CRD, no encontramos diferencias en la respuesta contráctil a fenilefrina entre los anillos incubados con L-NAME y los anillos sin inhibidor. Esto nos indica que el efecto vasodilatador que ejerce el NO se ve afectado en este grupo experimental, debido tal vez a la presencia de disfunción endotelial (figura #15-A). Se observó que la pD2 y Emax no mostraron diferencias en los tejidos en presencia y ausencia de L-NAME. La diferencia en la actividad contráctil entre las CRC y CRD muestra el daño endotelial quizás por la diabetes gestacional.

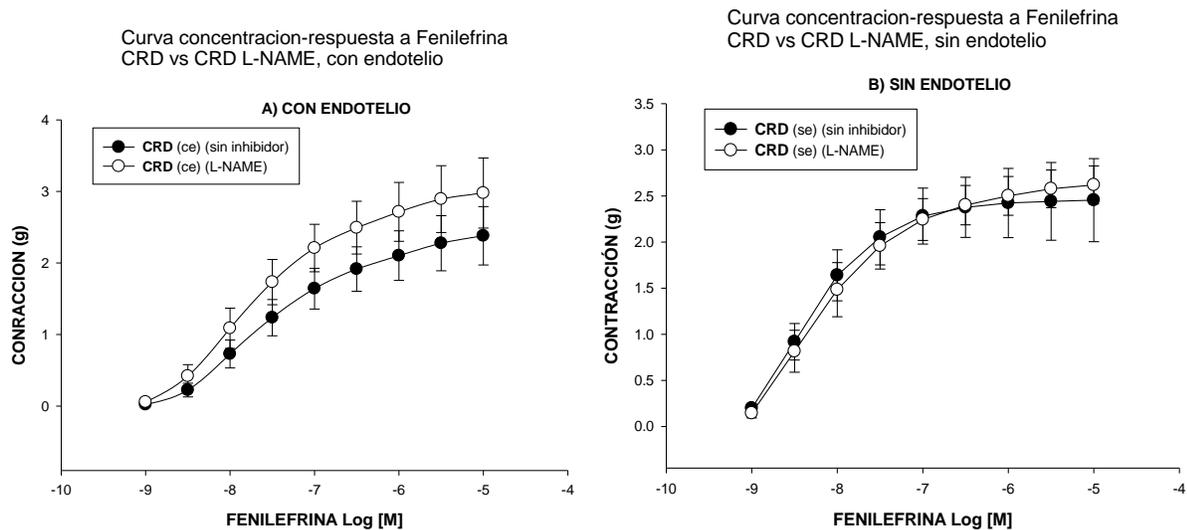


Figura #15. Curva concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica, de **crías de rata diabética** con (A) y sin (B) endotelio, en ausencia y presencia del inhibidor L-NAME. Los datos experimentales representan la media ± error estándar de 4-6 anillos arteriales, *p<0.05.

Curvas concentración-respuesta a la fenilefrina en anillos de aorta torácica, en presencia y ausencia de indometacina.

Para evaluar el efecto de la inhibición de las ciclooxigenasas se empleó indometacina, como inhibidor no selectivo de COX en la respuesta contráctil a fenilefrina en tejido proveniente de CRC y CRD con y sin endotelio respectivamente.

En la *figura #16* se muestran los resultados al administrar fenilefrina en anillos aórticos con y sin endotelio, provenientes de CRC en presencia y ausencia de indometacina. La indometacina no modificó la respuesta contráctil de la fenilefrina en tejido con endotelio; sólo se observó diferencia en la concentración más alta [10⁻⁵ M], el tejido sin endotelio no mostró diferencia en la respuesta contráctil.

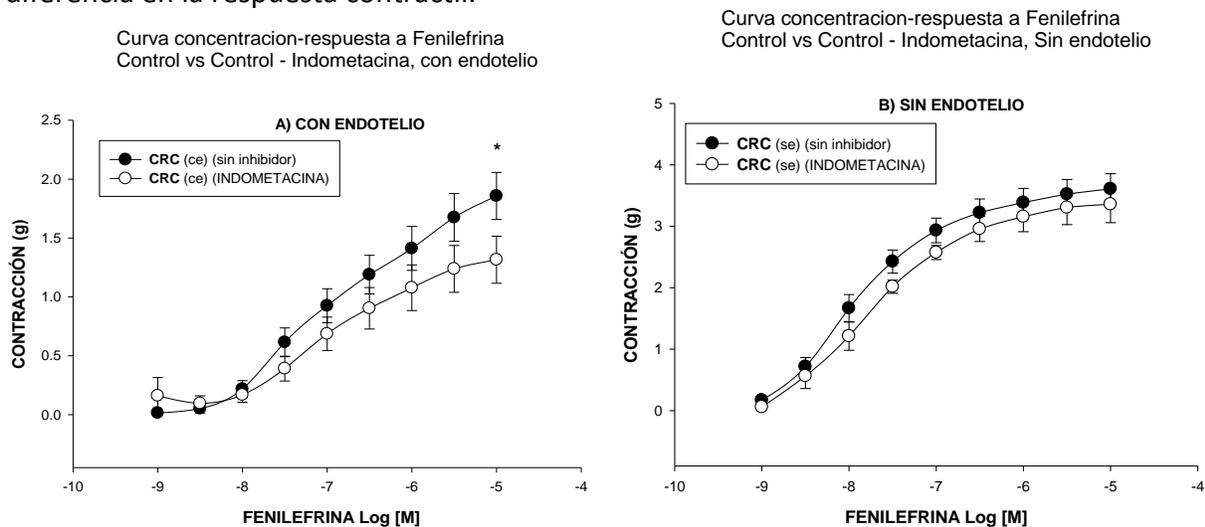


Figura #16. Curva concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica, de *crías de rata control* con (A) y sin (B) endotelio, en usencia y presencia del inhibidor **indometacina**. Los datos experimentales representan la media ± error estándar de 4-6 anillos arteriales, *p<0.05.

La *figura #17* muestra los resultados que la adición de indometacina no modificó la respuesta contráctil de la fenilefrina en el tejido con y sin endotelio de CRD, lo que nos podría indicar que existe una alteración en la liberación de prostaglandinas vasodilatadoras provenientes del endotelio, en este caso la PGI₂

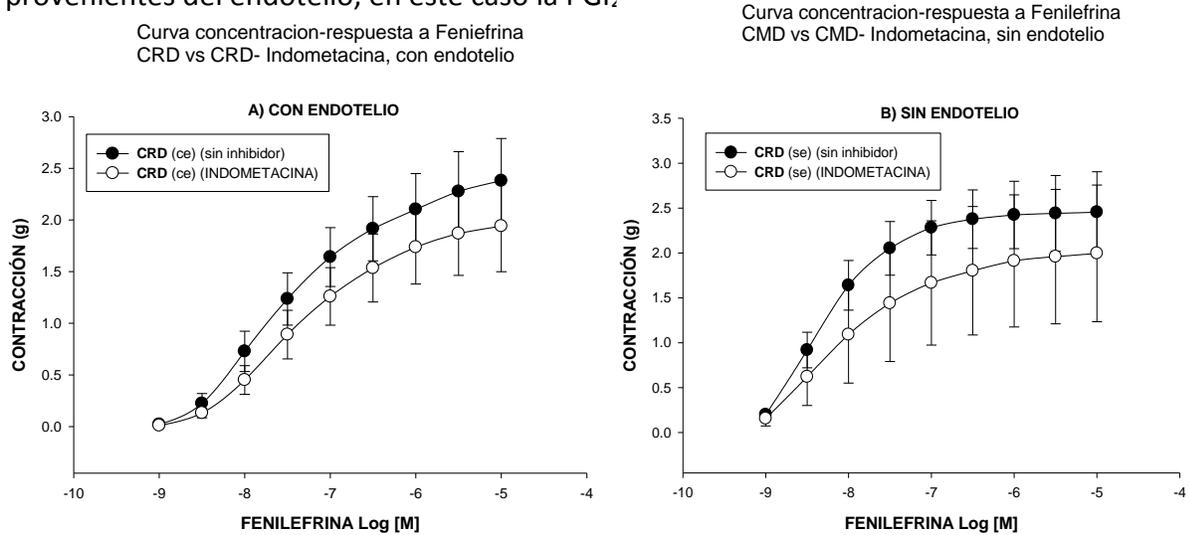


Figura #17. Curva concentración-respuesta a la fenilefrina en aorta torácica, de *crías de rata diabética* con (A) y sin (B) endotelio, en usencia y presencia del inhibidor **indometacina**. Los datos experimentales representan la media ± error estándar de 4-6 anillos arteriales, *p<0.05.

XII. DISCUSIÓN

Para la realización de nuestro estudio, se utilizó un modelo de diabetes gestacional mediante la inducción de una dosis única de 45mg/kg de STZ vía intraperitoneal en uno de los grupos de ratas gestantes. Los niveles de glucosa en sangre inicial en ambos grupos tuvieron valores normales de 93.16 ± 3.60 mg/dl. Luego de la inducción de diabetes con STZ, se elevaron los niveles de glucosa en las ratas del grupo diabético, alcanzando niveles superiores a los 400 mg/dl, la hiperglucemia presentada por el grupo diabético se mantuvo hasta el final del estudio y fue significativamente mayor que los niveles de glucosa del grupo control ($p < 0.05$). El peso corporal en el grupo de ratas con diabetes gestacional fue inferior en comparación al grupo control y este no alcanzó un peso normal en ningún momento, observándose también signos de la patología diabética (figura #7).

En los resultados obtenidos en nuestra investigación, confirman que al no controlar la hiperglucemia durante la gestación en las ratas, algunas crías de rata diabética nacieron muertas o fallecieron a los pocos días, disminuyendo el total de crías de la camada, además de presentar una disminución significativa del peso en comparación con las CRC ($p < 0.05$), la diferencia fue de hasta un 36.38% menos al mes de las crías (figura #8), con un peso de 28g en CRC y 14g en CRD a la semana de nacimiento (Delgado Arellano Nayeli, 2013). La diabetes gestacional experimental afecta el desarrollo de los fetos, produciendo disminución del número de crías por camada, disminución del peso de las crías, retraso del crecimiento y aumento de malformaciones congénitas (Palomino y col., 1998). El retraso intrauterino se ha relacionado con el desarrollo de DM2 en la vida posterior, los mecanismos que provocan este fenómeno no se saben con exactitud (Simmons y col., 2001). Al mes de nacimiento las CRD mostraron niveles de glucosa significativamente inferior al compararlo con las CRC (figura #9). Esto podría deberse a que los fetos son expuestos a concentraciones altas de glucosa durante la gestación, que induce hipertrofia e hiperactividad de las células β provocando hiperinsulinemia temprana (Van Assche, 2001).

La exposición a un ambiente intrauterino anormal durante la gestación y la lactancia, modifica el crecimiento y la predispone al desarrollo de enfermedades cardiovasculares, metabólicas y endocrinológicas en la vida adulta (Gomes y Gil, 2011), este concepto se denomina programación intrauterina (Polanco y col., 2005). La restricción de nutrientes en la vida intrauterina adapta al feto y genera bajo peso al nacer (BPN) que se asocia con el riesgo de padecer DM, dislipidemia, hipertensión, enfermedad arterial coronaria y accidentes cerebrovasculares en la vida adulta (Hernández, 2011). La hiperglucemia e hipoglucemia en la embriogénesis precoz también se puede asociar con el BPN (Vargas, 2011). La glucosa materna podría ser el factor que más afecta el desarrollo durante la embriogénesis (Polanco y col., 2005), en los hijos de madre diabética un pobre control metabólico y una mínima evaluación de glucosa en etapas tempranas de la gestación provoca el aumento de malformaciones congénitas (Nordstrom y col. 2002).

En la semana 16 de nacimiento de las CRD los niveles de glucosa y peso corporal no mostraron diferencia en comparación a las CRC, observándose que las CRD alcanzaron niveles similares a su control (figura #10 y #11) esto quizás a la normalización en la secreción de insulina y metabolismo de la glucosa, ya que Fetita y cols., encontraron que en la edad adulta el tamaño del páncreas se agranda y la masa de las células β aumenta, mejorando la respuesta *in vitro* a la glucosa (Fetita y col., 2006). En otro estudio de Aerts y cols., mencionan que el páncreas endocrino de fetos y ratas recién nacidas de madres diabéticas experimentales han mostrado cambios morfológicos y ultra estructurales (Aerts y Van Assche, 1977) y Simmons y cols., encontraron que en ratas con restricción de crecimiento intrauterino (RCIU) entre las 7 y 10 semanas de edad, las ratas desarrollaron hiperglucemia leve en ayunas e hiperinsulinemia, pero los animales de 26 semanas con RCIU tenían niveles marcadamente elevados de glucosa. Estos datos apoyan la hipótesis de que un medio intrauterino anormal puede inducir cambios permanentes en la homeostasis de la glucosa después del nacimiento y conducir a la diabetes tipo 2 (Simmons y col., 2001) y consecuencias en la función vascular en la edad adulta (Van Assche, 2001).

En relación a los niveles de lípidos sanguíneos reportados en otro trabajo, los niveles de *triglicéridos* no se presentaron diferencia entre los niveles de CRC y CRD de un mes de nacimiento; sin embargo los niveles de *colesterol total* fueron mayores en las CRD en comparación a las CRC (Delgado, 2013), existiendo una relación entre los niveles elevados de colesterol (a partir de 200 mg/dl) y el riesgo con aterosclerosis en adulto (Pombo y col., 1997). En cuanto a los niveles de *lipoproteínas de baja densidad (LDL)* reportados por Delgado, 2013; las CRD muestran niveles mayores de LDL que las CRC. El predominio de las LDL se caracteriza al fenotipo lipoproteínico aterogénico, el cual desempeña una función importante en el proceso aterosclerótico y factor de riesgo de la enfermedad arterial coronaria (Rodríguez y col., 2002). También reportó niveles bajos de *lipoproteínas de alta densidad (HDL)* en CRD en comparación al grupo de CRC de un mes de nacimiento (Delgado, 2013). En humanos un bajo nivel de HDL tiene mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares, ya que el colesterol HDL posee propiedades intrínsecas ayudando a prevenir enfermedades cardiovasculares (Pombo y col., 2009). Estudios han demostrado que cuanto más alto sea el nivel de HDL, menor es el riesgo de padecer arteropatía coronaria (A.D.A.M, 2015).

La hipercolesterolemia aumenta los valores plasmáticos de ET-1 y el número de receptores de ANG-II. La oxidación incrementa la capacidad de las LDL de inducir la producción de ET-1 en células endoteliales en aorta humana, potenciando el estado proconstrictor. (Badimón y Martínez, 2006). La ANG-II tiene un papel importante ya que facilita la regulación del tono vascular mediante la vasoconstricción del MLV, indirectamente incrementa el tono vascular mediante transmisión adrenérgica y por estimulación de factores endoteliales como la ET-1 y TXA₂. La ANG-II aumenta la producción de TXA₂, cuyas acciones vasoconstrictoras y pro-agregante plaquetario contribuyen a mediar sus efectos sistémicos (Lahera y col., 2000). En pacientes hipertensos se han encontrado niveles aumentado de vasoconstrictores como es el TXA₂ y la ET-1 (Vittone y Mundiña, 2008).

La ANG-II es capaz de estimular el crecimiento de la pared vascular estimulando a su vez la producción y la acción de factores mitogénicos como el bFGF, el PDGF, el VEGF o el factor de crecimiento tumoral (TGF β) que estimulan la proliferación de las CMLV y la síntesis de proteínas. Como consecuencia se produce un engrosamiento en el espacio subintimal y en la capa media, así como la acumulación de colágeno en la adventicia. Las modificaciones estructurales de la pared arterial tienen repercusiones funcionales ya que contribuyen al mantenimiento de las resistencias periféricas elevadas. La ANG-II es un factor vasoactivo implicado en el desarrollo y complicaciones de diversas patologías cardiovasculares y renales como la HTA, IC, IR y nefropatía diabética (Lahera y col., 2000).

Daño endotelial

El endotelio tiene un papel fundamental en la regulación y síntesis de diversos factores para el equilibrio entre sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras, para el correcto funcionamiento del mismo.

En la disfunción endotelial existe un desequilibrio en la biodisponibilidad de sustancias vasoactivas de origen endotelial, se presenta tanto en grandes arterias y venas, como en la microvasculatura (Vittone y Mundiña, 2008) y que se considera como una de las primeras manifestaciones de enfermedades vasculares y aterosclerosis (Badimón y Martínez, 2006).

En el presente estudio, no se determinaron las concentraciones de NO y PG's, solo se vio su efecto en el tejido vascular de manera indirecta mediante la inhibición de su síntesis y observar si presentaban alguna anomalía en contracción.

La función que cumplen las CE es la expresión del balance de las acciones de distintos principios activos que producen (De la Serna, 2010), la remoción del endotelio de arterias y venas aumenta la sensibilidad a distintos agentes contráctiles. En nuestro estudio esto se hace evidente, ya que al retirar el endotelio del tejido aórtico las curvas aparecen desplazadas hacia la izquierda con respecto a las arterias con endotelio, es decir las arterias sin endotelio contrajeron más que las arterias con endotelio.

La ausencia de la respuesta relajante mediada por el NO, se manifiesta en el aumento de la contracción del MLV en respuesta a distintos agentes contráctiles como la noradrenalina, ET entre otros (Vittone y Mundiña, 2008), así que la remoción del endotelio, la inhibición de su síntesis y la disfunción endotelial aumenta la contracción. El NO regula la vasodilatación dependiente del endotelio, oponiéndose a los efectos vasoconstrictores como la ANG-II y ET (Prieto y col., 2007). La exposición a fenilefrina en el tejido de CRC (Figura #12-A), la remoción de endotelio del tejido aórtico elevó la contracción evidenciando el papel que tiene el endotelio en la regulación del tono vascular. Sin embargo en la curva realizada en las CRD en respuesta a FE, observamos que el tejido con endotelio su contracción fue similar al tejido que se removió el endotelio.

Este aumento de contracción en podría deberse a un incremento de receptores $\alpha 1D$ y posiblemente $\alpha 1B$, esta cualidad también se observa en tejido de ratas con diabetes mellitus experimental. También pudo deberse a un aumento en la concentración de Ca^{2+} , de esta manera aumenta la contracción, ya que los adrenoreceptores $\alpha 1$ en MLV regulan el Ca^{2+} vía proteína G.

Para evidenciar la participación del NO como vasodilatador y regulador del endotelio, utilizamos L-NAME para inhibir la síntesis de la enzima NOS. Se observó que al añadir el L-NAME al tejido con endotelio de CRC (Figura #14-A) hubo un aumento en la contracción debido a la menor biodisponibilidad del NO que es el que regula la vasodilatación de los vasos, sin embargo la adición de L-NAME en tejido sin endotelio no mostro ninguna diferencia, ya que el NO es dependiente del endotelio (Figura #14-B).

Sin embargo en el tejido de CRD encontramos que los anillos con endotelio no mostraron diferencia al añadir el L-NAME, lo que nos indica que hay una menor biodisponibilidad del NO por parte del endotelio, lo que ese evidencia con el aumento de contracción en tejido con endotelio sin inhibidor (Figura #15-A). El deterioro de la relajación vascular dependiente del endotelio en un marcador de DE, la menor biodisponibilidad de NO genera un endotelio con efectos pro-trombóticos, pro-inflamatorios y pro-coagulantes (Vittone y Mundiña, 2008).

Estudios realizados por Van Assche y cols., sobre la función vascular *in vitro* en arterias mesentéricas aisladas de CRD, también mostraron una relajación reducida de dilatadores dependientes de endotelio y una mayor contracción a NA. La exposición a Diabetes gestacional en la vida fetal y neonatal tiene consecuencias en las crías en la función vascular en la vida adulta, es decir en la presión arterial y frecuencia cardiaca (Van Assche, 2001).

Cavanal y colaboradores midieron la producción de NO en los segmentos de aorta de CRD y CRC utilizando la sonda fluorescente 4,5-diaminofluorescein diacetate (DAF-2) y observó que la producción de NO basal estaba deprimido significativamente en CRD en comparación con el control (Canaval y col., 2007).

Resultados experimentales de Harrison y cols., indican que los mecanismos que conducen a una menor síntesis y/o biodisponibilidad del NO son variados y posiblemente multifactoriales:

1) Disminución de la síntesis de NO debido a alteraciones en:

1) alteraciones en el metabolismo del sustrato de la eNOS.

El aminoácido L-arginina es transportado desde la sangre hacia la célula endotelial por el transportador catiónico (CAT-1), estimulado por bradicinina, acetilcolina y citocinas (interleuquina- 1β o TNF- α). El endotelio también puede sintetizar L-arginina a partir del aminoácido L-citrulina.

2) Alteraciones en la expresión y/o estructura de la eNOS:

- Aumentan su expresión:
 - Fuerza de roce del flujo
 - Bajas concentraciones de LDL-ox
 - Análogos de GMPC
 - Exposición de la célula endotelial a H_2O_2 , ROS derivado del radical O_2^-
- Disminuyen su expresión:
 - Hipoxia
 - Altas concentraciones de LDL-ox
 - Citocinas ($TNF\alpha$)
 - Lipoporisacaridos
 - Desensibilización del RNAm

3) alteraciones en las vías de las señales que regulan la actividad de la eNOS.

Un indicador como inductor de la DE es la alteración de factores celulares que modulan la actividad de la eNOS. Esta enzima está sujeta a modificaciones estructurales, muchas ocurren luego que la proteína es sintetizada (post-traducción). Estas modificaciones ofrecen mecanismos de activación o inhibición de la enzima en respuesta a estímulos fisiológicos o patológicos. Si bien el aumento transitorio de Ca^{2+} provee el mecanismo más rápido de la actividad de la eNOS a través de la unión con CaM, la actividad de la eNOS depende de su estado de fosforilación en residuos de Ser, Thr y Tyr, de su asilación y nitrosilación, de su interacción con otras proteínas y de su localización subcelular. La eNOS es una enzima altamente regulada y es probable que disminuya su actividad en estados avanzados de enfermedad arterial (Vittone Y Mundiña, 2008).

4) disponibilidad de cofactores requeridos por la eNOS.

En ausencia de L-arg o BH4, la eNOS transfiere electrones de O_2 molecular y produce O_2^- en lugar de NO. Esto se conoce como desacople de la eNOS. Existe evidencia experimental que indica que el desacople de eNOS ocurre en diversas patologías y es la consecuencia de la oxidación de BH4 por efecto del peroxinitrito.

II) Aumento de la destrucción de NO.

En condiciones fisiológicas las defensas antioxidantes minimizan esta interacción y mantienen un adecuado balance NO- O_2 . Toda situación que provoque aumento de la concentración de O_2^- aun con síntesis normal de NO, provocará una disminución en la biodisponibilidad. La degradación aumentada de NO por ROS se vincula a distintas patologías en modelos animales: HTA, hipercolesterolemia, DM, tabaquismo, IC, de igual manera en el hombre (Vittone y Mundiña, 2008).

Existe evidencia de la inactivación oxidativa del NO como mediadora de la DE y fenotipo vascular patogénico. En los casos de hiperlipidemia, la síntesis excesiva de LDL, incrementa la formación de LDL-ox, dando un estado de estrés oxidativo (EO) que ocasiona la conversión de NO en ONOO⁻, reduciendo sus efectos biológicos (Acosta y col., 2006).

La sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS) podría ser el aumento en la peroxidación de lípidos y sus principales productos con los hidroperóxidos (estimulantes de la biosíntesis de prostaglandinas pero inhibidores de PGI₂) producen desequilibrio perjudicial para el embrión (Polanco, 2005). Las ROS pueden afectar la función vascular: a) directamente sobre las CE y CMLV dando como resultado daño estructural y funcional, b) por inactivación de factores endoteliales relajantes como el NO y PGI₂ y c) mediante la producción de ONOO⁻, potente vasoconstrictor y radical lípido oxidante (Gomes y Gil, 2011). Harrison y cols., demostraron que la hipertensión está asociada a un aumento de la producción de ROS y que aun persistiendo la producción de NO, la relajación vascular dependiente de endotelio está deprimida por lo cual infirieron que estas condiciones hay inactivación del NO (Vittone y Mundiña, 2008).

El tono y permeabilidad vascular están influidos por la síntesis de PG's especialmente por la PGI₂ sintetizada por las células endoteliales. La PGI₂ comparte acción vasodilatadora con el NO, por sus propiedades vasodilatadoras y antigregantes la PGI₂ antagoniza los efectos del TXA₂ (Lorenzo y col., 2008). En nuestro estudio al usar Indometacina como inhibidor no selectivo de la COX, no inhibió el efecto contráctil del agonista α 1-adrenérgico, la fenilefrina en la aorta torácica en ninguno de los grupos estudiados (CRC y CRD), tanto en el tejido con endotelio como sin endotelio. Podemos relacionar la elevación de contracción en tejido vascular con endotelio al aumento de factores contráctiles como ROS y RL, aumento de PG's contráctiles como la PGH₂ y TXA₂ y la participación de la ANG-II (Acosta y col., 2006).

El deterioro de la relajación dependiente de endotelio es un marcador de DE. La PGI₂ podría estar deprimida y por eso el aumento de la respuesta contráctil, ya que esta PG tiene efectos vasodilatadores y antigregante, además de antagonizar los efectos del TXA₂ que es un potente vasoconstrictor (Lorenzo y col., 2008). También el aumento de ROS y RL como el anión superóxido (O₂⁻) es un elemento en la disminución de la biodisponibilidad de NO durante estados de EO, aumentando la vasoconstricción (Acosta y col., 2006).

Durante el desarrollo de la HTA, el EO ocasiona que el NO reaccione con las ROS produciendo ONOO⁻, que estimula a las PG's contráctiles, que estimulan a receptores de tromboxano y PGH₂ que se encuentran acoplados a proteínas Gq/11 y durante el agonismo producen Inositol trifosfato (IP3) liberando Ca²⁺i, ocasionando la contracción del MLV (Martínez, 2005).

XIII. RESUMEN DE RESULTADOS

Las ratas gestantes a las que se les indujo la diabetes por STZ presentaron signos característicos de la patología diabética (polidipsia, polifagia y poliuria). Las ratas gestantes no alcanzaron el peso en comparación a las ratas control, además presentaron un retardo en la gestación.

En las crías de rata diabética, se observó una importante tasa de mortalidad, una disminución de crías por camada e incremento de muerte perinatal, una disminución del peso al nacer y retardo del crecimiento (microsomía) hasta la cuarta semana de edad y posteriormente igualando el peso a las crías de rata control a la semana 16 de edad. Los niveles de glucosa fueron inferiores en CRD en comparación de las CRC de 4 semanas de edad, sin embargo a las 16 semanas de edad las CRD no mostrabas diferencia significativa con las CRC.

La condición patológica de las madres condujo a alteraciones en la contracción de los vasos sanguíneos. Encontramos también un aumento en la respuesta contráctil por fenilefrina en la aorta torácica de CRD, debido a la disminución de vasodilatadores como el NO y PGI₂ y posible aumento de vasoconstrictores vasculares como el TXA₂ y PGH₂, el aumento de contracción también pudo deberse al aumento de Ca²⁺_i debido al desequilibrio de sustancias vasculares.

XIV. CONCLUSIÓN

La diabetes mellitus gestacional altera la liberación de factores relajantes del endotelio como el óxido nítrico y las prostaglandinas en la aorta de crías de rata diabética de 16 semanas de edad, lo que contribuye a la aparición de disfunción endotelial.

XV. REFERENCIAS

1. A.D.A.M., Inc. está acreditada por la URAC, también conocido como American Accreditation HealthCare Commission (www.urac.org). A.D.A.M 2015. <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/patientinstructions/000386.htm>
2. Acosta A, Áñez J, Andara C, Bermúdez V, Bermúdez F. Mecanismos moleculares de la disfunción endotelial: de la síntesis a la acción del óxido nítrico. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica 2006; 25 (2): 54-59.
3. Aerts L, Van Assche F. Rat foetal endocrine pancreas in experimental diabetes. J endocrinol 1977 May; 73(2):339-46.
4. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care, Volume 36, supplement 1, January 2013.
5. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes 2014, Diabetes Care Volume 37, Supplement 1, January 2014.
6. Arias J, Balibrea J. Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. Nutr Hosp. 2007; 22(2):160-68.
7. Arizmendi J, Carmona V, Colmenares A, Gómez D, Palomo T. Diabetes gestacional y complicaciones neonatales. Revista Med, (Jul-Dic) 2012; 20 (2): 50-59.
8. Badimón L, Martínez J. Actualización y futuro de óxido nítrico en el tratamiento de la enfermedad cardiovascular. Disfunción endotelial. Rev Esp Cardiol Supl 2006; 6 (A): 21-30.
9. Casanueva E, Hoewitz M, Pérez A, Arroyo P. Nutriología Medica 3ª edición, México, D.F: Editorial Panamericana, 2008. p. 473-499.
10. Cavanal M, Gomes G, Forti A, Rocha S, Franco M, Fortes Z, et al. The influence of L-arginine on blood pressure, vascular nitric oxide and renal morphometry in the offspring from diabetic mothers. Pediatr Res 2007 Aug; 62 (2): 145-50.
11. Ceballos G, Ramírez I, Calzada C, Olivares I. Disfunción endotelial y estrés oxidativo. Revista de Endocrinología y Nutrición (Oct-Dic) 2006; 14(4): 233-236.
12. Cederberg J, Basur S, Eriksson U. Increased rate of lipid peroxidation and protein carbonylation in experimental diabetic pregnancy. Diabetologia 2001 Jun; 44(6): 766-774.59
13. Chandrasekharan N, Dai H, Roos KLT, et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: Cloning, structure, and expression. Proc Natl Acad Sci USA 2002 Oct 15; 99(21): 13926–13931.
14. Contreras F, Lares M, Sánchez E, Fragoza S. Disfunción endotelial en pacientes diabéticos e hipertensos. Rev Digit Postgrado 2012; 1(1): 28-40.
15. Córdova J, Barriguete J, Lara A, Barquera S, Rosas M, Hernández M, et al. Las enfermedades crónicas no transmisibles en México: sinopsis epidemiológica y prevención integral. Salud pública de México 2008 (Sep-Oct); 50(5): 419-427.
16. Danglot C, Gomez M. Los hijos de madres diabéticas. Rev Mex Pediatr 2004; 71 (5); 248-257.

17. Deanfield J, Donald A, Ferri C, Giannattasio C, Halcox J, Halligan S, et al. Endothelial function and dysfunction. Part I: Methodological issues for assessment in the different vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens* 2005 Jan; 23(1):7-17.
18. De la Serna F. Endotelio. Insuficiencia Cardíaca Crónica. 3ra Edición; Editorial Federación Argentina de Cardiología, 2010. P.114-171.
19. Delgado N. Tesis de licenciatura. Alteraciones metabólicas post-diabetes gestacional. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Quimicofarmacobiología. Morelia, Mich. Agosto, 2013.
20. Duin A, Sosa B. Rol del óxido nítrico en la patogénesis de la hipertensión arterial. *Bol Méd Post* 2010; 26(Núm. Esp.): 61-69.
21. Dvorkin M, Cardinali D, Iermolli R. Best & Taylor, Bases fisiológicas de la práctica médica. 14ª ed, México, D.F: Editorial Medica Panamericana, 2010. p. 69-88.
22. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012, Evidencia para la política pública en salud. Diabetes mellitus: la urgencia de reforzar la respuesta en políticas públicas para la prevención y su control. <http://ensanut.insp.mx>.
23. Eriksson U, Borg L. Protection by free oxygen radical scavenging enzymes against glucose-induced embryonic malformations in vitro. *Diabetologia* 1991 May; 34(5):325-31.
24. Esteller A. Biología de la pared vascular y síndrome metabólico. *Nutr Hosp* 2005; 20 (1) 5-17.
25. Federación Internacional de Diabetes. Atlas de la Diabetes de la FID 6ª edición, 2013.
26. Ferrer L, Bonet M, Alfonso K, Guerra M, García A, Vos Pol de. Evaluación del proceso de intervenciones comunitarias para la prevención y control de los factores de riesgo y enfermedades no transmisibles (2003-2005). *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* 2011 Abr; 49(1):33-46.
27. Fetita L, Sobngwi E, Serradas P, Calvo F, Gautier J. Consequences of Fetal Exposure to Maternal Diabetes in Offspring. *J Clin Endocrinol Metab*, October 2006, 9 (10):3718 –3724.
28. Font K, Cejudo E, López A, Peralta M, Díaz M, Puello E, et al. Guía de práctica clínica. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes en el embarazo. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2010; 48(6): 673-684.
29. Frederick H. Schoen y Ramzi S. Cotran. Robins. Patología estructural y funcional. 6ª. Edición, Mc Graw Hill –Interamericana, 2000. P.512-545.
30. Furchgott R, Zawadzki J. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 1980 Nov 27; 288(5789):373-376.
31. García C. Diabetes Mellitus Gestacional. *Med Int Mex* 2008; 24(2):148-156.
32. García D, García R. Avances en la patogénesis de la embriopatía diabética. *Rev Med Chile* 2009 Dic; 137 (12): 1627-1635.
33. Gomes G, Gil F. Prenatally programmed hypertension: role of maternal diabetes. *Braz J Med Biol Res* 2011 Sep; 44(9) 899-904.

34. González E. Diabetes mellitus experimental: Etiología de las malformaciones congénitas en descendientes de rata diabéticas. *Rev Cubana Endocrinol* 2002; 13(1):53-63.
35. González Maqueda I. Hipertensión arterial, diabetes y arteriosclerosis. La encrucijada del endotelio. *Hipertensión* 1997; 14:163-172.
36. Han B, Hao C, Tchekneva E, Wang Y, Lee C, Ebraim B, Harris R, Kern T Wasserman D, Breyer M, Qi Z. Markers of glycemic control in the mouse: Comparision of six hours and overweight fasted blood glucose to HbA1c. *Am J of Physiol Endocrinol Metabol* 2008; 295(4):981-986.
37. Hernández M, Zárata A. Conceptos recientes en la etiopatogenia de la diabetes gestacional. *Ginecol Obstet Mex* 2005 Jul; 73(7): 371-377.
38. Hernández M. Tendencias de la reproducción femenina y riesgos asociados con el embarazo. *Revista Mexicana de Medicina de la Reproducción* 2011; 3(3):101-104.
39. Hicks J. *Bioquímica*, 2ª edición, Mexico, D.F: Editorial Mc Graw Hill, 2007. p. 666-688.
40. Hurairah H, Ferro A. The role of the endothelium in the control of vascular function. *Int J Pract* 2004 Feb; 58(2):173-183.
41. Jiménez A, Domínguez V, Amaya. El papel del estrés oxidativo en la disfunción endotelial de la aterosclerosis. *Ciencia ergo sum* 2010; 17(3): 258-268.
42. Koichi N, Teruo I. Postprandial hyperglycemia as an etiological factor in vascular failure. *Cardiovasc Diabetol* 2009 Abr; 29; 8:23.
43. Lahera V, Vázquez S, de las Heras N, Cediell E, Navarro J, Cachofeiro V. Hipertensión y Riesgo Vascular. Angiotensina II e hipertensión arterial: consecuencias del antagonismo de sus receptores. *Hipertensión y riesgo vascular* 2000 Ene; 17(1): 22-29.
44. Latarjet M, Ruiz A. *Anatomía humana*, 4ª ed. México, D.F. Editorial médica panamericana; 2005. p.913-915.
45. Lenzen S. The mechanisms of alloxan and streptozotocin induced diabetes. *Diabetologia* 2008 Feb; 51(2):216-226.
46. Longo D, Fausi A, Kasper D, Hauser S, Larry J, Loscalzo J. Harrison, *Principios de medicina interna*, 18ª ed. México, D.F: Editorial Mc Graw Hill; 2012. p. 1798-1816, vol 1.
47. Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza J, Moro A, Portoles. Velázquez, *Farmacología básica y clínica*, 18 ed. México, D.F: Editorial Medica Panamericana, 2008. p. 501-512.
48. Malkowski M, Ginell S, Smith W, Garavito R. The productive conformation of arachidonic acid bound to prostaglandin synthase. *Science* 2000 Sep 15; 289(5486):1933-7.
49. Martínez L. Programación fetal de enfermedades expresadas en la etapa adulta. *Medicina Universitaria* 2008 (Abr-Jun); 10(39):108-113.
50. Martínez O, Sánchez F. Arginina, óxido nítrico y función endotelial. *Ars Pharm* 2004; 45(4): 303-317.
51. Moncada S. Biological importance of prostacyclin. *Br J Pharmacol* 1982 May; 76(1): 3-31.
52. Moore K, Agur A. *Fundamentos de anatomía con orientación clínica*, 2ª ed, México D.F; Editorial Medica Panamericana, 2003. p. 26-32.

53. Mora Á, Aragón D, Ospina L. Caracterización del estrés oxidativo en ratas wistar diabéticas por estreptozotocina. *Vitae* 2009; 16(3): 311-319.
54. Murata T, Ushikubi F, Matsuoka T, Hirata M, Yamasaki A, Sugimoto Y, et al. Altered pain perception: an inflammatory response in mice lacking prostacyclin receptor. *Nature* 1997 Aug 14; 388(6643):678-82.
55. Nazer J, García M, Cifuentes L. Malformaciones congénitas en hijos de madres con diabetes gestacional. *Rev Méd Chile* 2005 May; 133 (5): 547-554.
56. Nordstrom L, Spetz E, Wallstrom K, Wålinder O. 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 Mar; 77(3): 284-289.
57. Palomino M, Revilla M, Cárdenas A, Polanco A, Islas S. Efecto de la diabetes inducida sobre la reproducción y el desarrollo. *Ginecol Obstet Méx* 1998; 66(10):403-406.
58. Perichart O, Alonso P, Ortega C. Fisiopatología y atención nutricia de pacientes con diabetes gestacional. *Ginecol Obstet Mex* 2006 Abr; 74(4) :218-223.
59. Polanco A, Revilla M, Palomino M, Islas S. Efecto de la diabetes materna en el desarrollo fetal de humanos y ratas. *Ginecol Obstet Mex* 2005 Abr; 73(10):544-552.
60. Pombo M, Argemi J, Audí L, Bojarro E, Bueno M, Casado E, et al. Tratado de endocrinología pediátrica 2ª ed. Editorial McGraw-Hill Interamericana de España S.L., Feb 5, 2009.
61. Ponce G. Anatomía y Fisiología: libro de trabajo. 1ª ed. Mexicali Baja California. Departamento de editorial universitaria. Universidad Autónoma de Baja California, 2004. p. 97-110.
62. Prieto J, Pinardi G, Zamorano J, Larraín E, Bermúdez C, Castillo R, et al. Influencia del sistema nitridérgico en la respuesta contráctil a fenilefrina de anillos de vasos usados en revascularización coronaria. Modification of phenylephrine induced contraction of human vessel rings by L-arginine and L-arginine methyl ester. *Rev Méd Chile* 2007 Oct; 135(10): 1231-1236.
63. Ramos H, Domínguez J. Diabetes mellitus experimental. *Ciencia Veterinaria* 1994; 6: 347-377.
64. Rodríguez A, Sánchez M, Martínez L. Síndrome metabólico. *Rev Cubana Endocrinol* 2002 (Sep-Dic); 13(3): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532002000300008&lng=es. / Consultado Julio 30,2016.
65. Rosenn B, Miodovnik M, Combs C, Khoury J, Siddiqui T. Glycemic thresholds for spontaneous abortion and congenital malformations in insulin dependent diabetes mellitus. *Obstet Gynecol* 1994 Oct; 84(4):515-20.
66. Salvía M, Álvarez E, Cerqueira M. Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de la AEP: Neonatología. Hijo de madre diabética. Protocolos actualizados al año 2008, 2ª edición. Disponible en <http://www.aeped.es/documentos/protocolos-neonatologia>
67. Sánchez R, Hernández E. Diabetes Mellitus Gestacional. Perspectivas actuales. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2011; 49 (5): 503-510.

68. Sánchez S, Sánchez A, Hernández M, Solorio E, Torres R, Guillén J. Diabetes gestacional. Comportamiento de los factores de riesgo en población mexicana. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2008; 46 (6): 659-662.
69. Secretaria de salud. Dirección general de epidemiología. Boletín epidemiológico. Diabetes Mellitus Tipo 2, Primer Trimestre, 2013.
70. Simmons R, Templeton L, Gertz S. Intrauterine growth retardation leads to the development of type 2 diabetes in the rat. *Diabetes* 2001 Oct; 50(10):2279-86.
71. Sosa C, Astullido H, Sánchez D, Martínez S, Valdez R, Villalobos R, et al. Oxido nítrico y prostaglandinas en la regulación endotelial del tono contráctil en la vasculatura renal de ratas hipertensas. *Rev Sanid Milit Mex* 2005; 59 (1):32-50.
72. Tamargo J, Caballero R, Gómez R, Núñez L, Vaquero M, Delpón E. Actualización y futuro de óxido nítrico en el tratamiento de la enfermedad cardiovascular. Efectos del óxido nítrico sobre la función cardíaca. *Rev Esp Cardiol Supl* 2006; 6(A):3-20.
73. Tébar F, Escobar F. La Diabetes Mellitus en la Práctica Clínica. México D.F: Editorial Médica Panamericana, 2009. p. 1-9.
74. Tortora G, Derrickson B. Principios de anatomía y fisiología 11ª ed. Mexico, D.F. Editorial Panamericana 2006. p. 741-745.
75. Van Assche F, Holemans K, Aerts L. Long-term consequences for offspring of diabetes during pregnancy. *Br Med Bull* 2001; 60(1): 173–182.
76. Vargas Serna Gabriela. Orígenes fetales de las enfermedades del adulto. *Rev Horiz Med* 2012 (Abr-Jun) 12(2): 43-48.
77. Varillas C, Blanco S, Couso B, Gastelu J, Reboredo R. Diabetes gestacional: su complejidad y repercusión en la evolución del embarazo y salud del recién nacido. *Prog Obstet Ginecol*. 2005; 48(6):289-96.
78. Verdejo J. Función endotelial. *Arch Cardiol Méx* 2006 (Abr-Jun); 76(2): 164-169.
79. Vittone L, Mundiña C. Endotelio vascular e hipertensión. Hipertensión arterial, sección integrante de "Cardiología" Dr. Fernando de la Serna, Dr. Horacio Cingolani. Federación Argentina de Cardiología, 2008. p. 1-21 <http://www.fac.org.ar/1/publicaciones/libros/tratfac/>
80. Wise H, Wong Y, Jones R. Prostanoid signal integration and cross talk. *Neurosignals* 2002 (Jan-Feb); 11(1):20-8.
81. Zambrano E. Mecanismos transgeneracionales en el desarrollo de enfermedades metabólicas. *Rev Invest Clín* 2009 (Ene-Feb); 61(1): 41-52.