



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

31960  
3  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA  
ADMINISTRACIÓN GENERAL

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS  
PROFESIONALES IZTACALA**

**“EFECTO DE LA DIABETES INDUCIDA SOBRE LA  
GESTACION Y EL DESARROLLO DE LAS  
CRIAS DE RATAS”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN BIOLOGIA

DE LA REPRODUCCION

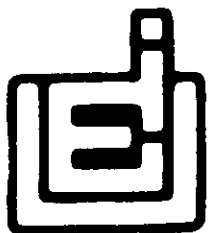
P R E S E N T A:

**ANA CECILIA POLANCO PONCE**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**MARIA CRISTINA REVILLA MONSALVE**

288166





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIA**

A mi gran amor, Guillermo, por todo tu amor, comprensión y apoyo incondicional en todo lo que me propongo.

A Memo y Alex mis pequeños motores

A mi mamá por su entusiasta apoyo

A mis hermanos ya que siempre cuento con ellos

A Guillermo y Yusi por su apoyo incondicional

## **AGRADECIMIENTOS**

Un especial agradecimiento a Cristy artífice de este trabajo

A todas las personas que de una u otra forma me ayudaron, en especial a:

Dr. Sergio Islas  
Miguel Angel  
Araceli  
Silvia

ÍNDICE:	PAG.
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. Diabetes.	
1.1.1. Definición.	5
1.1.2. Clasificación.	6
1.1.3. Diagnóstico.	8
1.1.4. Complicaciones	10
1.1.4.1. Agudas	10
1.1.4.2. Crónicas	13
1.2. Alteraciones en la Reproducción de Pacientes Diabéticos.	14
1.2.1. Alteraciones en el desarrollo de los productos.	15
1.2.2. Teratogénesis	18
1.3. Modelos Animales.	22
1.3.1. Inducción Química de la Diabetes.	25
1.3.1.1. Aloxana	25
1.3.1.1.1. Fórmula y vida media.	25
1.3.1.1.2. Mecanismo de acción.	26
1.3.1.2. Estreptozotocina (STZ)	27
1.3.1.2.1. Fórmula y vida media.	27
1.3.1.2.2. Mecanismo de acción.	28
1.3.1.2.3. Vía de administración.	30
1.4. Alteraciones en la Reproducción de Ratas Diabéticas.	31
1.4.1. Alteraciones en el desarrollo de las crías.	33
1.5. Repercusiones de la Diabetes Materna en la Vida Adulta de las Crías.	35
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	36
3. HIPÓTESIS.	36

4. OBJETIVOS.	37
4.1. Objetivo General.	37
4.2. Objetivos Particulares.	37
5. MATERIAL Y MÉTODOS.	37
5.1. Análisis estadístico	40
5.2. Descripción de Técnicas.	40
5.3. Diagrama de Flujo.	41
6. RESULTADOS.	44
6.1. Niveles de Glucosa en Sangre	44
6.2. Mortalidad	45
6.3. Peso	45
6.4. Niveles de Glucosa en Sangre Durante la Gestación.	47
6.5. Niveles de Glucosa en Orina.	47
6.6. Niveles de Cetonas en Orina.	48
6.7. Química Sanguínea.	50
6.7.1. Glucosa	50
6.7.2. Colesterol	50
6.7.3. Triglicéridos	50
6.7.4. Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)	50
6.7.5. Hemoglobina glucosilada.	51
6.7.6. Insulina	51
6.8. Mantenimiento de la Gestación.	52
6.9. Duración de la Gestación.	53
6.10. Número de Crías por Camada.	54
6.11. Análisis del Lote EII.	55
6.11.1. Peso.	55
6.11.2. Niveles de glucosa en sangre.	56
6.11.3. Niveles de glucosa en orina.	56
6.11.4. Niveles de cetonas en orina.	57
6.11.5. Química sanguínea.	58
6.12. Estudio de las Crías	59
6.12.1. Viabilidad	59

6.12.2. Sobrevida	60
6.12.3. Peso y Talla al Nacer	60
6.12.4. Peso Durante el Primer Mes de Vida	61
6.12.5. Talla Durante el Primer Mes de Vida	62
6.12.6. Malformaciones Congénitas Macroscópicas	63
6.12.7. Niveles de Glucosa en Sangre.	63
6.12.8. Inicio de la Madurez Sexual.	63
6.12.9. Fertilidad.	64
7. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.	66
8. CONCLUSIONES.	73
8.1. Conclusión General	73
8.2. Conclusiones Particulares	74
9. BIBLIOGRAFÍA	75
ÍNDICE DE CUADROS	89
ÍNDICE DE FIGURAS	89
ÍNDICE DE TABLAS	90
ÍNDICE DE GRÁFICAS	91
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	92



# 1. INTRODUCCIÓN.

## 1.1. Diabetes.

### 1.1.1 Definición

La diabetes mellitus (DM), es la manifestación clínica de la deficiencia absoluta o relativa de insulina. Es un padecimiento multifactorial, determinado genéticamente, con alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas, que se acompaña de un exceso relativo o absoluto de glucagón, con grados variables de resistencia tisular a la insulina. Se manifiesta como un estado de hiperglucemia crónica asociado a una gran variedad de alteraciones bioquímicas y manifestaciones clínicas, cuya naturaleza y severidad dependen de la patogénesis subyacente del estado diabético, del grado de deficiencia de la acción de la insulina, de la participación de factores ambientales y del daño progresivo de diversos tejidos<sup>(1-5)</sup>.

La DM afecta a la población mundial. En 1995 la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que aproximadamente 135 millones de personas padecía DM, siendo mayor el número de mujeres que de hombres; ese mismo año la OMS consideró que de acuerdo a la incidencia, México ocupaba el 9º lugar con un total de 3.8 millones de personas enfermas. Las estimaciones realizadas por la OMS consideran que para el año 2025 habrá 300 millones de diabéticos a nivel mundial y se reducirá la diferencia entre los sexos; México en ese año se encontrará en la 7ª posición con un total de 11.7 millones de personas con diabetes, lo que representa un aumento del 308%<sup>(6)</sup>.

Actualmente se considera que la mitad de enfermos afectados por este padecimiento lo desconocen hasta que aparece alguna complicación<sup>(6)</sup>.

En 1970 en México la diabetes mellitus era la sexta causa de mortalidad en personas mayores de 60 años (411 defunciones por cada cien mil personas), pero esta frecuencia aumentó un 175% en 1980 pasando al quinto lugar (720 defunciones por cada cien mil personas) y posteriormente en 1990 se incrementó nuevamente un 121%, siendo en éste año la cuarta causa de mortalidad (869 defunciones por cada cien mil personas)<sup>(7, 8)</sup>. En 1995 era la segunda causa de mortalidad hospitalaria con un total de 3,148 defunciones por cada cien mil habitantes<sup>(7)</sup>.

### 1.1.2. Clasificación

La DM representa un grave problema de salud en México y en otros países del mundo. Durante muchos años, se han realizado esfuerzos por clasificar esta enfermedad con el fin de lograr un mejor diagnóstico y control de la misma. En general, se piensa que las clasificaciones que existen son muy rígidas para los clínicos (que deben tener en cuenta aspectos de diagnóstico y tratamiento), complicadas para el epidemiólogo y simplistas para el investigador<sup>(1, 9)</sup>. La última clasificación de junio de 1997<sup>(10)</sup> (cuadro 1), tiene varias ventajas sobre las anteriores, ya que clasifica a la enfermedad según su etiología y no según su tratamiento como se hacía antes. Esta clasificación reagrupa la enfermedad en cuatro categorías:

- ⇒ Diabetes tipo 1.- engloba a pacientes con destrucción idiopática o inmune de las células  $\beta$  del páncreas causando una deficiencia absoluta de insulina (anteriormente conocidos como diabetes tipo I (DMI) o Diabetes Mellitus Insulino-Dependiente (DMID))<sup>(10)</sup>.
- ⇒ Diabetes tipo 2.- incluye pacientes con resistencia tisular a la acción de la insulina que pueden presentar de manera paralela defectos en la secreción de esta hormona (anteriormente conocida como diabetes tipo II (DMII) o Diabetes Mellitus No Insulino-Dependiente (DMNID))<sup>(10)</sup>.
- ⇒ Otros tipos específicos de diabetes.- inducida por defectos genéticos a nivel de las células  $\beta$  del páncreas que son heredados en forma autosómica dominante o a nivel de alteraciones en la estructura de la molécula de insulina, por enfermedades del páncreas exócrino, por endocrinopatías, por drogas capaces de inducir el estado diabético, por infecciones, por mediación inmunológica o por síndromes asociados a la enfermedad<sup>(10)</sup>
- ⇒ Diabetes gestacional.- este tipo de diabetes comienza en el embarazo y desaparece después del parto<sup>(10)</sup>. En estos casos, el efecto de la insulina es bloqueado parcialmente por hormonas antagonistas producidas por la placenta a partir de la vigésimo cuarta semana de la gestación humana -por lo que se dice que el embarazo es un estado diabetogénico *per se*. Se llega a presentar en el 3 al 12% de las mujeres embarazadas en los Estados Unidos. De éstas el 24.7% tienden a desarrollar diabetes franca en los siguientes 11 meses a 4 años después del parto; el 37.3% la desarrolla después de 17 años y el 38% pasados 23 años<sup>(9, 11)</sup>.

**CUADRO 1<sup>(1, 9, 10)</sup> Clasificación de la diabetes por su etiología**

I. Diabetes tipo 1	II. Diabetes tipo 2														
<p>Destrucción de las células <math>\beta</math> que conduce a una deficiencia absoluta de insulina.</p> <p>A.. Mediada por mecanismos inmunológicos</p> <p>B. Ideopática</p>	<p>Existen variaciones que van desde el predominio de la resistencia a la insulina con relativa deficiencia de ésta hasta el defecto predominante en la secreción con resistencia a la acción de la hormona.</p>														
<b>Otros tipos específicos</b>															
<p>A. Defectos genéticos de la función de la célula beta.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. En cromosoma 12, IINF-1alfa (MODY 3)</li> <li>2. En cromosoma 7, glucocinasa (MODY 2)</li> <li>3. En cromosoma 20, IINF-4 alfa (MODY 1)</li> <li>4. En DNA mitocondrial</li> <li>5. Otros</li> </ol> <p>B. Defectos genéticos de la acción de la insulina</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Resistencia a la insulina tipo A</li> <li>2. Leprechaunismo</li> <li>3. Sx. de Rabson-Mendehall</li> <li>4. Diabetes lipoatrófica</li> <li>5. Otras</li> </ol> <p>C. Enfermedades del páncreas exócrino</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pancreatitis</li> <li>2. Traumatismo/pancreatectomía</li> <li>3. Neoplasia</li> <li>4. Fibrosis quística</li> <li>5. Hemocromatosis</li> <li>6. Pancreatopatía fibrocalculosa</li> <li>7. Otras</li> </ol> <p>D. Endocrinopatías</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Acromegalia</li> <li>2. Sx. de Cushing</li> <li>3. Glucagonoma</li> <li>4. Feocromocitoma</li> <li>5. Hipertiroidismo</li> <li>6. Somatostatinoma</li> <li>7. Aldosteronoma</li> </ol>	<p>E. Sustancias químicas o drogas capaces de inducir diabetes</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Pentamidina</li> <li>2. Ácido nicotínico</li> <li>3. Glucocorticoides</li> <li>4. Hormona tiroidea</li> <li>5. Diazóxido</li> </ol> <p>F. Infecciones</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Rubéola congénita</li> <li>2. Citomegalovirus</li> <li>3. Otras</li> </ol> <p>G. Formas poco comunes de diabetes mediada inmunológicamente</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Sx. del hombre rígido</li> <li>2. Anticuerpos contra receptores de insulina</li> <li>3. Otras</li> </ol> <p>H. Otros Sx. que algunas veces se asocian con diabetes</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%;">1. Sx. de Down</td> <td style="width: 50%;">8. Distrofia miotónica</td> </tr> <tr> <td>2. Sx. de Klinefelter</td> <td>9. Porfiria</td> </tr> <tr> <td>3. Sx. de Turner</td> <td>10. Sx. de Prader Willi</td> </tr> <tr> <td>4. Sx. de Wolfram</td> <td>11. Otros</td> </tr> <tr> <td>5. Ataxia de Friedreich</td> <td></td> </tr> <tr> <td>6. Corea de Hungtington</td> <td></td> </tr> <tr> <td>7. Sx. de Lawrence Moon Beidel</td> <td></td> </tr> </table>	1. Sx. de Down	8. Distrofia miotónica	2. Sx. de Klinefelter	9. Porfiria	3. Sx. de Turner	10. Sx. de Prader Willi	4. Sx. de Wolfram	11. Otros	5. Ataxia de Friedreich		6. Corea de Hungtington		7. Sx. de Lawrence Moon Beidel	
1. Sx. de Down	8. Distrofia miotónica														
2. Sx. de Klinefelter	9. Porfiria														
3. Sx. de Turner	10. Sx. de Prader Willi														
4. Sx. de Wolfram	11. Otros														
5. Ataxia de Friedreich															
6. Corea de Hungtington															
7. Sx. de Lawrence Moon Beidel															
<b>IV. Diabetes Mellitus Gestacional</b>															

Otra clasificación para eventos específicos es la que propuso la Dra. Priscilla White<sup>(12)</sup> (cuadro 2) especialmente diseñada para las pacientes embarazadas con alteraciones en el metabolismo de la glucosa, que tiene un valor especial para el clínico, ya que toma como base el tiempo de evolución de la diabetes, su duración y la presencia de complicaciones vasculares. Sirve además como un medidor del pronóstico de la evolución del embarazo<sup>(10, 13 - 15)</sup>.

**CUADRO 2. Clasificación obstétrica de diabetes mellitus propuesta por Priscilla White**

Clase	Definición
<b>A</b>	Pacientes con diabetes subclínica donde la prueba de tolerancia a la glucosa difiere poco de la prueba de un paciente sano, la glucemia es controlada únicamente con dieta o hipoglucemiantes orales, sin importar la edad de inicio o la duración del padecimiento.
<b>B</b>	Pacientes que manifestaron la enfermedad por primera vez después de los veinte años, con una duración de la enfermedad menor a nueve años y sin presencia de complicaciones especialmente enfermedades vasculares.
<b>C</b>	Pacientes que manifestaron la enfermedad entre los diez y diecinueve años de edad o cuya duración es de diez a diecinueve años, sin presencia de complicaciones pero existiendo un daño vascular latente.
<b>D</b>	Pacientes que hayan manifestado la enfermedad antes de los diez años, con una duración de la enfermedad mayor a veinte años, presentándose lesiones vasculares, como son la retinopatía no proliferativa o hipertensión arterial (no pre-eclampsia).
<b>E</b>	Pacientes que presentan calcificación de los vasos pélvicos
<b>F</b>	Pacientes con nefropatía vascular y que presentan proteinuria (albuminuria) mayor a 500 mg/día.
<b>H</b>	Pacientes con evidencia clínica de cardiopatía arteriosclerótica.
<b>R</b>	Pacientes con retinopatía proliferativa o de fondo, que puede llegar a desencadenar una hemorragia vítrea.
<b>RF</b>	Pacientes con retinopatía proliferativa o de fondo, que puede llegar a desencadenar una hemorragia vítrea, presentándose además proteinuria (albuminuria) mayor a 500 mg/día.
<b>T*</b>	Pacientes con trasplante renal previo.

\*Clase agregada por Tagatz y col.

### 1.1.3. Diagnóstico

Los nuevos criterios diagnósticos permiten detectar en forma más temprana la enfermedad, con lo que se le puede ofrecer al paciente un tratamiento oportuno que retrasa la aparición de complicaciones y mejora su calidad de vida<sup>(9, 10)</sup>.

El diagnóstico actual de la diabetes, se establece con base en el cuadro clínico característico (poliuria, polidipsia y polifagia) las complicaciones agudas o crónicas y los estudios de laboratorio que detectan hiperglucemia. Es necesario hacer notar que el estado diabético varía de forma importante en sus manifestaciones clínicas iniciales y puede presentarse repentinamente como una alteración metabólica potencialmente letal o manifestarse por el contrario con poco o ninguno de los síntomas o signos característicos y por ello escapar a la detección por muchos años<sup>(17)</sup>.

El diagnóstico se establece cuando el paciente llena cualquiera de los siguientes criterios:

1. Síntomas de diabetes con una elevación casual\* de la glucemia >200 mg/dl (11.1 mmol/L). Los síntomas clásicos son poliuria, polidipsia y pérdida de peso inexplicable.

\* Casual en cualquier tiempo y día pero sin relación con el tiempo transcurrido después del último alimento.

2.  $+GPA \geq 126 \text{ mg/dL}$  (7 mmol/L)

Intolerancia a la glucosa de ayuno<sup>\*\*</sup>:  $GPA > 110 \text{ mg/dL}$  y  $< 126 \text{ mg/dL}$ .

<sup>+</sup>GPA: glucosa plasmática en ayuno.

<sup>\*\*</sup>Ayuno.- no ingestión de calorías por lo menos en las 8 hrs. anteriores.

3. 2h <sup>\*\*</sup>PG  $> 200 \text{ mg/dL}$  durante una <sup>\*\*</sup>CTG.

La prueba debe ser realizada con los criterios de la OMS, utilizando 75 g de glucosa para hacer la carga oral, disuelta en agua.

<sup>\*\*</sup>PG.- poscarga de glucosa

<sup>\*\*</sup>CTG.- curva de tolerancia a la glucosa

4. Intolerancia a la glucosa: glucosa plasmática 2 h  $\geq 140 \text{ mg/dL}$  y  $< 200 \text{ mg/dL}$  (1, 9, 17).

La tolerancia a la glucosa es una prueba que ayuda en forma importante al diagnóstico de diabetes. Para que sea válida, tiene que cumplir con los siguientes criterios<sup>(17)</sup>:

- ◆ Debe realizarse por la mañana, después de un ayuno de un mínimo de 8 horas.
- ◆ El paciente debe llevar una dieta los tres días anteriores al estudio de por lo menos 200 g de carbohidratos diarios.
- ◆ Mantener sentado al paciente durante la prueba, sin fumar ni hacer ningún tipo de ejercicio.
- ◆ Se deben tomar en consideración todos aquellos factores que interfieran con los resultados de la prueba (cuadro 3).
- ◆ Hay que tomar en cuenta cualquier respuesta adversa que se presente durante la prueba como náusea, diarrea, etc.

**CUADRO 3.** Factores que pueden interferir con la curva de tolerancia a la glucosa<sup>(17)</sup>.

Cualquier situación que altere el metabolismo de los carbohidratos, como lo es el estrés, ayuno e inactividad física prolongada.
La ingestión de inhibidores de la monoaminoxidasa, propranolol, alcohol, salicilatos a grandes dosis, diuréticos tiazídicos, anticonceptivos, estrógenos glucocorticoides, catecolaminas, ácido nicotínico, agentes simpaticomiméticos, difenilhidantoína.
Enfermedades subyacentes: enfermedades pancreáticas, pancreatocromía, hemocromatosis, fibrosis quística, pancreatitis crónica.
Endocrinopatías: síndrome de Cushing, acromegalia, feocromocitoma, aldosteronismo primario, glucagonoma.

Para realizar esta prueba, se toma una muestra de sangre en ayuno para determinar los niveles basales de glucemia. Posteriormente se administran por vía oral 75 g de glucosa disuelta en agua, que se debe ingerir en 2 a 3 minutos. En los niños, la carga de glucosa debe ser de 1.75 g/kg de peso hasta un máximo de 75 g. Las mujeres embarazadas requieren una carga de 100g. Dos horas después, se toma una segunda muestra de sangre<sup>(17)</sup>.

Esta prueba es especialmente útil para diagnosticar a los pacientes que no tengan síntomas, que sus niveles de glucemia en ayuno se encuentren tan sólo un poco alterados y/o que el diagnóstico se encuentre en duda por cualquier causa<sup>(17)</sup>.

Para diagnosticar diabetes los niveles de glucemia en la curva de tolerancia a la glucosa deben ser<sup>(9, 17)</sup>:

**CTG**

Tiempo	Niveles plasmáticos de glucosa
Ayuno	$\geq 126$ mg/dL
2 horas	$> 200$ mg/dL

Para diagnosticar intolerancia a la glucosa los niveles deben de ser<sup>(9, 17)</sup>:

**CTG**

Tiempo	Niveles plasmáticos de glucosa
Ayuno	$> 110$ y $< 126$ mg/dL
2 horas	$\geq 140$ y $< 200$ mg/dL

Otro estudio que contribuye al diagnóstico y control de los pacientes con diabetes es la hemoglobina glucosilada.

La hemoglobina glucosilada (HbA) se forma por glucosilación no enzimática de la porción N-terminal de la cadena  $\beta$  de la hemoglobina A<sub>0</sub><sup>(18)</sup>. El nivel de HbA es proporcional al nivel de glucosa en sangre por un periodo aproximado de 6 a 8 semanas<sup>(19)</sup>. La fracción 1c de la HbA (HbA<sub>1c</sub>) ha sido aceptada como indicador de la concentración media diaria de la glucemia en los dos meses precedentes<sup>(20, 21)</sup>. Estudios recientes han demostrado que los niveles obtenidos mediante la determinación regular de HbA<sub>1c</sub> conducen a cambios en el tratamiento de la diabetes y a mejoras del control metabólico, que se traducen en una disminución de los niveles de HbA<sub>1c</sub><sup>(22, 23)</sup>. Por lo que la medición cada dos o tres meses de HbA<sub>1c</sub> se ha recomendado para monitorear el tratamiento prolongado de los pacientes con diabetes<sup>(24, 25)</sup>.

### 1.1.4. Complicaciones.

#### 1.1.4.1 Agudas.

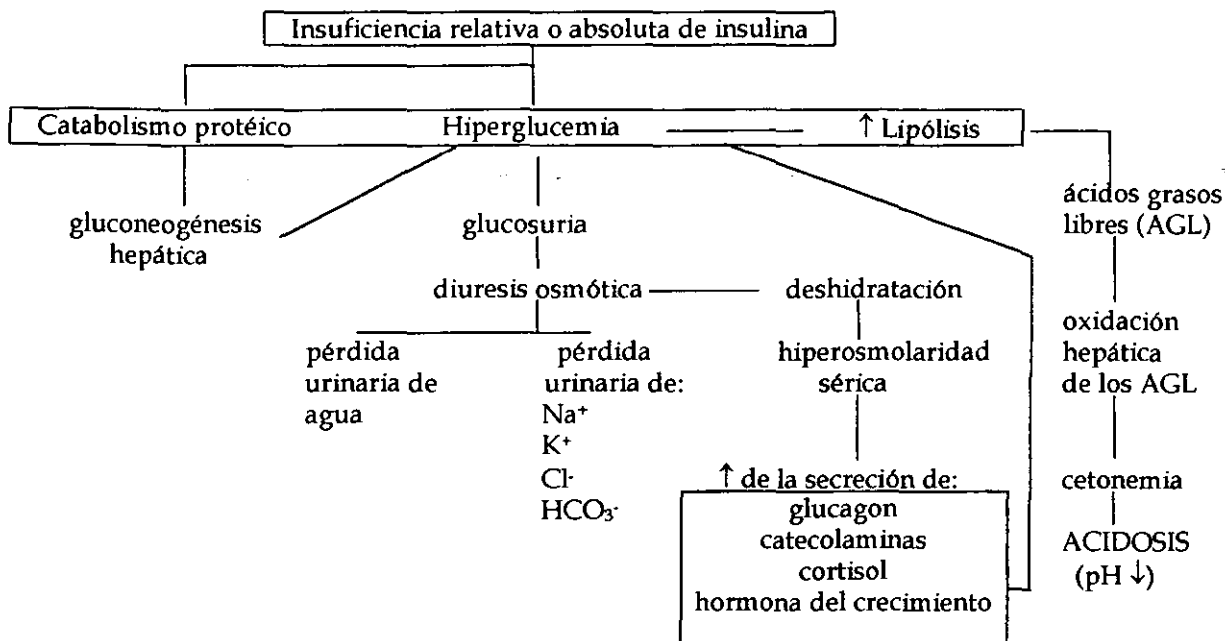
Las complicaciones agudas más graves de la diabetes son la cetoacidosis diabética (CAD) y el síndrome hiperosmolar no cetótico, aunque existen otras como la hipoglucemia y la acidosis láctica<sup>(26)</sup>.

La CAD es causada por una deficiencia casi total de insulina lo que provoca hiperglucemia, hipercetonemia, acidosis metabólica y alteraciones hidroelectrolíticas. Este tipo de complicación por lo general se presenta en los pacientes con diabetes tipo 1 de reciente diagnóstico o que no se han controlado adecuadamente. Ocasionalmente se puede presentar en pacientes con diabetes tipo 2, en los que se requiere de factores desencadenantes tales como infecciones, infartos, traumatismos, estrés, hipertiroidismo, feocromocitoma o la ingestión de medicamentos como esteroides, agonistas adrenérgicos, etc<sup>(26)</sup>. La CAD se presenta en aproximadamente el 9% de las diabéticas embarazadas, poniendo en peligro la vida de la madre y del producto<sup>(27)</sup>. Afecta preferentemente a las mujeres gestantes con diabetes tipo 1, aunque también se presenta en embarazadas diabéticas tipo 2 y en diabetes gestacional. En ocasiones, se puede presentar un episodio de CAD con glucemias cercanas a lo normal. Lo cierto es que la cetoacidosis se presenta más rápidamente en mujeres gestantes que en las que no lo están<sup>(27, 28)</sup>. La mortalidad fetal durante un episodio de CAD varía entre el 30 y 70%<sup>(27, 28)</sup>. Parece ser que entre más severa sea la alteración metabólica materna peor es el pronóstico del feto<sup>(28)</sup>. La fisiopatología de esta complicación es compleja (fig. 1). Existe hiperglucemia debida a la falta casi absoluta de insulina y al incremento de la producción de glucosa por el hígado a través de la gluconeogénesis y la glucogenólisis. Aumenta la cetogénesis (producción de ácido  $\beta$ -hidroxibutírico, ácido acetoacético y acetona) a partir de ácidos grasos libres. Los hepatocitos son capaces de captar a los cuerpos cetónicos y los integran a la  $\beta$ -oxidación. La cetoacidosis diabética puede considerarse de hecho como un estado en el que el organismo utiliza todas sus defensas para proteger al cerebro del daño que puede resultar de la hipoglucemia<sup>(26, 28)</sup>.

La producción de cuerpos cetónicos en la cetoacidosis es similar a la que se presenta durante el ayuno prolongado en pacientes sanos. Sin embargo, ya que la deficiencia de insulina en diabéticos es más pronunciada, la hipercetonemia es mucho más severa<sup>(28)</sup>. La cetogénesis se puede explicar en parte por la falta de insulina. La insulina tiene un efecto anticatabólico para la inhibición de la cetogénesis, glucogenólisis, lipólisis y gluconeogénesis. Este efecto anticatabólico se consigue con bajas concentraciones de insulina. En humanos se demostró que se requieren niveles de 20 a 200  $\mu\text{U/ml}$  para la entrada periférica de glucosa, mientras que la actividad antilipolítica se consigue con cantidades mucho más pequeñas tales como 15  $\mu\text{U/ml}$ <sup>(28)</sup>. Durante la CAD hay una secreción contrarreguladora de otras hormonas, que tienen efectos catabólicos. Primero hay un aumento en la secreción de glucagon, después hay un aumento en la secreción de cortisol y catecolaminas. Estas hormonas actúan para aumentar las fuentes de

energía aumentando la producción y liberación de glucosa y estimulando la lipólisis rompiendo los triglicéridos, lo que promueve la cetogénesis<sup>(28, 188)</sup>.

Figura 1



Las mujeres embarazadas se encuentran más predispuestas a presentar cetoacidosis. Los síntomas comunes del embarazo como son las náuseas y el vómito en el primer trimestre, llevan a mayor deshidratación y aumento en la producción de los antagonistas de la insulina como el glucagón y las catecolaminas, condición que favorece la cetogénesis. Por otro lado, las mujeres diabéticas embarazadas son más propensas a infecciones, particularmente en el tracto urinario, lo que se considera un factor desencadenante de la CAD<sup>(29)</sup>.

La gran variedad de sintomatología de esta complicación, no se presenta de inmediato, sino progresivamente. Los pacientes inician con poliuria y polidipsia, consecuencia de la hiperglucemia (normalmente sobrepasa los 250 mg/dL de glucosa plasmática), la cual causa diuresis osmótica y deshidratación. Se presenta astenia y pérdida de peso por el proceso catabólico acelerado, así como náusea, vómito y dolor abdominal causado por la hipercetonemia y el desequilibrio hidro-electrolítico. Los pacientes cursan generalmente con hipotensión, taquicardia, hipotermia, respiración de Kussmaul (respiración acelerada y superficial) y depresión del estado de alerta<sup>(26)</sup>.

La otra complicación aguda que se presenta con mayor frecuencia en diabéticos es el síndrome hiperosmolar no cetogénico también conocido como



hiperglucemia no cetogénica o hipertonicidad no cetogénica. Este síndrome puede presentarse como la primera manifestación de la diabetes tipo 2 y en ocasiones como resultado de factores desencadenantes y/o en pacientes descontrolados. Algunos de los factores que pueden desencadenar esta complicación son: la supresión inadecuada de hipoglucemiantes orales, infecciones concomitantes, enfermedades concurrentes como infarto al miocardio, accidente cerebral vascular, cirugías, etc<sup>(26)</sup>. Independientemente del factor desencadenante, la causa de este síndrome, es la hiperosmolaridad extracelular, resultado de la grave deshidratación que es consecuencia de la diuresis osmótica por aumento importante y sostenido de las cifras de glucosa<sup>(26)</sup>. El cuadro clínico es insidioso, se instala durante varios días e incluso semanas. Inicia con descontrol de la diabetes, con hiperglucemia e hiperosmolaridad sin cetogénesis. El paciente presenta polidipsia, poliuria y vómitos, lo que lo lleva a mayor deshidratación sin respiración de Kussmaul. Es frecuente que existan datos neurológicos que varían desde afasia, convulsiones, hemiparesia y signo de Babinsky, hasta coma<sup>(26)</sup>.

#### **1.1.4.2. Crónicas**

Aunque la DM se puede controlar con insulina, dieta, ejercicio, hipoglucemiantes orales, o una combinación de éstos, el tratamiento no ha impedido que se presenten las complicaciones crónicas que afectan ojos, riñones, nervios y arterias. En los diabéticos, la ceguera es 25 veces más común que en los no diabéticos y es producida por el daño capilar de la retina que lleva a edema, neoformación de vasos y hemorragias. Los pacientes con diabetes también presentan cataratas más frecuentemente que los no diabéticos.

El daño renal crónico con proteinuria, causado por el daño capilar en el glomérulo asociado a adelgazamiento de la membrana basal, es 17 veces más común en los diabéticos. Así mismo, las alteraciones en el sistema nervioso periférico de los diabéticos como la desmielinización por segmentos, se asocian con una alta prevalencia de disfunciones motoras, sensoriales y autonómicas, incluyendo impotencia que afecta al 40% de los pacientes hombres.

Entre los diabéticos, la enfermedad coronaria arterial y los infartos - consecuencia de ateromas en arterias grandes y medianas- es dos veces más común; y la enfermedad arterial periférica 3 ó 4 veces más<sup>(5)</sup>. La mortalidad en los pacientes diabéticos por enfermedad coronaria es de 2 a 4 veces más que en los no diabéticos<sup>(30)</sup>.

La gangrena que lleva a amputación es por lo menos 5 veces más frecuente en los diabéticos.

La expectativa de vida de los diabéticos en promedio, es de tan sólo 2 terceras partes que el de la población general<sup>(5)</sup>. En el cuadro 4 se resumen las complicaciones crónicas más frecuentes de los pacientes diabéticos.

**CUADRO 4. Complicaciones crónicas en pacientes diabéticos<sup>(30)</sup>.**

<b>VASCULARES</b>
<b>Macrovasculares</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Arteriosclerosis coronaria acelerada</li> <li>• Arteriosclerosis cerebrovascular acelerada</li> <li>• Vasculopatía periférica acelerada</li> </ul>
<b>Microvasculares</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Retinopatía</li> <li>• Nefropatía</li> </ul>
<b>NEUROPÁTICAS</b>
<b>Neuropatía Sensomotora</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bilateral simétrica en extremidades inferiores (más común)</li> <li>• Bilateral simétrica en extremidades superiores</li> <li>• Mononeuropatía</li> <li>• Úlcera neuropática</li> <li>• Amiotrofia diabética</li> <li>• Caquexia neuropática</li> </ul> <b>Neuropatía Autonómica</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Gastroparesia</li> <li>• Diarrea</li> <li>• Vejiga neurogénica</li> <li>• Impotencia</li> <li>• Reflejos cardiovasculares alterados</li> </ul>
<b>ENFERMEDADES VASCULARES Y NEUROPÁTICAS COMBINADAS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Úlceras de piernas</li> <li>• Úlceras de pies</li> </ul>

## 1.2. Alteraciones en la Reproducción de Pacientes Diabéticos.

La diabetes también afecta al sistema reproductivo. Los principales problemas reproductivos de los pacientes diabéticos son los asociados con la fertilidad y el mantenimiento de la gestación, así como el retraso en el desarrollo del producto y altas tasas de malformaciones congénitas<sup>(31, 32)</sup>.

Las disfunciones sexuales son muy comunes en hombres con diabetes de larga duración. Se ha reportado impotencia, eyaculación retrógrada, pérdida de la emisión seminal y alteraciones en la espermatogénesis<sup>(33, 34)</sup>. La impotencia puede ser en ocasiones la primera manifestación de la enfermedad y puede deberse hasta en el 82.7% de los casos a insuficiencia arterial de los cuerpos cavernosos. La disminución de la libido y una erección débil, son manifestaciones comunes de la diabetes. Estos problemas pueden deberse a alteraciones endocrinas como

disminución de la hormona liberadora de gonadotropina hipotalámica (GnRH) y testosterona circulante<sup>(35)</sup>.

Los problemas reproductivos en las mujeres diabéticas son: amenorrea, oligomenorrea, alteraciones en la foliculogénesis, insuficiencia del cuerpo lúteo, anovulación, atrofia ovárica, involución uterina, disminución de los niveles de progesterona, gonadotropinas y prolactina así como problemas asociados a la conservación del embarazo<sup>(189, 190, 191.)</sup>.

Los mecanismos por los que se presentan las alteraciones reproductivas en mujeres diabéticas, aún no se han dilucidado, aunque se han asociado con reducción o falta de secreción de la GnRH hipotalámica, lo que trae como consecuencia menor secreción de hormonas gonadotrópicas y esteroideas, así como una respuesta disminuida del sistema de retroalimentación positiva de los esteroides ováricos<sup>(192, 193)</sup>.

La presencia de embarazo complica aún más el ya de por sí complicado estado diabético en las mujeres. A finales del siglo pasado, la idea de que el embarazo coexistiera con la diabetes era inconcebible debido a la alta tasa de morbi-mortalidad materno-fetal que hacía prácticamente imposible para estas mujeres concebir. Posteriormente con el uso de la insulina, se ha logrado reducir la mortalidad tanto de la madre como del producto, pero persisten complicaciones asociadas de difícil control como las malformaciones congénitas de los productos<sup>(38, 46, 70)</sup>.

Además de las manifestaciones clínicas propias de la diabetes como son poliuria, polidipsia y polifagia, las mujeres diabéticas embarazadas pueden tener una gama de complicaciones que se enlistan en el cuadro 5.

### **1.2.1. Alteraciones en el desarrollo de los productos.**

El mecanismo por el que la diabetes materna puede alterar el desarrollo fetal, no se ha podido establecer en forma definitiva. Se han implicado tanto factores genéticos como ambientales en la teratogénesis de los productos de madres diabéticas<sup>(51)</sup>. Entre los factores ambientales están las alteraciones metabólicas, la deficiencia de ácido araquidónico<sup>(52)</sup> y la vasculopatía placentaria entre otros<sup>(14)</sup>.

Dependiendo de la etapa del desarrollo en la que se presente la hiperglucemia, las alteraciones de los productos son diferentes.

**CUADRO 5. Complicaciones de la diabetes durante el embarazo.**

SISTEMA	AFECCIÓN	OBSERVACIONES
Metabólicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↑ peroxidación lipídica<sup>(74)</sup></li> <li>• ↑ irregular de peso(b)</li> <li>• fluctuaciones de los niveles séricos de glucosa<sup>(74)</sup></li> <li>• cetoacidosis (lipólisis acelerada)<sup>(28)</sup></li> <li>• glucosuria<sup>(74)</sup></li> <li>• ↑ de albúmina glucosilada<sup>(5)</sup></li> <li>• Hipertensión arterial (sin toxemia)<sup>(41)</sup></li> <li>• ↑ porcentaje de HbA1<sup>(5)</sup></li> <li>• ↑ niveles de fructosamina<sup>(74)</sup></li> <li>• ↓ lipoproteínas de alta densidad<sup>(5)</sup></li> <li>• ↑ concentraciones de triglicéridos<sup>(5)</sup></li> <li>• ↑ concentraciones de VLDL<sup>(5)</sup></li> <li>• ↑ concentraciones de LDL<sup>(5)</sup></li> <li>• ↓ concentraciones de HDL-colesterol<sup>(5)</sup></li> <li>• colesterol sin cambios aparentes<sup>(5)</sup></li> <li>• ↑ cantidad de superóxido dismutasa</li> <li>• Resistencia a la insulina<sup>(74)</sup>.</li> <li>• Niveles anormales de insulina<sup>(41)</sup></li> <li>• ↓ concentración de péptido C<sup>(42)</sup></li> </ul>	<p>⇒ los hidroperóxidos estimulan la biosíntesis de prostaglandinas inhibiendo la producción de prostaciclina; este desbalance es muy perjudicial para el embrión <sup>(74)</sup>.</p> <p>⇒ La albúmina protege al embrión del daño causado por los radicales libres de O<sub>2</sub>.</p> <p>⇒ HbA<sub>1c</sub> es el resultado de la reacción entre la HbA<sub>1</sub> con carbohidratos, como la fructosa 1,6 difosfato, glucosa 6 fosfato o glucosa, que se unen al grupo amino terminal de la valina de la cadena β de la Hb mediante un proceso no enzimático, irreversible y dependiente de la concentración de glucosa en el medio; los valores de HbA<sub>1c</sub> permiten evaluar niveles de glucosa de cuatro a ocho semanas antes de la determinación<sup>(43)</sup></p>
Neuropatías	<ul style="list-style-type: none"> <li>• parestesias<sup>(5)</sup></li> <li>• neuropatía periférica<sup>(5)</sup></li> </ul>	⇒ Producto de desmielinización de los axones.
Vasculares	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↑ nefropatía</li> <li>• ↑ retinopatía<sup>(41)</sup></li> <li>• ↑ neuropatía<sup>(44)</sup></li> </ul>	⇒ El agravamiento de estas condiciones en la gestación es transitorio y reversible <sup>(45, 46)</sup>
Respiratorias	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Neumonía<sup>(47)</sup></li> </ul>	
Endócrinas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ prolactina<sup>(48)</sup></li> <li>• ↓ estradiol<sup>(48)</sup></li> <li>• ↓ gonadotropina coriónica<sup>(48)</sup></li> </ul>	⇒ Influyen en los abortos espontáneos durante el primer trimestre
Renal-urinarias	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ de la filtración glomerular<sup>(5)</sup></li> <li>• albuminuria<sup>(5)</sup></li> <li>• Infecciones urinarias<sup>(41)</sup></li> <li>• urosepsis<sup>(45)</sup></li> <li>• uremia<sup>(45)</sup></li> <li>• pielitis hiperpirética<sup>(15)</sup></li> <li>• pielonefritis<sup>(45)</sup></li> </ul>	⇒ Frecuencia de 22% <sup>(41)</sup>
Genitales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• vaginitis moniliásica<sup>(42)</sup></li> </ul>	
Sistema Materno-fetal	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Insuficiencia placentaria<sup>(10)</sup></li> <li>• Pre-eclampsia y eclampsia (toxemia)<sup>(41, 42)</sup></li> <li>• hidramnios y polihidramnios<sup>(47)</sup></li> <li>• ↓ flujo uteroplacentario<sup>(49)</sup></li> </ul>	<p>⇒ Niveles bajos de estradiol y lactógeno en placenta<sup>(10)</sup>.</p> <p>⇒ Se presenta tres veces más con hidramnios que sin él<sup>(15)</sup></p> <p>⇒ Reduce el espacio intervelloso en la placenta<sup>(49)</sup>.</p>
Fetales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ↓ cantidad de α-fetoproteína<sup>(42)</sup></li> <li>• ↑ concentración de Hb<sup>(42)</sup></li> <li>• ↑ frecuencia de hipocalemia<sup>(41)</sup></li> <li>• ↑ frecuencia de hipomagnesemia<sup>(41)</sup></li> <li>• Enfermedad de las membranas hialinas<sup>(50)</sup></li> </ul>	

Las alteraciones al principio de la gestación incluyen: abortos espontáneos<sup>(53)</sup> y alteraciones en el desarrollo que dan como consecuencia la presencia de malformaciones congénitas. Éstas ocurren durante la embriogénesis temprana, afectando uno o mas de los procesos de desarrollo y provocando múltiples defectos. En humanos, se inducen antes de la 7ª semana postconcepción<sup>(14, 55, 58)</sup>.

Las malformaciones congénitas se definen como las anomalías estructurales presentes desde el nacimiento y se clasifican en cuatro grupos:

- Malformaciones congénitas letales.- generalmente implican alteraciones a nivel del sistema nervioso central<sup>(60)</sup>, se les atribuye el 50% de las muertes perinatales<sup>(61)</sup> y pueden explicar *per se* la muerte intrauterina, o bien son incompatibles con la vida extrauterina<sup>(61)</sup>.
- Malformaciones congénitas mayores.- pueden ser letales o requerir intervención quirúrgica o médica para ser afines con la vida extrauterina trayendo consigo severas consecuencias psicológicas, físicas o funcionales, comprometiendo la calidad de la vida futura<sup>(15, 60, 62)</sup>. Son aproximadamente dos veces mas frecuentes en hijos de madres diabéticas que en hijos de mujeres no diabéticas, siendo más frecuentes en neonatos con un marcado retraso en el crecimiento<sup>(61, 63)</sup>.
- Malformaciones congénitas menores.- son aquellas que no afectan en forma importante la vida futura e incluso pueden pasar desapercibidas<sup>(62)</sup>. Su frecuencia no difiere de manera significativa de lo que se observa en los productos de madres sanas<sup>(48)</sup>. Un ejemplo de malformación menor en productos de madres diabéticas es la presencia en la piel de pequeñas manchas de color café claro<sup>(64)</sup>.
- Malformaciones congénitas múltiples son aquellas que afectan a más de un órgano o un sistema en el mismo individuo<sup>(11, 65)</sup>.

Las malformaciones congénitas en hijos de madres diabéticas son generalmente múltiples y no específicas e incluyen defectos tanto de reducción como de duplicación<sup>(66)</sup>, aunque tienden a ocurrir ciertos patrones individuales<sup>(45)</sup>. Se estima que del 2 al 3 % del total de los recién nacidos de madres sanas tiene una anomalía congénita estructural o funcional al nacer de las cuales, sólo el 1% son mayores. Mientras que la incidencia de anomalías mayores en hijos de mujeres con diabetes mellitus oscila entre 1.5 a 10 veces más que la de los hijos de madres sanas<sup>(3, 14, 15, 47, 48, 55, 67, 72)</sup>. La incidencia de malformaciones

congénitas tiene de 2.6 a 3% de mayor posibilidad en madres con diabetes gestacional que en madres sanas<sup>(71)</sup>. Por lo general se encuentran más afectados los productos del sexo femenino que masculino<sup>(66)</sup>. Actualmente, las malformaciones congénitas representan un 40% de las causas de muerte perinatal en los hijos de madres diabéticas<sup>(13, 54)</sup>.

Se ha observado que las mujeres diabéticas gestantes que presentan niveles elevados de hemoglobina glucosilada (lo que refleja descontrol metabólico de los 2 a 3 meses antes de la determinación de la HbA<sub>1c</sub>) en el primer trimestre de la gestación, presentan una mayor frecuencia de abortos espontáneos y de malformaciones congénitas mayores que aquellas que se encuentran dentro del rango de control "aceptable" de la diabetes. A pesar de mantener un buen control en los niveles de HbA<sub>1c</sub>, las mujeres diabéticas presentan un mayor riesgo de tener hijos con malformaciones congénitas que las no diabéticas<sup>(8, 53, 72, 73, 74)</sup>.

Se considera que la terapia con insulina y el control metabólico estricto de la diabética embarazada en etapas tempranas de la gestación e incluso antes de la concepción disminuye la tasa de mortalidad en la madre y su hijo, así como el riesgo de que éstos presenten malformaciones congénitas; sin embargo, otros reportes revelan que éstas pueden aparecer a pesar de un buen control de la glucemia<sup>(48, 55, 57, 64, 73, 92-95)</sup>.

Por otro lado, se ha visto que la insuficiencia de insulina aún con niveles de glucemia normales, se asocia a un retraso en el desarrollo de los embriones en cultivo de ratas y aumenta la incidencia de malformaciones congénitas en estos animales<sup>(75)</sup>.

### 1.2.2. Teratogénesis

La hiperglucemia *per se* tiene un gran poder teratogénico en el desarrollo embrionario. Al parecer, en etapas tempranas del desarrollo, la glucosa puede causar daño en el DNA provocando mutaciones tales que impidan la expresión de genes críticos para la embriogénesis normal<sup>(76)</sup>. Este daño, puede retrasar la duplicación del DNA y por lo tanto, la división celular, lo que interrumpe los tiempos de los programas del desarrollo necesarios para la organogénesis. Hay estudios que demuestran que aún una hiperglucemia moderada durante un corto período de tiempo es capaz de producir mutaciones al DNA<sup>(76)</sup>.

La hiperglucemia puede producir su efecto teratogénico mediante la formación de radicales libres de O<sub>2</sub>, al menos *in vitro*. Se ha visto que la adición de citolona, superóxido dismutasa (SOD), catalasa y glutatión peroxidasa a

cultivos en suero diabético de embriones de ratas, tienen un efecto protector en el embrión, sobre todo la SOD que disminuye el retraso en el crecimiento y las malformaciones embrionarias<sup>(40, 77)</sup>. El efecto principal de los radicales libres de O<sub>2</sub> podría ser un aumento en la peroxidación de los lípidos, aunque también se deben considerar efectos directos sobre el DNA. Los productos principales de la peroxidación de los lípidos, los hidroperóxidos, son estimulantes de la biosíntesis de prostaglandinas, pero inhibidores de prostaciclina, lo que produce un desequilibrio perjudicial para el embrión<sup>(40, 78)</sup>.

Una de las hipótesis más recientes señala que la producción excesiva de cuerpos cetónicos<sup>(79, 80)</sup> -tales como el β-hidroxibutirato, que es uno de los que se producen en mayor cantidad en animales con diabetes inducida<sup>(81, 82)</sup>- están alterando el ambiente intrauterino y son los responsables del retraso en el desarrollo de los embriones de ratas diabéticas y de las malformaciones congénitas que presentan<sup>(83)</sup>.

Actualmente se maneja la hipótesis multifactorial de la embriopatía diabética. Tanto la glucosa como los cuerpos cetónicos (en especial el β-hidroxibutirato) actúan sinérgicamente para producir retraso en el crecimiento e inducir malformaciones<sup>(84)</sup>. Se ha demostrado que la adición de β-hidroxibutirato a los cultivos de embriones de ratas diabéticas, aumenta hasta en un 29% la tasa de malformaciones comparada con aquellos cultivos en los que únicamente se utilizó suero hiperglucémico; mientras que la adición de los inhibidores de somatomedina exacerban la inducción de malformaciones producidas por los cuerpos cetónicos y la glucosa<sup>(85, 86)</sup>. Por esto, se concluyó que la glucosa tiene un papel en la teratogénesis mucho menos importante que el que presentan los cuerpos cetónicos, en especial el β-hidroxibutirato<sup>(87)</sup>.

Los radicales libres de O<sub>2</sub>, también participan en la teratogénesis de los productos de madres diabéticas. Se sabe que en el estado diabético, existe además depleción importante del glutatión (GSH), el cual, se encuentra presente en la mayoría de las células y juega un papel importante en la defensa celular contra el estrés oxidativo, actuando como un amortiguador contra las especies reactivas de oxígeno (ROS)<sup>(79)</sup>. En estudios recientes *in vitro* con embriones de ratas diabéticas se ha asociado la disminución de enzimas antioxidantes, tales como la superóxido-dismutasa (SOD) y la catalasa (CAT), con el aumento en la incidencia de malformaciones congénitas, disminución del peso y del contenido de proteínas de los productos. También, los antioxidantes de bajo peso molecular (LMWA) se han encontrado disminuidos tanto en los embriones como en el saco vitelino de embriones de ratas diabéticas<sup>(88)</sup>. Incluso se ha observado que la adición de

antioxidantes tales como la vitamina C y vitamina E al medio de cultivo diabético, puede disminuir el efecto de la diabetes en el embrión durante la gestación<sup>(56, 59, 88)</sup>.

Existen otros factores asociados con la dismorfogénesis diabética. Las lesiones angiopáticas de la vasculatura pélvica, tienen como consecuencia una reducción importante en la perfusión placentaria y un transporte de nutrientes reducido, lo que puede dar origen a alteraciones en la embriogénesis temprana y/o al retraso en el crecimiento fetal<sup>(89, 90)</sup>. La vasculopatía diabética materna, aumenta la incidencia de malformaciones congénitas hasta en un 11.8%<sup>(14)</sup>.

También se han asociado otros factores maternos como la deficiencia de zinc y la vitamina A con la presencia de embriopatías<sup>(91)</sup>.

Todos estos factores, contribuyen de una manera u otra a la embriopatía diabética; pero, para que exista un efecto teratogénico, se debe combinar la presencia de un medio ambiente aberrante, con alteraciones en las mezclas metabólicas, un periodo gestacional crítico y un mínimo de exposición a los teratógenos<sup>(67)</sup>.

En la etapa final de la gestación, la muerte intrauterina y perinatal es 4 veces más frecuente en los hijos de madres diabéticas<sup>(61)</sup>. Se ha propuesto que la hipoxia y la acidosis fetal (síndrome de diestrés respiratorio (RDS)), al igual que la hipoglucemia e hipocalcemia que presentan los hijos de madres diabéticas, son la causa principal causa de morbi-mortalidad perinatal<sup>(195)</sup>. La macrosomía o el mal control de la diabetes durante el embarazo, también se han asociado con esta condición<sup>(13, 54)</sup>. La macrosomía, que se presenta en el último trimestre de la gestación, se ha explicado por la transferencia placentaria de mayor cantidad de glucosa y otros nutrientes. Este aporte adicional de nutrientes acelera la maduración secretora de los islotes fetales, provocando un estado de hiperinsulinismo fetal<sup>(14)</sup>, lo que aumenta el potencial anabólico en el feto<sup>(55)</sup>.

Se han observado alteraciones estructurales y funcionales en las placentas de madres diabéticas con un alto contenido de glucógeno y una mayor capacidad de unión de la insulina a la placenta<sup>(96)</sup> así como un aumento en la actividad de la tirosinasa del receptor placentario de insulina, hecho que está asociado a productos macrosómicos<sup>(97)</sup>.

Además de los abortos espontáneos<sup>(53)</sup>, las anomalías que se presentan con mayor frecuencia en hijos de madres diabéticas están enlistadas en el cuadro 6.



La frecuencia relativa de las diferentes alteraciones con respecto a lo observado en la población general se presenta en el cuadro 7<sup>(70)</sup>.

(14,70, 89, 91, 102)

CUADRO 6. Principales alteraciones en los hijos de madres diabéticas (modificado de Reece y cols)

<b>Sistema Músculo-Esquelético</b>	Síndrome de regresión caudal Labio leporino con o sin paladar hendido Costilla bífida. Costilla "ondulada".
<b>Sistema Cardio-Vascular</b>	Transposición de los grandes vasos con o sin defectos del septum ventricular. Comunicaciones interventriculares (defectos del septum ventricular). Coartación de la aorta. Comunicaciones interauriculares (defectos del septum auricular). Cardiomegalia.
<b>Sistema Nervioso Central</b>	Defectos del tubo neural, excluyendo anencefalia. Anencefalia con o sin hernias de elementos neurales Hidrocefalia. Microcefalia
<b>Sistema Renal</b>	Agenesia renal. Riñón poliquístico. Duplicación de uréter. Situs inversu Hidronefrosis.
<b>Sistema Gastro-Intestinal</b>	Atresia duodenal. Atresia anorectal. Sx. del colon izquierdo pequeño.
<b>Otros</b>	Retraso en el crecimiento fetal. Pseudohermafroditismo. Arteria umbilical única.

CUADRO 7. Frecuencia relativa de las diferentes anomalías con respecto a lo normal

ALTERACIÓN	FRECUENCIA
Defectos a nivel del sistema nervioso central	2.8
Defectos urinarios y renales	3.8
Deficiencias de los miembros inferiores	5.5
Defectos del campo de desarrollo (DFD) de la espina superior y costillas	26.3
DFD de la espina inferior	39.3
Disgenesia caudal	53

Además de los efectos ya mencionados, el metabolismo materno alterado por la diabetes, puede modificar la expresión de genes en células diferenciadas que presentan menos replicación durante el desarrollo. Los efectos a largo plazo, dependerán de las células que se estén diferenciando, proliferando o llevando a cabo su maduración funcional<sup>(98)</sup>. Una de las líneas celulares que más se altera es la neuronal. El descontrol en el metabolismo materno -sobre todo con producción excesiva de cuerpos cetónicos- en las primeras etapas de la gestación, puede

modificar el desarrollo psicomotor subsecuente del niño durante los primeros dos años de vida<sup>(44, 99)</sup>, aunque éste se restablece en años subsecuentes<sup>(100)</sup>. Parece ser que en general, la diabetes materna no altera el coeficiente intelectual o el aprendizaje de los niños comparados con los hijos de madres sanas. Sin embargo, se han asociado niveles altos de cuerpos cetónicos en la madre -en especial de  $\beta$ -hidroxibutirato- con un bajo IQ en los niños menores de dos años<sup>(28, 48, 100, 101)</sup>.

Los hijos de madres diabéticas tienden a manejar índices de masa corporal significativamente superiores a la de los hijos de madres sanas. Aunque los niveles de glucemia en ayuno no son diferentes entre ambos grupos, sí lo son los niveles de glucemia a las dos horas postcarga, así como los niveles de insulina postcarga. Es más frecuente que estos niños desarrollen diabetes ya sea de tipo 1 ó 2 ó que presenten por lo menos en una ocasión alteraciones en la Prueba de Tolerancia a la Glucosa entre los 8 y 17 años de edad. Así mismo se ha encontrado una relación directa entre los niveles de insulina en el líquido amniótico y la obesidad de los hijos, lo que sugiere una hiperestimulación del páncreas desde la etapa fetal con el posterior desarrollo de la obesidad<sup>(100)</sup>.

### **1.3. Modelos Animales.**

La imposibilidad ética de realizar el estudio de los mecanismos subyacentes de la embriopatía diabética en humanos en las primeras etapas del desarrollo -que es cuando ocurre el mayor daño- hace necesario recurrir a modelos en animales que puedan proveer una aproximación directa para tratar de identificar los factores teratogénicos y los mecanismos a través de los que estos operan. Es importante enfatizar que debido a que la diabetes es un padecimiento multifactorial, en el que intervienen factores tanto genéticos como epigenéticos, que al combinarse dan como resultado la manifestación de la enfermedad, los estudios realizados en animales únicamente mimetizan la condición de "hiperglucemia" presente en este padecimiento, pero dejan de lado otros factores tales como los genéticos, por lo que ningún síndrome en animales corresponde exactamente a ninguna forma de diabetes en el humano. Esto hace necesario tomar con reservas los resultados de estos estudios en su extrapolación a humanos<sup>(103)</sup>.

La diabetes puede inducirse experimentalmente a través de cirugía, infección viral y la administración de hormonas o de agentes químicos. Esto nos permite el estudio de los eventos bioquímicos, hormonales y fisiológicos que ocurren en este estado.

Los primeros intentos de producir diabetes experimental se hicieron en perros a través de la pancreatometomía parcial o total. Este procedimiento también fue el primero que se utilizó para causar diabetes en ratas gestantes, en las que se observa una elevada mortalidad de las crías<sup>(103, 104)</sup>.

Al lesionar quirúrgicamente en forma selectiva a las células del núcleo ventromedial del hipotálamo de ratas, se logró que éstas desarrollaran una diabetes experimental que semeja a la tipo 2, presentando obesidad, hiperglucemia, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina<sup>(103)</sup>.

La epinefrina, el glucagón, los glucocorticoides y la hormona de crecimiento, tienen un efecto antagonista al de la insulina. Cuando estas hormonas se encuentran en cantidades elevadas, ya sea por la presencia de tumores o por la respuesta al estrés, se reduce la tolerancia a la glucosa y se presenta la hiperglucemia. La epinefrina y el glucagón administrados en altas dosis a animales, tienen el mismo efecto anti-insulina que el que se presenta en humanos. Incluso se ha reportado la presencia de hiperglucemia e hiperplasia de las células beta del páncreas en animales a los que se les administró hidrocortisona o ACTH<sup>(103)</sup>.

Se han considerado un número importante de virus asociados con el desarrollo de la diabetes tipo 1 en humanos y en animales. El mecanismo de acción de los virus, puede ser variado. Algunos pueden atacar y destruir directamente a las células  $\beta$  por el efecto citolítico propio del virus o bien, indirectamente por una respuesta autoinmune que es iniciada y aumentada por el virus<sup>(105)</sup>. La presencia de diabetes en estos casos, se correlaciona con la habilidad de las células beta para mantener la duplicación viral<sup>(103)</sup>. En el cuadro 8, se enlistan los principales virus que inducen el desarrollo de diabetes en humanos y animales.

Otro mecanismo para inducir diabetes es la administración de diversos agentes químicos que son de tres tipos:

- a) Los que son tóxicos para las células beta del páncreas y las destruyen, produciendo un efecto citotóxico irreversible.
- b) Los que actúan sobre las células beta del páncreas produciendo un efecto citotóxico reversible.

c) Los que aumentan los requerimientos endógenos de insulina, estresan al páncreas y secundariamente producen diabetes (cuadro 9)<sup>(103)</sup>.

**CUADRO 8. Virus que inducen el desarrollo de diabetes en animales y humanos<sup>(105)</sup>**

VIRUS	HUÉSPED	FACTORES GENÉTICOS
<b>RNA-virus</b>		
Coxsackie B	ratón	+
	primates no humanos	+
	humanos	no determinado
Encefalomiocarditis	ratón	+
	hámster	+
Mengovirus	ratón	+
Virus que afectan pies y boca	cerdos, ganado	no determinado
Retrovirus	ratón	+
	humanos	no determinado
Rubéola	hámster	no determinado
	conejos	no determinado
	humanos	no determinado
Virus bovino	ganado	no determinado
Virus de la parotiditis	humanos	+
Reovirus	ratón	+
<b>DNA-virus</b>		
Virus Kilham de la rata	rata	+
Citomegalovirus	humanos	no determinado
Epstein-Barr	humanos	no determinado
Varicela zoster	humanos	no determinado

**CUADRO 9. Agentes químicos que inducen diabetes.**

Agentes con efectos citotóxicos irreversibles en las células beta	Agentes con efecto citotóxico reversible en las células beta	Otros agentes
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aloxana</li> <li>• Estreptozotocina</li> <li>• Difenilthiocarbazina</li> <li>• Oxine-9-hidroxiquinolona</li> <li>• Vacor</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 6 aminonicotinamida</li> <li>• L-asparginasa</li> <li>• Azida</li> <li>• Cianida</li> <li>• Ciproheptamina</li> <li>• Ácido dehidroascórbico</li> <li>• Fluorida</li> <li>• Iodoacetato</li> <li>• Malonato</li> <li>• Tiazidas</li> <li>• 2-deoxiglucosa</li> <li>• Mannoheptulosa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anticuerpos anti-insulina</li> <li>• Somatostatina</li> <li>• Catecolaminas</li> <li>• Glucocorticoides</li> <li>• Glucagon</li> </ul>

El gran avance de las técnicas genéticas ha permitido contar con modelos animales que presentan diabetes en forma espontánea. Entre los modelos genéticos de diabetes tipo 2 se encuentran el ratón ob/ob (mutación de obesidad

de la cepa C57BL/6J), el ratón db/db (mutación para diabetes del ratón ob/ob), el ratón KK (derivado de la cepa Kasukabe, presenta obesidad moderada y DM tipo 2), el ratón NZO (ratón obeso de Nueva Zelanda), la rata obesa de la cepa Zucker (fa/fa Zucker) que no presenta hiperglucemia aunque sí resistencia a la insulina y la rata diabética fa/fa Zucker, desarrollada a partir de la fa/fa que presenta hiperglucemia, obesidad y resistencia a la insulina)<sup>(106, 107)</sup>. Entre los modelos para diabetes tipo 1 se encuentran el ratón NOD (ratón diabético no obeso) derivado del ratón albino de la cepa Jcl:ICR, que desarrolla espontáneamente DM tipo 1 autoinmune mediada por células T<sup>(108)</sup> y la rata Bio-Breeder (BB), derivada de la cepa Wistar, que presenta una diabetes cetogénica, sin obesidad, muy similar a la que se presenta en humanos<sup>(103, 106, 109)</sup>. La importancia de esto radica en la posibilidad de poder ofrecer modelos más parecidos –por tanto más válidos– a la condición humana de lo que lo hacen los modelos de diabetes inducida<sup>(103)</sup>.

### 1.3.1. Inducción Química de la Diabetes.

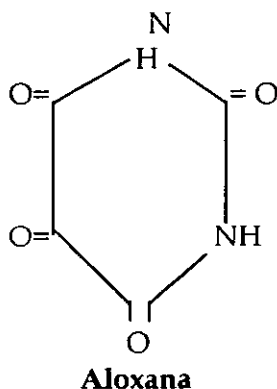
Los agentes químicos más utilizados en la inducción de diabetes por sus efectos citotóxicos irreversibles en las células  $\beta$  son la aloxana y la estreptozotocina.

#### 1.3.1.1. Aloxana.

##### 1.3.1.1.1. Fórmula y vida media.

La aloxana, un análogo del ciclo de la urea, fue el primer agente químico descrito con la capacidad de producir diabetes permanente en animales de laboratorio<sup>(106, 110)</sup> (figura 2).

Figura 2<sup>(112)</sup>



La aloxana tienen una vida media de 2.8 min. después de la administración intravenosa de 50 a 100 mg/kg. A los 10 minutos de administrada es casi

imposible detectarla en circulación. Es extremadamente inestable en soluciones acuosas a pH neutro<sup>(111)</sup>.

El efecto diabetogénico de la aloxana es rápido, evidenciado por una hipoglucemia aguda una hora posterior a la administración seguida de una franca hiperglucemia a las 48 horas<sup>(111)</sup>.

#### 1.3.1.1.2. Mecanismo de acción.

La aloxana causa diabetes destruyendo las células  $\beta$  de los islotes pancreáticos<sup>(113)</sup>. Su mecanismo de acción preciso no se conoce, aunque puede actuar tanto en la membrana como en el interior de la célula  $\beta$ <sup>(114, 115)</sup>. Sus efectos diabetogénicos se encuentran bloqueados tanto por los azúcares metabolizables o no metabolizables (D-glucosa y 3-O-metil- D-glucosa), lo que involucra a los transportadores de glucosa en la membrana, que comparten estos azúcares<sup>(115)</sup>. Una vez dentro de la célula  $\beta$ , la aloxana podría tener varios mecanismos de acción:

1. - Se ha visto que interactúa con hexocinasas, proteincinasas y ciertas enzimas esenciales para la función de las células  $\beta$ . La glucocinasa es particularmente sensible a la inhibición por aloxana; de hecho, las enzimas con grupos sulfidrilos son los primeros blancos de la aloxana y probablemente las causantes de la toxicidad celular<sup>(112, 111)</sup>. En animales como el cuyo en los que las células  $\beta$  no presentan zinc, la aloxana no produce diabetes, por lo que se ha propuesto que la interferencia con el metabolismo con este oligoelemento sea importante para su acción<sup>(116)</sup>.
2. - Otro mecanismo posible de acción es la producción de  $H_2O_2$ <sup>(113)</sup>. La aloxana es una molécula altamente reactiva que se reduce a ácido dialurónico que es posteriormente auto-oxidado nuevamente a aloxana, resultando en la producción de  $H_2O_2$ ,  $O_2$ ,  $O_2^-$  y radical hidroxilo<sup>(111)</sup>, lo que induce la fragmentación del DNA, tanto *in vivo* como *in vitro*. Esto origina que se estimule el sistema de reparación del DNA por la poli-ADP-ribosa sintetasa (polimerasa), enzima nuclear que necesita de NAD (nicotinamida adenin dinucleótido). El aumento en la actividad de esta enzima puede llevar a la depleción intracelular de NAD lo que en su caso puede alterar la habilidad de síntesis de insulina de la célula  $\beta$ . También se ha sugerido que la formación de radicales libres puede ser responsable del daño de las células  $\beta$ <sup>(112)</sup>.

La aloxana tiene especificidad citotóxica por las células  $\beta$  pancreáticas, dejando prácticamente sin afección al resto de las células del islote, sin embargo, presenta varios problemas:

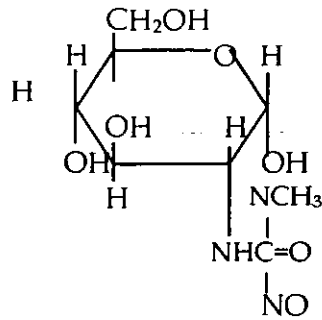
1. Es muy inestable a pH fisiológico<sup>(104, 112)</sup>. Esto la hace ser más efectiva cuando se aplica por vía intravenosa. Por vía intraperitoneal también puede inducir diabetes, aunque el éxito es menor<sup>(104)</sup>.
2. Los azúcares de la dieta tienen un poder protector para las células  $\beta$ <sup>(112, 116)</sup>.
3. La dosis necesaria varía dependiendo de la especie y la edad del animal. Hay especies que son más sensibles a la aloxana como los perros, ratas y ratones y otras en las que no tiene efecto como en el cuyo<sup>(116)</sup> y los pollos<sup>(117)</sup>. Aún en las especies sensibles, sólo la mitad de los animales tratados se hacen diabéticos<sup>(104)</sup>.
4. Se ha visto que las células  $\beta$  pancreáticas tienden a recuperarse en número y función a través del tiempo, lo que se ve reflejado en un aumento de los niveles sanguíneos de insulina, los cuales prácticamente se normalizan a los 20 días de inducción de la diabetes con aloxana en ratas<sup>(194)</sup>.
5. Dependiendo de la dosis, la aloxana puede producir daño severo en otros tejidos como el riñón<sup>(112)</sup>. Esta condición puede ser reversible, mientras que el daño a las células  $\beta$  es más duradero o incluso permanente. Ambos efectos son dosis dependiente, por lo que el ajustar la dosis para evitar el daño renal, limita la severidad y duración de la diabetes que induce<sup>(105)</sup>. La alta toxicidad de la aloxana produce una elevada mortalidad en las ratas<sup>(103, 118)</sup>.

### 1.3.1.2 Estreptozotocina.

#### 1.3.1.2.1. Fórmula y vida media.

La estreptozotocina (STZ) es un antibiótico de amplio espectro producido por el *Streptomyces achromogenes*. Es un análogo de la glucosa (2-deoxi-2-[3 metil-3-nitrosourea] 1-D-glucopyranosa) (figura 3) que ha sido ampliamente utilizado como agente antitumoral y diabetogénico, ya que presenta una citotoxicidad específica *in vivo* sobre las células  $\beta$  del páncreas sin afectar otros tejidos<sup>(98, 106, 113, 119, 120)</sup>.

Figura 3<sup>(112, 124)</sup>



Estreptozotocina

Tiene una vida media de 5 minutos y es eliminada de la circulación de 4 a 6 horas. Se ha demostrado que su efecto es severo y no reversible. La hiperglucemia que produce se considera como una forma específica sin cetogénesis ni elevación de ácidos grasos libres<sup>(98, 106, 113, 121)</sup>.

La STZ produce degeneración de los islotes de Langerhans. Histológicamente los islotes presentan disrupción y un marcado decremento o la completa ausencia de gránulos de secreción en las células  $\beta$ <sup>(122, 194)</sup>. A dosis bajas, puede ocasionar daño del DNA y provocar apoptosis de las células  $\beta$  del páncreas, mientras que en dosis mayores la forma predominante de muerte celular es la necrosis<sup>(119, 121)</sup>. Administrada *in vivo* a dosis de 40 mg/kg de peso por día en 5 días consecutivos causa apoptosis, mientras que a dosis única entre 100 y 200 mg/kg de peso provoca necrosis de las células  $\beta$ <sup>(119, 123)</sup>.

### 1.3.1.2.2. Mecanismo de acción.

Aún no se sabe con exactitud cual es el mecanismo de acción de la STZ, aunque se han propuesto varios y más bien podría ser una combinación de éstos. La STZ se une a las membranas de las células  $\beta$  del páncreas. El reconocimiento de la STZ se da por un receptor específico en la superficie de las células  $\beta$  -mayor afinidad por el anómero  $\alpha$  de la parte glucosamina- el transportador de glucosa 2 (GLUT2). Se ha visto que las células que expresan transportador de glucosa 1 (GLUT1) pero no GLUT2, no se afectan por esta sustancia<sup>(125)</sup>.

Una vez dentro de la célula, ejerce su acción por varias vías:

1. Generación de óxido nítrico (NO). Aunque el proceso metabólico preciso que lleva a la formación de NO no se conoce, puede involucrar a la degradación espontánea de la STZ<sup>(106, 187)</sup>. Parece ser que la generación de NO *in vivo*,



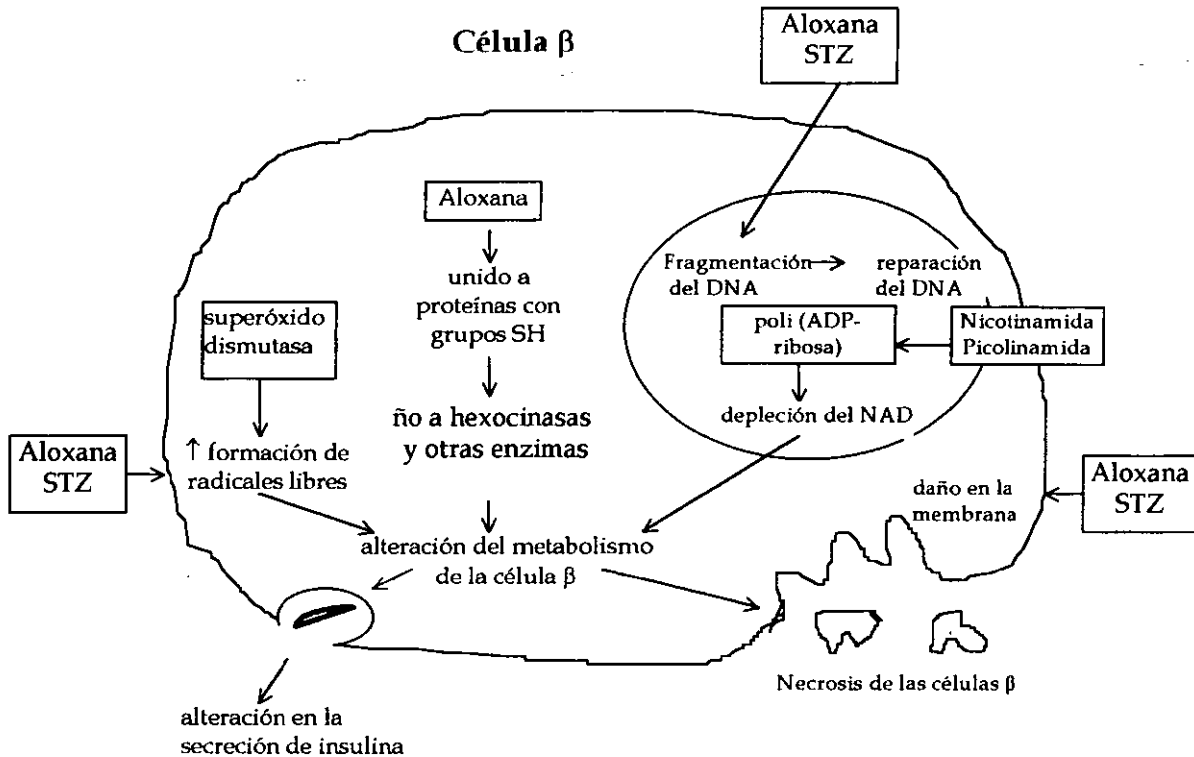
depende de la presencia de un pH ácido y temperatura elevada, generándose aún en la oscuridad<sup>(112)</sup>. Así mismo, se ha demostrado que los macrófagos activados -producto de la reacción inflamatoria- promueven la producción de NO mediando la destrucción autoinmune de las células  $\beta$  del páncreas, sin que se observe insulinitis <sup>(103, 106, 113, 116, 123, 126, 127, 128)</sup>.

2. Metilación.- El proceso de metilación causa la fragmentación del DNA<sup>(113, 129)</sup>. Durante su degradación, la STZ genera iones de carbono altamente reactivos ( $\text{CH}_3^+$ ) formados por la descomposición de la nitrosourea<sup>(106)</sup>. El  $\text{CH}_3^+$  tiene la capacidad de alquilar las bases del DNA, lo que produce la ruptura de sus puentes en varias posiciones<sup>(106)</sup>. Esto trae como consecuencia que -a bajas dosis- las células  $\beta$  activen la vía dependiente de p53, quedando en arresto celular en la fase  $G_1$ , permitiendo que el DNA dañado sea reparado por excisión -proceso de reparación que utiliza a la poli-ADP-ribosa-sintetasa. Cuando el daño es lo suficientemente severo para que el DNA no pueda ser reparado, estas células inician el proceso de apoptosis<sup>(123, 106)</sup>.
3. Energía celular. Se cree que la STZ es responsable del decremento del NAD<sup>-</sup> el cual es utilizado como sustrato por las enzimas nucleares<sup>-</sup>, interrumpiendo su síntesis y produciendo su hidrólisis por la activación de la poli-ADP-ribosa. La STZ produce un severo decremento de NAD a los 20 minutos de haber sido aplicada. Esto coincide con el tiempo de mayor fragmentación del DNA<sup>(113, 106)</sup>.
4. Radicales libres. Se ha visto que la STZ induce una acumulación de radicales superóxido e hidroxil que fragmentan una considerable cantidad de DNA después de siete minutos y la fragmentación casi total se observa después de veinte minutos<sup>(113)</sup>. Incluso se ha visto que la superóxido-dismutasa, tiene un efecto protector en las células  $\beta$  del páncreas, por lo que se ha concluido que el estrés oxidativo tiene importancia en la citotoxicidad de la STZ<sup>(113, 106)</sup>.

La explicación integral al daño que produce la STZ a las células  $\beta$  del páncreas reúne las hipótesis antes mencionadas. Según ésta, la STZ, a través de la producción de superóxido, generaría peroxinitrito, el cual se disociaría a NO y radicales hidroxilo, causando daño en las células  $\beta$ . Posteriormente el daño nuclear y mitocondrial se repararía por la activación de la poli-ADP-ribosa-sintetasa. Esta enzima utiliza NAD como sustrato y las concentraciones de éste decrecen a los 20 minutos de que se administra la STZ, por lo que el mecanismo no resulta lo suficientemente efectivo y la célula inicia un proceso apoptótico. Además, la administración crónica de bajas dosis de STZ produce una respuesta inflamatoria en la que existe migración de monocitos de la circulación que se

diferencian en macrófagos. Estas células fagocitan a las células  $\beta$  pancreáticas y liberan mediadores citoquímicos (NO). Posteriormente ocurre una infiltración linfocitaria<sup>(106)</sup> (figura 4).

Figura 4. Posible mecanismo de acción de la aloxana y la estreptozotocina en la célula  $\beta$ .



### 1.3.1.2.3. Vía de administración.

La STZ se puede administrar por vía intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intracardiaca e intramuscular (cuadro 10)<sup>(106)</sup>. La administración intravenosa, produce una hiperglucemia inmediata que dura aproximadamente 1 hora, seguida por un periodo de hipoglucemia – que dura aproximadamente 6 hrs – y puede ser el resultado de la liberación no controlada de insulina por las células  $\beta$  dañadas<sup>(113,106, 130)</sup>. La hiperglucemia estable se desarrolla a las 24 a 48 horas de la inducción y permanece de tres a cuatro veces más elevada que la normal junto con una disminución sérica de insulina de aproximadamente el 50% y reducción de insulina intrapancreática de por lo menos el 5%. Estos animales presentan depleción de insulina, aunque ésta no es absoluta, por lo que no requieren de insulina para sobrevivir<sup>(106)</sup>.

Actualmente STZ ha sustituido a la aloxana, debido a su alta especificidad característica sobre las células  $\beta$  del páncreas, produce una diabetes con carácter permanente, minimizando el daño sobre otros tejidos, lo que permite mayor sobrevida a los animales sin la administración de insulina<sup>(98, 113)</sup>.

**CUADRO 10. Dosis y vía de administración de la STZ.**

Vía	dosis (mg/kg)	peso (g)	cepa	glucosa (mmol/l)
i.v.	50	100-120	Sherman	16.5
i.v.	25-100	170-230	Wistar	varía
i.v.	25-85	150-250	Sprague-Dawley	varía
i.v.	30-100	150-200	Sprague-Dawley	varía
i.p.	40-60	350-450	Wistar	varía
i.p.	100	200	Sprague-Dawley	25.3
i.p.	35	260-270	Wistar	27.5
i.p.	100	180-220	Sprague-Dawley	>16.6
i.p.	70	140-160	Sprague-Dawley	23.9
i.p.	50	200-225	Sprague-Dawley	25.3
s.c.	40 dos veces	170-190	Sprague-Dawley	25
s.c.	40 dos veces			
i.c.	65	290-350	Sprague-Dawley	15.9
i.m.	20-120	100-300	Sprague-Dawley	varía

**Nota.** *i.v.* intravenoso, *i.p.* intraperitoneal, *s.c.* subcutáneo, *i.c.* intracardiaco, *i.m.* intramuscular.

A través de estos modelos, se han realizado importantes estudios que han contribuido al conocimiento de los probables mecanismos responsables de las alteraciones que presentan los hijos de madres diabéticas<sup>(103)</sup>.

#### **1.4. Alteraciones en la Reproducción de Ratas Diabéticas.**

La inducción de un estado hiperglucémico en animales utilizando diferentes sustancias ha permitido realizar una gran variedad de estudios, incluyendo el impacto de la diabetes sobre la reproducción y la fertilidad.

Al igual que en el humano, la diabetes en ratas tiene un efecto adverso sobre la reproducción<sup>(131)</sup>. Las ratas macho diabéticas presentan un gran número de manifestaciones similares a las que presentan los humanos. Existen alteraciones en la libido, la eyaculación y la espermatogénesis; disminución en la secreción de hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (FSH), prolactina (PRL) y testosterona (T), así como reducción en el peso del testículo. La respuesta hipofisiaria a la hormona liberadora de LH (LHRH) exógena no se afecta severamente por la diabetes, y algunos estudios han demostrado que las neuronas productoras de LHRH funcionan normalmente en machos diabéticos<sup>(33, 36, 132 -135, 196)</sup>. Se ha reportado disminución de los niveles de T circulante con

alteraciones morfológicas en las células de Leydig en ratas diabéticas. En ratas BB (diabéticas espontáneas), existe un decremento de la testosterona circulante, daños en el epitelio germinal y menor peso de la próstata y testículos después de 7 meses de vida<sup>(136)</sup>.

Las ratas hembras con diabetes inducida, presentan alteraciones en el ciclo estral y disminución de la fertilidad<sup>(32, 137)</sup>. El estro en estos animales ocurre en forma irregular y el intervalo se prolonga de cada 6 días en que ocurre normalmente a cada 9 ó 12 días y el animal presenta predominio de la fase de diestro. Cuando el estro ocurre, son capaces de aparearse, sin embargo debido a la larga duración del diestro y a la irregularidad del ciclo, el apareamiento se dificulta<sup>(118)</sup>. De hecho, muchos de los investigadores que estudian el impacto de la diabetes en la gestación tienen que utilizar insulina para controlar la hiperglucemia y poder aparear a las ratas diabéticas<sup>(138, 139, 140)</sup>.

La diabetes altera los patrones de ovulación o maduración del ovocito. La dificultad para ovular es ocasionada por una disminución de la hormona luteinizante (LH) preovulatoria, situación por la que se ha tenido que realizar hiperestimulación ovárica en algunos estudios<sup>(141)</sup>. Esta falta de secreción de LH hipofisiaria se ha correlacionado con una inadecuada secreción de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH)<sup>(142)</sup>. De hecho, ambas hormonas (GnRH hipotalámica y LH preovulatoria) se encuentran disminuidas en ratas diabéticas comparadas con ratas sanas<sup>(36, 142)</sup>. Otra causa puede ser la disminución en la sensibilidad de los ovarios a las hormonas hipofisiarias (LH y FSH) lo que ocasiona infertilidad en ratas diabéticas descontroladas<sup>(32, 141, 143)</sup>. Estas alteraciones dependen del tiempo de evolución y de lo severo de la diabetes<sup>(142)</sup>.

Se han observado índices de fertilidad bajos (probablemente por fertilización retrasada) y aumento en la incidencia de la interrupción del embarazo<sup>(141, 144)</sup>. Esto también puede deberse a que la diabetes materna altera a los mucopolisacáridos de la membrana celular del ovocito comprometiendo la fertilización o las divisiones subsecuentes<sup>(50)</sup>.

La diabetes durante la gestación no sólo afecta a la madre, sino también al producto en desarrollo. Provoca un incremento en el número de reabsorciones que son, en los roedores, el análogo de los abortos espontáneos y que representan la situación más severa del amplio espectro de alteraciones tempranas que ocasiona la diabetes materna. Es importante señalar que las reabsorciones reflejan la pérdida de embriones severamente malformados o multimalformados, debido

a un daño metabólico severo en la etapa postimplantación temprana, pero se desconoce el mecanismo que induce las reabsorciones <sup>(32, 145)</sup>.

Las ratas diabéticas no controladas durante la gestación, son incapaces de aumentar de peso como lo hacen las sanas, mantienen niveles de glucosa elevados, presentan glucosuria y sus hígados y riñones son más pesados<sup>(146)</sup>. Así mismo, estas ratas presentan gestaciones de 2 a 2.5 días más prolongadas que las sanas<sup>(131)</sup>. Las crías de ratas diabéticas se encuentran igualmente afectadas, lo cual se refleja en un menor número de crías por camada y en la reducción en la talla y peso al nacer<sup>(131, 138, 145)</sup>.

#### **1.4.1. Alteraciones en el desarrollo de las crías.**

Los estudios realizados en animales con diabetes experimental con estreptozotocina o aloxana, presentan un menor número de implantaciones, de fetos por camada, un mayor número de reabsorciones, retraso en el crecimiento, mayor frecuencia de malformaciones congénitas y un menor número de crías viables<sup>(138, 145, 147-151)</sup>.

Las anormalidades en el desarrollo se producen en las primeras etapas del mismo<sup>(169)</sup> siendo las más frecuentes el retraso en el crecimiento y las malformaciones congénitas. Los parámetros de tamaño (longitud céfalo-caudal, longitud cefálica, número de somitas) y el peso, se encuentran por abajo de lo reportado para embriones de ratas no diabéticas<sup>(152)</sup>. El mecanismo que da por resultado este retraso tampoco se conoce, pero se presenta en las primeras etapas del desarrollo y persiste hasta el final del mismo. Este retraso en el desarrollo contribuye al bajo peso de las crías de ratas diabéticas al nacer. Actualmente se sabe que el daño inicial ocurre en el macizo celular interno que es el que dará origen al embrión y se produce antes que inicie la organogénesis<sup>(153)</sup>.

La mayoría de los estudios realizados con relación a la embriopatía diabética se han enfocado al análisis de las anomalías congénitas discretas. Estos estudios revelaron inicialmente que era posible provocar anomalías en hijos de ratas con diabetes inducida sin predisposición genética, con lo que quedaba demostrado que era el factor metabólico y no el genético el que determinaba esta alteración<sup>(154)</sup>.

En las crías de ratas con diabetes inducida, se han reportado alteraciones como el retraso en el crecimiento y crías pequeñas para la edad gestacional, alteraciones semejantes a las encontradas en los humanos<sup>(145, 152)</sup>. Las principales alteraciones encontradas en ratas son: en el sistema nervioso central la anencefalia, microcefalia, espina bífida y espina bífida oculta; en el sistema

cardiaco la malrotación cardiaca; en el sistema músculo-esquelético la micrognatia, paladar hendido con o sin labio hendido, pie varo, costilla "ondulada", costilla bífida, costillas fusionadas, deformidad de las vértebras, falta de osificación de la columna lumbo-sacra, regresión caudal, craneosquisis, alteraciones en los somitas y hernia abdominal<sup>(54, 84, 145, 147, 152, 155-160)</sup> (cuadro 11).

**CUADRO 11. Alteraciones en las crías de ratas diabéticas.**

SISTEMA	ALTERACIÓN
Sistema Nervioso Central	<ul style="list-style-type: none"> <li>• anencefalia</li> <li>• microcefalia</li> <li>• espina bífida</li> <li>• espina bífida oculta</li> </ul>
Sistema Cardio-Vascular	<ul style="list-style-type: none"> <li>• malrotación cardiaca</li> </ul>
Sistema Músculo-Esquelético	<ul style="list-style-type: none"> <li>• micrognatia</li> <li>• paladar hendido (con o sin labio hendido)</li> <li>• pie varo</li> <li>• costilla "ondulada"</li> <li>• costilla bífida</li> <li>• costilla fusionada</li> <li>• deformidad de las vértebras</li> <li>• regresión caudal</li> <li>• craneosquisis</li> <li>• alteraciones en los somitas</li> <li>• hernias</li> </ul>
Otros	<ul style="list-style-type: none"> <li>• retraso en el crecimiento</li> <li>• peso bajo para edad gestacional</li> </ul>

La variedad de alteraciones en los productos de madres diabéticas abarcan prácticamente a todos los sistemas del organismo y no es posible identificar a una o a un grupo de malformaciones como propias de este síndrome. Esto se debe a que la diabetes materna afecta muy temprano en el desarrollo a las tres capas germinales de las que se derivan los diferentes órganos. Además, el daño que se produce no depende de un sólo factor (como podría ser la hiperglucemia), sino que es de origen multifactorial<sup>(91)</sup>. Hay que recordar que para que exista un efecto teratogénico, se debe combinar la presencia de un medio ambiente aberrante, con alteraciones en las mezclas metabólicas, un periodo gestacional crítico y un mínimo de exposición a los teratógenos<sup>(67)</sup>.

En ratas gestantes con un estricto control de la diabetes por medio de la administración de insulina, se observó una reducción en la embriofetalidad y en la incidencia de malformaciones congénitas; sin embargo, el estado hiperglucémico de la madre en etapas tempranas del desarrollo tiene efectos

irreversibles sobre las crías. Durante los estadios más tempranos del desarrollo en los que se realizan los eventos morfogenéticos más importantes, tales como la gastrulación, inducción del tubo neural y establecimiento de la simetría, es cuando se puede producir el mayor número de alteraciones quedando aún por estudiar los mecanismos que las determinan<sup>(145)</sup>. Actualmente se ha propuesto que el crecimiento fetal depende principalmente de la transferencia de nutrientes, lo cual está determinado por la eficiencia placentaria, el flujo sanguíneo uterino y el aporte de nutrientes, factores que son alterados por la diabetes materna<sup>(90)</sup>.

La diabetes materna también altera la secreción de insulina pancreática de los fetos y recién nacidos de las ratas diabéticas. En la diabetes moderada (glucemia entre 120 y 200 mg/dl), la glucemia fetal aumenta y disminuye el contenido pancreático de insulina y somatostatina. En la diabetes severa (glucemia >200mg/dl), el contenido pancreático de insulina y somatostatina se encuentra aumentado<sup>(131)</sup>. Algunos estudios demuestran que, los fetos de madres con diabetes severa presentan hiperglucemia y datos pancreáticos de hipersecreción de insulina. La histología pancreática fetal ha revelado que la hiperfunción de los islotes de Langerhans es proporcional a la severidad de la diabetes materna<sup>(148, 161)</sup>.

### **1.5. Repercusiones de la Diabetes Materna en la Vida Adulta de las Crías.**

El ambiente intrauterino anormal que causa la diabetes -aún la moderada- produce cambios morfológicos y funcionales en el desarrollo fetal con consecuencias para la vida posterior. A largo plazo, las hembras que se desarrollaron en un ambiente diabético, pueden desarrollar intolerancia a la glucosa y pueden presentar diabetes gestacional durante sus gestaciones<sup>(162)</sup>.

A pesar de que se ha establecido que la condición diabética de la madre altera la morfología y función de diferentes órganos y sistemas de los productos, existen pocos reportes respecto a la repercusión de la diabetes materna en el sistema reproductivo y su función en la vida adulta. Se ha reportado que el desarrollo del eje hipotálamo-hipófisis-gónada se encuentra retrasado en la progenie de las ratas con diabetes inducida con STZ. La sensibilidad de la hipófisis a LHRH estaba reducida y los niveles de LH se redujeron en 1.5 veces en la progenie adulta de ratas diabéticas comparadas con la progenie de ratas normales. Estos resultados permiten llegar a la conclusión de que la progenie de ratas con diabetes inducida con STZ desarrolla problemas en el mecanismo regulador del sistema reproductivo (eje hipotálamo-hipófisis-gónada), aunque el daño no es tan grave como para imposibilitar la función del mismo<sup>(163)</sup>.

Existen reportes sobre la alteración en el comportamiento de las crías recién nacidas de ratas diabéticas en comparación con las crías de ratas no diabéticas. Las crías de ratas diabéticas de 4 a 6 días de nacidas, emiten un mayor número de llamadas ultrasónicas que sus pares control; además, al explorar su medio, lo hacen con un olfateo disminuido y menor intensidad que las crías de ratas no diabéticas. En la vida adulta estas alteraciones del comportamiento se superan, no afectando ninguna actividad de estos animales<sup>(197)</sup>.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

La condición diabética materna provoca un ambiente intrauterino anormal que puede inducir alteraciones en el desarrollo temprano de los productos de ratas diabéticas, provocando gestaciones prolongadas, un menor número de productos por camada, un mayor número de reabsorciones, desarrollo y crecimiento retardado y malformaciones congénitas. Aunque éste último punto se mantiene en discusión<sup>(104)</sup>.

Se ha visto que la diabetes materna puede ejercer su efecto teratogénico desde la blastogénesis afectando a las tres capas blastodérmicas y como consecuencia la diferenciación de diversos órganos. El efecto sobre el mesodermo intermedio altera la diferenciación de los ovarios y de los testículos lo que consecuentemente provocará alteraciones en la gametogénesis, en la esteroidogénesis y en las funciones hormono-dependientes como el inicio de la madurez sexual y la fertilidad.

Se han realizado gran cantidad de estudios para determinar los mecanismos a través de los cuales la diabetes materna ejerce sus efectos sobre las crías, pero poco se ha estudiado sobre el impacto que tiene sobre la reproducción analizada desde la diferenciación gonadal hasta su repercusión en la vida reproductiva de las crías.

## **3. HIPÓTESIS.**

El efecto teratogénico de la condición diabética materna provocará alteraciones en el desarrollo embrionario de las crías lo que repercutirá en el inicio de la madurez sexual y la fertilidad.



Existen reportes sobre la alteración en el comportamiento de las crías recién nacidas de ratas diabéticas en comparación con las crías de ratas no diabéticas. Las crías de ratas diabéticas de 4 a 6 días de nacidas, emiten un mayor número de llamadas ultrasónicas que sus pares control; además, al explorar su medio, lo hacen con un olfateo disminuido y menor intensidad que las crías de ratas no diabéticas. En la vida adulta estas alteraciones del comportamiento se superan, no afectando ninguna actividad de estos animales<sup>(197)</sup>.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

La condición diabética materna provoca un ambiente intrauterino anormal que puede inducir alteraciones en el desarrollo temprano de los productos de ratas diabéticas, provocando gestaciones prolongadas, un menor número de productos por camada, un mayor número de reabsorciones, desarrollo y crecimiento retardado y malformaciones congénitas. Aunque éste último punto se mantiene en discusión<sup>(104)</sup>.

Se ha visto que la diabetes materna puede ejercer su efecto teratogénico desde la blastogénesis afectando a las tres capas blastodérmicas y como consecuencia la diferenciación de diversos órganos. El efecto sobre el mesodermo intermedio altera la diferenciación de los ovarios y de los testículos lo que consecuentemente provocará alteraciones en la gametogénesis, en la esteroidogénesis y en las funciones hormono-dependientes como el inicio de la madurez sexual y la fertilidad.

Se han realizado gran cantidad de estudios para determinar los mecanismos a través de los cuales la diabetes materna ejerce sus efectos sobre las crías, pero poco se ha estudiado sobre el impacto que tiene sobre la reproducción analizada desde la diferenciación gonadal hasta su repercusión en la vida reproductiva de las crías.

---

## **3. HIPÓTESIS.**

El efecto teratogénico de la condición diabética materna provocará alteraciones en el desarrollo embrionario de las crías lo que repercutirá en el inicio de la madurez sexual y la fertilidad.

Existen reportes sobre la alteración en el comportamiento de las crías recién nacidas de ratas diabéticas en comparación con las crías de ratas no diabéticas. Las crías de ratas diabéticas de 4 a 6 días de nacidas, emiten un mayor número de llamadas ultrasónicas que sus pares control; además, al explorar su medio, lo hacen con un olfateo disminuido y menor intensidad que las crías de ratas no diabéticas. En la vida adulta estas alteraciones del comportamiento se superan, no afectando ninguna actividad de estos animales<sup>(197)</sup>.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

La condición diabética materna provoca un ambiente intrauterino anormal que puede inducir alteraciones en el desarrollo temprano de los productos de ratas diabéticas, provocando gestaciones prolongadas, un menor número de productos por camada, un mayor número de reabsorciones, desarrollo y crecimiento retardado y malformaciones congénitas. Aunque éste último punto se mantiene en discusión<sup>(104)</sup>.

Se ha visto que la diabetes materna puede ejercer su efecto teratogénico desde la blastogénesis afectando a las tres capas blastodérmicas y como consecuencia la diferenciación de diversos órganos. El efecto sobre el mesodermo intermedio altera la diferenciación de los ovarios y de los testículos lo que consecuentemente provocará alteraciones en la gametogénesis, en la esteroidogénesis y en las funciones hormono-dependientes como el inicio de la madurez sexual y la fertilidad.

Se han realizado gran cantidad de estudios para determinar los mecanismos a través de los cuales la diabetes materna ejerce sus efectos sobre las crías, pero poco se ha estudiado sobre el impacto que tiene sobre la reproducción analizada desde la diferenciación gonadal hasta su repercusión en la vida reproductiva de las crías.

## **3. HIPÓTESIS.**

El efecto teratogénico de la condición diabética materna provocará alteraciones en el desarrollo embrionario de las crías lo que repercutirá en el inicio de la madurez sexual y la fertilidad.

## 4. OBJETIVOS.

### 4.1. Objetivo General.

Determinar el efecto de la condición diabética de la madre sobre el desarrollo, inicio de la madurez sexual y éxito reproductivo de las crías.

### 4.2. Objetivos Particulares.

◆ Determinar si la diabetes inducida con STZ provoca:

1. Descontrol metabólico de la madre (hiperglucemia, cetonuria, glucosuria)
2. Alteraciones en el peso de la madre durante la gestación
3. Gestación prolongada
4. Menor número de crías por camada
5. Retraso en el desarrollo de las crías
6. Disminución de la viabilidad
7. Menor sobrevivencia a 30 días
8. Incremento en la incidencia de malformaciones congénitas macroscópicas.
9. Retraso en el inicio de la madurez sexual.
10. Disminución del éxito reproductivo.

## 5. MATERIAL Y MÉTODOS.

Se utilizaron 99 ratas hembras Sprague Dawley con un peso entre 250 y 300 g. Se mantuvieron en condiciones de bioterio con temperatura controlada (22°-25°) y alternancia de luz/oscuridad (12/12), con acceso a agua y alimento *ad libitum*. Se aparearon con machos de la misma cepa de fertilidad comprobada colocándolas en relación de 3 hembras y 1 macho durante la noche. La presencia de tapón vaginal mucoso y/o espermatozoides a la mañana siguiente determinó éste como el día 1 de la gestación.

Las hembras gestantes se dividieron en cuatro lotes:

Lote experimental I (EI).-

19 ratas gestantes a las que el día 6 de la gestación se administró por vía intraperitoneal una dosis de 60 mg/kg de peso de estreptozotocina en amortiguador de acetatos 0.1M a pH 4.3. Se consideraron diabéticas aquellas cuyos niveles de glucosa fueron  $\geq 200$  mg/dl 48 horas después de la administración de STZ.

## 4. OBJETIVOS.

### 4.1. Objetivo General.

Determinar el efecto de la condición diabética de la madre sobre el desarrollo, inicio de la madurez sexual y éxito reproductivo de las crías.

### 4.2. Objetivos Particulares.

◆ Determinar si la diabetes inducida con STZ provoca:

1. Descontrol metabólico de la madre (hiperglucemia, cetonuria, glucosuria)
2. Alteraciones en el peso de la madre durante la gestación
3. Gestación prolongada
4. Menor número de crías por camada
5. Retraso en el desarrollo de las crías
6. Disminución de la viabilidad
7. Menor sobrevivencia a 30 días
8. Incremento en la incidencia de malformaciones congénitas macroscópicas.
9. Retraso en el inicio de la madurez sexual.
10. Disminución del éxito reproductivo.

## 5. MATERIAL Y MÉTODOS.

Se utilizaron 99 ratas hembras Sprague Dawley con un peso entre 250 y 300 g. Se mantuvieron en condiciones de bioterio con temperatura controlada (22°-25°) y alternancia de luz/oscuridad (12/12), con acceso a agua y alimento *ad libitum*. Se aparearon con machos de la misma cepa de fertilidad comprobada colocándolas en relación de 3 hembras y 1 macho durante la noche. La presencia de tapón vaginal mucoso y/o espermatozoides a la mañana siguiente determinó éste como el día 1 de la gestación.

Las hembras gestantes se dividieron en cuatro lotes:

Lote experimental I (EI).-

19 ratas gestantes a las que el día 6 de la gestación se administró por vía intraperitoneal una dosis de 60 mg/kg de peso de estreptozotocina en amortiguador de acetatos 0.1M a pH 4.3. Se consideraron diabéticas aquellas cuyos niveles de glucosa fueron  $\geq 200$  mg/dl 48 horas después de la administración de STZ.

Lote experimental II (EII).-

56 ratas gestantes a las que el día 6 de la gestación se administró por vía intraperitoneal una dosis de 50 mg/kg de peso de estreptozotocina en amortiguador de acetatos 0.1M a pH 4.3. Se consideraron diabéticas aquellas cuyos niveles de glucosa fueron  $\geq 200$  mg/dl 48 horas después de la administración de STZ.

Lote control I (CI).-

15 ratas gestantes a las que el día 6 de la gestación se les administró por vía intraperitoneal, el volumen determinado de acuerdo al peso corporal de amortiguador de acetatos 0.1M pH 4.3.

Lote control II (CII).-

9 ratas gestantes a las que el día 6 de la gestación se puncionaron con aguja del mismo calibre utilizado en los lotes anteriores.

A partir del día 1 de la gestación se les realizaron las siguientes determinaciones entre las 8 y 10 a.m.:

1. Peso corporal 2 veces por semana.
2. Determinación de glucosa sanguínea de la vena caudal 1 vez por semana (Glucómetro de Bayer con tiras reactivas de Glucotide).
3. Determinación de glucosuria 1 vez por semana (tiras reactivas Bayer "cetodiastix").
4. Determinación de cetonuria 1 vez por semana (tiras reactivas Bayer "cetodiastix").

Se dejó progresar la gestación hasta el parto espontáneo y se determinó:

1. Duración de la gestación.
2. Número de productos por camada.
3. Viabilidad.
4. Detección macroscópica de malformaciones.
5. Longitud coronilla-rabadilla.
6. Longitud cabeza.
7. Longitud cola.
8. Peso corporal <sup>(164)</sup>.

Las crías se mantuvieron con su madre hasta los 30 días (destete), periodo durante el cual a las madres se les siguió realizando las mismas determinaciones que durante la gestación. Éstas se sacrificaron después del destete obteniéndose la sangre total a través de la aorta. Se realizó la determinación de Hb glucosilada en sangre total y el resto de la muestra se centrifugó a 3000 r.p.m. en la centrífuga

Beckman GS-15R. Se separó el suero y congeló a  $-70^{\circ}\text{C}$  para la posterior determinación de glucosa, triglicéridos, colesterol (analizador Kodak Ektachem DT 60 II) e insulina (RIA).

Las crías se dividieron en 3 grupos: A, B, C y se les realizaron las siguientes determinaciones:

1. Peso corporal 2 veces por semana.
2. Longitud cabeza rabadilla, cabeza y cola dos veces a la semana.
3. Determinación de glucosa 1 vez por mes.
4. Determinación del inicio de la madurez sexual (hembras apertura de la vagina aproximadamente a los 35 días, machos, actividad sexual aproximadamente a los 65 días).

Grupo A- 7 crías de ratas EII (2 machos y 5 hembras), 18 crías de ratas CI (8 machos y 10 hembras) y 6 crías de ratas CII (6 hembras), se sacrificaron al mes de nacidos (30 días), obteniéndose el volumen total de sangre, la cual se centrifugó a 3,000 r.p.m. durante 10 minutos en una centrífuga Beckman GS-15R. Se separó el suero y se almacenó a  $-70^{\circ}\text{C}$  para la posterior determinación de glucosa, colesterol y triglicéridos.

Grupo B.- 20 crías de ratas EII (15 machos y 5 hembras), 19 productos de ratas CI (11 machos y 8 hembras) y 11 productos de ratas CII (6 machos y 5 hembras), se sacrificaron a los dos meses de nacidos (60 días) y se procesaron igual que el grupo A.

Grupo C.- 16 crías de ratas EI (9 machos y 7 hembras), 14 crías de ratas CI (6 machos y 8 hembras) y 6 crías de ratas CII (4 machos y 2 hembras), se aparearon con machos o hembras de fertilidad comprobada y se determinó el éxito de apareamiento<sup>(136)</sup>. Aquellas hembras que en 3 intentos sucesivos de apareamiento no quedaron gestantes se sacrificaron y se manejaron como el grupo A. Aquellas hembras que sí quedaron gestantes, se les permitió terminar su gestación hasta el parto espontáneo y se determinó:

1. Duración de la gestación.
2. Número de productos por camada.
3. Detección macroscópica de malformaciones.
4. Viabilidad.
5. Longitud coronilla-rabadilla.
6. Longitud cabeza.
7. Longitud cola.
8. Peso corporal de productos.

Los machos experimentales se sacrificaron o bien al dejar gestantes a las hembras sanas en estro, o después de tres apareamientos sucesivos, sin que las hembras quedaran gestantes. Se procesaron igual que el grupo A.

### 5.1. Análisis estadístico

Los resultados se expresan en promedios más/menos ( $\pm$ ) desviación estándar. El análisis estadístico que se utilizó fue la prueba F de Snedecoll conocida como prueba de análisis de varianza (ANDEVA), la cual consiste en la comparación de las diferencias cuadráticas (varianzas) entre e intragrupos. Se consideró significativa cuando el valor de  $p \leq 0.05$ . Para la comparación específica de los grupos, se realizó una postprueba de Tukey.

### 5.2. Descripción de Técnicas.

Las determinaciones de parámetros bioquímicos se realizan por química seca en el analizador Kodak Ektachem DT 60 II.

**Glucosa.-** reacción en la que la glucosa de la muestra reacciona con el oxígeno en presencia de glucosa oxidasa.

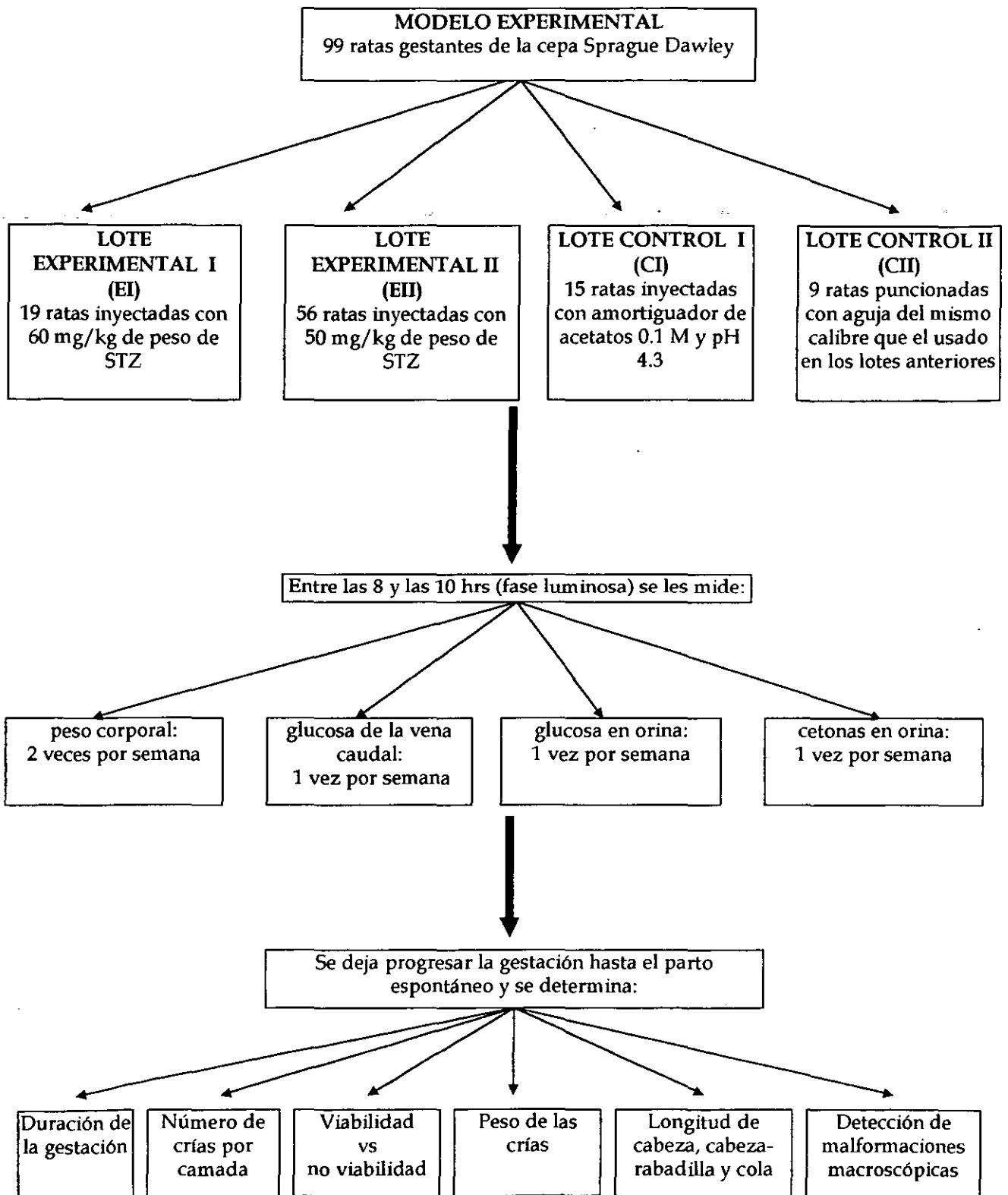
**Triglicéridos.-** separación de los triglicéridos de los acarreadores lipoprotéicos, los triglicéridos son hidrolizados por una lipasa y se retiran los residuos de ácido ascórbico con ascorbato oxidasa.

**Colesterol.-** el colesterol se disocia de los acarreadores de lipoproteínas. Los ésteres de colesterol se hidrolizan a colesterol libre que se oxida con colesterol oxidasa. La reacción final produce color a través de la cual se calcula la cantidad de colesterol presente.

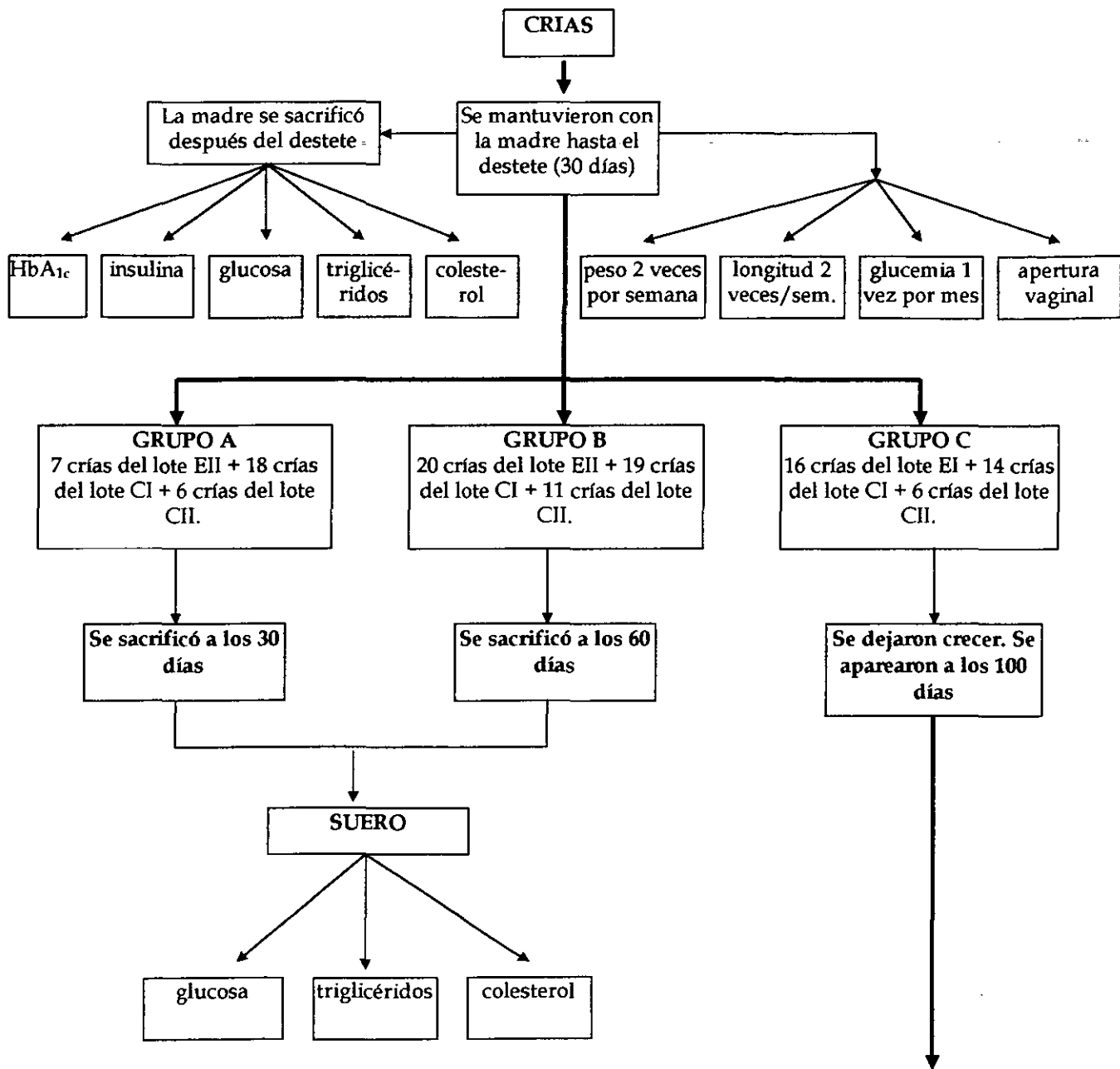
Las determinaciones de **insulina** se realizaron por RIA. Se utilizaron estuches comerciales CIS Bio International. Todos los análisis se realizaron de acuerdo al protocolo proporcionado por los fabricantes en la Unidad Médica en Endocrinología I.M.S.S.

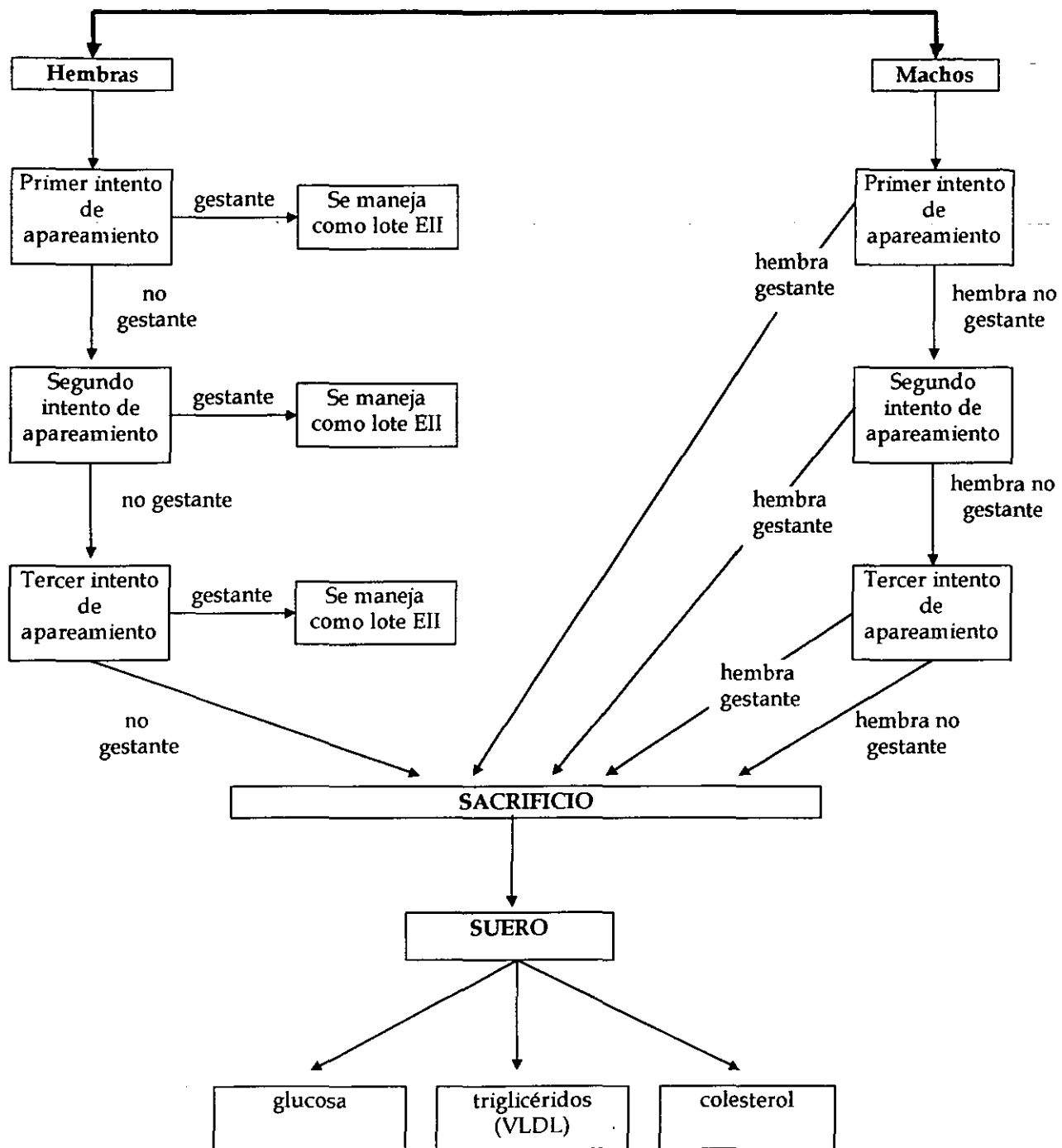
La determinación de **hemoglobina glucosilada** se realizó en el DCA 2000 de Bayer. En este análisis se determinan las concentraciones de HbA<sub>1c</sub>, la concentración de Hb total y la relación entre ambas, que se informa como porcentaje de HbA<sub>1c</sub>. Para la determinación de Hb total, se usa ferricianuro potásico, el cual oxida la Hb de la muestra a metahemoglobina. La metahemoglobina forma entonces un complejo con el tiocianato, formándose tiocianmetahemoglobina, que es la que se mide. Para la medida específica de la HbA<sub>1c</sub> se utiliza la inhibición de la aglutinación de partículas de látex, recubiertas con un anticuerpo monoclonal de ratón, específico para HbA<sub>1c</sub>.

### 5.3. Diagrama de Flujo.









## 6. RESULTADOS.

### 6.1. Niveles de Glucosa en Sangre.

Las ratas de los lotes experimentales que presentaron glucemias < 200 mg/dl a las 48 horas de la inducción, fueron eliminadas del estudio. Esto nos indica la efectividad de la STZ para inducir diabetes a diferentes dosis.

De las ratas del lote EI el 37.57% se eliminaron del estudio, mientras que del lote EII el 42.11% se eliminaron del estudio. La diferencia entre estos dos grupos no es significativa ( $p=0.917$ ) (tabla 1, gráfica 1)

De los lotes CI y CII, todas las ratas presentaron glucemias menores de los 200 mg/dl.

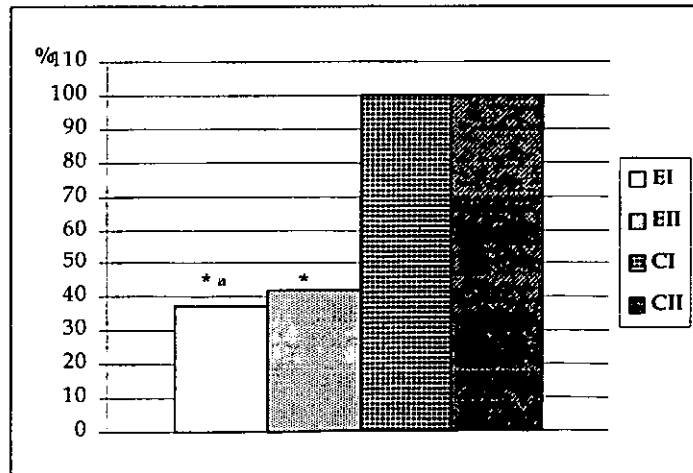
Los lotes EI y EII presentan una diferencia significativa al compararlos con los lotes CI y CII (EI vs CI  $p<0.001$ ; EI vs CII  $p<0.001$ , EII vs CI  $p<0.001$ , EII vs CII  $p<0.001$ ).

Tabla 1. Porcentaje de ratas con glucemias <200 mg/dl

	glucosa < 200 (%)
EI (n=19)	37.57* <sup>a</sup>
EII (n=56)	42.11*
CI (n=15)	100
CII (n=9)	100

Datos expresados en porcentaje. \* $p<0.001$  vs CI/CII.. <sup>a</sup> $p$ =no significativa vs EII.

GRÁFICA 1. Porcentaje de ratas con glucemias < 200 mg/dl



\* $p<0.001$  vs CI/CII.. <sup>a</sup> $p$ =no significativa vs EII.

## 6.2. Mortalidad.

Del lote EI el 31.57% de las ratas fallecieron. En el lote EII la mortalidad fue del 7.27%. Esta diferencia es significativa con un valor de  $p < 0.001$ .

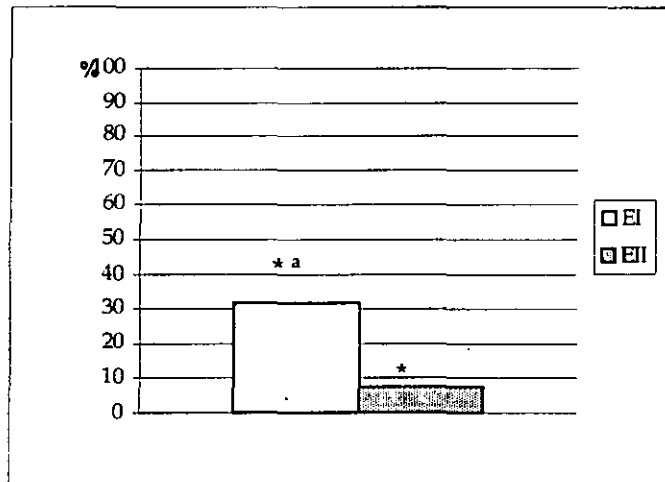
En los lotes CI y CII la mortalidad fue nula. Al comparar a los lotes experimentales con los controles, la diferencia es significativa en cuanto al porcentaje de mortalidad ( $p < 0.001$  respectivamente)(tabla 2, gráfica 2).

Tabla 2. Porcentaje de mortalidad durante el estudio

LOTE	% de ratas que mueren
EI (n=13)	31.57 <sup>*a</sup>
EII (n=32)	7.27 <sup>*</sup>
CI (n=15)	0
CII (n=9)	0

\*  $p < 0.001$  vs CI/CII. <sup>a</sup> $p < 0.001$  vs EII.

GRÁFICA 2. Porcentaje de ratas que mueren durante el estudio



\*  $p < 0.001$  vs CI/CII. <sup>a</sup> $p < 0.001$  vs EII.

## 6.3. Peso.

Las ratas del lote EI disminuyeron de peso durante de la gestación: peso inicial ( $P_i$ ) =  $281.42 \pm 29.14$ , peso día 22 ( $P_{22}$ ) =  $250.2 \pm 13.17$  y peso final ( $P_f$ ) =  $253.8 \pm 19.96$

Las ratas del lote EII aumentaron de peso durante la gestación; alcanzando un pico máximo el día 22, justo antes del parto, para disminuir por debajo de los niveles iniciales después del parto ( $P_i$  =  $273.41 \pm 27.28$ ;  $P_{22}$  =  $327.38 \pm 70.63$ ;  $P_f$  =  $258.74 \pm 46.69$ ). La diferencia en pesos entre el lote EI y el EII, no es significativa

el día 22 de gestación ( $p = 0.076$ ).

Los grupos CI y CII, aumentaron en forma constante de peso durante la gestación, con un  $P_i = 266.4 \pm 15.48$  y  $258.11 \pm 19.34$ ;  $P_{22} = 364.62 \pm 60.76$  y  $395.75 \pm 38.21$  y  $P_f = 320.25 \pm 18.52$  y  $302.5 \pm 25.15$  respectivamente. La diferencia entre estos lotes no es significativa ( $p = 0.975$ ).

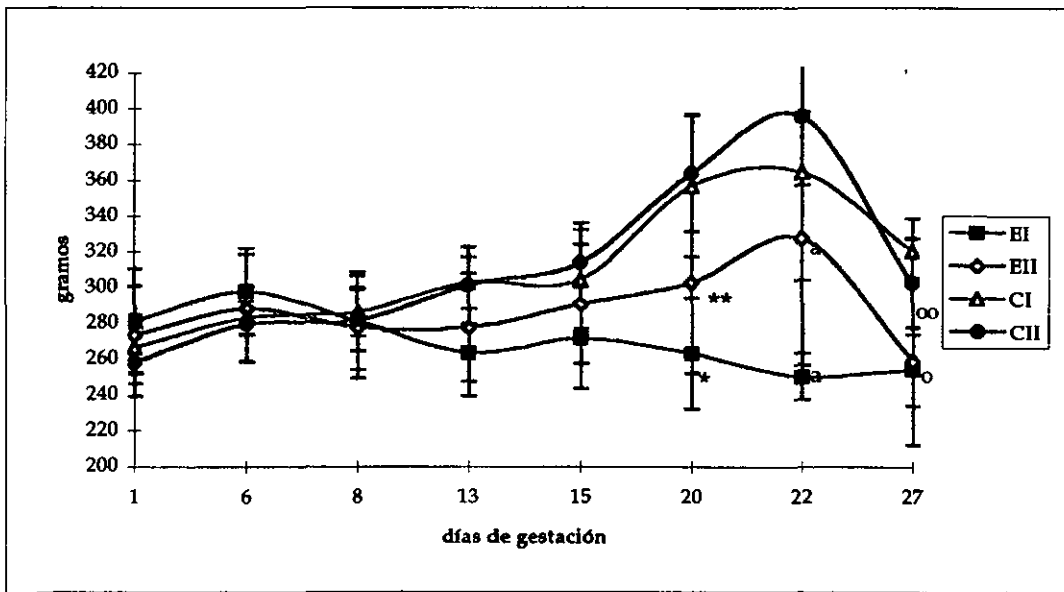
La diferencia entre el lote EI vs CI y EI vs CII es significativa con un valor de  $p < 0.001$  para ambos lotes. La diferencia entre EII vs CI y EII vs CII también es significativa con un valor de  $p < 0.001$  para ambos lotes (tabla 3 y gráfica 3).

Tabla 3. Pesos de las ratas en diferentes días de la gestación

LOTE	DÍA 1 (g)	DÍA 6 (g)	DÍA 8 (g)	DÍA 13 (g)	DÍA 15 (g)	DÍA 20 (g)	DÍA 22 (g)	DÍA 27 (g)
EI (n=6)	281.42 ± 29.14	297.58 ± 24.33	281.11 ± 27.19	263.33 ± 24.44	271.67 ± 28.30	263 ± 31.11*	250.2 ± 13.17 <sup>a</sup>	253.8 ± 19.96 <sup>o</sup>
EII (n=29)	273.41 ± 27.28	288.4 ± 30.01	277.63 ± 28.48	277.63 ± 30.25	290.68 ± 33.28	302.48 ± 50.67**	327.38 ± 70.63 <sup>a</sup>	258.74 ± 46.69 <sup>oo</sup>
CI (n=15)	266.4 ± 15.48	283.07 ± 9.14	286.27 ± 13.57	302.4 ± 14.39	304.4 ± 27.65	356.6 ± 39.48	364.62 ± 60.76	320.25 ± 18.52
CII (n=9)	258.11 ± 19.34	279.44 ± 20.55	281.56 ± 17.26	301.11 ± 21.55	313.88 ± 22.48	364 ± 32.67	395.75 ± 38.21	302.5 ± 25.15

Los valores se expresan en promedio ± DE. \* $p = 0.003$  vs CI;  $p < 0.001$  vs CII. \*\* $p = 0.003$  vs CI,  $p = 0.032$  vs CII. <sup>a</sup> $p < 0.001$  vs CI/ CII. <sup>o</sup> $p < 0.001$  vs CI,  $p = 0.016$  vs CII. <sup>oo</sup> $p < 0.001$  vs CI,  $p = 0.003$  vs CII.

GRÁFICA 3. Curva de pesos durante la gestación



Los valores se expresan en promedio ± DE. \* $p = 0.003$  vs CI;  $p < 0.001$  vs CII. \*\* $p = 0.003$  vs CI,  $p = 0.032$  vs CII. <sup>a</sup> $p < 0.001$  vs CI/ CII. <sup>o</sup> $p < 0.001$  vs CI,  $p = 0.016$  vs CII. <sup>oo</sup> $p < 0.001$  vs CI,  $p = 0.003$  vs CII.

#### 6.4. Niveles de Glucosa en Sangre Durante la Gestación.

La curva de glucemias durante la gestación se muestra en la tabla 4 y en la gráfica 4. Las ratas de los lotes EI y EII mantuvieron durante toda la gestación glucemias con niveles superiores a 200 mg/dl, que incluso se elevaron en función del tiempo.

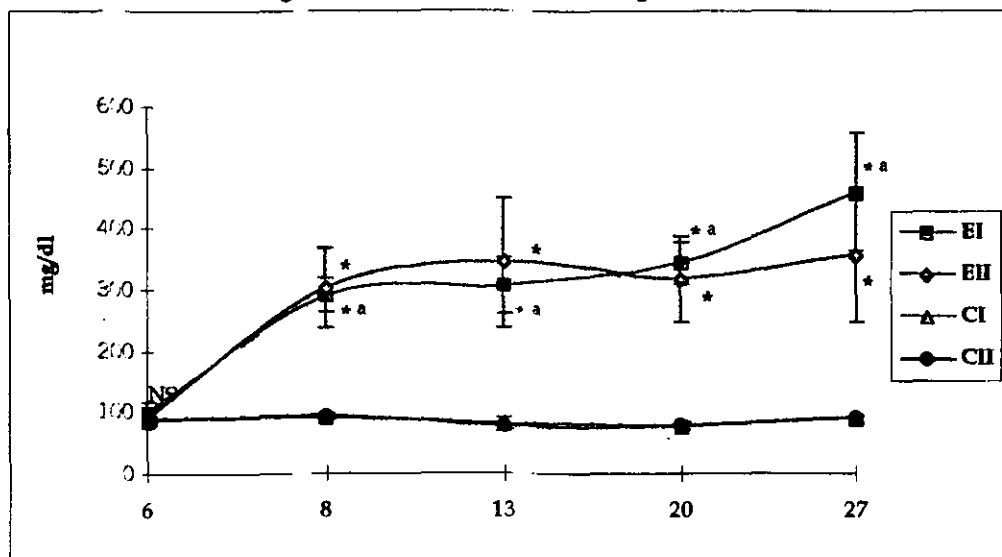
A partir del día 8, la diferencia entre EI vs CI, EI vs CII; EII vs CI y EII vs CII es significativa con un valor de  $p < 0.001$ .

**TABLA 4. Glucemias durante la gestación y después del parto**

LOTE	día 6 (mg/dl)	día 8 (mg/dl)	día 13 (mg/dl)	día 20 (mg/dl)	día 27 (mg/dl)
EI (n=6)	98 ± 16 <sup>NS</sup>	291.75 ± 29.03 <sup>aa</sup>	306.2 ± 45.5 <sup>aa</sup>	340.8 ± 33.39 <sup>aa</sup>	457 ± 95.79 <sup>aa</sup>
EII (n=29)	87.61 ± 11.5 <sup>NS</sup>	303.12 ± 64.61 <sup>*</sup>	344.47 ± 105.5 <sup>*</sup>	314.79 ± 71.6 <sup>*</sup>	355.43 ± 109.6 <sup>*</sup>
CI (n=15)	85.36 ± 6.82	91.4 ± 5.79	80.47 ± 10.49	76.2 ± 9.39	87.375 ± 4.47
CII (n=9)	88.78 ± 6.63	93.78 ± 4.71	78.11 ± 4.99	78.44 ± 5.08	90.67 ± 4.46

Datos expresados en promedios ± DE. \* $p < 0.001$  vs CI/CII. <sup>a</sup> $p$ =no significativa vs EII. <sup>NS</sup> $p$ =no significativa vs CI/CII

**GRÁFICA 4. Curva de glucosa en sangre durante la gestación**



Datos expresados en promedios ± DE. \* $p < 0.001$  vs CI/CII. <sup>a</sup> $p$ =no significativa vs EII. <sup>NS</sup> $p$ =no significativa vs CI/CII

#### 6.5. Niveles de Glucosa en Orina.

Los niveles de glucosa en orina (glucosuria) en las ratas del lote EI alcanzaron un nivel promedio de 793.75 ± 545.4 mg/dl el día 13; 1,200 ± 758.28 mg/dl el día 20, hasta llegar a 2,000 mg/dl el día 27.

Las ratas del lote EII presentaron  $1,363.5 \pm 867.3$  mg/dl de glucosuria el día 13;  $1,417.3 \pm 737.3$  mg/dl el día 20 y  $1,763.15 \pm 631.76$  mg/dl el día 27. Los niveles de glucosuria de las ratas del lote EI no presentan diferencia significativa que los del lote EII.

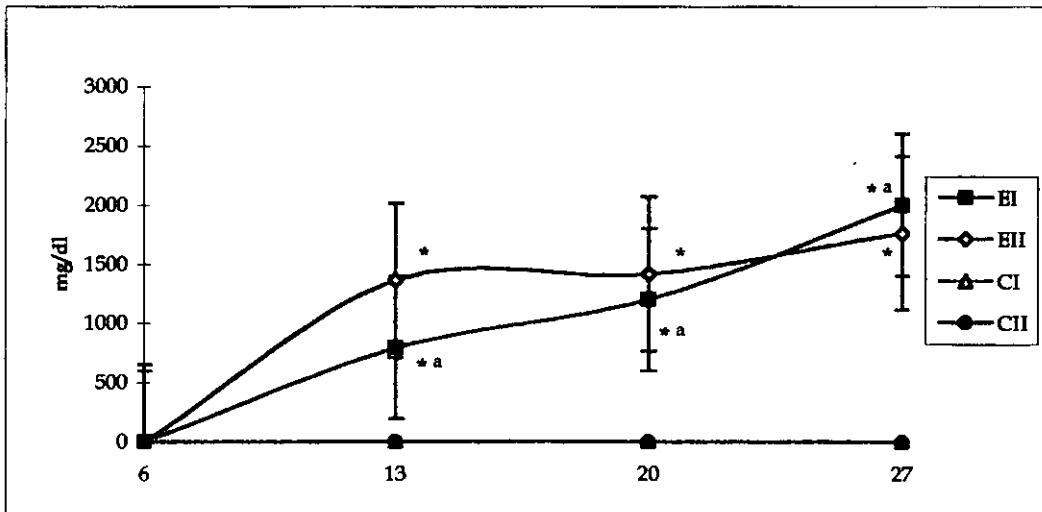
Las ratas del lote CI y CII, no presentaron glucosa en orina durante la gestación. La diferencia de los niveles de glucosuria en los lotes EI vs CI y CII y EII vs CI y CII es significativa con valores de  $p < 0.001$  (tabla 5, gráfica 5).

**Tabla 5. Niveles de glucosuria durante la gestación**

LOTE	día 6 (mg/dl)	día 13 (mg/dl)	día 20 (mg/dl)	día 27 (mg/dl)
EI (n=6)	0	$793.75 \pm 545.4^{*a}$	$1200 \pm 758.28^{*a}$	$2000 \pm 500^{*a}$
EII (n=29)	0	$1362.5 \pm 867.3^*$	$1417.3 \pm 737.3$	$1763.16 \pm 631.76^*$
CI (n=15)	0	0	0	0
CII (n=9)	0	0	0	0

Datos expresados en promedio  $\pm$  DE. \* $p < 0.001$  vs CI/CII, <sup>a</sup> $p =$  no significativa vs EII.

**GRÁFICA 5. Niveles de glucosa en orina durante la gestación.**



Datos expresados en promedio  $\pm$  DE. \* $p < 0.001$  vs CI/CII, <sup>a</sup> $p =$  no significativa vs EII.

### 6.6. Niveles de Cetonas en Orina.

El lote EI presentó un aumento en la concentración de cetonas en orina durante la primera mitad de la gestación llegando hasta  $141.88 \pm 51.27$  mg/dl, disminuyendo paulatinamente hasta llegar a niveles promedio de  $3 \pm 6.71$  mg/dl hacia el día 27 de la gestación.

El lote EII presentó una elevación moderada de las cetonas en orina

durante la primera mitad de la gestación, llegando a un pico máximo promedio de  $22.92 \pm 49.26$  mg/dl el día 20, para disminuir después del parto hasta llegar a niveles promedio de  $2.90 \pm 9.62$  mg/dl. La diferencia entre los niveles de cetonas del lote EI es significativamente mayor comparada con el lote EII el día 13 ( $p < 0.001$ ) y el día 20 ( $p = 0.009$ ).

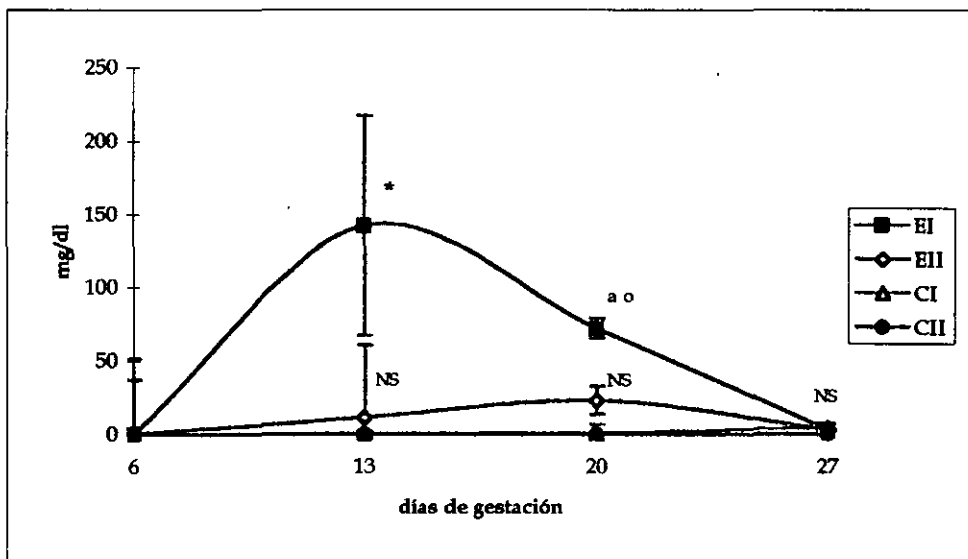
Los lotes CI y CII presentaron ligeras elevaciones de cetonas en orina al final de la gestación. La elevación de las cetonas durante la gestación de los lotes EI vs CI/CII, es significativa con un valor de  $p < 0.001$ . La comparación de los niveles de cetonas del lote EII no presentan diferencia significativa al compararla con CI y CII con un valor de  $p = 0.399$  y  $p = 0.491$  respectivamente (tabla 6, gráfica 6).

**TABLA 6. Niveles de cetonas en orina durante la gestación**

LOTE	día 6 (mg/dl)	día 13 (mg/dl)	día 20 (mg/dl)	día 27 (mg/dl)
EI (n=6)	0	$141.88 \pm 51.27^*$	$72.0 \pm 81.98^{ao}$	$3 \pm 6.71^{NS}$
EII (n=29)	0	$11.13 \pm 36.97^{NS}$	$22.92 \pm 49.26^{NS}$	$2.90 \pm 9.62^{NS}$
CI (n=15)	0	0	$0.77 \pm 1.88$	$4.38 \pm 5.63$
CII (n=9)	0	0	0	0

Datos expresados en promedio  $\pm$  DE. \* $p < 0.001$  vs EII, CI y CII, <sup>a</sup> $p < 0.001$  vs CI/CII <sup>o</sup> $p = 0.009$  vs EII, <sup>NS</sup> $p =$ no significativa vs EII, CI y CII.

**GRÁFICA 6. Curva de cetonas en orina durante la gestación**



Datos expresados en promedio  $\pm$  DE. \* $p < 0.001$  vs EII, CI y CII, <sup>a</sup> $p < 0.001$  vs CI/CII <sup>o</sup> $p = 0.009$  vs EII, <sup>NS</sup> $p =$ no significativa vs EII, CI y CII.



## **6.7. Química Sanguínea.**

### **6.7.1. Glucosa.**

El día del sacrificio, la glucosa en sangre periférica del lote EI fue de  $531.0 \pm 127.69$  mg/dl y del lote EII fue de  $460.27 \pm 162.3$  mg/dl, que no representa diferencia significativa ( $p= 0.59$ ). La glucosa en sangre periférica del lote CI fue de  $104 \pm 25.73$  mg/dl y del lote CII fue de  $96 \pm 32.45$  mg/dl, tampoco representa diferencia significativa ( $p=0.999$ ) entre ellos, aunque sí al compararlos con EI y EII (EI vs CI  $p<0.001$ , EI vs CII  $p<0.001$ , EII vs CI  $p<0.001$ , EII vs CII  $p<0.001$ ). (tabla 7, gráfica 7a)

### **6.7.2. Colesterol.**

Los niveles promedio de colesterol del lote EI el día de sacrificio fueron de  $74.50 \pm 24.08$  mg/dl. El lote EII tuvo en promedio  $66.16 \pm 20.17$  mg/dl. Siendo la diferencia no significativa ( $p= 0.772$ ). Los niveles de las ratas del lote CI fue de  $60.36 \pm 16.21$  mg/dl y del lote CII de  $46.88 \pm 18.72$  mg/dl, lo que no representa diferencia significativa ( $p= 0.377$ ).

Las ratas del lote EI presentaron niveles de colesterol ligeramente más elevados que las del lote CI, esta elevación no es significativa ( $p=0.451$ ), al compararlos con los del lote CII, la diferencia se encuentra en el límite de significancia ( $p=0.045$ ). Las ratas del lote EII no muestran diferencia significativa con las del lote CI ( $p=0.796$ ) ni con las del lote CII ( $p=0.056$ ). (tabla 7, gráfica 7a)

### **6.7.3. Triglicéridos.**

Los niveles de triglicéridos de las ratas del lote EI el día del sacrificio fueron de  $307.33 \pm 213.46$  mg/dl y los del lote EII fueron de  $157.58 \pm 114.11$ , lo que representa una diferencia significativa con un valor de  $p=0.014$ .

Los niveles de triglicéridos de las ratas del lote CI fueron de  $124.93 \pm 29.02$  mg/dl y los del lote CII fueron de  $72.78 \pm 28.87$  mg/dl, que no representa diferencia significativa entre ellos ( $p=0.661$ ).

La diferencia entre las ratas del lote EI con las del lote CI es significativa con un valor de  $p=0.005$ ; la diferencia entre EI con CII también es significativa con un valor de  $p=0.001$ .

Las ratas del lote EII no presentan diferencia significativa de niveles de triglicéridos con las ratas del lote CI ( $p=0.781$ ) ni con las del lote CII ( $p=0.169$ ). (tabla 7, gráfica 7a)

### **6.7.4. Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)**

Las lipoproteínas de muy baja densidad, se calculan en base a los niveles de triglicéridos, por lo que se comportan de manera similar a éstos. El lote EI presentó  $61.67 \pm 42.73$  mg/dl, el lote EII presentó  $31.48 \pm 22.85$  que representa

diferencia significativa ( $p=0.013$ ). El lote CI tuvo  $25 \pm 5.79$  mg/dl y el CII  $14.67 \pm 5.66$  mg/dl lo que no es significativo ( $p=0.669$ ). La comparación de EI con CI y CII es significativa ( $p=0.005$ ,  $p=0.001$  respectivamente). La comparación de EII con CI y CII no es significativa ( $p=0.786$ ,  $p=0.176$  respectivamente) (tabla 7, gráfica 7a).

### 6.7.5. Hemoglobina glucosilada.

El porcentaje de HbA<sub>1c</sub> del lote EI fue de  $6.23 \pm 0.68$  % y el del lote EII fue de  $7.96 \pm 1.9$  %, lo que no representa diferencia significativa ( $p=0.186$ ). El porcentaje de HbA<sub>1c</sub> del lote CI fue de  $3.64 \pm 0.43$  % y el del lote CII fue de  $3.49 \pm 0.31$  % lo que no representa diferencia significativa ( $p=0.994$ ). El lote EI al compararlo con CI sí presenta diferencia significativa con un valor de  $p=0.024$  y con CII también con una  $p=0.025$ . La comparación entre EII y CI también es significativa con un valor de  $p<0.001$ , al igual que con CII con un valor de  $p<0.001$  (tabla 7, gráfica 7b).

### 6.7.6. Insulina.

Las ratas del lote EI, presentaron un promedio de insulina de  $11.11 \pm 3.10$   $\mu$ UI, mientras que las ratas del lote EII tuvieron un promedio de  $17.85 \pm 5.35$   $\mu$ UI. La diferencia entre estos dos lotes es significativa ( $p=0.004$ ).

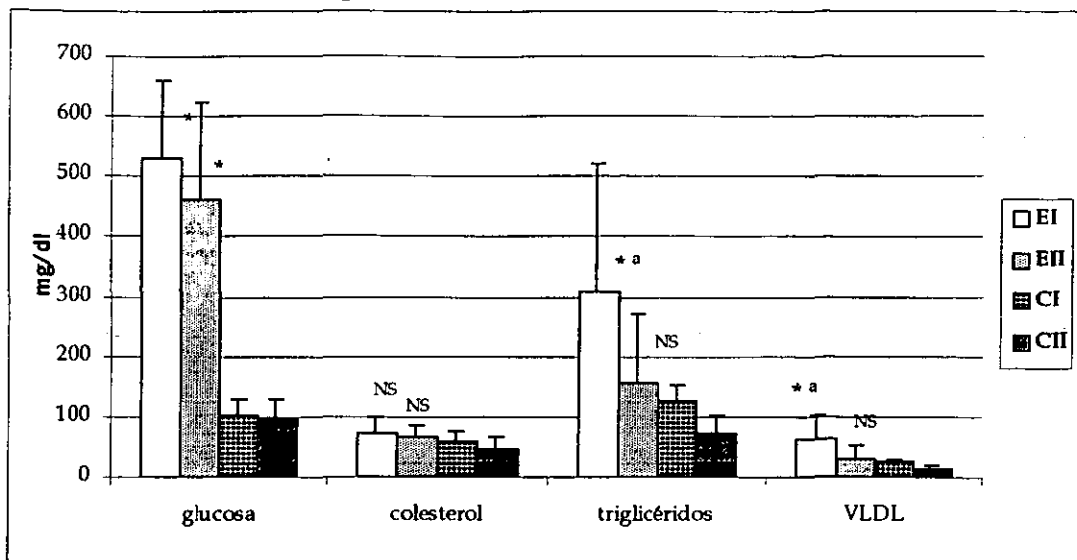
Las ratas del lote CI presentaron un promedio de insulina de  $18.11 \pm 5.4$   $\mu$ UI mientras que las ratas del lote CII tuvieron  $17.55 \pm 4.8$   $\mu$ UI. La diferencia entre estos dos lotes no es significativa ( $p=0.993$ ). La diferencia entre los lotes CI y CII con el lote EI sí es significativa (EI y CI  $p=0.007$ ; EI y CII  $p=0.018$ ). La diferencia del lote EII con CI y CII no es significativa (EII y CI  $p=0.878$ ; EII y CII  $p=0.980$ ) (Tabla 7, gráfica 7c).

Tabla 7. Química sanguínea de las ratas del lote EI, EII, CI y CII el día del sacrificio.

LOTE	glucosa (mg/dl)	colesterol (mg/dl)	triglicéridos (mg/dl)	VLDL (mg/dl)	HbA <sub>1c</sub> (%)	Insulina $\mu$ U/dl
EI (n=6)	$531 \pm 127.69^*$	$74.5 \pm 24.08^{NS}$	$307.33 \pm 213.46^{*a}$	$61.67 \pm 42.73^{*a}$	$6.23 \pm 0.68^*$	$11.11 \pm 3.10^{*o}$
EII (n=29)	$460.27 \pm 162.3^*$	$66.16 \pm 20.17^{NS}$	$157.58 \pm 114.11^{NS}$	$31.48 \pm 22.85^{NS}$	$7.96 \pm 1.9^*$	$17.85 \pm 5.35^{NS}$
CI (n=15)	$104 \pm 25.73$	$60.36 \pm 16.21$	$124.93 \pm 29.02$	$25 \pm 5.79$	$3.64 \pm 0.43$	$18.11 \pm 5.4$
CII (n=9)	$96 \pm 32.45$	$46.88 \pm 18.72$	$72.78 \pm 28.87$	$14.67 \pm 5.66$	$3.49 \pm 0.31$	$17.55 \pm 4.8$

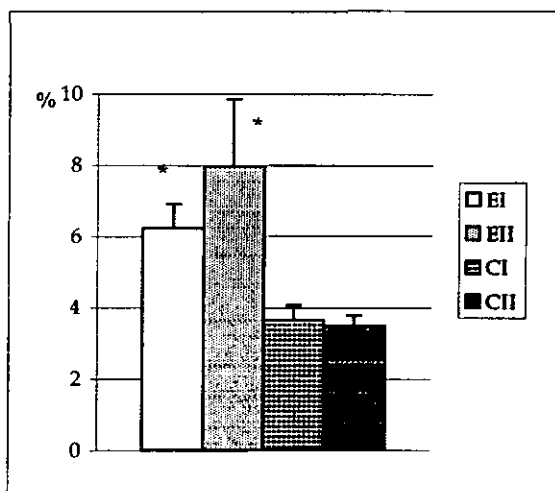
Datos expresados en promedio  $\pm$  DE. <sup>\*</sup> $p<0.01$  vs CI/CII, <sup>a</sup> $p=0.014$  vs EII, <sup>o</sup> $p=0.004$  vs EII, <sup>NS</sup> $p=$  no significativa vs CI/CII

GRÁFICA 7a. Química sanguínea el día del sacrificio.



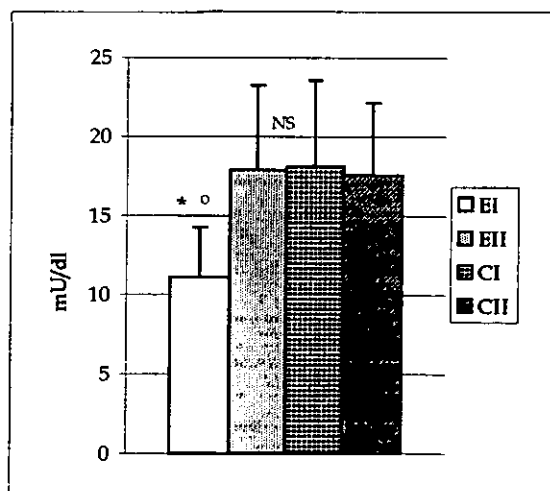
\* $p < 0.01$  vs CI/CII, <sup>a</sup> $p = 0.014$  vs EII, <sup>NS</sup> $p =$  no significativa vs CI/CII

GRÁFICA 7b. Niveles de HbA1c



\* $p < 0.001$  vs CI/CII

GRÁFICA 7c. Niveles de insulina



\* $p < 0.01$  vs CI/CII, <sup>o</sup> $p = 0.004$  vs EII; <sup>NS</sup> $p =$  no significativa vs CI/CII

### 6.8. Mantenimiento de la Gestación.

Las ratas del lote EI fueron incapaces de mantener la gestación hasta el parto espontáneo. El 23.64% de las ratas del lote EII presentaron parto espontáneo. La diferencia fue significativa ( $p = 0.004$ ). La diferencia de EI vs CI/CII fue significativa ( $p < 0.001$ )

El 86% de las ratas del lote CI llegó al final de la gestación, mientras que de las ratas del lote CII, el 100% presentó parto espontáneo. No existe diferencia significativa entre los dos lotes control.

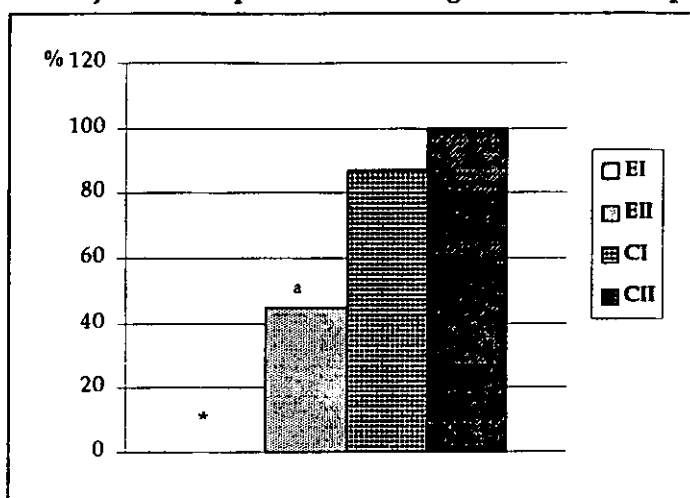
La diferencia de EII con CI es significativa con un valor de  $p=0.003$  así como la diferencia de EII con CII con un valor de  $p=0.002$  (tabla 8, gráfica 8).

**Tabla 8. Porcentaje de ratas que mantienen la gestación hasta el parto espontáneo**

LOTE	% de ratas que mantienen la gestación
EI (n=6)	0*
EII (n=29)	44.82 <sup>a</sup>
CI (n=15)	86.66
CII (n=9)	100

\* $p<0.01$  vs EII, CI y CII; <sup>a</sup> $p<0.003$  vs CI,  $p=0.002$  vs CII.

**GRÁFICA 8. Porcentaje de ratas que mantienen la gestación hasta el parto espontáneo.**



\* $p<0.01$  vs EII, CI y CII; <sup>a</sup> $p<0.003$  vs CI,  $p=0.002$  vs CII.

### 6.9. Duración de la Gestación.

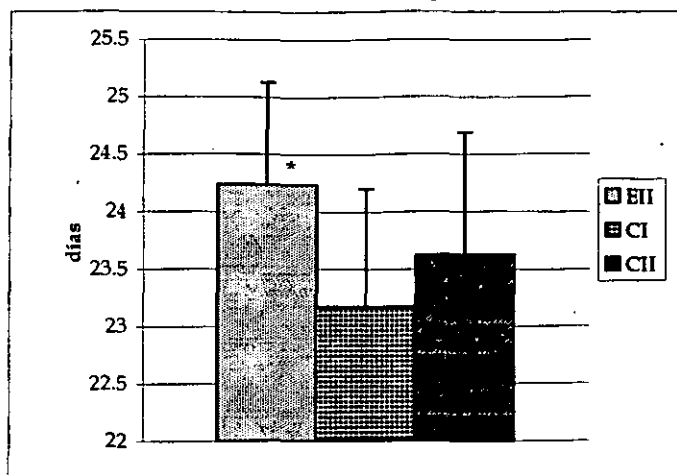
En las ratas del grupo EII, la gestación se prolongó un promedio de 20.05 horas comparada con las ratas de los lotes CI y CII, lo que representa una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.006$ ) (tabla 9, gráfica 9)

**Tabla 9. Promedio de días de gestación.**

LOTE	Días
EII (n=13)	24.23 ± 0.89*
CI (n=13)	23.16 ± 1.03
CII (n=9)	23.62 ± 1.06

Datos expresados en promedio ± DE. \* $p=0.006$  vs CI/CII

**GRÁFICA 9. Promedio de días de gestación**



Datos expresados en promedio  $\pm$  DE. \* $p=0.006$  vs CI/CII

### 6.10. Número de crías por camada.

El lote EII, presentó un promedio de  $9.31 \pm 2.43$  crías por camada.

El lote CI presentó un promedio de  $9.17 \pm 3.38$  crías por camada.

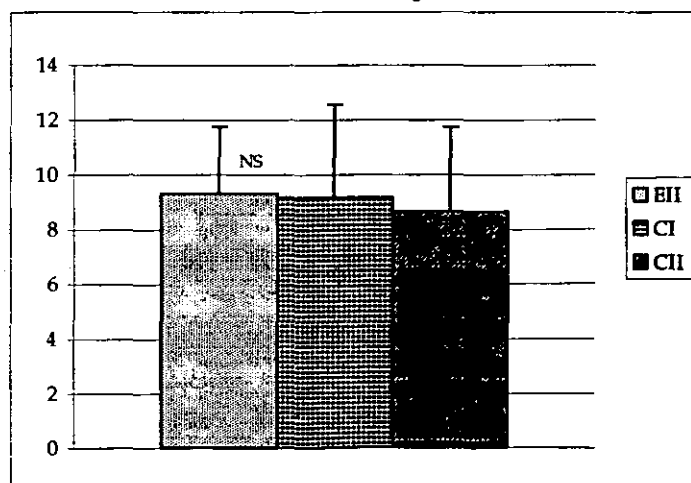
El lote CII presentó un promedio de  $8.666 \pm 3.08$  crías por camada. La comparación estadística entre estos tres lotes no mostró diferencias significativas ( $p=0.942$ ) (tabla 10, gráfica 10).

**Tabla 10. Número de crías por camada**

LOTE	EII (n=119)	CI (n=110)	CII (n=60)
Crías	9.31 $\pm 2.43^{NS}$	9.17 $\pm 3.38$	8.66 $\pm 3.08$

Datos expresados en promedio  $\pm$  DE.  $^{NS}p$ =no significativa vs CI/CII

**GRÁFICA 10. Número de crías por camada**



Datos expresados en promedio  $\pm$  DE.  $^{NS}p$ =no significativa vs CI/CII

### 6.11. Análisis del lote EII.

Con el objeto de determinar cual de los parámetros bioquímicos tienen mayor influencia en el desarrollo de los productos, se realizó la comparación de las ratas del lote EII que sí tuvieron crías con las ratas que no tuvieron crías.

#### 6.11.1. Peso:

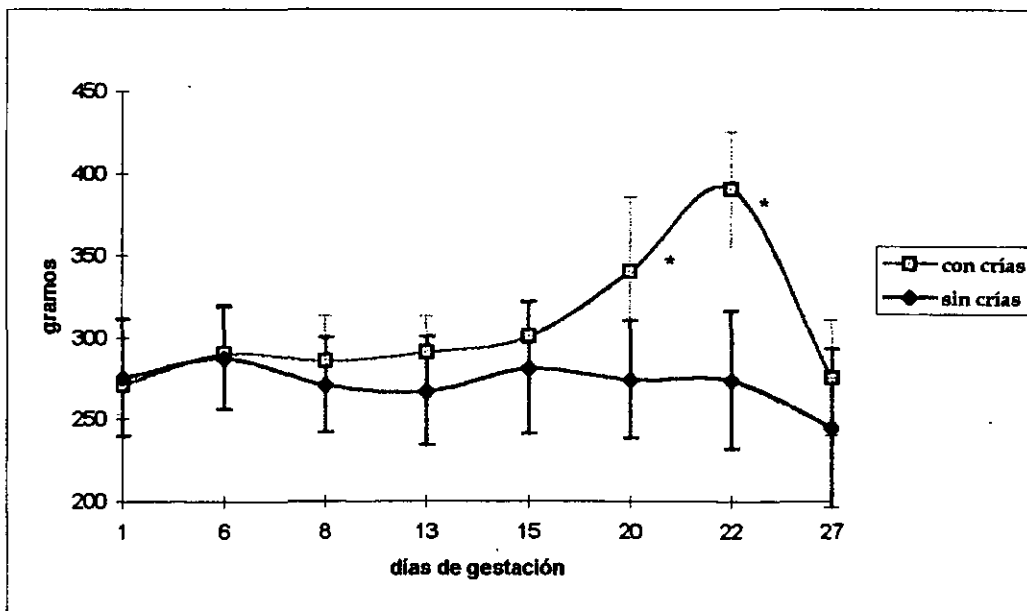
Las ratas del lote EII que no tuvieron crías, fueron incapaces de aumentar de peso durante la gestación, presentando un  $P_i=275.46 \pm 35.64$  gramos, un  $P_{22}=273.92 \pm 42.19$  y un  $P_f=244.55 \pm 48.77$  gramos. Las ratas que sí tuvieron crías, aumentaron de peso, presentando un  $P_i=271.15 \pm 18.21$ , un  $P_{22}=390.55 \pm 35.11$  y un  $P_f=275.77 \pm 35.45$ , lo que representa diferencia significativa los días 20 y 22 ( $p<0.001$ ) (tabla 11, gráfica 11).

Tabla 11. Peso de las ratas del lote EII que tuvieron o no crías durante la gestación.

LOTE EII	día 1 (g)	día 6 (g)	día 8 (g)	día 13 (g)	día 15 (g)	día 20 (g)	día 22 (g)	día 27 (g)
Con crías n=13	271.15± 18.21	290.23 ± 30.25	286 ± 27.45	290.85 ± 22.46	300.75 ± 20.97	340.42 ± 45.30	390.55 ± 35.11	275.77± 35.45
Sin crías n=16	275.46 ± 35.64	287.44 ± 31.63	271.19 ± 29.30	267.44 ± 33.13	281.38 ± 40.20	274.43 ± 36.00	273.92 ± 42.19	244.55 ± 48.77
p	=1.0	=1.0	=0.998	=0.899	=0.989	<0.001	<0.001	=0.665

Datos expresados en promedio ± DE.

GRÁFICA 11. Curva de pesos de las ratas que tuvieron o no crías.



Datos expresados en promedio ± DE. \* $p<0.001$

### 6.11.2. Niveles de glucosa en sangre:

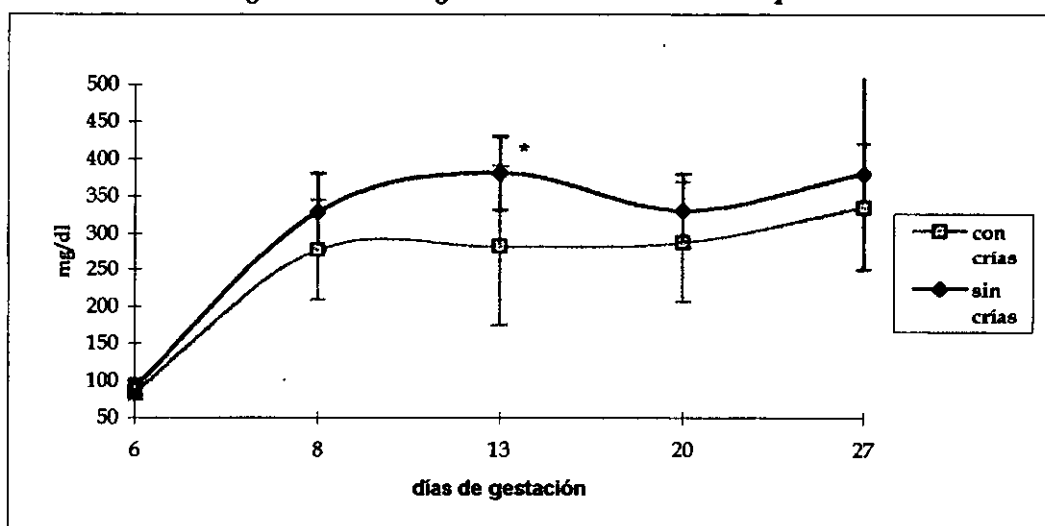
Las ratas del lote EII que tuvieron crías (36.11%), presentaron un promedio de glucemia de 295.75 mg/dl. Las ratas que no tuvieron crías (63.89%), presentaron un promedio de 358 mg/dl. Esta diferencia es estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ). La curva de glucemias durante la gestación, muestra que el grupo que no tuvo crías, presenta niveles superiores de glucemia durante la gestación, siendo significativa el día 13 ( $p = 0.015$ ) (tabla 12 y gráfica 12).

Tabla 12. Niveles de glucosa de las ratas que tuvieron o no crías del lote EII

	día 6	día 8	día 13	día 20	día 27
Con crías (n=13)	85.38 ± 10.02	277.15 ± 1.28	282.85 ± 49.24	288.17 ± 49.43	334.83 ± 130.57
Sin crías (n=16)	91.14 ± 11.58	329.08 ± 67.86	380.81 ± 108.02	330.19 ± 81.19	379.90 ± 85.47
p	=1.0	=0.746	=0.015	=0.899	=0.922

Datos expresados en promedio ± DE.

GRÁFICA 12. Curva de glucosas en sangre de las ratas del lote EII que sí o no tuvieron crías



Datos expresados en promedio ± DE. \* $p = 0.015$ .

### 6.11.3. Niveles de glucosa en orina:

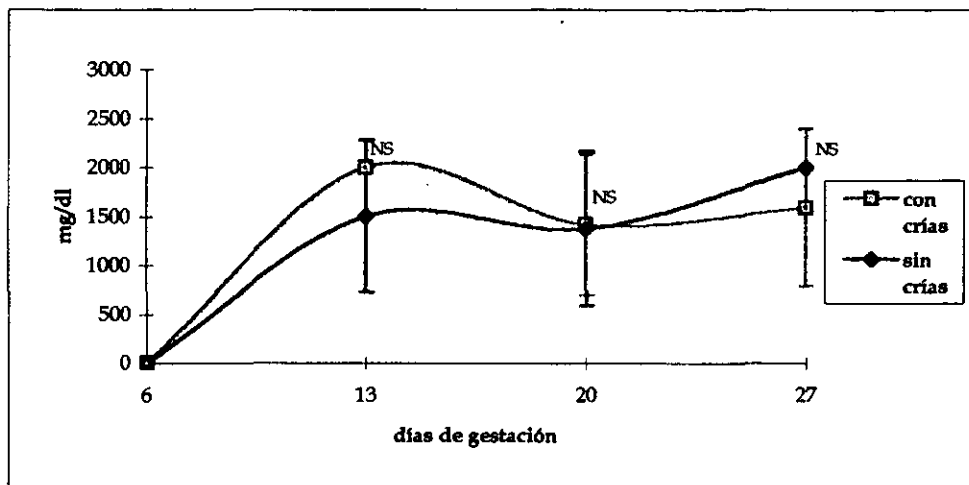
Los niveles de glucosa en orina de las ratas que no tuvieron crías del lote EII, comparadas con las que sí tuvieron crías, no presentan diferencia significativa durante la gestación (tabla 13, gráfica 13).

Tabla 13. Niveles de glucosas en orina en las ratas que tuvieron o no crías del lote EII.

	día 6	día 13	día 20	día 27
Con crías (n=13)	0	2000	1418.18 ± 716.86	1590.91 ± 800.57
Sin crías (n=16)	0	1500.07 ± 771.93	1375 ± 789.05	2000
p	=1.0	=0.277	=0.849	=0.154

Datos expresados en promedio ± DE.

**GRÁFICA 13. Curva de glucosas en orina de las ratas del lote EII que tuvieron o no crías**



NS p=no significativa.

#### 6.11.4. Niveles de cetonas en orina:

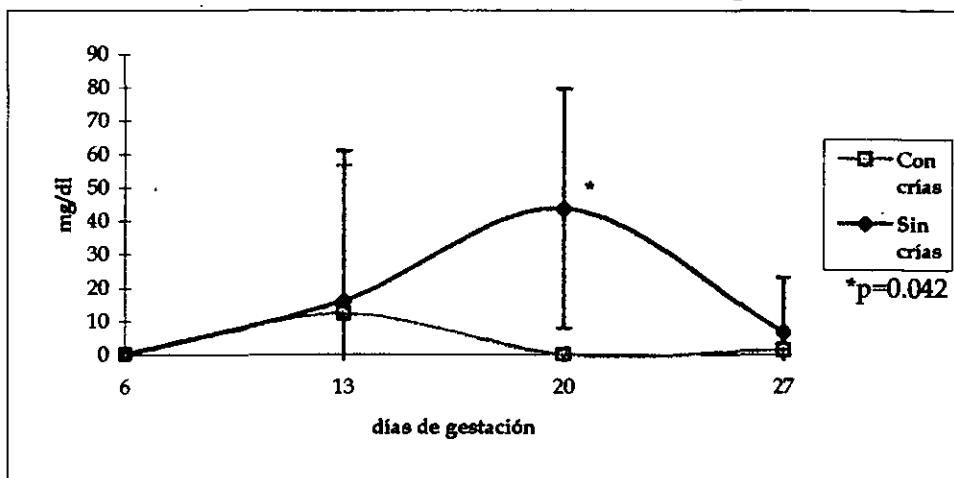
Las ratas del lote EII que no tuvieron crías, presentaron una elevación en los niveles de cetonas en orina hacia la mitad de la gestación que se hizo más evidente hacia el día 20 (de 3 a 5 días antes del parto), siendo estadísticamente significativa con un valor de  $p=0.042$  (tabla 14, gráfica 14).

**Tabla 14. Niveles de cetonas en orina de las ratas que tuvieron o no crías del lote EII**

LOTE EII	día 6	día 13	día 20	día 27
Con crías (n=13)	0	12.31 ± 44.38	0	1.36 ± 4.52
Sin crías (n=16)	0	16 ± 44.85	43.71 ± 35.84	6.67 ± 16.33
p	=1.0	=0.776	=0.042	=0.761

Datos expresados en promedio ± DE.

**GRÁFICA 14. Curva de cetonas en orina de las ratas del lote EII que sí o no tuvieron crías**





### 6.11.5. Química sanguínea.

Los niveles de glucemia el día de sacrificio no presentaron diferencia significativa entre el grupo de ratas que tuvo crías y el que no tuvo crías. ( $p=0.559$ ) (tabla 15, gráfica 15a). Los niveles de colesterol de las ratas que no tuvieron crías, fueron significativamente más elevados que los de las que sí tuvieron crías ( $p=0.037$ ) (tabla 15, gráfica 15a). Los niveles de triglicéridos de las ratas que no tuvieron crías, fueron significativamente mayores que en las que sí tuvieron crías ( $p=0.043$ ) (tabla 15, gráfica 15a). Los niveles de VLDL de las ratas que no tuvieron crías, fueron significativamente mayores que en las que sí tuvieron crías con un valor de  $p=0.044$  (Tabla 15, gráficas 15a).

Los porcentajes de hemoglobina glucosilada fracción  $A_{1c}$  en ambos grupos no presentan diferencia significativa con un valor de  $p=0.394$  (Tabla 15, gráfica 15b).

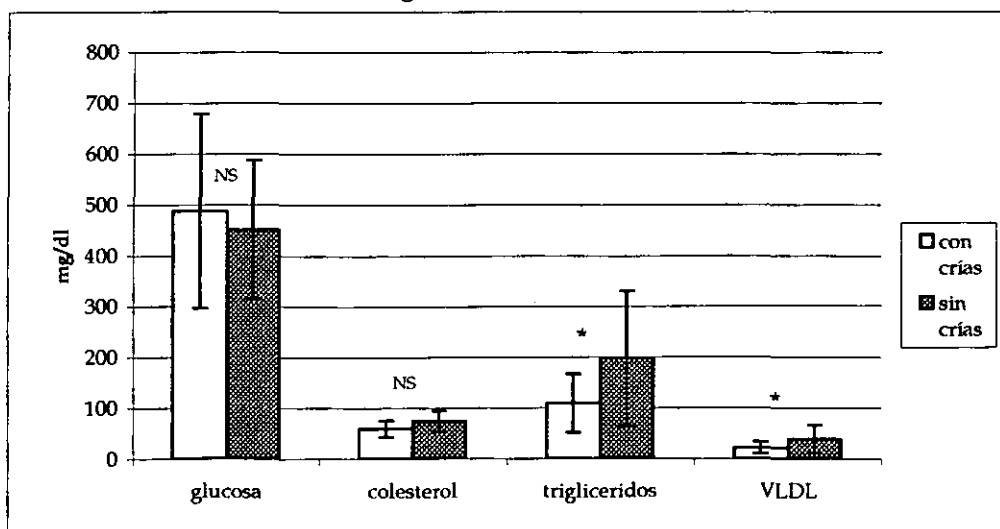
Los niveles de insulina de las ratas que no tuvieron crías, son significativamente menores que los de las ratas que sí tuvieron crías ( $p=0.023$ ). (Tabla 15, gráfica 15c).

**Tabla 15. Química sanguínea de las ratas que tuvieron o no crías del lote EII.**

LOTE EII	glucosa (mg/dl)	colesterol (mg/dl)	triglicéridos (mg/dl)	VLDL (mg/dl)	HbA <sub>1c</sub> (%)	Insulina ( $\mu$ U/dl)
Con crías (n=13)	487.08 $\pm$ 190.9	58.92 $\pm$ 16.32	108.9 $\pm$ 57.90	21.75 $\pm$ 11.67	8.29 $\pm$ 2.42	20.38 $\pm$ 4.47
Sin crías (n=16)	451.25 $\pm$ 135.3	74.06 $\pm$ 19.98	197.47 $\pm$ 133.6	39.4 $\pm$ 26.78	7.6 $\pm$ 1.07	15.98 $\pm$ 5.25
p=	0.559	0.036	0.042	0.043	0.394	0.023

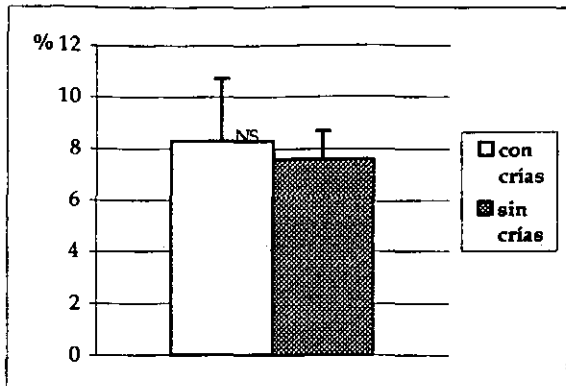
Datos expresados en promedio  $\pm$  DE.  $p < 0.05$  es estadísticamente significativa.

**GRÁFICA 15a. Química sanguínea de las ratas del lote EII con o sin crías.**



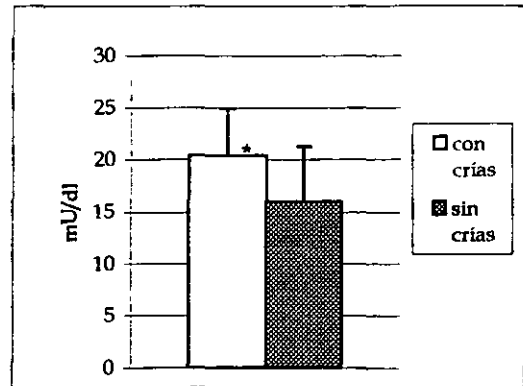
Datos expresados en promedio  $\pm$  DE \* $p < 0.05$  significativa. NS  $p =$  no significativa

**GRÁFICA 15b. Hemoglobina glucosilada de las ratas del lote EII con o sin crías**



NSp= no significativa. \*p<0.05

**GRÁFICA 15c. Insulina de las ratas del lote EII con o sin crías**



\*p=0.023

## 6.12. Estudio de las Crías.

### 6.12.1. Viabilidad.

La viabilidad se define como el número de crías que nacen vivas y se mantienen vivas por lo menos las primeras 6 horas postparto. Del lote EII el 64.46% de las crías fueron viables. Del CI el 100% de las crías fueron viables. Del CII el 87.18% de las crías fueron viables.

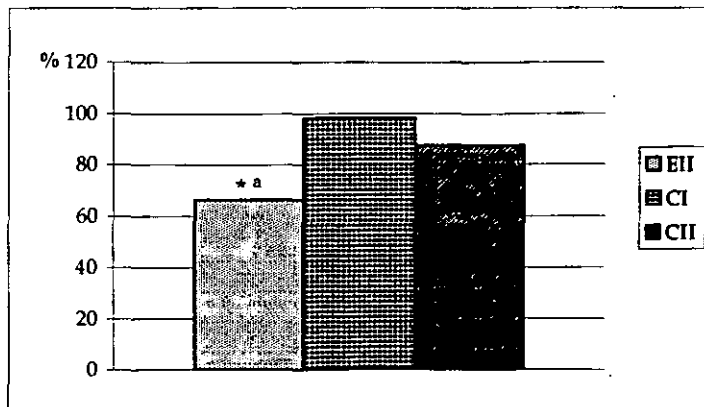
La diferencia entre EII vs CI y CII es significativa (p<0.001, p=0.009 respectivamente) (tabla 16 y gráfica 16).

**Tabla 16. Porcentaje de viabilidad de las crías de los lotes EII, CI y CII**

	EII (%) n=119	CI (%) n=110	CII (%) n=60
<b>Crías viables</b>	66.13* <sup>a</sup>	98.18	87.19

Datos expresados en porcentajes. \*p<0.001 vs CI. <sup>a</sup>p=0.009 vs CII.

**GRÁFICA 16. Viabilidad de las crías de las ratas diabética y no diabéticas**



\*p=0.029 vs CI. <sup>a</sup>p=0.009 vs CII.

### 6.12.2. Sobrevida.

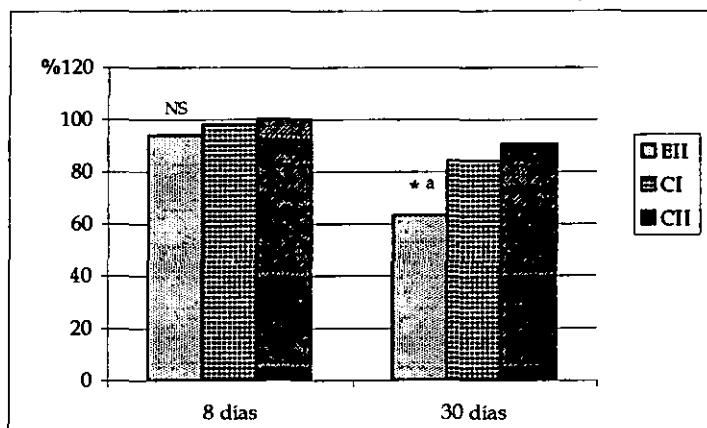
La sobrevida se entiende como el tiempo que viven las crías a partir de las primeras 6 horas posparto. No hubo diferencia significativa en la sobrevida de las crías entre los lotes EII, CI y CII a los 8 días de nacidas. A los 30 días la diferencia de EII vs CI es significativa con un valor de  $p=0.011$ , y la diferencia de EII vs CII también es significativa con un valor de  $p<0.001$  (tabla 17 y gráfica 17).

Tabla 17. Sobrevida de las crías hasta los 30 días de vida (antes del destete) de los lotes EII, CI y CII.

LOTE	8 días (%)	30 días (%)
EII (n=77)	93.90 <sup>NS</sup>	66.23* <sup>a</sup>
CI (n=102)	98.15	88.23
CII (n=50)	100	96

<sup>NS</sup>p=no significativa vs CI/CII. \*p=0.011 vs CI. <sup>a</sup>p<0.001 vs CII

GRÁFICA 17. Sobrevida de las crías a los 8 y 30 días



<sup>NS</sup>p=no significativa vs CI/CII. \*p=0.011 vs CI. <sup>a</sup>p<0.001 vs CII

### 6.12.3 Peso y Talla al Nacer.

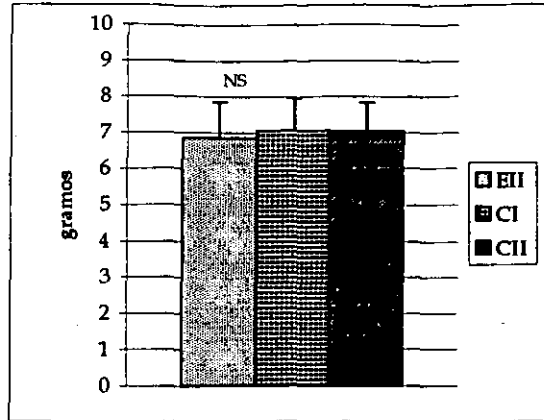
El peso y la talla de las crías del lote EII al nacer, no presenta ninguna diferencia significativa comparados con los de las crías de los lotes CI y CII (tabla 18 y gráfica 18a y 18b).

Tabla 18. Peso y la talla al nacer de las crías.

	EII n=119	CI n=110	CII n=60
peso (g)	6.83 ± 1.02 <sup>NS</sup>	7.05 ± 0.92	7.03 ± 0.8
talla (mm)	73.71 ± 5.72 <sup>NS</sup>	74.24 ± 4.86	75.83 ± 5.49

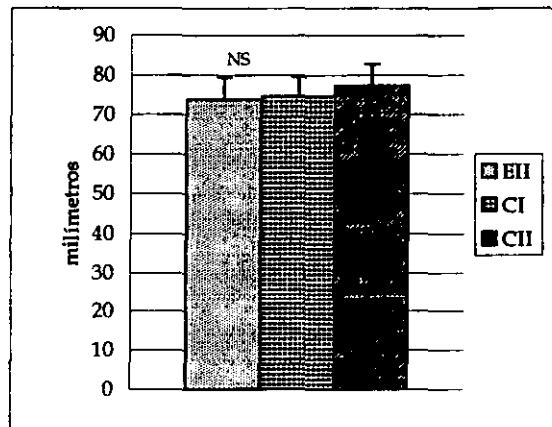
Datos expresados en promedio ± DE. <sup>NS</sup>p= no significativa vs CI/CII.

**GRÁFICA 18a. Peso de las crías al nacer**



Datos expresados en promedio  $\pm$  DE. <sup>NS</sup>p=no significativa vs CI/CII

**GRÁFICA 18b. Talla de las crías al nacer**



Datos expresados en promedio  $\pm$  DE. <sup>NS</sup>p=no significativa vs CI/CII

#### 6.12.4. Peso Durante el Primer Mes de Vida.

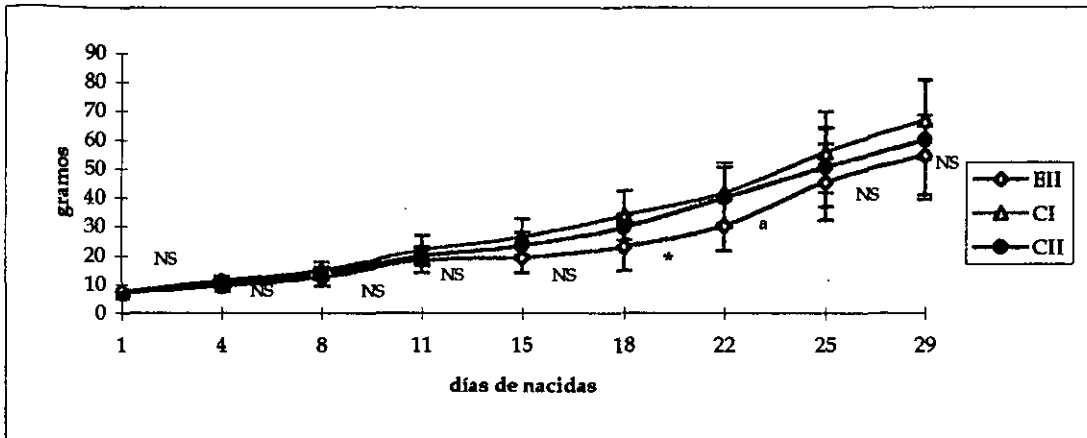
El incremento de peso de las crías del lote EII en el primer mes de vida, fue menor que el de las de los lotes CI/CII. El día 18 y 22 la diferencia es significativa (EII vs CI  $p < 0.001$ ; EII vs CII  $p = 0.017$ ) aunque para el día 25 la diferencia deja de ser significativa (tabla 19 y gráfica 19).

**Tabla 19. Peso de las crías durante el primer mes de vida.**

LOTE	día 1 (g)	día 4 (g)	día 8 (g)	día 11 (g)	día 15 (g)	día 18 (g)	día 22 (g)	día 25 (g)	día 30 (g)
EII (n=51)	6.83 $\pm$ 1.02 <sup>NS</sup>	9.31 $\pm$ 2.1 <sup>NS</sup>	12.35 $\pm$ 3 <sup>NS</sup>	18.3 $\pm$ 4.28 <sup>NS</sup>	19.21 $\pm$ 5.2 <sup>NS</sup>	22.9 $\pm$ 8.5*	30.3 $\pm$ 8.81 <sup>a</sup>	45.2 $\pm$ 13.2 <sup>NS</sup>	54.5 $\pm$ 13.8 <sup>NS</sup>
CI (n=90)	7.05 $\pm$ 0.92	11.23 $\pm$ 1.5	14.73 $\pm$ 3	21.6 $\pm$ 5.1	26.38 $\pm$ 6.3	33.9 $\pm$ 8.4	41.6 $\pm$ 10.5	55.6 $\pm$ 14.1	66.7 $\pm$ 13.7
CII (n=48)	7.04 $\pm$ 0.8	10.15 $\pm$ 1.4	13.9 $\pm$ 2.1	19.63 $\pm$ 3.2	23.5 $\pm$ 4.5	29.9 $\pm$ 4.6	40.1 $\pm$ 10.4	50.6 $\pm$ 13.6	60.0 $\pm$ 20.6

Datos expresados en promedio  $\pm$  DE. \* $p < 0.001$  vs CI,  $p = 0.017$  vs CII. <sup>a</sup> $p = 0.001$  vs CI/CII. <sup>NS</sup>p= no significativa vs CI/CII.

**GRÁFICA 19. Curva de pesos durante le primer mes de vida**



Datos expresados en promedio  $\pm$  DE. <sup>NS</sup>p= no significativa vs CI/CII. \*p<0.001 vs CI, p=0.017 vs CII. <sup>a</sup>p=0.001 vs CI/CII

**6.12.5. Talla Durante el Primer Mes de Vida.**

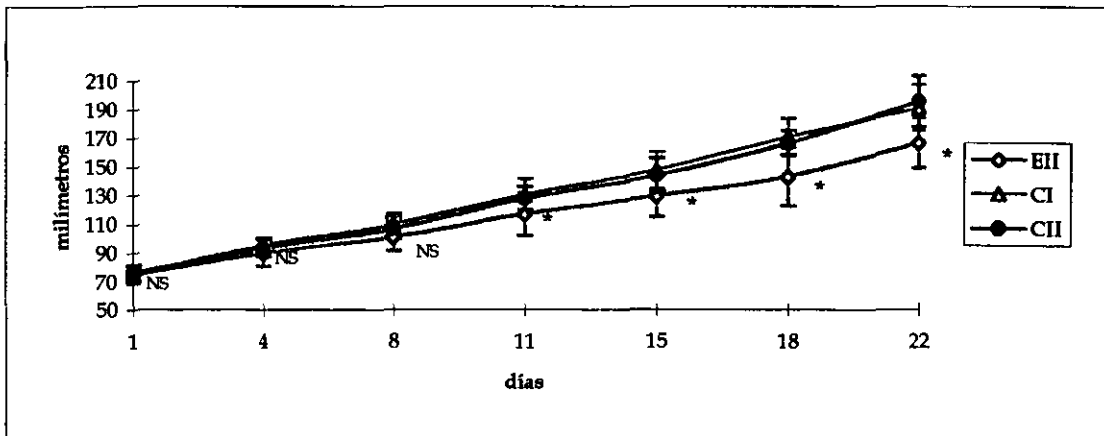
Al nacer la diferencia de talla no es significativa entre los tres lotes, sin embargo, con el tiempo, las crías del lote EII, tienden a crecer más lentamente que las de los lotes CI y CII, siendo esta diferencia significativa a partir del día 11 de vida con un valor de p<0.001 (tabla 20 y gráfica 20).

**Tabla 20. Talla de las crías durante el primer mes de vida.**

LOTE	DÍA 1 (mm)	DÍA 4 (mm)	DÍA 8 (mm)	DÍA 11 (mm)	DÍA 15 (mm)	DÍA 18 (mm)	DÍA 22 (mm)
EII	73.72 $\pm$ 5.73 <sup>NS</sup>	89.43g $\pm$ 9.38 <sup>NS</sup>	100.77 $\pm$ 9.76 <sup>NS</sup>	116.54 $\pm$ 14.79*	128.98 $\pm$ 14.66*	142.51 $\pm$ 20.18*	166.21 $\pm$ 17.69*
CI	74.24 $\pm$ 4.86	95.00 $\pm$ 5.29	109.11 $\pm$ 7.24	130.18 $\pm$ 11.09	146.91 $\pm$ 12.81	170.35 $\pm$ 13.32	191.05 $\pm$ 16.14
CII	75.83 $\pm$ 5.49	93.20 $\pm$ 6.04	106.77 $\pm$ 7.34	127.64 $\pm$ 8.10	143.8 $\pm$ 11.72	166.62 $\pm$ 8.36	195.75 $\pm$ 17.98

Datos expresados en promedio  $\pm$  DE. <sup>NS</sup>p= no significativa. \*p<0.001 vs CI/CII

**GRÁFICA 20. Talla de las crías durante el primer mes de vida.**



Datos expresados en promedio  $\pm$  DE <sup>NS</sup>p= no significativa. \*p<0.001 vs CI/CII

### 6.12.6. Malformaciones Congénitas Macroscópicas.

Ninguna de las crías de los lotes EII, CI o CII, presentaron malformaciones macroscópicas al nacimiento.

### 6.12.7. Niveles de Glucosa en sangre.

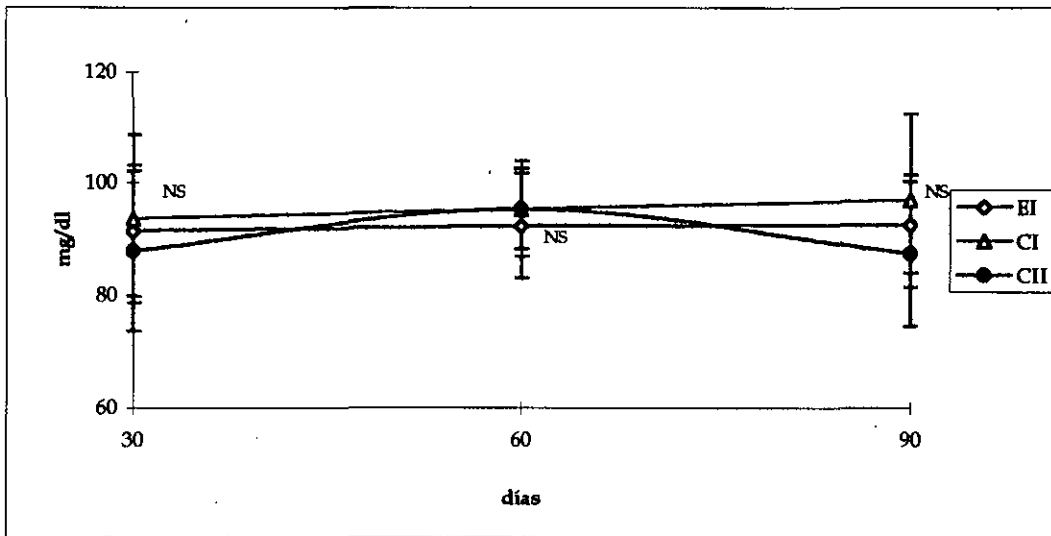
Los niveles de glucosa en sangre de las crías de ratas diabéticas, no presentan diferencia significativa al compararlos con los de ratas control. ( $p=0.058$ ) (tabla 21, gráfica 21).

Tabla 21. Glucemias de las crías de ratas diabéticas y no diabéticas

LOTE	30 días (mg/dl)	60 días (mg/dl)	90 días (mg/dl)
EII (n=51)	91.33 ± 11.72 <sup>NS</sup>	92.25 ± 9.33 <sup>NS</sup>	92.56 ± 8.74 <sup>NS</sup>
CI (n=85)	93.54 ± 15.07	95.29 ± 8.48	96.8 ± 15.51
CII (n=44)	87.79 ± 14.27	95.4 ± 7.16	87.33 ± 12.84

Datos expresados en promedio ± DE. <sup>NS</sup>p= no significativa vs CI/CII

GRÁFICA 21. Curva de glucemias de las crías de las ratas diabéticas y no diabéticas



Datos expresados en promedio ± DE. <sup>NS</sup>p= no significativa vs CI/CII

### 6.12.8. Inicio de la Madurez Sexual.

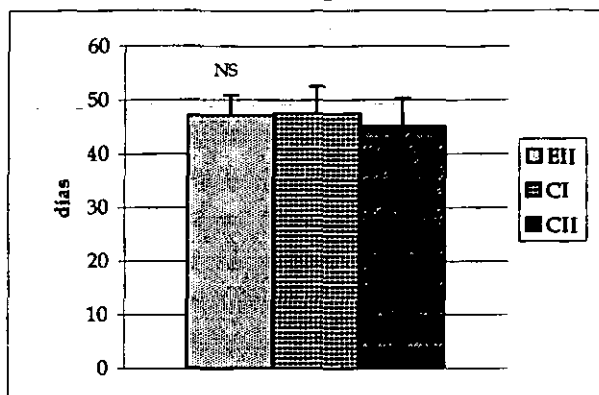
La apertura vaginal de las ratas hembras, nos indica madurez sexual. Las crías hembras de las ratas del lote EII no presentan diferencia significativa en cuanto al tiempo de apertura vaginal al compararlos con las crías de las ratas control ( $p=0.998$ ) (tabla 22 y gráfica 22).

Tabla 22. Día de apertura vaginal de las crías de las ratas de los lotes EII, CI y CII

LOTE	EII n=17	CI n=42	CII n=26
Días postparto	47 ± 3.79 <sup>NS</sup>	47.4 ± 5.11	45.06 ± 5.15

Datos expresados en promedio ± DE. <sup>NS</sup>p= no significativa vs CI/CII

GRÁFICA 22. Día de apertura de la vagina



Datos expresados en promedio ± DE. <sup>NS</sup>p= no significativa vs CI/CII

### 6.12.9. Fertilidad

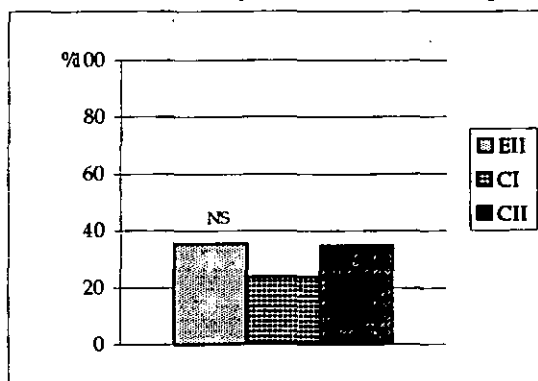
Todos las crías macho de los tres lotes que se dejaron crecer para aparearse, lo hicieron exitosamente, dejando gestantes a por lo menos una hembra. De las crías hembra que se dejaron crecer para aparearse, no hubo diferencia significativa en las que se aparearon con éxito dentro de los tres primeros intentos (tabla 23 y gráfica 23).

Tabla 23. Porcentaje de crías hembras gestantes

LOTE	EII (%)	CI (%)	CII (%)
gestantes	35.29 <sup>NS</sup>	23.8	34.6

<sup>NS</sup>p= no significativa

GRÁFICA 23. Porcentaje de crías hembras gestantes



<sup>NS</sup>p= no significativa vs CI/CII

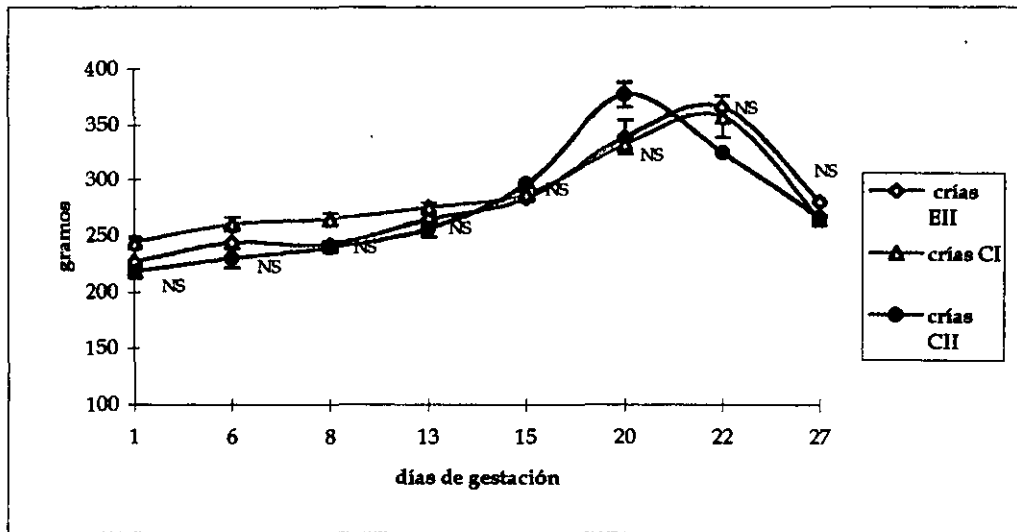
De éstas, no hubo diferencia significativa en el número de días de gestación, el número de crías por camada, el peso y talla de las crías al nacer, la viabilidad de las crías ni en la sobrevivida a 8 y 30 días de las crías en ninguno de los tres grupos. La curva de pesos y glucemias que presentaron estas ratas durante la gestación se muestran en las tablas 24 y 25 respectivamente, así como en las gráficas 24 y 25.

Tabla 24. Pesos de las crías de las ratas de los lotes EII, CI y CII durante la gestación.

LOTE	día 1 (g)	día 6 (g)	día 8 (g)	día 13 (g)	día 15 (g)	día 20 (g)	día 22 (g)	día 27 (g)
EII (n=6)	226.75 ± 12.2 <sup>NS</sup>	243.5 ± 12.5 <sup>NS</sup>	242 ± 3 <sup>NS</sup>	264 ± 6 <sup>NS</sup>	283.5 ± 2.5 <sup>NS</sup>	338.5 ± 15.5 <sup>NS</sup>	366 ± 31 <sup>NS</sup>	280 ± 11 <sup>NS</sup>
CI (n=10)	244 ± 3.4	260 ± 5.9	265 ± 5.2	275 ± 4.1	287 ± 2	332 ± 8.3	357 ± 18.5	265 ± 4
CII (n=9)	218 ± 5.8	230 ± 8.5	240 ± 4.3	256 ± 7.2	296 ± 3.5	377 ± 11	325 ± 26.3	266 ± 9

Datos expresados en promedio ± DE. <sup>NS</sup> p= no significativa vs CI/CII

GRÁFICA 24. Curva de peso durante la gestación de las crías de las ratas EII, CI y CII.



Datos expresados en promedio ± DE. <sup>NS</sup> p= no significativa vs CI/CII

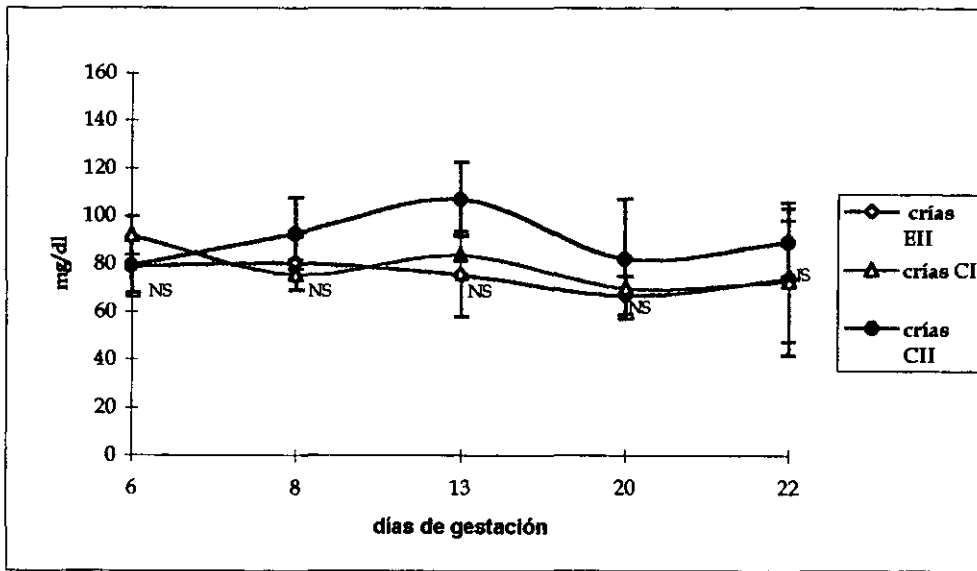
Tabla 25. Glucemias de las crías de las ratas EII, CI y CII durante la gestación

LOTE	día 6 (mg/dl)	día 8 (mg/dl)	día 13 (mg/dl)	día 20 (mg/dl)	día 22 (mg/dl)
EII (n=6)	79 ± 12.5 <sup>NS</sup>	80.5 ± 11 <sup>NS</sup>	75.5 ± 17.3 <sup>NS</sup>	67 ± 8 <sup>NS</sup>	74 ± 32 <sup>NS</sup>
CI (n=10)	92 ± 8	75.6 ± 6.54	84 ± 10.12	70 ± 12.3	73 ± 25.23
CII (n=9)	79 ± 11.35	92.6 ± 14.89	107 ± 15.5	82 ± 25.1	89 ± 14.3

Datos expresados en promedio ± DE. <sup>NS</sup> p= no significativa vs CI/CII



GRÁFICA 25. Curva de glucemias de las crías durante la gestación



Datos expresados en promedio  $\pm$  DE. NS p= no significativa vs CI/CII

## 7. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.

Desde su descubrimiento a finales de los años 60's, la STZ ha probado su eficacia en la inducción de diabetes en animales de experimentación<sup>(122, 165, 166, 130)</sup>, modelo que ha contribuido al entendimiento de la patogénesis de esta enfermedad<sup>(167)</sup>. La eficacia de la STZ como inductor de diabetes, se encuentra directamente relacionada con la especie y la dosis. Se ha comprobado que la dosis de STZ administrada al animal es determinante tanto en la inducción de la diabetes, como para su carácter permanente y la aparición de efectos secundarios<sup>(119, 123, 130)</sup>.

La administración de 25 mg/kg de peso de STZ en ratas no produce ningún cambio en la glucosa sérica a los 7 días de la inducción. Dosis mayores de 100 mg/kg de peso causan una intensa necrosis de las células  $\beta$  del páncreas, con cetonuria en las siguientes 24 horas y la mayoría de los animales mueren<sup>(106)</sup>. Dosis entre 25 y 100 mg/kg de peso, producen estados diabéticos que varían en su intensidad y aparición de las complicaciones. Según varios autores, a esta dosis (entre 25 y 100 mg/kg de peso) los animales no forman cuerpos cetónicos<sup>(106, 130)</sup>. Con el objeto de prolongar la vida de los animales tratados y evitar complicaciones como hipoglucemia, algunos autores han dividido la dosis total en varias administraciones periódicas, sin embargo, se ha demostrado que fraccionar la dosis no representa cambios significativos con respecto a la administración en una sola aplicación<sup>(106)</sup>.

Las dosis utilizadas con mayor frecuencia, varían entre 45 a 70 mg/kg de peso. Se ha observado, que dosis entre 30 y 40 mg/kg de peso, producen un aumento en los niveles de glucosa sérica entre el día 1 y el día 7, para posteriormente normalizarse hacia el día 10; mientras que las dosis entre 50 y 70 mg/dl producen un estado diabético permanente<sup>(106)</sup>. En los primeros momentos de la inducción con STZ, existe hipoglucemia ocasionada por la destrucción masiva de las células  $\beta$  y la consecuente liberación de insulina. Este efecto es, al parecer, el responsable de la muerte del animal durante las horas inmediatas a la inducción. En las ratas que sobreviven a este descenso brusco de glucosa sanguínea, se instala un estado de hiperglucemia permanente y se presentan las complicaciones propias de la diabetes<sup>(106)</sup>. En este estudio, todas las ratas de los lotes EI y EII que mueren, lo hacen una vez instalada la diabetes, es decir, después de las 48 horas de la inducción.

También se ha reportado que la STZ *per se* puede ocasionar alteraciones en las crías de ratas *in vitro*<sup>(168)</sup>, aunque no se ha podido corroborar que tenga acción directa en el desarrollo de los productos *in vivo*, ya que las alteraciones que presentan los fetos de madres con diabetes descontrolada, tienden a corregirse en aquellas que han sido controladas con insulina<sup>(169)</sup>. Para descartar que los efectos encontrados fueran causados por la acción de la STZ sobre la cría, todas las ratas se inyectaron en el día 6° de la gestación (tomando como día 1 el día de apareamiento), antes de la implantación. Tomando en cuenta que la STZ tiene una vida media de 5 minutos y es eliminada de la circulación de 4 a 6 horas, nos aseguramos que el daño a las crías no lo causa el medicamento<sup>(106)</sup>.

Para inducir el estado diabético en ratas hembras, la dosis que más frecuentemente se ha utilizado es de 60mg/kg de peso<sup>(31, 33, 79, 170 - 172)</sup>, aunque hay grupos de investigación que administran hasta 75mg/kg de peso<sup>(173)</sup> (cuadro 11). En ratas gestantes, también se ha utilizado a dosis 50mg/kg de peso<sup>(36, 140, 145, 155, 157, 166, 174)</sup>.

CUADRO 11. Administración de la STZ a las ratas hembra<sup>(106)</sup>.

Vía de administración	Dosis (mg/kg)	Peso (g)	Cepa	Glucosa (mmol/l)
i.v.	55	170-180	Wistar	35.3
i.v.	20-40	234	Albino	7.1-29.2
i.p.	75	175-200	Sprague-Dawley	24-25
i.p.	40-80	200-250	Wistar	13-21
i.p.	50	200	Sprague-Dawley	20.2

Nota: i.v. intravenoso, i.p. intraperitoneal.

En este estudio, se inyectó al lote EI con dosis de 60mg/kg de peso, con lo que se consiguió que el 57.9% de las ratas presentara niveles de glucosa sérica superiores a los 200 mg/dl a las 48 horas de la inducción; con una glucemia promedio de 348.93 mg/dl a lo largo de la gestación. Estos niveles se mantuvieron elevados durante toda la gestación, hasta el día del sacrificio. Sin embargo, la mortalidad en este lote fue elevada, alcanzando el 31.57% y ninguna de estas ratas logró tener crías.

En el lote EII que fue inyectado con dosis de 50 mg/kg de peso de STZ, se observó que el porcentaje de ratas que alcanzaron niveles de glucosa superiores a los 200 mg/dl a las 48 horas de la inducción era prácticamente igual, e incluso ligeramente más elevado que el del lote EI. El promedio de glucemia durante la gestación fue de 329.45mg/dl, lo que es similar a lo presentado por el lote EI. Sin embargo, la mortalidad se redujo significativamente pasando del 31.57% en el lote EI a 7.27% en el lote EII. Es importante señalar que el 23.64% de las ratas del lote EII concluyó la gestación, presentando partos espontáneos, lo que también representa una diferencia significativa con EI.

Los lotes CI y CII no presentaron en ningún momento glucemias superiores a los 200 mg/dl, manteniéndose con un promedio de glucosa en sangre de 83.86 y 85.25 mg/dl respectivamente, lo que representa una diferencia significativa con EI y EII. Ninguna de las ratas control murió durante el estudio y el porcentaje de ratas que tuvieron partos espontáneos fue de 86% en el lote CI y 100% en el CII, lo que también representa una diferencia significativa con los lotes EI y EII.

Estos resultados demuestran que la STZ a dosis de 50mg/kg de peso es igualmente efectiva para inducir diabetes que la dosis de 60mg/kg de peso, con la ventaja de ser menos tóxica para las ratas, lo que disminuye significativamente la mortalidad y les permite concluir su gestación.

Tanto con 60 como con 50 mg/kg de peso de STZ se alcanzaron niveles elevados y estables de glucemia durante toda la gestación, que sobrepasaron significativamente los niveles que presentan las ratas control. Los niveles significativamente mayores de HbA<sub>1c</sub> que presentaron estas ratas el día del sacrificio es un indicador de que los niveles de glucemia de las ratas experimentales se mantuvieron crónicamente elevados durante toda la gestación, afectando todo el tiempo el desarrollo de las crías hasta su nacimiento.

El efecto teratogénico de la hiperglucemia es dependiente de la dosis y la edad del embrión<sup>(176)</sup>. Una elevación crónica de la glucosa en sangre afecta a los

embriones desde etapas tempranas del desarrollo en las que se están llevando a cabo un gran número de eventos importantes para el desarrollo como la gastrulación, la inducción neural, la determinación de la simetría, etc. De hecho, durante este periodo, los genes que controlan la mayor parte de los eventos del desarrollo se encuentran activados<sup>(76, 145)</sup>. Sin embargo, para que la glucosa produzca efectos dismorfogénicos claros en el embrión por lo menos *in vitro*, es necesario que las concentraciones de glucosa sean de 50mM/l (900 mg/dl) o más<sup>(177, 178)</sup>. Las alteraciones que produce van desde malformaciones menores hasta alteraciones incompatibles con la vida que dan como resultado muerte del producto<sup>(40)</sup>.

Al comparar en el lote EII a las ratas que tuvieron crías con las que no lo hicieron, se observó que las ratas que no tuvieron crías presentaron una elevación significativa de la glucemia en el día 13 de la gestación, momento crítico del desarrollo de las crías, por lo que puede ser considerado un factor importante en la muerte intrauterina de los fetos. La glucosuria (glucosa en orina) por su lado, refleja la elevación de la glucosa sanguínea por arriba del umbral de resorción renal. Desde las primeras 48 horas de inducción de la diabetes, ambos lotes experimentales presentan niveles de glucosuria elevados los cuales van en aumento durante la gestación. El lote EII el día 13 de la gestación presenta niveles significativamente más elevados que los del lote EI; sin embargo, esta diferencia está dada por las ratas que no tuvieron crías del lote EII, ya que al hacer el análisis por separado, se observó que las ratas que sí tuvieron crías tuvieron niveles significativamente menores de glucosuria que las ratas que no tuvieron crías.

Otro de los factores que se ha relacionado en la génesis de las alteraciones en el desarrollo es la presencia de cetonuria. Las cetonas en orina nos reflejan por un lado la disminución de los niveles de insulina, reducción de la disponibilidad tisular de la glucosa y consecuentemente el aumento en la lipólisis al interior de las células, lo que lleva a la sobreproducción de cuerpos cetónicos - $\beta$ -hidroxibutirato, ácido acetoacético y acetona. El hígado, es incapaz de metabolizar la gran cantidad de cuerpos cetónicos que se están produciendo y éstos son excretados en la orina. Por otro lado, la falta de glucosa tisular promueve el incremento de la glucogenólisis hepática lo que redundará en mayor hiperglucemia<sup>(26, 28)</sup>. La producción excesiva de cuerpos cetónicos (especialmente  $\beta$ -hidroxibutirato) durante la gestación, en periodos críticos del desarrollo, es aparentemente la responsable del retraso en el desarrollo y de las malformaciones congénitas de los embriones<sup>(40, 83)</sup>. En los procesos teratogénicos de la diabetes los cuerpos cetónicos tienen probablemente un papel más significativo que el de la

hiperglucemia<sup>(81 - 83)</sup> aunque al unirse estos dos factores, el efecto se sinergiza<sup>(40, 85)</sup>. Las ratas del lote EI presentaron altas concentraciones de cetonas en orina, con un pico el día 13 de gestación que disminuye lentamente hasta casi llegar a niveles normales en la etapa posparto. Ninguna de estas ratas tuvo crías, por lo que se asume que el daño producido por la hiperglucemia más los cuerpos cetónicos promovió el desarrollo anormal de los productos en forma tan importante que les ocasionó la muerte intrauterina y ulterior reabsorción. El lote EII presenta una elevación de cetonas en orina significativamente menor que el lote EI con un pico hacia el día 20 (2 a 3 días antes del parto). De éste lote, sólo el 36.11% de las ratas pudo tener crías. Esto nos refleja que aunque en este lote el daño fue menor -probablemente por que las cetonas no se encontraron muy elevadas en la primera etapa de la gestación- el daño fue suficiente para inducir muerte fetal intrauterina y por lo tanto reabsorción de los embriones en la mayoría de las ratas. Cuando analizamos por separado a las ratas que no pudieron tener crías, observamos que presentaron niveles significativamente mayores de cetonas en orina durante la segunda mitad de la gestación que las ratas del mismo lote que sí tuvieron crías. Estas ratas también presentaron niveles significativamente más elevados de glucosa en sangre el día 13 de la gestación, lo que habla de la sinergia de estos dos factores en la teratogénesis. Los lotes control por su parte no presentan cetonas en orina. En un estudio con ratas gestantes diabéticas, sólo una de las inyectadas con 50 mg/kg de STZ presentó cetonuria, disminuyó de peso y no tuvo evidencia de haber estado gestante al término de la misma<sup>(166)</sup>.

Otros parámetros que comunmente se encuentran alterados en las ratas diabéticas son los triglicéridos y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)<sup>(40)</sup>. En este estudio, el lote EI, presentó niveles de triglicéridos y de VLDL significativamente elevados al compararlos con los lotes EII, CI y CII. Estos tres últimos no presentaron diferencia significativa entre ellos. Otros autores han observado en sus estudios elevación de los triglicéridos en ratas diabéticas<sup>(40)</sup>, lo que concuerda con los resultados del presente estudio. De hecho, el aumento de los triglicéridos se correlaciona con una mayor cetogénesis, ya que la falta absoluta de insulina y de glucosa disponible provocan un aumento en la lipólisis y por consiguiente en los niveles de ácidos grasos libres, los cuales son oxidados en el hígado, incrementando la producción de cuerpos cetónicos, cetonuria y en último de los casos acidosis (pH↓)<sup>(28)</sup>. En este estudio es notorio que el lote que presenta niveles más elevados de cetonas en orina (EI), tiene así mismo, niveles significativamente más elevados de triglicéridos y VLDL. Al analizar por separado a las ratas del lote EII que no tuvieron crías de las que sí tuvieron, se observan niveles significativamente mayores de triglicéridos y VLDL. Estos

resultados concuerdan con lo reportado por otros autores<sup>(146)</sup> que encontraron que la relación entre los niveles elevados de glucosa, triglicéridos y  $\beta$ -hidroxibutirato están directamente relacionadas con un aumento en las reabsorciones y malformaciones de los embriones de 11 días post-coito (dpc).

Otro factor que afecta el desarrollo es la insulina, la cual tiene un efecto protector contra la producción de cuerpos cetónicos<sup>(28)</sup>. En este estudio, se observó que las ratas del lote EI presentaron niveles significativamente menores de insulina que el resto de los lotes. Al analizar a las ratas del lote EII que no tuvieron crías, observamos que también tuvieron niveles significativamente menores de insulina que las ratas que sí tuvieron crías. Estas ratas (que no tuvieron crías), presentaron niveles mayores de cetonuria, de triglicéridos y de VLDL. Así pues, la correlación de éstos parámetros -hiperglucemia, cetonuria, hipertrigliceridemia e hipoinsulinemia- puede servir para predecir el desarrollo de los productos de madres diabéticas y su estricto control puede prevenir la aparición de malformaciones e incluso la muerte intrauterina<sup>(146)</sup>.

Existen estudios tanto en humanos<sup>(179, 180, 181, 182)</sup> como en ratas diabéticas<sup>(146, 171, 175, 183, 184)</sup> en los que se ha observado que las concentraciones de colesterol plasmático están elevadas, sin cambio o disminuidas. Las ratas de este estudio, presentaron o bien ligeros aumentos, ningún cambio o disminución en las concentraciones plasmáticas de colesterol el día del sacrificio. Los niveles de colesterol de las ratas del lote EI no son significativamente diferentes de los de las ratas del lote EII. Las ratas del lote EII que no tuvieron crías, tampoco presentan diferencia significativa con las que sí tuvieron crías.

La severidad de la diabetes experimental, se ha asociado con la falta de aumento de peso de los animales. Las ratas inyectadas con dosis de STZ entre 55 y 65 mg/kg son incapaces de aumentar de peso<sup>(106)</sup>. Esta misma alteración se da en ratas gestantes. En el estudio realizado, las ratas del lote EI -que fueron incapaces de concluir la gestación-, no sólo no aumentaron de peso durante la gestación, sino por el contrario, disminuyeron. Las ratas del lote EII por su parte, prácticamente no aumentaron de peso hasta dos días antes del parto (día 22), para después descender hasta llegar a un peso menor del que tenían cuando iniciaron el estudio. La diferencia de los lotes EI y EII es significativa en el día 22. Esto se debe a que las ratas del lote EII que sí tuvieron crías, aumentan por efecto del crecimiento fetal justo antes del parto. Una vez nacidas las crías, la diferencia deja de ser significativa. Las ratas de los lotes CI y CII, por su parte, aumentan constantemente de peso, presentando una diferencia significativa con las ratas de los lotes EI y EII.

La gestación prolongada de las ratas diabéticas es un mecanismo que compensa el bajo peso de las crías<sup>(72)</sup>. En un estudio con ratas diabéticas gestantes en las que se retiraban por operación cesárea dos o tres fetos el día 21 de la gestación, éstos fueron significativamente más pequeños que los fetos de las ratas no diabéticas. Al resto de las crías se les permitió nacer por parto espontáneo y éstas no presentaron diferencia significativa en pesos al compararlas con las crías de madres no diabéticas. Las ratas diabéticas tuvieron gestaciones 15 horas más prolongadas que las ratas no diabéticas, lo que llevó a los autores a la conclusión que la gestación prolongada permitía compensar el bajo peso de las crías. Al interrumpir en diferentes días la gestación, los fetos de las ratas diabéticas fueron significativamente más pequeños que los de las ratas normales<sup>(185)</sup>. En estudios recientes, se ha observado que los fetos de 20 días de gestación de ratas diabéticas pesan y miden significativamente menos que los de ratas normales<sup>(186)</sup>. En este estudio, las ratas diabéticas tuvieron un promedio de gestación de 20.05 horas más que las ratas del lote CI y CII, lo que es estadísticamente significativo. La gestación prolongada de estas ratas, permite que el peso y la talla de las crías sea semejante al que tuvieron las crías de las ratas control. El peso de las crías de las ratas del lote EII, no presenta variación significativa con las crías de las ratas de los lotes CI y CII. Tampoco hay diferencia en el número de crías por camada. Sin embargo, la viabilidad de las crías del lote EII fue significativamente menor que la que presentaron las crías de las ratas control. Existen otros autores que han reportado casos similares, en que la viabilidad de las crías de ratas diabéticas es significativamente menor que en las crías de las ratas no diabéticas, aunque el peso y la talla sean semejantes<sup>(72)</sup>. La sobrevivencia a 8 y 30 días no presenta diferencia significativa entre los tres lotes.

Las crías de las ratas diabéticas, aumentan menos de peso y talla durante el primer mes de vida que las crías de las ratas control, especialmente desde el día 18 para el peso y 11 para la talla. Este hecho se puede explicar por la existencia de un ambiente metabólico intrauterino alterado que les da una menor probabilidad de desarrollarse adecuadamente durante la vida extrauterina, por un lado, y por el otro, hay que tomar en cuenta que las crías se mantuvieron con sus madres hasta el destete, lo que significa que las madres diabéticas fueron menos eficientes en alimentar a sus crías debido a que sus condiciones generales empeoraban cada día.

Se ha reportado que los fetos de ratas diabéticas presentan hiperglucemia, hiperkalemia y aumento del contenido de glucógeno en el hígado<sup>(166)</sup>. Así mismo, las crías de ratas diabéticas tienen hiperglucemia al nacer e incluso pueden llegar a presentar intolerancia a la glucosa en la vida adulta<sup>(162)</sup>. En este estudio, la

curva de glucemias de las crías de ratas diabéticas se mantiene por arriba de la de las crías de ratas no diabéticas, aunque siempre en los límites normales y sin que sea estadísticamente significativo.

En cuanto a la función del sistema reproductivo de las crías que sobreviven, se puede apreciar que no hay diferencias notables entre las hijas de ratas diabéticas y las de ratas normales. Existe un estudio en el que se reporta que el sistema hipotálamo-hipófisis-gónada de las crías hembras de ratas con diabetes inducida con STZ, se desarrollaba posteriormente que en las crías de ratas normales. También se encontraba disminuida la sensibilidad de la hipófisis a la LHRH y los niveles de LH de las crías de ratas diabéticas, eran 1.5 veces menores que los de las crías de madres normales, llegando a la conclusión que las crías que se desarrollan en un ambiente diabético, presentan desórdenes en los mecanismos reguladores del sistema reproductivo, aunque nada tan grave que haga imposible que este sistema funcione<sup>(163)</sup>. En este estudio, datos indirectos de madurez sexual como el día de apertura vaginal, no presentó diferencia entre el lote experimental y los lotes control. Además, las crías de madres diabéticas que sobreviven, son perfectamente capaces de aparearse, manteniendo gestaciones de la misma duración que las crías de las ratas control, sin alteración de los parámetros metabólicos durante la misma (niveles de glucemia) y con el mismo número de crías por camada; las cuales son de peso, talla y viabilidad semejante a la de los lotes control. Así pues, a pesar de que el ambiente anormal en el que se desarrollan las crías de ratas diabéticas tiene una clara afección en las etapas tempranas del desarrollo intrauterino (dado por un mayor número de reabsorciones), así como en las primeras horas de la vida extrauterina (menor viabilidad), parece no tener repercusión a largo plazo en las funciones reproductivas, ya que las crías de ratas diabéticas no presentan diferencia significativa en día de apertura vaginal y éxito reproductivo al compararlas con las crías de las ratas control.

## **8. CONCLUSIONES.**

### **8.1. Conclusión General:**

La condición diabética de la madre, afecta negativamente el desarrollo de las crías medido en la capacidad de las madres de concluir la gestación y en la viabilidad de las crías; aunque aquellas que logran sobrevivir, no presentan diferencia en el inicio de la madurez sexual y el éxito reproductivo medido como la capacidad de quedar o dejar gestantes.



## **8.2. Conclusiones Particulares:**

1. La inducción de diabetes con 50mg/kg de STZ es menos tóxica para las ratas y sus crías que a dosis de 60 mg/kg de peso. La hiperglucemia resultante es de carácter permanente.
2. Los factores que tienen mayor influencia en las alteraciones en el desarrollo de las crías de ratas diabéticas son la hiperglucemia, la cetogénesis, la hipertrigliceridemia y la hipoinsulinemia.
3. La gestación prolongada en las ratas diabéticas, les permite tener crías de la misma talla y peso que las de las ratas normales; sin embargo, la viabilidad de éstas es significativamente menor.
4. En las crías de ratas diabéticas que logran sobrevivir la fertilidad no se ve alterada (inicio de la madurez sexual y éxito reproductivo).

## 9. BIBLIOGRAFÍA:

1. Islas S, Revilla MC. Diabetes mellitus: Concepto y nueva clasificación. En **Diabetes Mellitus**, 1999; cap. 1 Sergio Islas, Alberto Lifshitz; Ed. McGraw-Hill Interamericana, segunda edición: 1-14.
2. Foster WD. Diabetes mellitus. En **Harrison, Principios de Medicina Interna**; 14ª ed., 1998; 2: 2341.
3. Mendez JD, Palomar-Morales M, Revilla MC and Islas S. Teratogenesis and diabetes mellitus. **Arch. Std. / Hiv. Res.**, 1995 9:143-162.
4. Rashbass P and Ellington SKL. Development of rat embryos cultured in serum prepared from rats with streptozotocin-induced diabetes. **Teratology**, 1988; 37:51-61.
5. Brownlee M and Cerami A. The bioquemesy of the complications of diabetes mellitus. **Ann Rev. Bioquem**, 1981; 50: 385- 432.
6. Informe de la OMS, 1999 ([http://www.who.int/ncd/dia/nl\\_no3.htm](http://www.who.int/ncd/dia/nl_no3.htm))
7. IMSS, boletines, 1999  
(<http://rtn.net.mx/protoimss/boletines/bioct968.htm>)
8. Reece EA, Homko CJ and Wu Y. Multifactorial basis of the syndrome of diabetic embryopathy. **Teratology**, 1996; 54(4):171-182.
9. Islas S, Revilla MC, González VC, Méndez JD y Sánchez de la Peña S. Diabetes mellitus, ventajas de la nueva clasificación. **Revista Médica del IMSS**, 1997; 35(4): 321-325.
10. Report of the expert committee on diagnosis and classification of the diabetes mellitus. **Diabetes Care**, 1997; 20: 1183-1197.
11. Essex NL, Pike DA, Watkins PJ, Brundenell JM and Gamsu HR. Diabetic pregnancy. **British Medical Journal.**, 1973; 4:89-93.
12. White P. Pregnancy complicating diabetes. **American Journal of Medicine**, 1949; 7:609.
13. Soler NG, Walsh CH and Malins JM. Congenital malformations in infants of diabetic mothers. **Quarterly Journal of Medicine**, New Series, XLV, 1976; (178):303-313.
14. Mateo-Sanez HA and Espinoza de los Monteros M.A. Diabetes mellitus y embarazo. **Revista de Perinatología**, 1992; 7(4):22-35.
15. Pedersen J and Molsted-Pedersen L. Prognosis of the outcome of pregnancies in diabetes. A new classification. **Acta Endocrinologica**, 1965; 50:70-78.
16. Rivera-Rueda MA, Barranco-Jaubert A, Mas-Muñoz L, Cardona-Perez A y Udaeta-Mora E. Hijo de madre diabética insulino- dependiente: Repercusiones neonatales. **Boletín Médico del Hospital Infantil de México.**, 1993; 50(5):321-327.

17. Islas S, Revilla MC. Diabetes mellitus: El laboratorio clínico; su utilidad en el paciente con diabetes mellitus. En **Diabetes Mellitus**, cap 12, 1999; Sergio Islas, Alberto Lifshitz; Ed. McGraw-Hill Interamericana, segunda edición: 1-14.
18. Mayer TK and Freedman ZR. Protein glycosylation in diabetes mellitus: a review of laboratory measurements and other clinical utility. **Clin Chim Acta**, 1983; 127: 147- 184.
19. Baynes JW, Bunn HF, Goldstein DE, Harris M, Martin DB, Peterson C, Winterhalter K. National diabetes data group: Report of the expert committee of glycosylated hemoglobin. **Diabetes Care**, 1984; 7: 602-606.
20. Koenig RJ, Peterson CM, Kilo C, Cerami A, Williamson JR. Hemoglobin A<sub>1c</sub> as an indicator of the degree of glucose intolerance in diabetes. **Diabetes**, 1976; 25: 230-232.
21. Nathan DM, Singer DE, Hurxthal K and Goodson JD. The clinical information value of the glycosylated hemoglobin assay. **New England Journal of Medicine**, 1984; 310: 341-346.
22. Larsen ML, Horder M and Mogensen EF. Effect of long term monitoring of glycosylated hemoglobin levels in insulin-dependent diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**, 1990; 323: 1021- 1025.
23. Nathan DM. Hemoglobin A<sub>1c</sub>- Infatuation of the real thing? **New England Journal of Medicine**, 1990; 323: 1062-1063.
24. Sperling MA. Physician's guide to insulin-dependent (type I) diabetes: diagnosis and treatment. Alexandria VA: **American Diabetes Association, Inc**, 1988; 44-45.
25. Sox HC. Common diagnostic tests: use and interpretation, 2nd edition. Philadelphia, PA: **American College of Physicians**, 1990; 122, 133-134, 138-140.
26. Castro M y Liceaga C. Complicaciones agudas de la diabetes mellitus. En **Diabetes Mellitus**, cap 14, Sergio Islas, Alberto Lifshitz; Ed. McGraw-Hill Interamericana, 1999; 2ª edición: 175-190.
27. Cullen MT, Reece A, Homko CJ and Sivian E. The changing presentations of diabetic ketoacidosis during pregnancy. **American Journal of Perinatology**, 1996; 13(7): 449-451.
28. Hagay ZJ. Diabetic ketoacidosis in pregnancy: etiology, pathophysiology and management. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, 1994; 37(1): 39-49.
29. Chauhan SP, Perry KG, McLaughlin BN, Roberts WE, Sullivan CA and Morrison JC. Diabetic ketoacidosis complicating pregnancy. **Journal of Perinatology**, 1996; 16(3): 173: 175.
30. Islas S. Complicaciones crónicas. Introducción. En **Diabetes Mellitus**, cap 16, Sergio Islas, Alberto Lifshitz; Ed. McGraw-Hill Interamericana, 1999; 2ª edición: 205-207.

31. McLean MP, Warden KJ, Sandhoff TW, Irby RB and Hales DB. Altered ovarian sterol carrier protein expression in the pregnant streptozotocin-treated diabetic rat. **Biology of Reproduction**, 1996; 55:38-46.
32. Foglia VG, Broghelli RF, Chieri RA, Fernandez-Collazo EL, Spindler I and Wesley O. Sexual disturbances in the diabetic rat. **Diabetes**, 1963; 12 (3): 231-237.
33. Hassan AA, Hassouna MM, Taketo T, Gagnon C y Elhilali MM. The effect of diabetes on sexual behavior and reproductive tract function in male rats. **The Journal of Urology**, 1993; 149: 148-154.
34. Schöffling K, Federlin K, Ditschuneit H and Pfeiffer EF. Disorders of sexual function in male diabetics. **Diabetes**, 1963; 11(6): 519-527.
35. Tzvetkov D y Tzvetkov P. Optimal diagnostics and therapy of sexual dysfunction in diabetes mellitus. **Adv Reprod**, 1998; 1: 133-138.
36. Kienast SG, Fadden C, y Steger RW. Streptozotocin-induced diabetes, blocks the positive feedback release of luteinizing hormone in female rats. **Brain Research Bulletin**, 1993; 32: 399-405.
37. Valdes T, Elkind-Hirsch KE, Rogers DG and Adelman JP. The hypothalamic-pituitary axis of streptozotocin-induced diabetic female rats is not normalized by estradiol replacement. **Endocrinology**, 1991; 128:433-440.
38. Grupo de estudios sobre DM IMSS, México. Diabetes y embarazo: Importancia diagnóstica. **Revista Médica del IMSS**, México 1991; 30: 35-37.
39. Forsberg H, Eriksson UJ and Welsh N. Apoptosis in embryos of diabetic rats. **Pharmacology and Toxicology**, 1998; 83: 104-111.
40. Eriksson UJ, Borg LAH, Forsberg H and Styurd J. Diabetic embryopathy. Studies with animal and *in vitro* models. **Diabetes**, 1991; 40 (suppl 2):94-98.
41. Gestation and Diabetes in France Study Group. Multicenter survey of diabetic pregnancy in France. **Diabetes Care**, 1991; 14(11):994-1000.
42. Zúñiga-González SA. Diabetes y embarazo. **Ginecología y Obstetricia de México**, 1989; 66:221-226.
43. Revilla MC, Islas S. El laboratorio clínico: su utilidad en el paciente con diabetes mellitus: En **Diabetes Mellitus**, 1999; cap.12. ed. Sergio Islas, Alberto Lifshitz; Ed. McGraw-Hill Interamericana, segunda edición: 139-161.
44. Hemachandra A and Smith M. The influence of pregnancy on insulin dependent diabetes mellitus complications. **Diabetes**, 1994; 43 (suppl 1):137A.
45. Fioreli SF, Corona A, Izquierdo JC y Solis G. Diabetes mellitus y embarazo. En: **Diabetes Mellitus**, 1999; cap.8. ed. Sergio Islas, Alberto Lifshitz; Ed. McGraw-Hill Interamericana, segunda edición: 89-106.
46. Oats JN. Diabetes. **Baillière's Clinical Obstetrics and Gynaecology**, 1995; 9(3):481-495.

47. Navarrete VN, Torres IH, Rivera IR, Shor VP and Gracia PM. Maternal carbohydrate disorder and congenital malformations. *Diabetes*, 1967;16(2):127-130.
48. Mills JL. Malformations in infants of diabetic mothers. *Teratology*, 1982; 25:385-394.
49. Gerlini G, Arachi S, Gori MG, Gloria F, Bonci E, Pachi A, Zuccarini O, Fiore R and Fallucca F. Developmental aspects of the offspring of diabetic mothers. *Acta Endocrinologica*, 1986; (suppl 277): 150-155.
50. Editorial. Abnormal infants of diabetic mothers. *Lancet*, 1980; I:633-634.
51. Eriksson UJ. Importance of genetic predisposition and maternal environment for the occurrence of congenital malformations in the offspring of diabetic rats. *Teratology*, 1988; 37: 365-374.
52. Goldman AS, Baker L, Piddington R, Marx B, Herold R and Egler J. Hyperglycemia-induced teratogenesis is mediated by functional deficiency of araquidonic acid. *Proc Natl Acad Sci*, 1985; 82: 8227-8231.
53. Rosen B, Miodovnik M, Combs CA, Khoury J, Siddiqi TA. Glycemic thresholds for spontaneous abortion and congenital malformation in insulin dependent diabetes mellitus. *Obstet. Gynecol.*, 1994; 84: 515.
54. Baker L, Egler JM, Klein SH and Goldman AS. Meticulous control of diabetes during organogenesis prevents congenital lumbosacral defects in rats. *Diabetes*, 1981; 30: 955-959.
55. Mills JL, Baker L and Goldman AS. Malformations in infants of diabetic mothers occur before the seventh gestational week. *Diabetes*, 1979; 28:292-293.
56. Wentzel P and Eriksson UJ. Antioxidants diminish developmental damage induced by high glucose and ciclooxigenase inhibitors in rat embryos in vitro. *Diabetes*, 1998; 47: 677-684.
57. Kwon NS, Lee SH, Choi CS, Kho T and Lee HS. Nitric oxide generation from streptozotocin. *The FASEB Journal*, 1994; 8(8):529-533.
58. Bradley RJ, Brudenell JM, Nicolaidis KH. Fetal acidosis and hyperlacticaemia diagnosed by cordocentesis in pregnancies complicated by maternal diabetes mellitus. *Diabetes Med*, 1991; 8: 464-468.
59. Siman CM and Eriksson UJ. Vitamin E decreases the occurrence of malformations in the offsprings of diabetic rats. *Diabetes*, 1997; 46: 1054-1061.
60. Reece EA, Coustan DR, Sherwin R.S, Tuck S, Bates S, O'Connor T and Tamborlane WV. Does intensive glycemic control in diabetic pregnancies result in normalization of other metabolic fuels? *American Journal of Obstetrics and Gynecology.*, 1991; 165: 126-130.
61. Molsted-Pedersen L. Pregnancy and diabetes. A survey. *Acta endocrinologica* 94, 1980; (suppl 238):13-19.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

62. Day RE and Insley J. Maternal diabetes mellitus and congenital malformation. Survey of 205 cases. *Archives of Disease in Childhood*, 1976; 51: 935-938.
63. Sadler TW and Horton WE. Effects of maternal diabetes on early embryogenesis. The role of insulin and insulin therapy. *Diabetes*, 1983; 32:1070-1074.
64. Simpson JL, Elias S, Martin AO, Palmer MS, Ogata ES and Radvany RA. Diabetes in pregnancy, Northwestern University series (1977-1981). Prospective study of anomalies in offspring of mothers with diabetes mellitus. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1983; 146:263-268.
65. Molsted-Pedersen L, Tygstrup I and Pedersen J. Congenital malformations in newborn infants of diabetic women. Correlation with maternal diabetic vascular complications. *Lancet*, 1964; I:1124-1126.
66. Slee J and Goldblatt J. Further evidence for preaxial hallucal polydactyl as a marker of diabetic embryopathy. *J. Med. Genet*, 1997; 34(3): 261-263.
67. Schaefer UM, Songster G, Xiang A, Berkowitz K, Buchanan TA, Kjos SL. Congenital malformations in offsprings of women with hyperglycemia first detected during pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 1997; 177:1165-1171.
68. Eriksson UJ, Karlsson M and Styruud J. Mechanisms of congenital malformations in diabetic pregnancy. *Biol. Neonate*, 1987; 51:113-118.
69. Phellan AS, Ito M and Loeken MR. Neural tube defects in embryos of diabetic rats. Role of the Pax-3 gene and apoptosis. *Diabetes*, 1997; 46: 1189-1197.
70. Martinez-Frias ML. Epidemiological analysis of outcome of pregnancy in diabetic mothers: identification of the most characteristics and most frequent congenital anomalies. *Am J Med Gen*, 1994; 51: 108-113.
71. Correspondence. Diabetes and congenital malformations. *Paedriatric and Perinatal Epidemiology* 10(4):469-476.
72. Greene MF, Hare JW, Cloherty JP, Benacerraf BR and Soeldner JS. First-trimester hemoglobin A<sub>1</sub> and risk of mayor malformations and spontaneous abortion in diabetic pregnancy. *Teratology*, 1989; 39: 225-231.
73. Miller E, Hare JW, Cloherty JP, Dunn PJ, Gleason RE, Soeldner S and Kitzmiller JL. Elevated maternal hemoglobin A<sub>1c</sub> in early pregnancy and major congenital anomalies in infants of diabetic mothers. *New England Journal of Medicine*, 1981; 304(22):1331-1334.
74. Nordström L, Spetz E, Wallström K and Walinder O. Metabolic control and pregnancy outcome among women with insulin-dependent diabetes mellitus. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1998; 77:284-289.
75. Travers JP, Pratten MK and Beck F. Effects of low insulin levels on rat embryonic growth and development. *Diabetes*, 1989; 38:773-778.

76. Lee A, Plump A, Cerami A and Bucala R. Diabetes- induced teratogenesis: Role of DNA damage in a transgenic mouse model. *Diabetes*, 1993; 42 (suppl 1):85A.
77. Eriksson UJ, Borg LAH. Protection by free oxygen radical scavenging enzymes against glucose-induced embryonic malformations in vitro. *Diabetologia*, 1991; 34: 325-331.
78. Warso MA, Lands WEM. Lipid peroxidation in relation to prostacyclin and thromboxane physiology and patophysiology. *British Medical Bulletin*, 1983; 39: 277-80.
79. Sakamaki H, Akasawa S, Ishibashi M, Izumino K, Takino H, Yamaguchi Y, Goto S, Urata Kondo T and Nagasaki S. Significance of glutathione-dependent antioxidants system in diabetes-induced embryonic malformations. *Diabetes*, 1999; 48(3): 1138-1144.
80. Wentzel P, Welsh N and Eriksson UJ. Developmental damage, increased lipid peroxidation, diminish cyclooxygenase-2 gene expression, and lowered prostaglandin E2 levels in rat embryos exposed to a diabetic environment. *Diabetes*, 1999; 48(4): 813-820.
81. Eriksson UJ and Siman MC. Pregnant diabetic rats fed the antioxidant butylated hydroxytoluene show decreased occurrence of malformations in offspring. *Diabetes*, 1996; 45: 1497- 1502.
82. Freinkel N, Crockroft DL, Lewis MJ, Gorman L, Akazawa S, Phillips LS and Shambaugh E. The 1986 McCollum award lecture. Fuel mediated teratogenesis during early organogenesis: the effect of increased concentrations of glucose, ketones or somatomedin inhibitor during rat embryo culture. *American Journal of Clinical Nutrition* 1986; 44: 986-95.
83. Hunter ES, Sadler TW and Wynn RE. A potential mechanism of DL- $\beta$ -hydroxybutyrate-induced malformations in mouse embryos. *American Journal of Physiology*, 1987; 253 (1): E72-E80.
84. Lewis NJ, Akazawa S and Freinkel N. Teratogenesis from  $\beta$ -hydroxybutyrate during organogenesis in rat embryo organ culture and enhancement by subteratogenic glucose. *Diabetes*, 1983; 32 (suppl 1):11A.
85. Sadler TW, Hunter ES III, Wynn RE and Phillips LS. Evidence for multifactorial origin of diabetes-induced embryopathies. *Diabetes*, 1989; 38:70-74.
86. Balkan W, Phillips LS, Goldstein S and Sadler TW. Potential role of somatomedin inhibitors in the production of diabetic embryopathies. *Teratology*, 1988; 37: 271-282.
87. Buchanan TA, Denno KM, Sipos GF and Sadler TW. Diabetic teratogenesis. In vitro evidence for a multifactorial etiology with little contribution from glucose per se. *Diabetes*, 1994; 43:656-660.

88. Ornoy A, Zaken V and Kohen R. Role of reactive oxygen species (ROS) in the diabetes-induced anomalies in rat embryos in vitro: reduction in antioxidant enzymes and low-molecular-weight antioxidants (LMWA) may be the causative factor for increased anomalies. **Teratology**, 1999; 60(6): 376-386.
89. Brown ZA, Mills JL, Metzger BE, Knopp RH, Simpson JL, Jovanovic-Peterson L, Scheer K, Van Allen MI, Aarons JH and Reed GF. Early sonographic evaluation of fetal growth delay and congenital malformations in pregnancies complicated by insulin-requiring diabetes. **Diabetes Care** 1992;15:613
90. Hay WWJ. The role of placental-fetal interactions in fetal nutrition. **Semin. Perinatol**, 1991; 15: 424-433.
91. Reece EA, Homoko CJ, Wu YK and Wiznitzer A. Metabolic fuels and diabetic embryopathy. **Clinics in Perinatology**, 1993; 20 (-): 517-532.
92. Wentzel P and Eriksson UJ. Insulin treatment fails to abolish the teratogenic potential of serum from diabetic rats. **European Journal of Endocrinology**, 1996; 134: 459-466.
93. Moreno-Ruiz ME, Palacio-Vasco F and Espinosa de los Monteros A. Malformaciones congénitas en los hijos de madres con alteración en el metabolismo de la glucosa. **Boletín Médico del Hospital Infantil de México**, 1988; 45(10): 666-670.
94. Becerra JE, Khoury MJ, Cordero JF and Erickson JD. Diabetes mellitus during pregnancy and the risks for specific birth defects: A population based case-control study. **Pediatrics**; 1990, 85(1):1-9.
95. Eriksson UJ and Borg LAH. Diabetes and embryonic malformations. Role of substrate-induced free- oxygen radical production for dysmorphogenesis in cultured rat embryos. **Diabetes**, 1993; 42:411-419.
96. Desoye G, Hofmann HH and Weiss PA. Insulin binding to trophoblast plasma membranes and placental glycogen content in well controlled gestational diabetic woman treated with diet or insulin, in well controlled overt patients and in healthy control subjects. **Diabetologia** 1992; 35: 45-55.
97. Takayama Hasumi S, Yoshino H, Shimisu M, Minei S, Sanaka M, Omori Y. Insulin receptor is enhanced in placentas for non insulin dependent diabetic woman with large-for-gestational-age babies. **Diabetes Res. Clin Pract.**, 1994; 22: 107-116.
98. Freinkel N. The Banting Lecture 1980 of pregnancy and progeny. **Diabetes** 1980; 29:1023-1025.
99. Naeye RL. The outcome of diabetic pregnancies: a prospective study. en **Pregnancy metabolism, Diabetes and Fetus**. Ellion K, O'Connor M. Eds, Amsterdam, Excerpta Med, 1979; p 227-380.
100. Silverman BL, Cho NH, Rizzo TA and Metzger BE. Long-term effects of the intrauterine environment. **Diabetes Care**, 1998; 21 (sup 2): B142-B149.



101. Brownschidle CM, Wootten V, Mathieu MH, Davis DL and Hofmann IA. The effects of maternal diabetes on fetal maturation and neonatal health. *Metabolism*, 1983; 32 (7suppl 1):148-155.
102. Caruso A, Paradisi G, Ferrazzani S, Luchese A, Moretti S and Fulghesu AM. Effect of maternal carbohydrate metabolism on fetal growth. *Obstet Gynecol*, 1998; 92:8-12.
103. Mordes JP, Rossini AA. Animal models of diabetes. *American Journal of Medicine*, 1981; 70: 353-360.
104. Kalter H. Reproductive toxicology in animals with induced and Spontaneous Diabetes. *Reproductive Toxicology*, 1996; 10 (6): 417-438.
105. Pickup J and Williams G. **Textbook of Diabetes**. cap. 14. Environmental factors in the pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus Ed. Blackwell Science, 2° ed., 1997; 1, 14.2-14.3.
106. Rodriguez B, Poucheret P, Battell ML and McNeill JH. Streptozotocin-induced diabetes: induction, mechanism(s) and dose dependency. En **Experimental Models of Diabetes**, ed. John H. McNeill 1999, CRC press LLC, chap 1: 3-17.
107. McIntosh CHS and Pederson RA. Noninsulin-dependent animal models of diabetes mellitus. En **Experimental Models of Diabetes**. ed John H. McNeill, 1999, CRC press LLC, chap 14: 337-398.
108. Leiter EH, Gerling IC and Flynn JC. Spontaneous insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) in nonobese diabetic (NOD) mice: Comparisons with Experimentally Induced IDDM. En **Experimental Models of Diabetes**. ed John H. McNeill, 1999, CRC press LLC, chap 12: pp 257- 294.
109. Field CJ and Butler SC. The BB rat: A unique model of human type 1 diabetes. En **Experimental Models of Diabetes**. ed John H. McNeill, 1999, CRC press LLC, chap 13: pp 295- 336.
110. Jacobs HR. Hyperglycemic action of alloxan. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1937; 37: 407-409.
111. Battell LM, Yuen VG, Verma S and McNeill JH. Other models of type I diabetes. En **Experimental Models of Diabetes**. ed John H. McNeill, 1999, CRC press LLC, chap 10: pp 219-229.
112. Pickup J and Williams G. **Textbook of Diabetes**. cap. 16. Animal models of insulin-dependent diabetes mellitus, Ed. Blackwell Science, 2° ed., 1997; 1: 16.1-16.16.
113. Takasu N, Komiya Y, Asawa T, Nagasawua Y and Yamada T. Streptozotocin and alloxan induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and DNA fragmentation in pancreatic islets. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as mediator for DNA fragmentation. *Diabetes*, 1991; 40:1141-45.

114. Idahl LA, Lernmark A, Sehlin J, Taljedal IB. Alloxan cytotoxicity *in vitro*. Inhibition of rubidium ion pumping in pancreatic beta-cells. **Biochemical Journal**, 1977; 162: 9-18.
115. Orci L, Amhardt M, Malaisse-Lagae F. Islet cell membrane alterations by diabetogenic drugs. **Laboratory of Investigation**, 1979; 34: 451-459.
116. Mendez JD y Ramos HG. Modelos experimentales. En **Diabetes Mellitus**, 1993; cap. 28, ed Sergio Islas, Alberto Lifshitz; Ed. McGraw-Hill Interamericana, primera edición: 303-333.
117. Danby R, Bluff L, Deheny TP and Gibson WR. Effects of alloxan and streptozotocin at high doses on blood glucose levels, glucose tolerance and responsiveness to sulphonylureas in chickens. **General and Comparative Endocrinology**, 1982; 47: 159-169.
118. Davis E, Fugo N, Lawrence K. Effect of alloxan diabetes on reproduction in the rat. **Proc. Soc. Biol Med**, 1947; 66: 638-641.
119. Morgan NG, Cable HC, Newcombe NR and Williams GT. Treatment of cultured pancreatic B-cells with streptozotocin induces cell death by apoptosis. **Bioscience Reports**, 1994; 14 (5): 243-250.
120. Herr RR, Jahnke HK and Argoudelis AD. The structure of streptozotocin. **Journal of the American Chemical Society**, 1967; 89(18): 4808-4809.
121. Mansford KR and Opie L. Comparison of metabolic abnormalities in diabetes mellitus induced by streptozotocin or alloxan. **Lancet** 1968:670.
122. Rakieten N, Rakieten M and Nadkarni MV. Studies on diabetogenic action of streptozotocin (NSC-379117). **Cancer Chemotherapy Reports**, 1963; (29): 91-98.
123. Saini KS, Thompson C, Winterford CM, Wather NI. and Cameron DP. Streptozotocin at low doses induces apoptosis and high doses causes necrosis in a murine pancreatic  $\beta$  cell line, INS-1. **Biochem Mol Biol Int**, 1996; 36(6):1229-1236.
124. Wiley PF, Herr RR, Jahnke HK, Chidester CG, Mizak SA, Spaulding B and Argoudelis A. Streptozotocin: structure and chemistry. **J Org Chem**, 1979; 44(1): 9-16.
125. Schendel WJ, Ferber S, Johnson JH and Newgard CB. STZ transport and cytotoxicity. Specific enhancement in GLUT2-expressing cells. **Diabetes**, 1994; 43(11): 1326-1333.
126. Soo Kwon N, Haeng Lee S, Soon Choi C, Kho T and Sung Lee H. Nitric oxide generation from streptozotocin. **The FASEB Journal**, 1994; 8: 529-532.
127. Tsuji A and Sakurai H. Generation of nitric oxide from streptozotocin (STZ) in the presence of copper (II) plus ascorbate: Implications for the development of STZ-induced diabetes. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 1998; 245 (1):11-16.

128. Tsuji A and Sakurai H. Vanadyl ion suppresses nitric oxide production from peritoneal macrophages of streptozotocin-induced diabetic mice. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 1996; 226 (2):506-511.
129. Lön U and Lön S. Cytotoxicity, calmodulin and DNA lesions in cells treated with streptozotocin. **Bioq Farm**, 1988; 37(18): 3441-3446.
130. Junod A, Lambert AE, Stauffacher W and Renold AE. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. **Journal of Clinical Investigation**, 1969; 48: 2129.
131. Eriksson U, Andersson A, Efendic S, Elde R and Hellerstrom C. Diabetes in pregnancy: effects on fetal and newborn rat with particular regard to body weight, serum insulin concentration and pancreatic contents of insulin, glucagon and somatostatin. **Acta Endocrinologica**, 1980; 94: 345-436.
132. Clough RW, Steger RW y Kienast SG. Luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) secretion in vitro from streptozotocin induced diabetic rat hypothalamy. Program and Abstracted of the 72<sup>nd</sup> Annual Meeting of the **Endocrine Society**; abstr. 453; 1990.
133. Howland BE y Zebrowski EJ. Pituitary response to gonadotropin-releasing hormone in diabetic male rats. **Experientia**; 1980, 36: 610-611.
134. Steger RW, Amador A, Lam E, Rathert J, Weis J y Smith MS. Streptozotocin-induced deficits in sex behavior and neuroendocrine function in male rats. **Endocrinology**, 1983; 124: 1737-1743.
135. Palomino MA, Revilla MC, Cárdenas A, Polanco AC e Islas S. Efecto de la diabetes inducida sobre la reproducción y el desarrollo. **Ginecología y Obstetricia de México**, 1998; 66:403-406.
136. Clark JT. Sexual function in altered physiological states: comparison of effects of hypertension diabetes, hyperprolactinemia, and others to "normal" aging in male rats. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, 1995; 19 (2): 279-302.
137. Eriksson UJ, Bone AJ, Turnbull DM and Barid JD. Timed interruption of insulin therapy in diabetic BB/E rat pregnancy: effect of maternal metabolism and fetal outcome. **Acta Endocrinologica**, 1989; 120: 800-810.
138. Eriksson RSM, Thunberg L and Eriksson UJ. Effects of interrupted insulin treatment on fetal outcome of pregnant diabetic rats. **Diabetes**, 1989; 38: 764-772.
139. Horii K, Watanabe G and Ingalls T. Experimental diabetes in pregnant mice. Prevention of congenital malformations in offspring by insulin. **Diabetes** 1996; 15: 194-204.
140. Eriksson UJ, Dahlström E and Hellerström C. Diabetes in pregnancy. Skeletal malformations in the offsprings of diabetic rats after intermittent withdrawal of insulin in early gestation. **Diabetes**, 1983; 32:1141:1145.

141. Otani H, Tanaka O, Tatewaki R, Naora H and Yoneyama T. Diabetic environment and genetic predisposition as causes of congenital malformations in NOD mouse embryos. **Diabetes**, 1991; 40:1245-1250.
142. Valdes CT, Elkind-Hirsh KE and Rogers DG. Diabetes-induced alterations of reproductive and adrenal function in the female rat. **Neuroendocrinology**, 1990; 51:406-412.
143. Farina JMS, Chieri RA, Basabe JC and Foglia VG. Response to gonadotrophins in mature and immature diabetic female rats. **Fertility and Sterility**, 1971; 22 (12): 794-798.
144. Yamamoto M, Endo A, Watanabe G and Ingalls TH. Chromosomal aneuploidies and polyploidies in embryos of diabetic mice. **Archives of Environmental Health**, 1971; 22:468-475.
145. Menegola E, Prati M, Broccia ML, Ricolfi R and Giavini E. In vitro development of rat embryos obtained from diabetic mothers. **Experientia**, 1995; 51:394-397.
146. Styrud J, Thunberg L, Nybacka O and Eriksson UJ. Correlation between maternal metabolism and deranged development in the offspring of normal and diabetic rats. **Pediatric Research**, 1995; 37(3):343-353.
147. Deuchar EM. Embryonic malformations in rats, resulting from maternal diabetes: preliminary observations. **Journal of Embryology and Experimental Morphology**, 1977; 41: 93-99.
148. Pitkin RM. Fetal effects of experimental maternal diabetes. **Obstetrics and Gynecology**, 1973; 41 (4):642.
149. Watanabe G and Ingalls T. Congenital malformations in the offspring of alloxan-diabetic mice. **Diabetes**, 1963; 12 (1): 66-72.
150. Takano K and Nishimura. Congenital Malformations Induced by alloxan diabetes in mice and rats. **Anat Rec**, 1967; 158: 303-312.
151. Funkai K and Mikamo K. Developmental-stage-dependent teratogenic effects of maternal spontaneous diabetes in the chinese hamster. **Diabetes**, 1983; 32: 637-643.
152. Menegola E, Broccia ML, Prati M, Ricolfi R, Giavini E. Glutathione Status in Diabetes-Induced Embryopathies. **Biol. Neonate**, 1996; 69:293-297.
153. Lea RG, McCracken JE, McIntyre SS, Smith W, Baird JD. Disturbed development of preimplantation embryo in the insulin dependent diabetic BB/E rat. **Diabetes**, 1996; 45 (11): 1463-1470.
154. Pettitt D, Aleck KA, Baird HR, Carragher MJ, Bennett PH and Knowler WC. Congenital susceptibility to NIDDM: Role of intrauterine environment. **Diabetes**, 1988; 37: 622-628.

155. Eriksson UJ, Dahlström E, Larsson KS and Hellerström C. Increased incidence of congenital malformations in the offspring of diabetic rats and their prevention by maternal insulin therapy. **Diabetes**, 1982; 31:1-6.
156. Uri-Hare JY, Stern JS, Reaven GM and Keen CL. The effect of maternal diabetes on trace element status and fetal development in the rat. **Diabetes**, 1985; 34:1031-1040.
157. Giavini E, Broccia ML, Prati M, Roversi GD and Vismara C. Effects of streptozotocin-induced diabetes on fetal development of the rat. **Teratology**, 1986; 34:81-88.
158. Tanigawa K, Kaawaguchi M, Tanaka O and Kato Y. Skeletal malformations in rat offspring. Long-term effect of maternal insulin-induced hypoglycemia during organogenesis. **Diabetes**, 1991; 1115-1121.
159. Endo, A. Teratogenesis in diabetic mice treated with alloxan prior to conception. **Arch Environ Health**, 1966; 12: 492-500.
160. Endo A and Ingalls T. Chromosomal anomalies in embryos of diabetic mice. **Arch Environ Health**, 1968; 16: 316-324.
161. Rudge MVC, Calderon IMP, Ramos MD y Rodriguez MAM. La diabetes y la gestación experimental en ratas: desarrollo de los niveles de glucosa materna y su repercusión y los niveles de glucosa del páncreas en los recién nacidos. **Brazilian Journal of Medicine and Biology Research**, 1995; 28(2): 219-225.
162. Van Assche FA, Aerts L and Hollemans K. Metabolic alterations in adulthood after intrauterine development in mothers with a mild diabetes. **Diabetes**, 1991; Suppl 2: 106-108.
163. Babichev VN and Shishkina IV. Development of the reproductive system in the progeny of rats with streptozotocin diabetes. **Prob Endokrinol (Mosk)**, 1994; 40 (2): 60-62.
164. Brown NA and Fabro S. Quantitation of embryonic development in vitro: a morphological scoring system. **Teratology**, 1981; 24: 65-78
165. Brosky G and Logothetopoulos. Streptozotocin diabetes in the mouse and guinea pig. **Diabetes**, 1969; 18(9): 606-611.
166. Sybulski S and Maughan GB. Use of streptozotocin as diabetic agent in pregnant rats. **Endocrinology**, 1971; 89: 1537-1540.
167. Carnaud C. The contribution of animal models to the understanding of the pathogenesis of type 1 diabetes. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 1995; 28: 925- 929.
168. Deuchar EM. Effects of streptozotocin on early rat embryos grown in culture. **Experientia**, 1978; 34 (1): 84-85.
169. Eriksson UJ, Dahlström VE and Styrd J. Metabolically determinate teratogenesis: malformations and maternal diabetes. **Biochemical Society Transactions**, 1985, 13: 9-82.

170. Rondeel JMM, De Greef WJ, Heide R, and Visser TJ. Hypothalamo-hypophysial-thyroid axis in streptozotocin-induced diabetes. *Endocrinology*, 1992; 130:216-220.
171. Mclean MP, Billheimer JT, Warden KJ and Irby RB. Differential expression of hepatic sterol carrier proteins in the streptozotocin-treated diabetic rat. *Endocrinology*, 1995; 133 (8): 3360-3368.
172. Öztürk Y, Aydın S, Özçelikay AT, Altan VM and Yildizoglu-Ari. Calmodulin content and in vitro contractility of duodenum from streptozotocin-induced diabetic rats: effects of insulin therapy and calmodulin antagonism. *European Journal of Pharmacology*, 1997; 321: 59-65.
173. Géloën A, Roy PE and Bukowiecki LJ. Regression of wide adipose tissue in diabetic rats, *American Journal of Physiology*, 1989; 257:E547.
174. Steger RW, Kienast SG, Pillai S and Rabe M. Effects of streptozotocin-induced diabetes in neuroendocrine response to ovariectomy and estrogen replacement in female rats. *Neuroendocrinology*. 1993; 57 (3): 525-531.
175. Arbeeny CM, Edelstein D, Freedman SR and Eder HA. Serum lipoproteins of diabetic rats fed a high cholesterol diet. *Diabetes*, 1980; 29: 774-777.
176. Sadler TW. Effects of maternal diabetes on early embryogenesis: I. The teratogenic potential of diabetic serum. *Teratology*, 1980; 21:339-347.
177. Pinter E, Reece AE, Ogburn PL, Turner Shobbins JC, Mahoney MJ and Naftolin F. Fatty acid content of yolk sac and embryo in hyperglycemia-induced embryopathy and effect of arachidonic acid supplementation. *Am J Obstet Gynecol.*, 1988; 159: 1484.
178. Sandler TW. Effects of maternal diabetes on early embryogenesis: II. Hyperglycemia-induced exencephaly. *Teratology*, 1980; 21:349-356.
179. Hayes TM. Plasma lipoproteins in adult diabetes. *Clin Endocrinol*, 1972; 1: 247-251.
180. Medalie JH, Papier C, Herman JB, Goldbourt U, Tamir S Neufeld HN and Riss E. Diabetes mellitus among 10,000 adult men. 1. Five year incidence of associated variables. *Isr J Med Sci*, 1974, 10: 681-697.
181. Sharma D, Bansal BC and Prakash C. Serum lipid studies in insulin dependent diabetics below the age of 30 years. *J Indian Med Assoc*, 1970; 54: 416-420.
182. Sennion LJ and Grundy SM. Effects of diabetes mellitus on cholesterol metabolism in man. *N Eng J Med*, 1977; 296: 1365-1371.
183. Feingold KR, Wiley MH, MacRae G, Moser AH Lear SR and Siperstein MD. The effect of diabetes mellitus on sterol synthesis in the intact rat. *Diabetes*, 1982; 31: 388-395.
184. Maruhama Y. Diet and blood lipids in normal and diabetic rats. *Metabolism*, 1965; 14: 78-87.

185. Kim JN, Runge W, Wells LJ and Lazarow A. Effects of experimental diabetes on the offspring of the rat. *Diabetes*, 1960; 9 (5): 396-404.
186. Revilla MC, Polanco AC, Palomino MA, Sura S, Cárdenas A y Islas S. Efecto de la condición diabética materna sobre la gestación y el desarrollo de las crías de ratas. *Perspectivas en Diabetes*, 1999; 3 (3): 9.
187. Peschke E, Ebel H, Brömme HJ and Peschke D. 'Classical' and 'new' diabetogens -comparison of their effects on isolated rat pancreatic islets in vitro. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2000; 57: 158-164.
188. Chauhan SP, Perry KG, McLaughlin BN, Roberts WE, Sullivan CA and Morrison JC. Diabetic ketoacidosis complicating pregnancy. *Journal of Perinatology*, 1996; 16 (3):173-175.
189. Djursing H. Hypothalamic pituitary-gonadal function in insulin treated diabetic woman with and without amenorrhea. *Dan Med Bull*, 1987; 34:139-147.
190. Trzeciak B. The effect of diabetes mellitus upon the incidence of abnormal genital bleedings in women. *Gin Pol.*, 1978; 49: 119-123.
191. Djursing H, Hagen C, Nyholm HC, Carstensen L, Anderson AN. Gonadotropin responses to gonadotropin-releasing hormone and metoclopramide in women with amenorrhea and insulin treated diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metabol.* 1983; 56: 1016-1021.
192. South SA, Asplin CM, Carlsen EC; Booth RA, Weltman JY, Johnson ML, Veldhuis JD and Evans WS. Alterations in luteinizing hormone secretory activity in women with insulin-dependent diabetes mellitus and secondary amenorrhea. *J Clin Endocrinol*, 1993; 76(4): 1048-1053.
193. Ratzmann KP, Steindel E and Gurr S. Puberty and fertility in young type I (insulin dependent) diabetic woman. *Diabetología*, 1990; 33 (suppl):A140.
194. Islas S, Revilla MC, Gonzalez C, Polanco A, Palomino MA. Streptozotocin and alloxan in experimental diabetes, comparison of the two models in rats. *Acta Histochemica and Cytochemica*, 2000; 33(3):201-208.
195. Cordero L, Treuer S, Landon MB and Gabbe SG. Management of infants of diabetic mothers. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 1998; 152: 249-254.
196. Tong YC, Hung YC, Lin SN and Cheng JT. Dark-cycle video surveillance of sexual performances of normal and diabetic rats. *Urol Int*, 1996; 56(4): 207-210.
197. Johansson B, Meyerson B and Eriksson UJ. Behavioral effects of an intrauterine or neonatal diabetic environment in the rat. *Biol Neonate*, 1991; 59(4):226-235.

<b>ÍNDICE DE CUADROS:</b>	<b>PAG.</b>
Cuadro 1. Clasificación de la diabetes por etiología	7
Cuadro 2. Clasificación obstétrica de la diabetes mellitus propuesta por Priscilla White	8
Cuadro 3. Factores que pueden interferir con la curva de tolerancia a la glucosa	9
Cuadro 4. Complicaciones crónicas en pacientes diabéticos	14
Cuadro 5. Complicaciones de la diabetes durante el embarazo	16
Cuadro 6. Principales alteraciones en los hijos de madres diabéticas	21
Cuadro 7. Frecuencia relativa de las diferentes anormalidades con respecto a lo normal	21
Cuadro 8. Virus que inducen el desarrollo de diabetes en animales y humanos	24
Cuadro 9. Agentes químicos que inducen diabetes	24
Cuadro 10. Dosis y vía de administración de la STZ	31
Cuadro 11. Alteraciones en las crías de ratas diabéticas	34

<b>ÍNDICE DE FIGURAS:</b>	<b>PAG.</b>
Figura 1. Fisiopatología de la cetoacidosis diabética	12
Figura 2. Aloxana	25
Figura 3. Estreptozotocina	28
Figura 4. Posible mecanismo de acción de la aloxana y la estreptozotocina en la célula $\beta$	30



<b>ÍNDICE DE TABLAS:</b>	<b>PAG.</b>
Tabla 1. Porcentaje de ratas con glucemias < 200mg/dl	44
Tabla 2. Porcentaje de mortalidad durante el estudio	45
Tabla 3. Pesos de las ratas en diferentes días de la gestación	46
Tabla 4. Glucemia durante la gestación y después del parto	47
Tabla 5. Niveles de glucosuria durante la gestación	48
Tabla 6. Niveles de cetonas en orina durante la gestación	49
Tabla 7. Química sanguínea de las ratas del lote EI, EII, CI y CII el día del sacrificio.	51
Tabla 8. Porcentaje de ratas que mantienen la gestación hasta el parto espontáneo	53
Tabla 9. Promedio de días de gestación	53
Tabla 10. Número de crías por camada	54
Tabla 11. Peso de las ratas del lote EII que tuvieron o no crías durante la gestación	55
Tabla 12. Niveles de glucosa de las ratas que tuvieron o no crías del lote EII	56
Tabla 13. Niveles de glucosas en orina durante la gestación en ratas que tuvieron o no crías del lote EII	56
Tabla 14. Niveles de cetonas en orina de las ratas que tuvieron o no crías del lote EII	57
Tabla 15. Química sanguínea de las ratas que tuvieron o no crías del lote EII	58
Tabla 16. Porcentaje de viabilidad de las crías de los lotes EII, CI y CII	59
Tabla 17. Sobrevida de las crías hasta los 30 días de vida (antes del destete) de los lotes EII, CI y CII	60
Tabla 18. Peso y la talla al nacer de las crías de ratas diabéticas y no diabéticas	60
Tabla 19. Peso de las crías durante el primer mes de vida	61
Tabla 20. Talla de las crías durante el primer mes de vida	62
Tabla 21. Curva de glucemias de las crías de ratas diabéticas y no diabéticas	63
Tabla 22. Día de apertura vaginal de las crías de las ratas de los lotes EII, CI y CII	64
Tabla 23. Porcentaje de crías hembras gestantes	64
Tabla 24. Pesos de las crías de las ratas de los lotes EII, CI y CII durante la gestación.	65
Tabla 25. Glucemias de las crías de las ratas EII, CI y CII durante la gestación	65

<b>ÍNDICE DE GRÁFICAS:</b>	<b>PAG.</b>
Gráfica 1. Porcentaje de ratas con glucemias <200 mg/dl	44
Gráfica 2. Porcentaje de mortalidad durante el estudio	45
Gráfica 3. Curva de pesos durante la gestación	46
Gráfica 4. Curva de glucosa en sangre durante la gestación	47
Gráfica 5. Niveles de glucosa en orina durante la gestación	48
Gráfica 6. Curva de cetonas en orina durante la gestación	49
Gráfica 7a. Química sanguínea el día del sacrificio	52
Gráfica 7b. Química sanguínea el día del sacrificio	52
Gráfica 7c. Niveles de insulina el día de sacrificio	52
Gráfica 8. Porcentaje de ratas que mantienen la gestación hasta el parto espontáneo	53
Gráfica 9. Promedio de días de gestación	54
Gráfica 10. Número de crías por camada	54
Gráfica 11. Curva de pesos de las ratas que tuvieron o no crías	55
Gráfica 12. Curva de glucosas en sangre de las ratas del lote EII que sí o no tuvieron crías	56
Gráfica 13. Curva de glucosas en orina de las ratas del lote EII que sí o no tuvieron crías	57
Gráfica 14. Curva de cetonas en orina de las ratas del lote EII que sí o no tuvieron crías	57
Gráfica 15a. Química sanguínea de las ratas del lote EII con o sin crías	58
Gráfica 15b. Hemoglobina glucosilada de las ratas del lote EII con o sin crías	59
Gráfica 15c. Insulina de las ratas del lote EII con o sin crías	59
Gráfica 16. Viabilidad de las crías de las ratas diabética y no diabéticas	59
Gráfica 17. Sobrevida de las crías a los 8 y 30 días	60
Gráfica 18a. Peso de las crías al nacer	61
Gráfica 18b. Talla de las crías al nacer	61
Gráfica 19. Curva de pesos durante le primer mes de vida	62
Gráfica 20. Talla de las crías durante el primer mes de vida	62
Gráfica 21. Curva de glucemias de las crías de las ratas diabéticas y no diabéticas	63
Gráfica 22. Día de apertura de la vagina	64
Gráfica 23. Porcentaje de crías hembras gestantes	64
Gráfica 24. Curva de peso durante la gestación de las crías de las ratas EII, CI y CII	65
Gráfica 25. Curva de glucemias de las crías durante la gestación	66

## ABREVIATURAS

DM	Diabetes Mellitus
OMS	Organización Mundial de la Salud
DMID	Diabetes Mellitus Insulino Dependiente
DMNID	Diabetes Mellitus No Insulina Dependiente
Sx.	Síndrome
GPA	Glucosa plasmática en ayuno
PG	Poscarga de glucosa
CTG	Curva de Tolerancia a la Glucosa
Hb	Hemoglobina
HbA	Hemoglobina Glucosilada
HbA <sub>1c</sub>	Hemoglobina Glucosilada fracción 1c
CAD	Cetoacidosis Diabética
AGL	Ácidos Grasos Libres
GnRH	Hormona Liberadora de Gonadotropinas
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
SOD	Superóxido Dismutasa
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
GSH	Glutación
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
CAT	Catalasa
LMWA	Antioxidantes de bajo peso molecular
IQ	Coeficiente Intelectual
DFD	Defectos del campo de Desarrollo
ACTH	Hormona Adrenocorticotrópica
NOD	Ratón Diabético no Obeso
AI	Aloxana
NAD	Nicotidamina adenin dinucleótido
STZ	Estreptozotocina
GLUT	Transportador de Glucosa
NO	Oxido Nítrico
LH	Hormona Luteinizante
FSH	Hormona Folículo Estimulante
PRL	Prolactina
T	Testosterona
LHRH	Hormona liberadora de LH
BB	Bio-Breeder
ip	intraperitoneal

EI	Experimental I
EII	Experimental II
CI	Control I
CII	Control II
ANDEVA	Análisis de Variancia
Pi	Peso inicial
P <sub>22</sub>	peso el día 22 de la gestación
Pf	peso final