



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA**

**“Niveles de osteocalcina en mujeres con diabetes mellitus gestacional con riesgo a desarrollar diabetes mellitus 2”**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA.**

**PRESENTA:  
ANA LUCÍA CÓRDOVA PURECO.**

**DIRECTOR: DRA. RENATA PATRICIA SAUCEDO GARCÍA.**

**ASESOR: M. en C. ROSA ELBA GALVÁN DUARTE.**



**MÉXICO 2013**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## **JURADO ASIGNADO.**

Presidente: **Q.F.B. María del Pilar Cedillo Martínez.**  
Vocal: **Dra. Renata Patricia Saucedo García.**  
Secretario: **M. en C. Rosa Elba Galván Duarte.**  
Suplente: **Dra. Mirna Ruíz Ramos.**  
Suplente: **M. en C. Claudia Fabiola Martínez Rodríguez.**

El presente trabajo se realizó en la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Endocrinas, Diabetes y Metabolismo, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional "Siglo XXI" del IMSS.

---

**Dra. Renata Patricia Saucedo García.**  
**Director de Tesis.**

---

**M. en C. Rosa Elba Galván Duarte.**  
**Asesor de Tesis.**

---

**Ana Lucía Córdova Pureco.**  
**Sustentante.**

---

“El éxito no es la clave de la felicidad. La felicidad es la clave del éxito.  
Si amas lo que haces serás exitoso”  
Albert Schweitzer.

## AGRADECIMIENTOS.

Quizá decir “gracias” no es lo más grande que yo tenga para pagar el apoyo que he tenido a lo largo de mi vida, sin embargo estas palabras son lo único que tengo para agradecerles y demostrar cuán importantes son en esto que termina.

Primeramente agradezco a Dios por la vida que me ha obsequiado, por todas las pruebas que ha puesto en mi camino, así como la fuerza y las bendiciones que me ha dado.

A Ana María, mi mamá, mi amiga, mi compañera, la que me da la fortaleza cuando la debilidad está por alcanzarme, gracias por cada sermón, por cada aliento, por cada regaño, por cada abrazo y cada beso. Por creer siempre en mí y en lo que soy, pero sobre todo por ser el mejor ejemplo a seguir, la mujer que nunca se rinde, que nunca se cansa, que ha hecho todo para ayudarme a llegar hasta aquí.

A Moisés, mi hermano, gracias por compartir tanto, por las risas, las tristezas, los juegos e incluso las peleas. Por ser el cómplice de aventuras y desventuras, por escucharme y aconsejarme, por impulsarme a ser mejor cada día.

A mis familiares por la confianza que depositaron en mí, por las palabras de aliento que nunca faltaron y por el apoyo sin el cual no habría podido cumplir esta meta.

A mis amigos, incluso aquellos que ya no están, que sin importar el tiempo, los horarios, las ocupaciones, la situación o las inclemencias de la vida siempre han estado aquí conmigo, dándome esas palabras de aliento, motivándome a seguir.

A la Dra. Renata Saucedo, por brindarme su apoyo y confianza, por los consejos, la paciencia y sobre todo por la dedicación y enormes enseñanzas a lo largo de este proyecto. Mi admiración y respeto van más allá de todo lo que pudiera expresar. ¡Muchas gracias por todo!

A la M. en C. Rosa Elba Galván, quien me dio la oportunidad de participar en este proyecto, así como la dedicación y esfuerzo en la asesoría del mismo. Gracias por tener siempre buena actitud y compromiso por la docencia.

A las Dras. Lupita Rico y Gloria Vega por el apoyo y las facilidades brindadas para la realización de este proyecto.

---

A mis sinodales, por el tiempo dedicado y la disposición a la revisión de este trabajo.

Al personal de la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Endocrinas del Hospital de Especialidades de CMN "Siglo XXI" por el apoyo tanto personal como académico en la realización de este proyecto.

Y por último, a la Universidad Nacional Autónoma de México que desde el momento en que me acogió como parte de ella, me dio los mejores años de mi vida, me llenó de momentos, personas, aprendizajes, profesores e innumerables historias que estoy segura en ningún otro lugar pude haber vivido. A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, que durante 5 años me abrió sus puertas, siendo mi segundo hogar. El lugar donde no sólo aprendí y me formé, sino que me permite continuar con lo que será mi vida entera.

# CONTENIDO

RESUMEN

ABREVIATURAS

1.INTRODUCCIÓN. ....	11
2. MARCO TEÓRICO.....	12
2.1 Eje Hipotálamo-adenohipófisis-ovario.....	12
2.2 Embarazo.....	16
2.2.1 Metabolismo durante el embarazo.....	17
2.3 Diabetes Mellitus Gestacional. ....	21
2.3.1 Prevalencia. ....	22
2.3.2 Factores de riesgo. ....	24
2.3.3 Diagnóstico. ....	24
2.3.4 Tratamiento.....	26
2.3.5 Evaluación posparto. ....	26
2.4 Tejido óseo. ....	28
2.4.1 Generalidades.....	28
2.4.1.1 Composición.....	29
2.4.1.2 Proceso de remodelación ósea. ....	30
2.4.2 Osteocalcina. ....	32
2.4.2.1 Receptor. ....	34
2.4.2.2 Osteocalcina y resistencia a la insulina. ....	36
2.4.2.3. Osteocalcina y diabetes mellitus 2. ....	38
2.4.2.4 Osteocalcina y diabetes mellitus gestacional. ....	39
3. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA. ....	40
4. HIPÓTESIS. ....	40
5. OBJETIVOS. ....	40
6. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	41
6.1 Descripción del estudio.....	41
6.2 Material y métodos.....	42

6.3 Diseño estadístico.....	45
7. RESULTADOS.....	46
8. DISCUSIÓN.....	53
9. CONCLUSIONES.....	57
10. PERSPECTIVAS.....	58
11. REFERENCIAS.....	59
12. ANEXOS.....	67
ANEXO 1. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO .....	67
ANEXO 2. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	68
ANEXO 3. ANÁLISIS BIOQUÍMICOS.....	69
ANEXO 4. INMUNOENSAYOS.....	75

## RESUMEN

El hueso interviene en el metabolismo integral del organismo mediante la acción de la osteocalcina, una proteína que se ve involucrada en la formación ósea. En diversos estudios epidemiológicos se ha observado una disminución de osteocalcina en personas con diabetes mellitus 2 (DM2). Sólo se ha realizado un estudio en mujeres europeas con diabetes mellitus gestacional (DMG) que es una enfermedad metabólica que muestra muchas características de la DM2, incluyendo resistencia a la insulina y alteración en la secreción de insulina por lo que resultó interesante determinar si en mujeres mexicanas con DMG (que corresponden a un grupo étnico de riesgo elevado de DM2) los niveles de osteocalcina se encontraban diferentes que en el embarazo normal en el tercer trimestre de gestación y a las seis semanas posparto. Además se evaluó la relación entre osteocalcina y resistencia a la insulina (RI).

**Método:** Se realizó un estudio prospectivo comparativo en el que se incluyeron 43 mujeres con DMG y 43 mujeres embarazadas con tolerancia normal a la glucosa. Se les tomó una muestra venosa en el tercer trimestre de gestación y a las seis semanas posparto para la determinación de osteocalcina por radioinmunoensayo y además se evaluó la resistencia a la insulina a través del modelo HOMA. El análisis estadístico se realizó con el programa IBM SPSS Statistics versión 19.

**Resultados:** Los niveles de osteocalcina fueron similares entre las mujeres con DMG y las del grupo control ( $17.4 \pm 9.7$  y  $17.6 \pm 8.3$  ng/ml respectivamente). En las mujeres con DMG la osteocalcina se asoció con ganancia de peso durante la gestación ( $r=0.379$ ,  $p<0.05$ ), con el índice de masa corporal ( $r=0.379$ ,  $p<0.05$ ) y con la resistencia a la insulina ( $r=0.316$ ,  $p<0.05$ ). En el grupo control sólo se encontró asociación de osteocalcina con colesterol ( $r=0.354$ ,  $p<0.05$ ). A las seis semanas posparto la osteocalcina se elevó significativamente en ambos grupos, siendo mayor en las pacientes del grupo control. La osteocalcina del grupo con DMG se asoció de manera negativa con edad ( $r=-0.461$ ,  $p<0.01$ ), peso ( $r=-0.303$ ,  $p<0.05$ ), glucosa ( $r=-0.374$ ,  $p<0.05$ ), colesterol ( $r=-0.303$ ,  $p<0.05$ ) y positivamente

con insulina ( $r=0.492$ ,  $p<0.01$ ) y resistencia a la insulina ( $r=0.450$ ,  $p<0.01$ ). Por otra parte se evaluó el efecto de la lactancia en el posparto y se encontró que ésta no afectaba los niveles de osteocalcina. A diferencia de lo observado en DM2, la osteocalcina no es menor en mujeres con DMG. Sin embargo los niveles de osteocalcina se asociaron con resistencia a la insulina en mujeres con DMG, demostrando la interacción hueso-metabolismo energético.

**Conclusiones:** Los niveles de osteocalcina son similares entre las mujeres con DMG y embarazadas con tolerancia normal a la glucosa durante el embarazo. En el posparto la concentración de osteocalcina se elevan significativamente en ambos grupos, siendo más altos en mujeres con tolerancia normal a la glucosa. La osteocalcina se asocia con resistencia a la insulina en mujeres con DMG.

## **ABREVIATURAS.**

**ADA:** Asociación Americana de Diabetes (American Diabetes Association).

**CTG:** Curva de tolerancia a la glucosa.

**DMG:** Diabetes mellitus gestacional.

**DM2:** Diabetes mellitus 2.

**FSH:** Hormona folículo estimulante.

**GAA:** Glucosa de ayuno alterada.

**GnRH:** Hormona liberadora de gonadotropinas.

**GPCR:** Receptor acoplado a proteína G.

**hCG:** Gonadotropina coriónica humana.

**hPL:** Lactógeno placentario humano.

**HOMA:** Modelo homeostático con datos basales.

**IG:** Intolerancia a la glucosa.

**IGF 1 y 2:** Factor de crecimiento similar a la insulina.

**IMC:** Índice de masa corporal.

**IRMA:** Ensayo radioinmunométrico.

**IRS 1 y 2:** Sustratos de receptor de insulina.

**LH:** Hormona luteinizante.

**OC:** Osteocalcina.

**cOC:** Osteocalcina carboxilada.

**ucOC:** Osteocalcina decarboxilada.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**PDGP:** Factor de crecimiento derivado de las plaquetas.

**PTOG:** Prueba de tolerancia oral a la glucosa.

**RI:** Resistencia a la insulina.

**RIA:** Radioinmunoensayo.

**TGF- $\beta$ :** Factor de crecimiento transformante  $\beta$ .

**TNF- $\alpha$ :** Factor de necrosis tumoral  $\alpha$ .

## 1. INTRODUCCIÓN.

El embarazo es el único proceso vital que implica la modificación de todos los sistemas corporales. Comprende todos los procesos fisiológicos de crecimiento y desarrollo del feto en el interior del útero materno, e incluye una gran cantidad de modificaciones de carácter anatómico, fisiológico y psicológico. Uno de los principales cambios se presenta en relación al metabolismo de carbohidratos. Diversas hormonas intervienen en la regulación de este metabolismo, principalmente algunas producidas por el tejido adiposo. Recientemente se descubrió que la osteocalcina, una hormona producida por el tejido óseo, también participa en esta regulación.

La diabetes mellitus gestacional (DMG) es un padecimiento caracterizado por la intolerancia a la glucosa con diversos grados de severidad, que se reconoce por primera vez durante el embarazo, y que puede o no resolverse después de éste.

Las mujeres que desarrollan DMG tienen alto riesgo de desarrollar diabetes mellitus 2 (DM2), en los 10 años que siguen al embarazo. Además observaciones recientes han señalado que los productos de tales embarazos tienen mayor riesgo de obesidad, diabetes y enfermedad cardiovascular.

Su identificación temprana permite implementar medidas preventivas para disminuir y controlar el número de casos, y a su vez evitar complicaciones y secuelas posteriores.

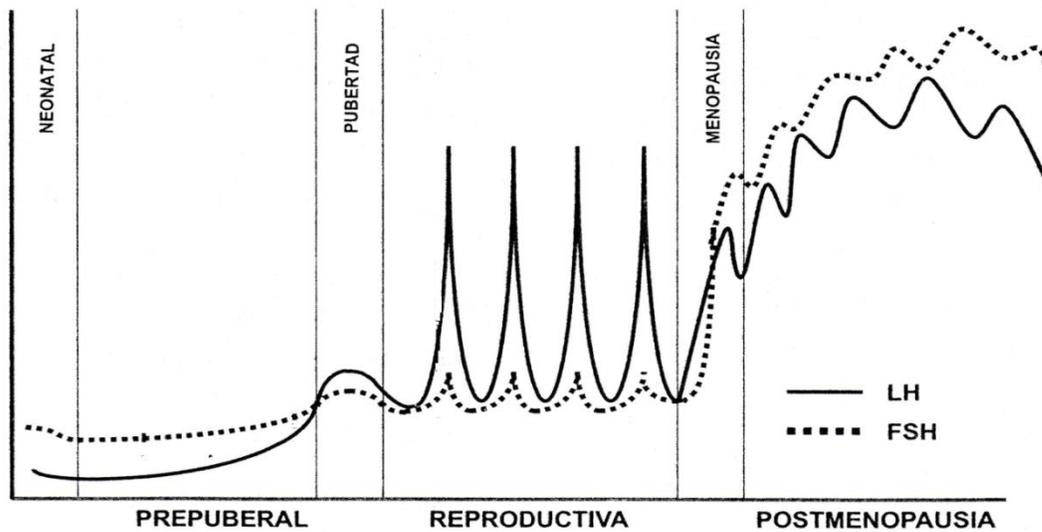
## 2. MARCO TEÓRICO.

### 2.1 Eje Hipotálamo-adenohipófisis-ovario.

La mujer está sometida a grandes cambios hormonales durante toda la vida; estos cambios se presentan de manera particular en el eje gonadal e inician desde la pubertad, transcurren a través de la adolescencia y la vida reproductiva, continuando en la menopausia y la vejez.<sup>1</sup> El eje hipotálamo-adenohipófisis-ovario es una parte fundamental en el desarrollo y la regulación de una serie de sistemas del cuerpo.

El hipotálamo segrega diversas neurohormonas entre las que se encuentra la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), quien a través del sistema porta hipofisiario se transporta hacia la parte anterior de la hipófisis y se une a los receptores en las células secretoras. En respuesta a la estimulación de GnRH estas células producen hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH).

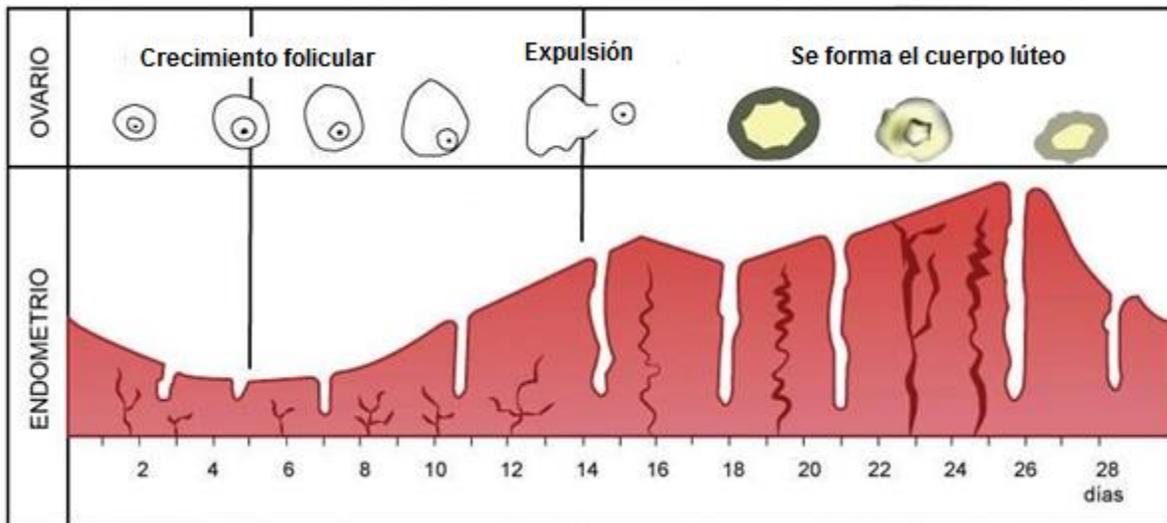
En la etapa prepuberal hay un incremento en la secreción de LH y FSH que dan inicio a la pubertad. Durante la etapa reproductiva se aprecia el incremento de la pulsatilidad en cada ciclo ovulatorio, que coincide con la secreción máxima de ambas gonadotropinas, donde predomina la secreción de LH. Por último durante la etapa postmenopáusica predomina la secreción de FSH y se pierde esta pulsatilidad (Figura 1).<sup>2</sup>



**Figura 1. Patrón de secreción de las gonadotropinas.<sup>2</sup>**

Durante la vida reproductiva se presentan cambios cíclicos necesarios para la menstruación y la gestación, son llamados ciclos menstruales y se pueden describir por los cambios que se producen en los folículos del ovario (ciclo ovárico) y en la capa endometrial del útero (ciclo uterino).<sup>1</sup> Ambos ciclos se dividen en tres fases y están sujetos al control primario de varias hormonas, como son la GnRH, FSH, LH, estrógenos, progesterona e inhibina.<sup>3</sup>

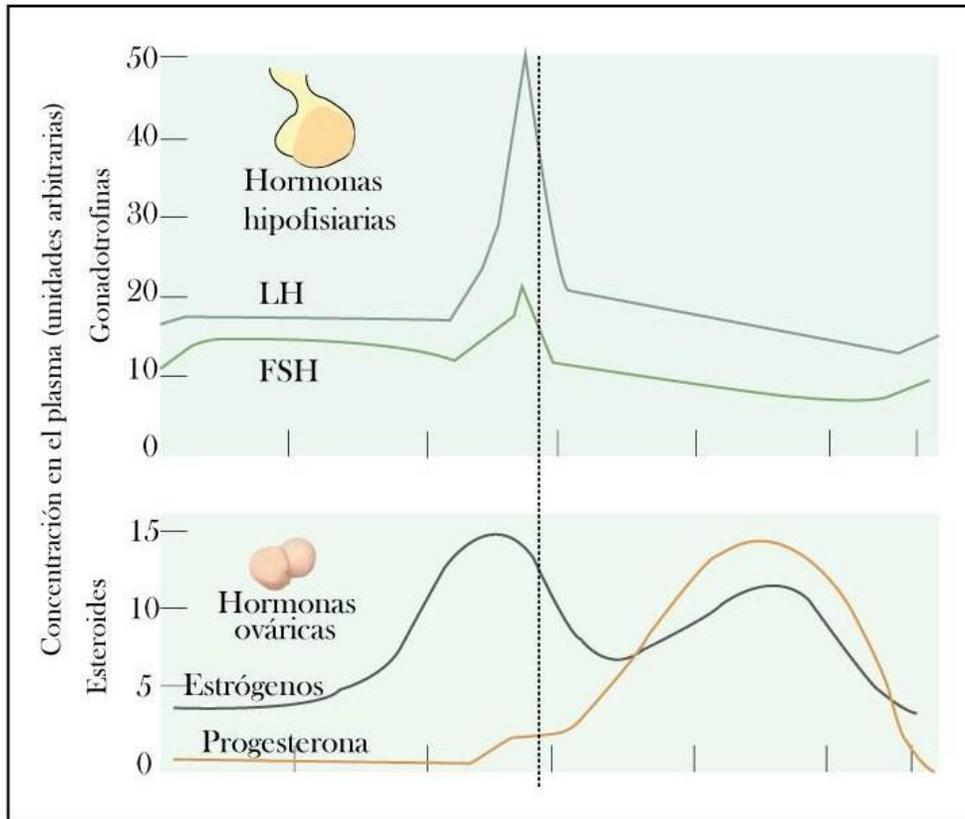
El ciclo ovárico se divide en fase folicular, fase ovulatoria y fase lútea, mientras que el ciclo uterino se divide en menstruación, fase proliferativa y fase secretora (Figura 2).<sup>3</sup>



**Figura 2. Fases del ciclo ovárico y ciclo uterino.<sup>4</sup>**

El inicio de la fase folicular en el ovario se asocia con el sangrado menstrual procedente del útero. Justo antes del comienzo de cada ciclo aumenta la secreción de gonadotropinas en el lóbulo anterior de la hipófisis. Bajo la influencia de la FSH, varios folículos ováricos empiezan a madurar. A medida que los folículos crecen, la FSH y la LH estimulan la producción de hormonas esteroideas en las células granulosas y de la teca, respectivamente. Las células de la teca producen andrógenos que pasan a las células granulosas para convertirse en estrógenos, los cuales ejercerán una retroalimentación negativa sobre la secreción de FSH y LH, además de estimular la producción de más estrógenos. En el útero, la menstruación finaliza durante la fase folicular temprana; bajo la influencia de los estrógenos el endometrio comienza a crecer (fase proliferativa). El estrógeno también estimula a las células mucosas del cuello uterino. Cuando la fase folicular está por terminar, la secreción de estrógenos en el ovario alcanza su valor máximo (Figura 3), además las células granulosas comienzan a secretar inhibina y progesterona. Los estrógenos que habían ejercido un efecto de retroalimentación negativa sobre la GnRH, comienzan a ejercer una retroalimentación positiva y como consecuencia la secreción de LH aumenta y se produce un efecto llamado pico de LH. La FSH también alcanza un pico, pero más bajo, debido al bloqueo

ejercido por la inhibina y los estrógenos. Alrededor de 16 a 24 horas después del pico de LH se produce la ovulación.<sup>3</sup>



**Figura 3. Variación en la concentración de hormonas a través del ciclo menstrual.<sup>5</sup>**

El ovocito liberado durante la ovulación, es capturado por la trompa uterina para su fecundación o su apoptosis. Después de la ovulación, se forma el cuerpo lúteo que produce cantidades mayores de progesterona (hormona predominante durante la fase lútea) y estrógenos. Esta combinación ejerce una retroalimentación negativa sobre la secreción de gonadotropinas. Si no se produce embarazo, el cuerpo lúteo sufre apoptosis, la producción de estrógenos y progesterona se reducen y aumenta la secreción de FSH y LH. En consecuencia la capa superficial del endometrio se desprende y comienza nuevamente la menstruación.<sup>3</sup>

## 2.2 Embarazo.

Si ocurre la fecundación se presentan ajustes glandulares dinámicos y drásticos que permiten responder a diferentes demandas entre los que destaca la producción de diversas hormonas por la unidad fetoplacentaria como gonadotropina coriónica humana (hCG), lactógeno placentario humano (hPL), estrógenos y progesterona (Figura 4).<sup>3</sup>

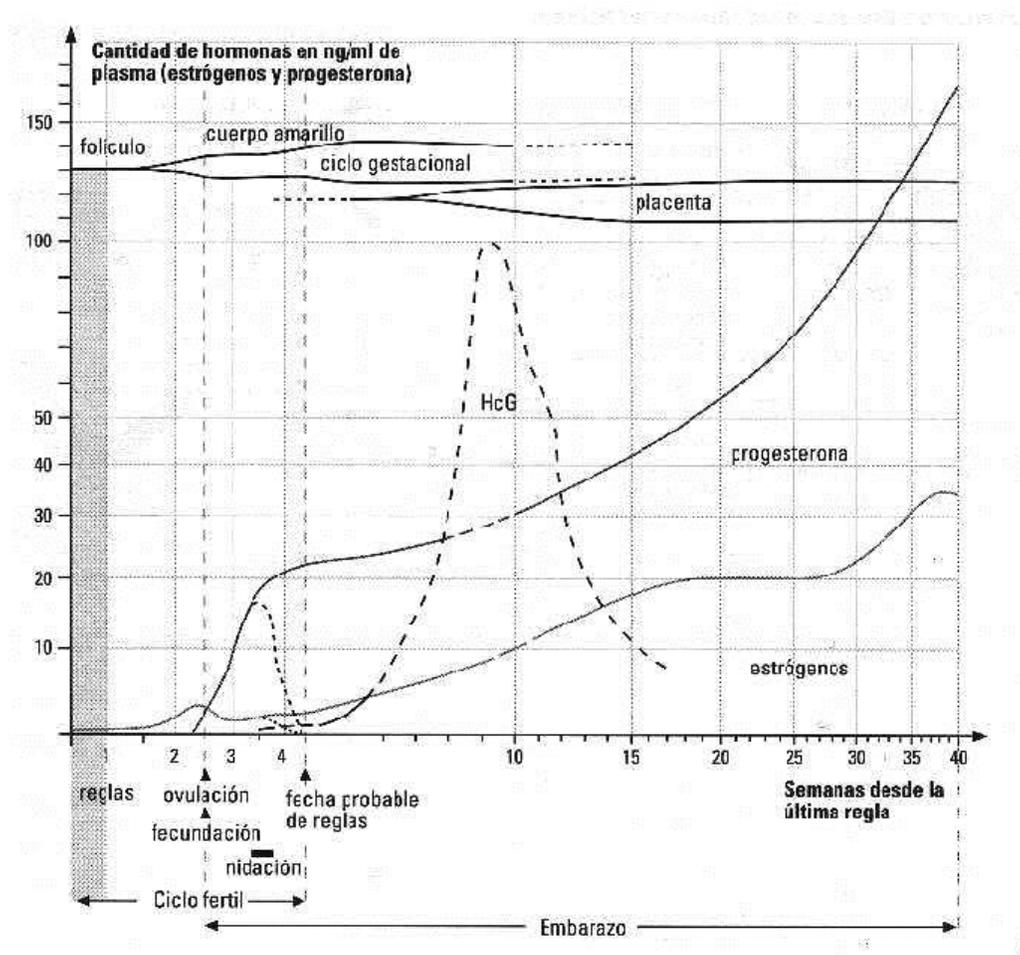


Figura 4. Patrón de secreción de hormonas durante el embarazo.<sup>6</sup>

La hCG es una hormona peptídica secretada por las vellosidades coriónicas y la placenta, tiene influencia sobre el cuerpo lúteo para que la producción de progesterona no se interrumpa y el endometrio se mantenga íntegro.<sup>3</sup>

El hPL es otra hormona peptídica secretada por la placenta, involucrada en el desarrollo de las mamas durante el embarazo y la producción de leche, aunque también está involucrada en el metabolismo materno de la glucosa y los ácidos grasos para mantener el crecimiento del feto.<sup>7-9</sup>

Los estrógenos contribuyen a la producción de conductos mamarios secretores de leche y la progesterona es esencial para mantener el endometrio e inhibe las contracciones uterinas. Además las concentraciones elevadas de estas hormonas mantienen inhibida la hipófisis por retroalimentación.

### **2.2.1 Metabolismo durante el embarazo.**

El embarazo es una condición que implica una adaptación metabólica para suplir los requerimientos del feto en desarrollo. Entre los diversos cambios asociados a la gestación se encuentra el aumento de los lípidos circulantes que a su vez conlleva a algún grado de peroxidación lipídica. En condiciones normales, este fenómeno se ve compensado por una elevación paralela en los sistemas antioxidantes.<sup>7</sup> El incremento de lípidos es fisiológico durante el embarazo y en su mayor parte se debe a variaciones hormonales. Este aumento aporta a la madre una fuente valiosa, tanto para el mantenimiento de su metabolismo basal, como para favorecer el desarrollo del producto, quien necesitará de fuentes lipídicas para la construcción de sus membranas celulares.<sup>10</sup>

El inicio del embarazo es considerado una fase anabólica, caracterizada por un aumento en la producción hepática de triglicéridos. La remoción de los triglicéridos circulantes resulta en un incremento en los depósitos grasos de los adipocitos maternos; en contraste el último trimestre de embarazo es referido como una etapa catabólica, donde se aumenta la liberación de los ácidos grasos desde los adipocitos debido al estímulo de la lipasa sensible a hormonas placentarias.<sup>11-14</sup>

El colesterol total aumenta de forma moderada y el drástico incremento de triglicéridos produce una disminución en la sensibilidad a la insulina al interferir con los mecanismos de transducción de señales de receptor de insulina contribuyendo a un estado de resistencia a la insulina e inflamación.<sup>11, 15</sup>

En relación al metabolismo de la glucosa, las demandas fisiológicas durante el embarazo actúan como una auténtica prueba metabólica, ya que es un esfuerzo para la madre, produciéndose cambios en el metabolismo de la glucosa para cubrir las necesidades energéticas del feto. El embarazo se considera un estado de resistencia progresiva a la insulina. Durante el primer trimestre de gestación aumenta la sensibilidad a la insulina atribuido a las altas concentraciones de estrógenos favoreciendo el depósito de energía en el tejido adiposo. A partir del segundo trimestre de gestación, el músculo esquelético y el tejido adiposo presentan un efecto de resistencia a la insulina. Los factores que condicionan la resistencia a la insulina están relacionados con la acción de los ácidos grasos libres y con la de diversas hormonas y citocinas que se encuentran elevadas durante el embarazo (hPL, factor de necrosis tumoral alfa placentario [TNF- $\alpha$ ]) y algunas adipocinas como leptina.<sup>9</sup>

La resistencia a la insulina (RI) se define como un estado metabólico en el cual los efectos periféricos tisulares de la insulina se encuentran disminuidos y se presenta por razones múltiples como disminución en la expresión del receptor de insulina en la membrana celular, disminución de la actividad de los sustratos de receptor de insulina (IRS1y IRS2), y trastornos posreceptores.<sup>1</sup>

La resistencia a la acción de esta hormona se compensa mediante un aumento en su secreción por parte de la célula  $\beta$ , resultando la llamada “hiperinsulinemia compensadora”.<sup>16</sup>

Durante el primer y segundo trimestre de la gestación la hiperfagia materna estimula el aumento de peso, el depósito de grasa y el aumento del índice de masa magra. La sensibilidad de la insulina en los tejidos es normal o se encuentra aumentada y, debido al consumo de glucosa por la placenta y al crecimiento fetal, la madre se encuentra predispuesta a la hipoglucemia del ayuno. Durante el tercer trimestre del embarazo, la sensibilidad de los tejidos maternos a la insulina disminuye, la utilización de glucosa por los tejidos maternos es menor, a pesar del aumento marcado de la producción de insulina y de la secreción de insulina estimulada por la glucosa. La RI promueve entonces la lipólisis y la cetonemia del ayuno, así como la hiperglucemia e hiperinsulinemia posprandial, con lo cual hay una mayor oferta de nutrientes al feto. En el páncreas materno el tamaño de los islotes aumenta después del tercer mes de gestación.<sup>17</sup>

Para medir la RI se utilizan diversos métodos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) aconseja utilizar la técnica de Clamp euglucémico, considerada el estándar de oro. El método consiste en la infusión endovenosa de insulina para mantener una insulinemia permanentemente elevada por encima de la correspondiente al periodo de ayuno; simultáneamente se van realizando determinaciones de glucemia cada 2-5 minutos para infundir glucosa a un ritmo tal que permita mantener una glucemia alrededor de 5mmol/l de forma estable. El ritmo de infusión de glucosa necesario será proporcional a la sensibilidad a la insulina, y por tanto, inversamente proporcional a la insulino-resistencia. A pesar de ser la técnica más precisa y reproducible, no está exenta de inconvenientes.<sup>15</sup> Su complejidad hace que esté al alcance de pocos laboratorios y que no sea factible en poblaciones grandes, además de que su uso no está estandarizado. Otros métodos similares al Clamp son: Test de tolerancia a la insulina, Modelo homeostático-CIGMA y Minimal model. El método para la valoración de RI basados en un estímulo oral es Insulinemia estimulada, además se han propuesto índices a partir de los datos de la glicemia e insulina obtenidos mediante la prueba de tolerancia oral a la glucosa, entre los que se encuentran el índice de sensibilidad de Belfiore, índice de sensibilidad de Cederholm e índice de

sensibilidad de Matsuda. Finalmente existen los métodos basados en datos basales entre los que se encuentran: Insulinemia basal, QUICKI y el Modelo homeostático (HOMA).<sup>19</sup>

El método HOMA refleja fundamentalmente la resistencia a nivel hepático, dejando de lado la RI muscular y del tejido adiposo.

El HOMA se calcula de la siguiente forma:

$$\text{Glucosa en ayuno (mmol/l)} \times \text{Insulina en ayuno (mU/l)} / 22.5^{20, 21}$$

A pesar del uso común del HOMA como indicador de RI a nivel poblacional, existe escasa información respecto a los puntos de corte. Sin embargo, se considera un índice de HOMA  $\geq 3.2$  como expresión de resistencia a la insulina.

## 2.3 Diabetes Mellitus Gestacional.

La diabetes mellitus gestacional (DMG) es la alteración en el metabolismo de los carbohidratos que se detecta por primera vez durante el embarazo, generalmente durante el segundo trimestre, ésta se traduce como una insuficiente adaptación a la resistencia a la insulina que se produce en la gestante.<sup>9, 22</sup>

En principio, esto excluye a las diversas formas de diabetes pregestacional (tipo 1 ó 2), aunque estas últimas formas de hiperglucemia podrían ser diagnosticadas por primera vez en el transcurso de la gestación.<sup>9</sup>

La DMG es la complicación endocrina más frecuente del embarazo y su frecuencia es variable según los distintos estudios, poblaciones y criterios diagnósticos utilizados. Su importancia radica en que aumenta el riesgo de diversas complicaciones obstétricas como pueden ser el sufrimiento fetal, macrosomía y problemas neonatales, entre otros (Cuadro 1).<sup>1, 9</sup>

**Cuadro 1. Complicaciones asociadas con la DMG.<sup>1</sup>**

Madre	Feto
Preeclampsia	Macrosomía
Eclampsia	Muerte intrauterina
Polihidramnios	Asfixia neonatal
Desgarros perineales	Distocia de hombro y lesión nerviosa
Mayor número de cesáreas	Hipoglucemia
Parto prematuro	Hipocalcemia
Infecciones vaginales y urinarias	Ictericia
	Cardiomiopatía (hipertrofia septal)
	Eritrocitosis

La DMG es causada por los efectos bloqueadores de la acción de la insulina de hPL, TNF- $\alpha$ , leptina, resistina y por la disminución de adiponectina.<sup>1</sup>

El tejido adiposo juega un papel en la regulación del consumo de alimento, el balance de energía y la homeostasis metabólica a través de la producción de diversas adipocinas. Varias de estas hormonas afectan la homeostasis energética, tales como leptina que se produce principalmente en tejido adiposo aunque también en placenta, músculo, estómago e hígado. La placenta humana produce y secreta leptina en la circulación materna y la circulación fetal, y las concentraciones de leptina son elevadas en el embarazo independientemente del índice de masa corporal. La leptina favorece la liberación de citocinas como TNF- $\alpha$  el cual está asociado con una menor sensibilidad a la insulina.<sup>23</sup>

La resistina, una adipocina de reciente descubrimiento, disminuye la sensibilidad a la insulina e incrementa los niveles de glucosa en plasma. Los niveles más elevados de resistina en plasma se encuentran en las etapas tardías de la gestación, comparadas con las no embarazadas. Sin embargo, el papel exacto de la resistina y muchas otras adipocinas en el embarazo está en proceso de ser determinado.<sup>23, 24</sup>

La adiponectina se sintetiza exclusivamente en los adipocitos, presenta receptores en músculo e hígado, sus niveles en suero son más bajos en el embarazo que en las mujeres no embarazadas y su síntesis es frenada por citocinas como TNF- $\alpha$  e IL-6. Aumenta la sensibilidad a la insulina y es vasculoprotectora.<sup>24</sup>

### **2.3.1 Prevalencia.**

La frecuencia de la DMG a nivel mundial es del 7%. En México, dependiendo de la prueba, los criterios diagnósticos utilizados y de la población estudiada se ha reportado entre 3% y 19.6% (Cuadro 2).<sup>25-31</sup>

**Cuadro 2. Prevalencias de DMG en población mexicana.**<sup>31, 32</sup>

Año	Autor	n	Prevalencia DMG (%)
1988	Forsbach <i>et al.</i>	693	4.3
1993	Támez <i>et al.</i>	732	6.0
1995	Meza <i>et al.</i>	519	11.0
1997	López de la Peña <i>et al.</i>	187	6.9
1997	Forsbach <i>et al.</i>	667	3.0
2005	Ramírez M.	8074	19.6
2010	Hinojosa <i>et al.</i>	260	13

En 1988, Forsbach *et al.* llevaron a cabo un estudio en el IMSS de Monterrey, encontrando que después de la administración de una carga de 100g de glucosa el 4.3% de las mujeres alcanzaron los criterios diagnósticos de DMG. En otro estudio, realizado también en Monterrey por Támez y cols. en 1993, la prevalencia encontrada fue de 6.0%, realizando una carga de 100g con una duración de 3 horas poscarga. En 1995, Meza *et al.* realizaron un estudio en Ciudad Juárez, encontrando que la prevalencia en esa región era de 11%, además de que 9% de las mujeres que no alcanzaron los criterios diagnósticos de DMG tuvieron cifras anormales en la curva de tolerancia a la glucosa (CTG) con una carga de 100g de glucosa con mediciones a los 60, 120 y 180 minutos. En 1997 se realizaron dos estudios, el primero a cargo de López de la Peña *et al.* donde informaron que la prevalencia de DMG en mujeres atendidas en el IMSS de Aguascalientes fue de 6.9% aplicando una carga de 100g de glucosa con 3 determinaciones poscarga, el segundo realizado nuevamente por Forsbach *et al.* utilizando una carga de 75g durante 2 horas, indicando una prevalencia de 6.9% en mujeres del Hospital de Gineco-Obstetricia de Monterrey. En 2005, se realizó un estudio en el Instituto Nacional de Perinatología donde utilizaron una carga de 100g de glucosa con

duración de 3 horas, la prevalencia reportada fue de 19.6%. Finalmente en 2010, se realizó un estudio en el Hospital Juárez donde se detectaron 34 casos, 16 por escrutinio (50g de glucosa) y 18 por curva de tolerancia oral a la glucosa, obteniendo una prevalencia del 13%.<sup>25-31</sup>

### **2.3.2 Factores de riesgo.**

Entre los factores de riesgo que incrementan la frecuencia de DMG encontramos:

- Edad materna mayor a 30 años.
- Historia obstétrica (DMG, enfermedad hipertensiva específica del embarazo, abortos a repetición y neomortabilidad fetal, macrosomía y malformaciones fetales)
- Uso de medicamentos con acción hiperglucemiante (corticoides y otros).
- Obesidad central IMC > 30.
- Historia familiar de DM2 especialmente entre los familiares de primer grado.

Se puede agregar como factores de riesgo el hecho de pertenecer a determinados grupos étnicos y el embarazo múltiple.<sup>33-37</sup>

### **2.3.3 Diagnóstico.**

Actualmente se aceptan dos criterios para el diagnóstico de la DMG: el de la OMS y el de la ADA (American Diabetes Association).<sup>37</sup>

La OMS propone que se utilicen en la mujer embarazada los mismos procedimientos de diagnóstico de DM2 y que toda mujer que reúna los criterios diagnósticos de intolerancia a la glucosa o DM2 sea considerada y manejada como DMG. La OMS además recomienda que se utilice la curva de tolerancia a la glucosa de 2 horas con 75g de glucosa por cuestiones de menor costo y resultados similares en cuanto a sensibilidad y especificidad cuando se utilizan los criterios de la ADA (Tabla 1).<sup>37</sup>

**Tabla 1. Criterios diagnósticos de DMG (OMS).**

Tiempo	mg/dl	mmol/l
<b>Ayuno</b>	≥ 110	≥ 6.1
<b>2 horas</b>	≥ 140	≥ 7.8

La ADA, por otra parte mantiene los criterios de O' Sullivan y Mahan que se basan en una prueba de escrutinio, que consiste en administrar una carga de 50g de glucosa no importando la hora ni el tiempo de ayuno o posprandio. No requiere preparación de la paciente. Se medirá la glucemia a la hora y será positiva con un resultado mayor o igual a 140mg/dl, requiriendo prueba complementaria de tolerancia a la glucosa. Si el resultado es mayor o igual a 180mg/dl será diagnóstico de diabetes gestacional y se deberá evitar la curva de tolerancia a la glucosa.<sup>38</sup> La prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG) consiste en medir la glucemia en ayuno y dos determinaciones posteriores a la ingesta de 75g de glucosa vía oral realizadas a los 60 y 120 minutos (Tabla 2).<sup>39-42</sup>

**Tabla 2. Criterios diagnósticos de DMG (ADA).<sup>40, 42</sup>**

Tiempo	ADA	
	mg/dl	mmol/l
<b>Ayunas</b>	≥ 92	≥ 5.1
<b>1 hora</b>	≥ 180	≥ 10.0
<b>2 horas</b>	≥ 153	≥ 8.5

Se diagnostica DMG cuando se excede uno o más puntos de corte.<sup>30</sup>

En México de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2, se recomienda que antes de efectuar la prueba de tolerancia a la glucosa, se deberá realizar la prueba de detección a toda embarazada entre las semanas 24 y 28 de gestación; si la glucemia plasmática es de 130-179mg/dl una hora después de administrar una carga de 50g de glucosa vía oral, deberá realizarse el examen como lo indica la ADA y el diagnóstico de DMG se confirma si aparecen dos o más resultados anormales (ayunas ≥ 95, 1 hora ≥ 180 y 2 horas ≥ 155).<sup>30, 39, 43-46</sup>

### 2.3.4 Tratamiento.

El tratamiento de la DMG consiste en mantener la normoglucemia, monitoreando los niveles de glucosa, siguiendo una dieta adecuada, reduciendo el consumo de carbohidratos de 35-40% de la ingesta calórica total. El ejercicio sistemático y adaptado a la mujer gestante es otro punto importante en el tratamiento de diabetes. En los casos en que el plan nutricional no logre alcanzar las metas de glucemia se requiere la administración de insulina. Existen diferentes métodos para iniciar la aplicación de insulina y todos ellos se basan en el uso de combinaciones de insulina de acción rápida, intermedia o prolongada (Tabla 3).<sup>45</sup>

**Tabla 3. Insulinas indicadas en el tratamiento de DMG.**

Principio activo	Dosis recomendada	Tiempo (Periodo de uso)	Efectos adversos	Contraindicaciones
Insulina rápida humana.	Subcutánea o IV ajustada a cada caso.	Ajustada a cada caso.	Hipoglucemia, ansiedad, sudoración, confusión, palidez, fatiga, inestabilidad emocional lipodistrofia, hipersensibilidad inmediata.	Hipersensibilidad a los componentes de la fórmula e hipoglucemia.
Análogo de insulina rápida lispro.	Subcutánea ajustada a cada caso.			
Insulina de acción intermedia NPH.	Subcutánea ajustada a cada caso.			

El control adecuado de la glucosa sanguínea es el objetivo más importante del tratamiento de la DMG y, en teoría, este control óptimo disminuiría la morbilidad y mortalidad materno-fetal.

### 2.3.5 Evaluación posparto.

La DMG también constituye un riesgo para la madre después de la gestación. Los estudios de seguimiento han demostrado que 70% de estas mujeres desarrollarán diabetes tipo 2 en un lapso de 6 a 10 años posteriores al evento obstétrico y, además, el 70% de las pacientes con DMG repiten el trastorno en el siguiente

embarazo.<sup>30</sup> Debido a esto, se deberá reclasificar a todas las pacientes que cursaron con DMG o Intolerancia a la Glucosa (IG) a partir de la sexta semana posparto o al final de la lactancia cuando se está utilizando insulina. Se realiza una prueba de tolerancia a la glucosa de 2 horas con 75g de glucosa posprandial cuyos puntos de corte se muestran en la Tabla 4. Si el resultado es normal, repetir cada 3 años. Las mujeres con IG al igual que aquellas que retornaron a la normalidad, deben ser advertidas de que tienen un riesgo aumentado de desarrollar DM2 en algún momento posterior de su vida y de que este riesgo se puede reducir consumiendo una dieta balanceada, manteniendo un peso adecuado e incrementando sus niveles de actividad física, y deben ser orientadas sobre los signos y síntomas de diabetes.<sup>30, 39</sup>

**Tabla 4. Puntos de corte para el diagnóstico de DM2.<sup>41</sup>**

	<b>Ayuno (mg/dl)</b>	<b>Posprandial (mg/dl)</b>
<b>Normal</b>	< 100	< 140
<b>GAA</b>	100-125	
<b>IG</b>		140-199
<b>DM2</b>	≥ 126	≥ 200

GAA (Glucosa de ayuno alterada), IG (Intolerancia a la glucosa), DM2 (diabetes mellitus 2)

Se ha reportado que pacientes con DM2 tienen riesgo elevado de fractura derivado de una alteración en la remodelación ósea. Además múltiples investigaciones han demostrado la intervención de diversas hormonas en la regulación del metabolismo de carbohidratos, entre las que se encuentra la osteocalcina, por lo que se ha vinculado con la DM2.

## 2.4 Tejido óseo.

### 2.4.1 Generalidades.

El esqueleto es una estructura dinámica, constituida por huesos. Es considerado un tejido conjuntivo, de gran dureza y rigidez.

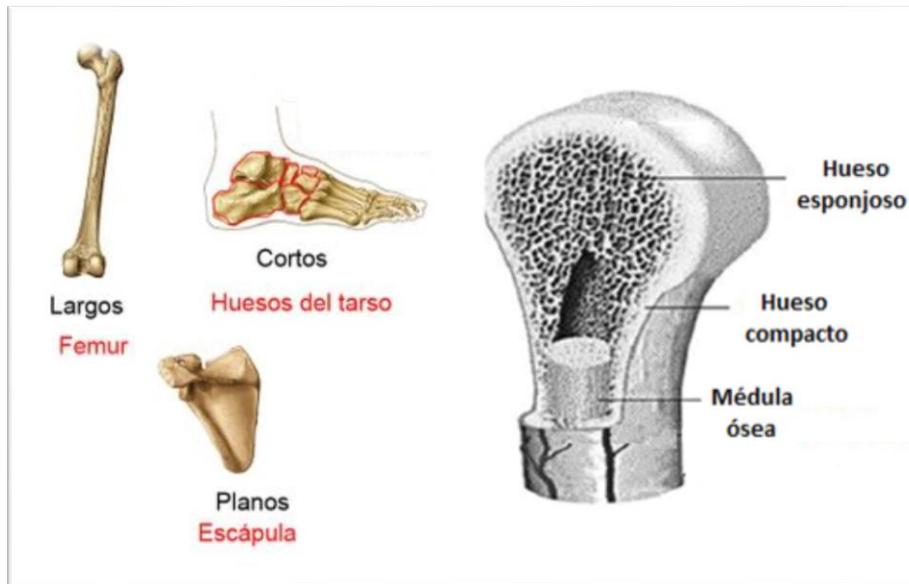
Sus principales funciones son:

- Sostén.
- Locomoción.
- Protección.
- Regulación homeostática de la calcemia.

La función de sostén permite la inserción muscular y por ende la locomoción colaborando con la marcha y movimientos corporales funcionando como palanca y punto de anclaje para los músculos. El hueso también participa en la protección de órganos vitales como cerebro, pulmones y corazón. En cuanto a la regulación homeostática, desempeña un papel secundario y está relacionado con ser reservorio de calcio y fosfato que pueden ser movilizados desde la matriz ósea hacia la circulación sanguínea según sea necesario.<sup>47</sup>

Desde el punto de vista anatómico los huesos se pueden clasificar en largos planos y cortos. Desde el punto de vista histológico los huesos se clasifican en trabecular esponjoso y compacto denso. El hueso esponjoso se encuentra a nivel de la epífisis de los huesos largos y cortos. El compacto en la diáfisis de los huesos largos y como una cubierta en la epífisis de los huesos dándoles una mayor resistencia. En algunos huesos, una cavidad central está ocupada por la médula ósea (Figura 5).

El hueso compacto proporciona fuerza y es más grueso donde se requiere soporte o donde se insertan músculos. El hueso esponjoso es menos fuerte y tiene espacios llenos de células entre las trabéculas calcificadas.



**Figura 5. Clasificación del hueso.**

#### 2.4.1.1 Composición.

El hueso es un tejido conectivo mineralizado, compuesto por una parte celular y una no celular (material osteoide), la cual a su vez presenta dos fases, proteica y mineral.

El hueso está formado por tres componentes: <sup>48-51</sup>

- *Matriz orgánica u osteoide*: 90% está constituido por colágeno tipo I, el resto lo componen otras proteínas como la osteocalcina, osteoprotegerina y osteopontina.
- *Matriz mineral*: calcio y fosfato en forma de cristales de hidroxapatita.
- *Células*, entre las que destacan:
  - ✓ *Células osteoprogenitoras*: Son células indiferenciadas con capacidad de división mitótica, activadas durante el crecimiento óseo normal para remodelar y reorganizar el hueso a lo largo de la vida postnatal ante situaciones estresantes como pueden ser las lesiones traumáticas.
  - ✓ *Osteoblastos*: Son células mononucleares que se localizan en las áreas de crecimiento del hueso, se encargan de formar la sustancia osteoide,

sintetizar colágeno y participar en la mineralización de la matriz producida por él.

- ✓ *Osteocitos*: Son células óseas maduras, son las más numerosas y están relacionadas directamente con los osteoblastos. Se presentan en el interior de la sustancia intersticial calcificada, adaptándose al espacio que ocupan.
- ✓ *Osteoclastos*: Son células multinucleadas de gran tamaño que se localizan en las zonas de reabsorción ósea, pertenecen a la familia de los monocitos. Secretan enzimas y proteasas para llevar a cabo la reabsorción del tejido óseo.

#### **2.4.1.2 Proceso de remodelación ósea.**

El hueso es un tejido muy activo, el cual permanentemente está eliminando tejido viejo (actividad resortiva o de remodelación) y formando tejido nuevo (actividad formativa o de modelado). El conjunto de estas actividades se conoce como recambio óseo y debe realizarse en una forma balanceada, de tal manera que a pesar de esta gran actividad metabólica, el hueso permanece con su integridad anatómica y estructural.

El remodelado óseo puede ser dividido en 5 fases (Figura 6):<sup>52-54</sup>

1. *Fase de quiescencia* (reposo): El hueso se encuentra en condiciones de reposo. Los factores que inician el proceso de remodelado no se encuentran activados.
2. *Fase de activación*: La activación de la superficie ósea se realiza mediante la retracción de las células limitantes (osteocitos) y la digestión de la membrana endóstica por la acción de las colagenasas. Al quedar expuesta la superficie mineralizada se produce la atracción de osteoclastos circulantes procedentes de los vasos próximos.
3. *Fase de resorción*: Los osteoclastos comienzan a disolver la matriz mineral y a descomponer la matriz osteoide. Los macrófagos finalizan este proceso y se liberan factores de crecimiento contenidos en la matriz, entre los que

se encuentran Factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y factor de crecimiento similar a la insulina I y II (IGF-I y II).

4. *Fase de formación:* En las zonas reabsorbidas se produce el fenómeno de agrupamiento de preosteoblastos, atraídos por los factores de crecimiento. Los preosteoblastos sintetizan una sustancia cementante sobre la que se adhiere el nuevo tejido y expresan proteínas morfogenéticas óseas, responsables de la diferenciación. A los pocos días, los osteoblastos ya diferenciados van a sintetizar la sustancia osteoide para rellenar las zonas perforadas.
5. *Fase de mineralización:* Aproximadamente a los 30 días del depósito osteoide comienza la mineralización que finalizará a los 90 días en la región trabecular y a los 130 días en el hueso cortical.

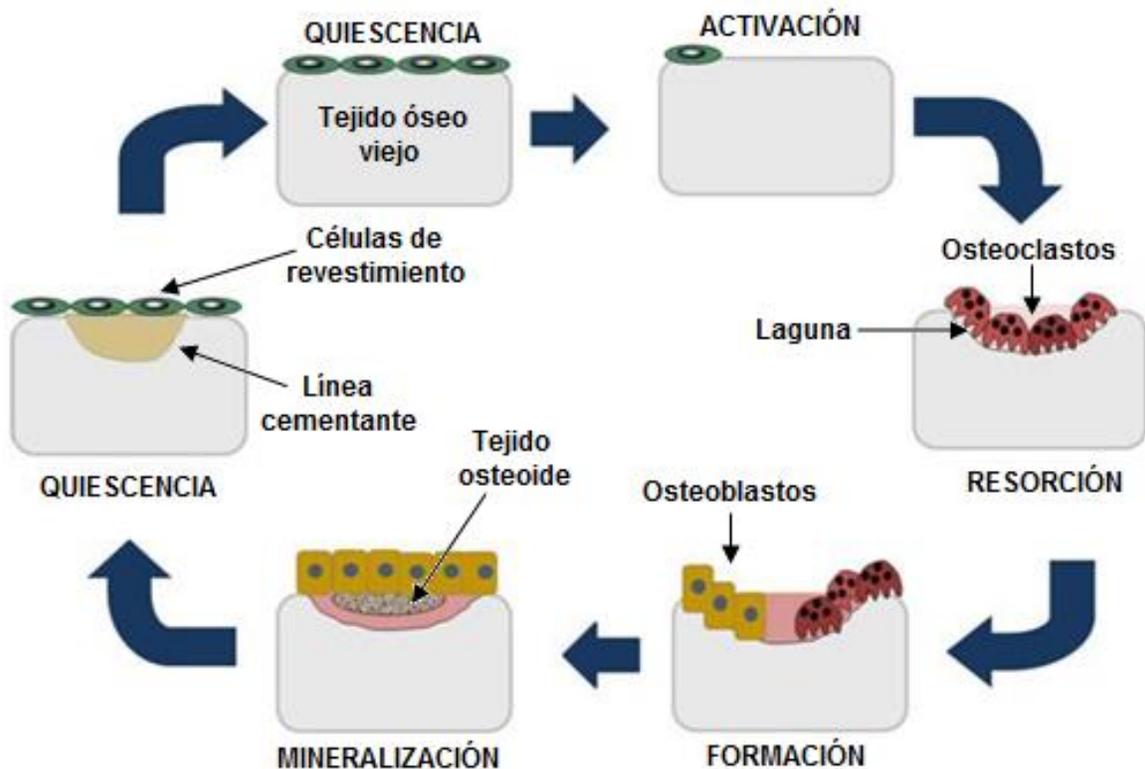


Figura 6. Etapas del remodelado óseo.<sup>55</sup>

Durante el proceso de remodelación se sintetizan diversas sustancias que se utilizan como marcadores:

- Fosfatasa alcalina ósea (FAO)
- Calcio urinario
- Osteocalcina
- Hidroxiprolina
- Deoxipiridinolinas (DPD)
- Telopéptido carboxilo terminal (CTX)

Además de las funciones mencionadas anteriormente se ha descubierto recientemente que el hueso tiene la capacidad de funcionar como glándula endocrina, ya que interviene en el metabolismo del organismo mediante la producción de hormonas proteicas, entre las que se encuentra la osteocalcina.<sup>56</sup>

#### **2.4.2 Osteocalcina.**

La osteocalcina (OC), también conocida como BGP (del inglés Bone Gla Protein) fue aislada por primera vez en 1977. Su producción depende de las vitaminas D, K y C. Es producida por el osteoblasto y el odontoblasto durante el proceso osteogénico, formando parte de la matriz ósea. Constituye aproximadamente hasta un 20% del componente proteico no colágeno en el hueso adulto. Sus niveles están regulados por las hormonas reguladoras de calcio como la calcitonina, hormona paratiroidea y vitamina D que son necesarias en la mineralización normal del hueso.<sup>57, 58</sup>

La OC está formada por 49 aminoácidos en una única cadena polipeptídica y tiene una masa molecular de 5800 Da. Posee 3 residuos del aminoácido ácido glutámico (Glu) en las posiciones 17, 21 y 24 que se pueden carboxilar (Gla) (Figura 7).<sup>59, 60</sup>

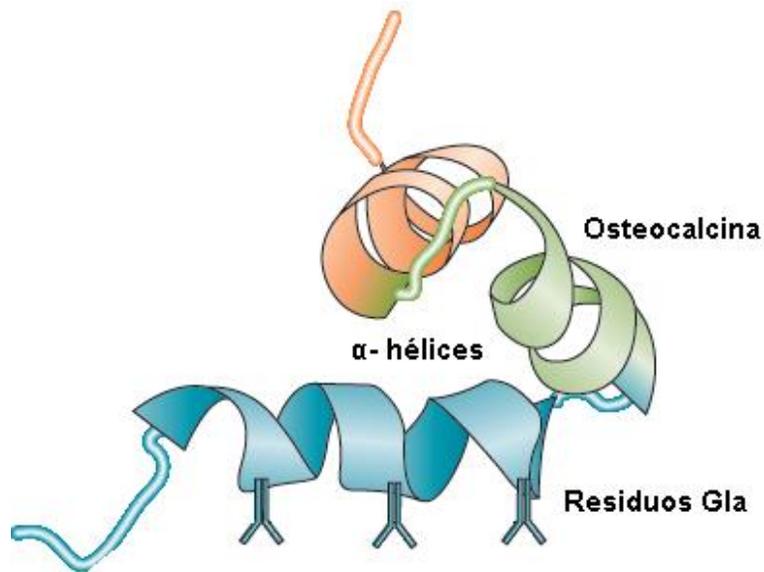


Figura 7. Estructura de la OC.<sup>61</sup>

Para la carboxilación de los aminoácidos Glu se requiere de vitamina K que es un cofactor de la gamma-glutamyl-carboxilasa (Figura 8). Cuando la acción de la vitamina K es antagonizada por la administración de warfarina (anticoagulante de tipo dicumarínico), la conversión de los restos Glu a Gla no pueden ocurrir, por lo que no se produce el procesamiento del péptido maduro y su precursor se acumula intracelularmente. O bien, la OC sintetizada, al no poseer Gla, no se une al mineral y es liberada a la circulación.<sup>62-65</sup>

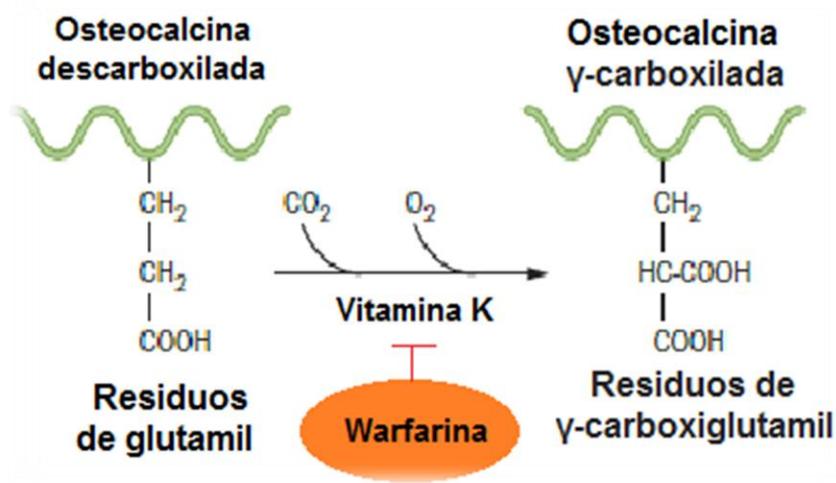


Figura 8. La Vitamina K actúa como co-factor en la gamma-carboxilación.<sup>61</sup>

La carboxilación postraduccional de los Glu facilita la unión de calcio e hidroxapatita. Cuando los residuos de ácido  $\gamma$ -carboxiglutámico se unen al calcio libre ( $\text{Ca}^{2+}$ ), facilitan un cambio conformacional en la osteocalcina que favorece su alineación de una manera complementaria con los iones  $\text{Ca}^{2+}$  del eje C del cristal de hidroxapatita, lo cual le permite controlar el tamaño y la forma del cristal en la red de fibras colágenas.

Cuando los tres residuos Glu de la OC se carboxilan completamente, se conoce como osteocalcina carboxilada (cOC), ésta se une a la hidroxapatita y los residuos Gla son protegidos de la descarboxilación térmica; cuando uno de los tres residuos no se carboxila, se conoce como osteocalcina descarboxilada (ucOC) y ésta entra en circulación para ser utilizada en órganos periféricos participando en el metabolismo.<sup>61</sup>

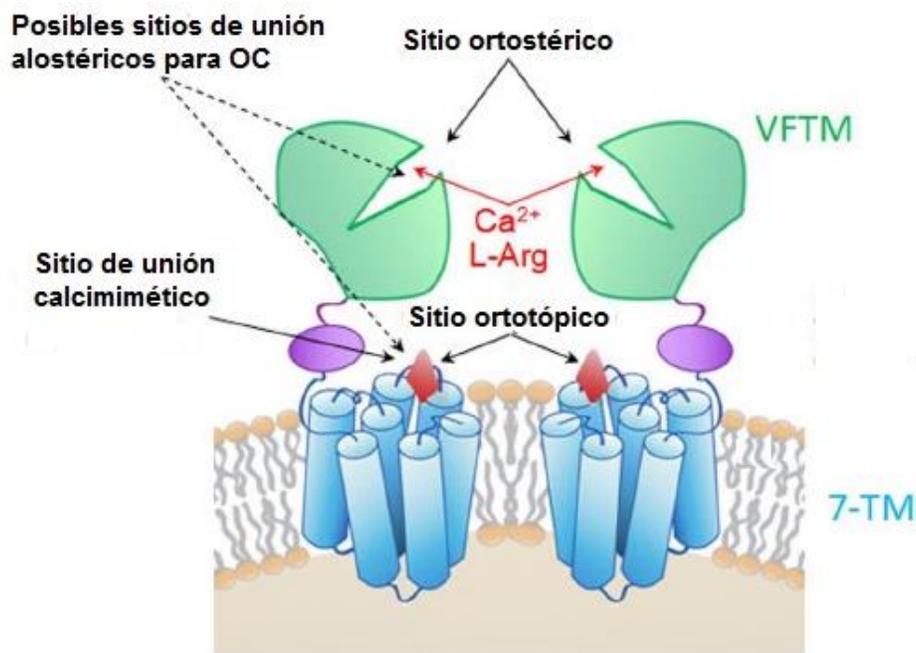
La descarboxilación de la OC puede darse por la acidificación del medio por parte del osteoblasto, o bien, por deficiencia de vitamina K.<sup>61</sup> Las concentraciones de ucOC son un marcador de renovación ósea y estado de Vitamina K en hueso. Una dieta deficiente en Vitamina K está relacionada con niveles elevados ucOC. Además los niveles elevados de ucOC están asociados con un incremento en el riesgo de fracturas y una densidad mineral ósea disminuida de cadera en mujeres pre y post menopáusicas.

#### **2.4.2.1 Receptor.**

Se ha propuesto al GPRC6A como candidato a receptor de la osteocalcina, regulando el metabolismo energético. Este receptor modula directamente la señalización en los osteoblastos, células de la próstata, células de Leydig y células beta pancreáticas.<sup>66-70</sup>

El GPRC6A es un receptor de membrana que además se encuentra en adipocito, músculo esquelético e hígado. Cuando la osteocalcina se une a él, éste se activa, disminuyendo la masa grasa y los niveles de leptina, incrementando la masa muscular y disminuyendo la esteatosis respectivamente.<sup>71</sup>

Se postula que la osteocalcina funciona como activador alostérico de GPRC6A con mecanismo de activación similar al calcimimético, ya que requiere la presencia de una concentración umbral de calcio para que se produzca la señalización. Otros aminoácidos y cationes activan al GPRC6A (Figura 9).<sup>71</sup>



**Figura 9. Modelo hipotético de la activación ligando y la modulación alostérica de GPRC6A.**<sup>71</sup>

El GPRC6A es un miembro de la familia C de receptores acoplados a proteínas G que está estrechamente relacionado con el receptor de detección de calcio (RSCa). Algunos estudios han demostrado su activación por cationes, pero comparado con el RSCa, se necesitan concentraciones extracelulares más altas de calcio para activarlo.<sup>71</sup>

El receptor GPRC6A consiste en una cadena polipeptídica simple con siete segmentos  $\alpha$ -hélice transmembranales que tienen una estructura tridimensional común, estos dominios están unidos entre sí por tres asas polipeptídicas intracelulares, el asa larga compuesta básicamente de aminoácidos hidrofílicos entre las hélices 5 y 6 que es el sitio de interacción o acoplamiento a proteína G, y tres asas extracelulares, una cuarta asa citoplasmática puede formarse cuando el segmento C-terminal se une a la membrana por atracción lipídica a la cadena de aminoácidos, un segmento N-terminal glucosilado extracelular y el segmento C-terminal a nivel citoplasmático.<sup>72</sup>

Cuando son activados por los ligandos apropiados los GPCRs usualmente pueden reconocer y activar más de una proteína G pero sólo interactúa con un subtipo específico de proteína G expresada en la célula diana.<sup>72</sup>

Las proteínas G actúan como transductores, agentes que transmiten estímulos a enzimas efectoras. Las proteínas G tienen actividad de GTPasa. Cada proteína G está integrada por una subunidad  $\alpha$ , una  $\beta$  y una  $\gamma$ . El complejo G- $\alpha\beta\gamma$  y GDP es inactivo. Cuando un complejo receptor de hormona se difunde en la membrana y se une a G- $\alpha\beta\gamma$ , induce a que la proteína G cambie a una conformación activa. Las proteínas G se encuentran en docenas de señalización, que incluyen a la adenilil ciclasa y a las inositol-fosfolípido. Una enzima efectora puede responder a proteínas G estimuladoras (Gs) o a proteínas G inhibitoras (Gi).<sup>72</sup>

#### **2.4.2.2 Osteocalcina y resistencia a la insulina.**

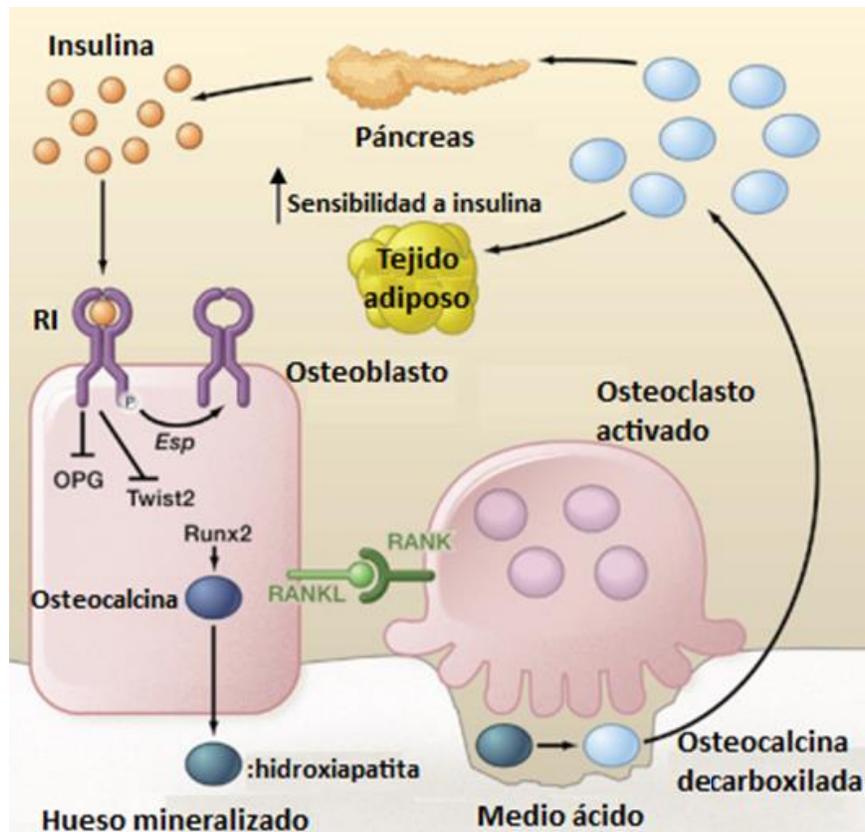
Desde hace 17 años diversos estudios epidemiológicos demostraron que la osteoporosis era menos frecuente en personas obesas, por ello se postuló una regulación de la remodelación ósea por el metabolismo energético.

Estudios recientes han mostrado que la acción de la osteocalcina no sólo está relacionada con el metabolismo óseo, sino también con el metabolismo de la glucosa y la masa grasa.<sup>73</sup> En los estudios experimentales realizados en ratones

carentes del gen de osteocalcina (OC-/-mice) se ha encontrado mayor nivel de glucosa y menor secreción de insulina que los ratones silvestres. Además se ha observado una menor sensibilidad a la insulina así como una disminución en la expresión de genes asociados con la acción de la insulina en músculo e hígado. El tamaño y número de los islotes de Langerhans así como el número de las células  $\beta$  están disminuidos y presentan además un incremento en la masa grasa, en el número de adipocitos y en los niveles séricos de triglicéridos. Se ha encontrado también una menor expresión en niveles séricos de adiponectina que es una adipocina asociada con sensibilidad a la insulina. Con esos animales de experimentación se han realizado cultivos celulares de osteoblastos, islotes de Langerhans y adipocitos a los que se les adiciona OC y se ha observado una producción de insulina y adiponectina por parte de los islotes y adipocitos respectivamente, encontrando un mayor efecto con ucOC. Finalmente para evaluar si la OC afectaba *in vivo* el metabolismo de glucosa, a los ratones (OC-/-mice) se les realizó una carga de glucosa con OC y se observó una disminución significativa de los niveles de glucosa así como un incremento de los niveles de insulina y adiponectina.<sup>69, 74</sup>

De esta manera se propuso a la osteocalcina, particularmente a la ucOC, como una hormona que mejora la tolerancia a la glucosa incrementando la proliferación de las células  $\beta$ , la expresión y secreción de insulina, la sensibilidad a la insulina en tejidos periféricos y la expresión de adiponectina.<sup>75</sup>

Por otra parte también se ha descrito una acción de la insulina en los osteoblastos en los que limita la producción de osteoprotegerina, un inhibidor de la maduración de osteoclastos. Este mecanismo facilita la resorción ósea produciendo un ambiente ácido que promueve la descarboxilación de la OC (Figura 10).<sup>61, 76-78</sup>



**Figura 10. Participación de la insulina en el osteoblasto.<sup>79</sup>**

Los estudios realizados en humanos han descrito que las concentraciones circulantes de osteocalcina total están, en general, asociados de manera inversa con la glucemia, consistente con la hipótesis que sugiere que la osteocalcina afecta la función de la célula  $\beta$  y la sensibilidad de los tejidos a la insulina. Sin embargo, los datos con respecto a la ucOC no son concluyentes por lo que el papel de esta hormona en el metabolismo de la glucosa, a diferencia de lo reportado en ratones, aún no está completamente definido.<sup>61</sup>

### 2.4.2.3. Osteocalcina y diabetes mellitus 2.

Diversos estudios epidemiológicos han descrito un riesgo incrementado de fractura en pacientes diabéticos derivado de una alteración en la remodelación ósea. Estudios bioquímicos e histomorfométricos de formación de hueso indican que hay una disminución de la formación ósea en este tipo de pacientes.

En relación a la OC se ha encontrado que personas con DM2 presentan menor nivel de OC que personas con metabolismo normal de la glucosa y que los niveles de OC se asocian inversamente con los niveles de glucosa, insulina, RI y hemoglobina glicosilada (HbA1c). Asimismo se ha observado que la ucOC se asocia de manera negativa con la masa grasa y de manera positiva con la adiponectina.<sup>73, 80-83</sup>

El tratamiento hipoglucemiante en personas con DM2 se ha asociado a un incremento en los niveles séricos de OC debido a que niveles elevados de glucosa alteran la expresión y secreción de OC en los osteoblastos.

#### **2.4.2.4 Osteocalcina y diabetes mellitus gestacional.**

Hasta el momento sólo se ha publicado un estudio realizado en mujeres caucásicas con DMG y peso normal en el que se encontró mayor nivel de OC comparadas con mujeres embarazadas con tolerancia normal a la glucosa. Además se encontró correlación positiva de la OC con insulina, glucosa y péptido C. Doce semanas después del alumbramiento los niveles de OC fueron similares entre ambos grupos y no se encontraron las asociaciones de OC observadas en el embarazo.<sup>84</sup> Estos hallazgos sugirieron un incremento compensatorio de OC en la presencia de alteración en el metabolismo de glucosa en el embarazo.

Por tal motivo, en el presente estudio se evaluó la concentración de osteocalcina en mujeres con DMG en comparación con mujeres sanas durante el tercer trimestre de embarazo y seis semanas posparto, con el fin de conocer la asociación de osteocalcina con resistencia a la insulina en población mexicana y entender los mecanismo por los cual actúa la osteocalcina sobre la regulación del metabolismo de glucosa en diversos tejidos.

### **3. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA.**

Se sugiere que la osteocalcina está involucrada en la regulación del metabolismo de la glucosa. En modelos animales se ha demostrado que la osteocalcina puede estimular la secreción de insulina, así como aumentar la sensibilidad de la misma. En múltiples estudios realizados en DM2 se ha encontrado que los niveles de OC se encuentran disminuidos, asociándose inversamente con los niveles de glucosa, insulina y RI. En relación a la DMG existen escasos estudios en los que se ha reportado una asociación diferente a lo encontrado en la DM2. Sin embargo se desconoce cómo se comporta la OC en mujeres mexicanas (que corresponden a un grupo étnico de riesgo elevado de DM2) con sobrepeso/obesidad. Por tal motivo nos planteamos las siguientes preguntas de investigación:

¿Cómo se encuentran los niveles de osteocalcina en mujeres con diabetes mellitus gestacional?

¿Habrá asociación de osteocalcina con insulina, glucosa y resistencia a la insulina?

### **4. HIPÓTESIS.**

Se espera que los niveles séricos de osteocalcina: se encuentren disminuidos en mujeres con DMG comparadas con mujeres con embarazo normal; que persistan disminuidos en aquellas con alteración en el metabolismo de glucosa en el posparto y que se asocien inversamente con resistencia a la insulina.

### **5. OBJETIVOS.**

Comparar los niveles séricos de OC entre los grupos de DMG y embarazo normal. Asimismo evaluar la asociación de OC con resistencia a la insulina durante el embarazo y posparto.

## **6. DISEÑO EXPERIMENTAL.**

### **6.1 Descripción del estudio.**

Previo consentimiento informado (Anexo 1), se realizó un estudio prospectivo comparativo<sup>85</sup> en pacientes mexicanas del Hospital de Gineco-Obstetricia No. 3 del CMN “La Raza”. El grupo de pacientes estuvo integrado por 50 mujeres con DMG y 50 mujeres embarazadas con tolerancia normal a la glucosa.

#### **Criterios de inclusión:**

- Mujeres con DMG diagnosticada por una prueba de tolerancia oral a la glucosa de 2 h con 75 g de glucosa a las 24-28 semanas de gestación.
- Mujeres con embarazo normotenso y euglucémico.

#### **Criterios de exclusión:**

- Las participantes con hipertensión arterial, enfermedad renal y trastornos de la tiroides.

#### **Criterios de eliminación:**

- Todas aquellas que no asistieron a sus evaluaciones programadas.

#### **Variables independientes:**

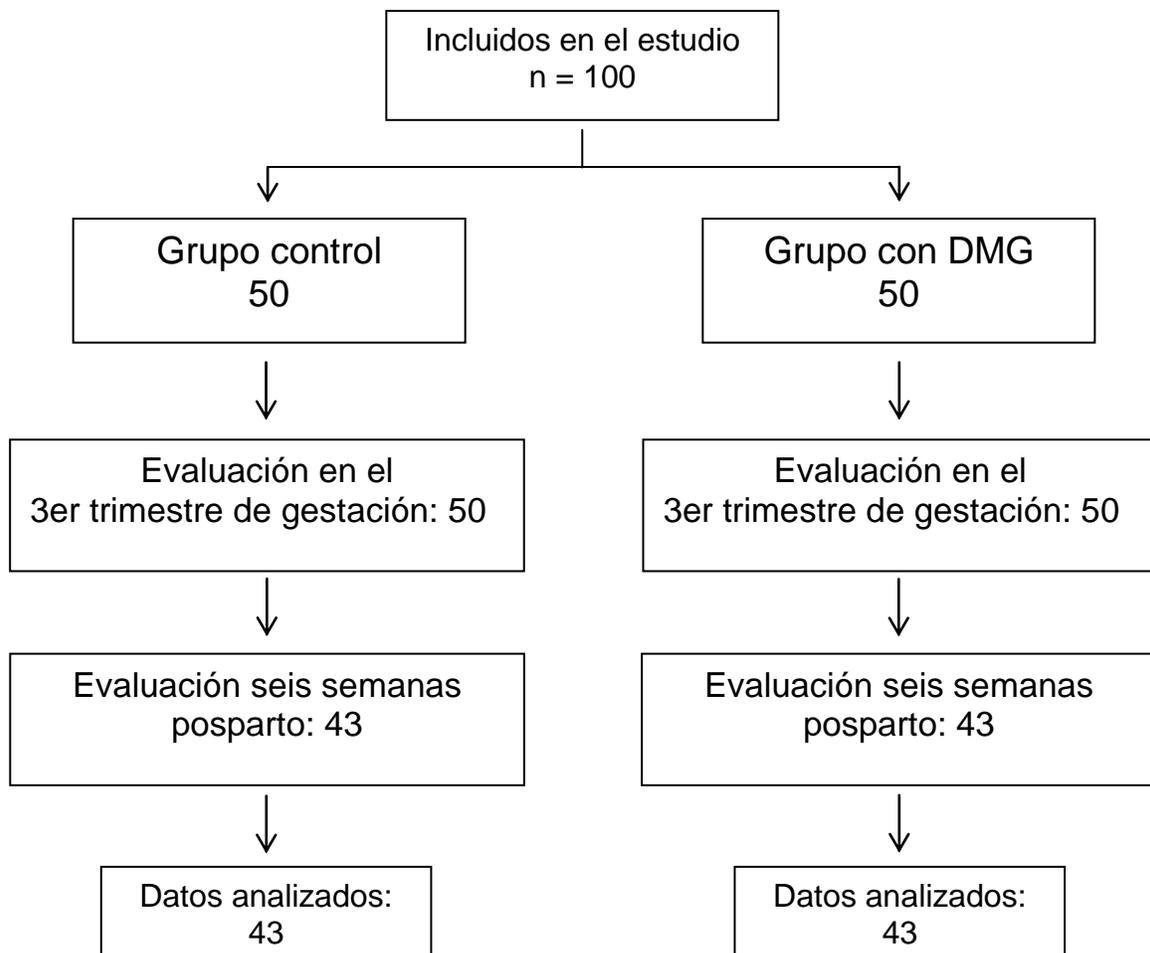
- DMG.
- Embarazo normal.

#### **Variables dependientes:**

- Índice de resistencia a la insulina.
- Concentración de osteocalcina.
- Concentración de insulina.
- Concentración de glucosa.
- Edad.
- Peso.

## 6.2 Material y métodos.

A todas las pacientes se les tomó una muestra venosa en el periodo de 26-34 semanas de gestación, se evaluó su presión arterial y se realizó su historia clínica para conocer sus antecedentes familiares, obstétricos y médicos, además se tomaron sus medidas antropométricas (Anexo 2). Se invitó a las participantes a una evaluación posparto seis semanas después de concluida la gestación (Figura 11). Únicamente a las participantes del grupo con DMG se les evaluó su metabolismo de glucosa utilizando los criterios de la ADA.



**Figura 11. Diagrama de seguimiento de las pacientes durante el estudio.**

Las mediciones se realizaron en la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Endocrinas, Diabetes y Metabolismo, Hospital de Especialidades, CMN "Siglo XXI".

### **6.2.1 Técnicas.**

*Material biológico.* Se obtuvieron muestras de sangre venosa para los análisis bioquímicos. Por la mañana entre las 7:30 y 8:30am después de un ayuno menor a 10horas, se tomó sangre de vena antecubital por el sistema vacutainer sin anticoagulante y con EDTA como anticoagulante. Las muestras fueron centrifugadas a 400g durante 15 minutos y se hicieron alícuotas que fueron conservadas a -70°C hasta la realización de los inmunoensayos.

#### **6.2.1.1 Análisis bioquímicos.**

En todos los pacientes, incluyendo controles, se determinaron las pruebas bioquímicas (glucosa, colesterol y triglicéridos), así como los inmunoensayos (Anexo 3).

Las técnicas utilizadas fueron las siguientes:

- **Colesterol:** Estuche comercial para la determinación de colesterol. Método enzimático CHOD-POD (SPINREACT).

*Fundamento:* El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado después de la hidrólisis enzimática y oxidación.

*Procedimiento:* Muestras (suero) y patrón se mezclan e incuban con el reactivo de color durante 10 min a 15-25°C y se mide la absorbancia a 505nm frente al blanco de reactivo.

- **Triglicéridos:** Estuche comercial para la determinación de triglicéridos. Método enzimático GPO-POD (SPINREACT).

*Fundamento:* Los triglicéridos se determinan tras la hidrólisis enzimática con lipasas.

*Procedimiento:* Muestras (suero) y patrón se mezclan e incuban con el reactivo de color durante 10 min a 15-25°C y se mide la absorbancia a 505nm frente al blanco de reactivo.

- **Glucosa:** Estuche comercial para la determinación de glucosa. Método enzimático GOD-POD (SPINREACT).

*Fundamento:* La glucosa se determina colorimétricamente después de una oxidación enzimática en presencia de glucosa oxidasa.

*Procedimiento:* Muestras (suero) y patrón se mezclan e incuban con el reactivo de color durante 10 min a 15-25°C y se mide la absorbancia a 505nm frente al blanco de reactivo.

#### **6.2.1.2 Inmunoensayos.**

El inmunoensayo es una técnica analítica que se basa en la reacción de conjugación antígeno-anticuerpo (Ag-Ab). Su gran sensibilidad y especificidad permite la cuantificación de compuestos presentes en líquidos orgánicos en concentración reducida, del orden de ng/ml o pg/ml (Anexo 4).

Las técnicas utilizadas fueron las siguientes:

- **Osteocalcina:** OSTEO-RIACT. Kit para el ensayo radioinmunométrico de osteocalcina en suero o plasma humano (CISBIO).

*Fundamento:* Ensayo radioinmunométrico (IRMA) de sándwich en fase sólida. Utilizando dos anticuerpos monoclonales contra dos sitios antigénicos apartados entre sí. El primero es fijado en el tubo de recubrimiento y el segundo marcado con yodo ( $I^{125}$ ) se utiliza como trazador. Las moléculas de osteocalcina presentes en los estándares o en las muestras están dispuestas en sándwich entre los dos anticuerpos. La radioactividad del tubo recubierto es proporcional a la concentración de osteocalcina presente en la muestra.

*Procedimiento:* Muestras (plasma), control o estándar se mezcla e incuba con el anticuerpo marcado durante 2 horas a 18-25°C. Se elimina el exceso de

anticuerpo marcado mediante lavados y se mide la radiación unida a cada tubo con un contador de centelleo gamma.

**Insulina:** Kit de RIA específico para Insulina Humana (Cat. # HI-14K) (MILLIPORE).

*Fundamento:* Radioinmunoanálisis (RIA), una concentración preparada de antígeno marcado es incubado con una dilución constante de antisuero, donde la concentración de antígeno ligado al anticuerpo está limitada. Si el antígeno no marcado es agregado al sistema, habrá competencia entre el antígeno marcado y el no marcado para ocupar los sitios del anticuerpo que se encuentra en concentración constante y limitada.

*Procedimiento:* Muestras (suero) o estándar se mezcla con antígeno marcado (Insulina humana con I<sup>125</sup>) y anticuerpo (anti insulina humana) y se incuba de 20-24 horas a temperatura ambiente con agitación. Se agrega agente precipitante y se incuba durante 20 min a 4°C. Centrifugar, decantar y se mide la radiación con un contador de centelleo gamma.

### **6.3 Diseño estadístico.**

Se describieron los datos mediante promedio y desviación estándar ( $X \pm DE$ ). Para el análisis estadístico se utilizó el programa IBM SPSS Statistics versión 19. Se realizó la prueba "t de Student" para evaluar la diferencia entre los grupos de estudio y para correlacionar las variables se realizó la prueba de Pearson.

## 7. RESULTADOS.

Se evaluaron 50 mujeres con DMG y 50 mujeres embarazadas normotensas y euglucémicas (control). Sin embargo, sólo acudieron 43 mujeres con DMG y 43 mujeres del grupo control a la evaluación posparto, por lo que se excluyeron a 14 participantes.

En la Tabla 5 se muestran las características de las pacientes previas al embarazo. Las pacientes diagnosticadas con DMG eran de mayor edad y peso que las mujeres del grupo control, además tenían un mayor porcentaje en los factores de riesgo como son antecedentes familiares de DM2 y DMG en embarazos previos.

**Tabla 5. Características de las pacientes previas al embarazo.**

Características	DMG (n=43)	Control (n=43)
Edad (años)	30.42 ± 4.37*	27.86 ± 5.08
Peso (kg)	73.83 ± 14.82*	56.85 ± 11.74
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	30.60 ± 5.26*	24.04 ± 4.70
Familiares con DM2 n (%)	31 (72)*	11 (26)
DMG previa (%)	8 (18)*	0 (0)
Gestas previas totales n (%)		
0	7 (16)	12 (28)
1 o más	36 (84)	31 (72)
Partos n (%)	23 (35)	25 (46)
Cesáreas n (%)	25 (38)*	13 (24)
Abortos n (%)	18 (27)	16(30)

Los datos se presentan como X± DE

\* p <0.05

Las características de las participantes en el tercer trimestre de gestación y seis semanas posparto se muestran en la Tabla 6. Durante el embarazo las pacientes con DMG presentaron mayor peso, IMC, glucosa, insulina, triglicéridos y resistencia a la insulina, mientras que los niveles de colesterol eran menores en comparación al grupo control. Los niveles plasmáticos de osteocalcina fueron similares en ambos grupos durante la gestación (Figura 12).

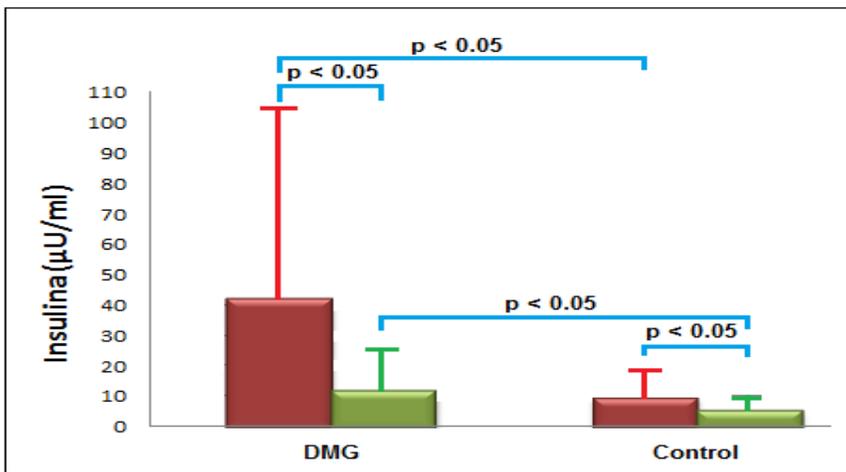
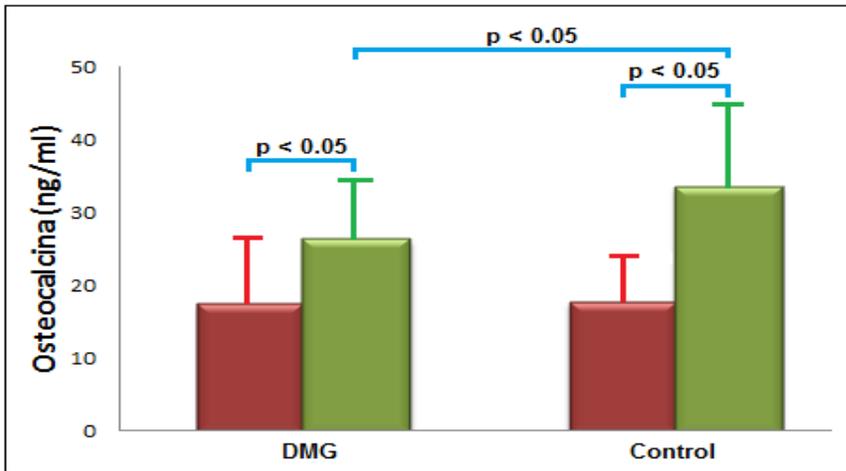
**Tabla 6. Características antropométricas y bioquímicas de las participantes durante el embarazo y posparto.**

	Grupo DMG		Grupo Control	
	Tercer trimestre de gestación	6 semanas posparto	Tercer trimestre de gestación	6 semanas posparto
<b>Peso (kg)</b>	<b>80.05 ± 13.20*†</b>	72.15 ± 13.25†	<b>65.61 ± 11.37*</b>	60.39 ± 10.91
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>33.35 ± 4.55*†</b>	30.00 ± 4.66†	<b>27.87 ± 4.71*</b>	25.53 ± 4.69
<b>Glucosa (mg/dl)</b>	100.84 ± 29.64†	102.35 ± 32.14†	70.66 ± 9.30	76.56 ± 9.75
<b>Colesterol (mg/dl)</b>	240.73 ± 42.71†	228.96 ± 48.56	<b>268.48 ± 59.81*</b>	227.76 ± 50.17
<b>Triglicéridos (mg/dl)</b>	<b>293.10 ± 130.90*</b>	194.00 ± 98.85	<b>250.81 ± 100.49*</b>	161.20 ± 97.56
<b>Osteocalcina (ng/ml)</b>	<b>17.37 ± 9.68*</b>	26.27 ± 9.22†	<b>17.64 ± 8.26*</b>	33.52 ± 12.00
<b>Insulina (µU/ml)</b>	<b>42.09 ± 62.83*†</b>	11.60 ± 14.48†	<b>9.42 ± 9.58*</b>	5.07 ± 4.51
<b>HOMA</b>	<b>11.42 ± 18.00*</b>	2.71 ± 3.34	<b>1.72 ± 1.86*</b>	1.00 ± 0.97

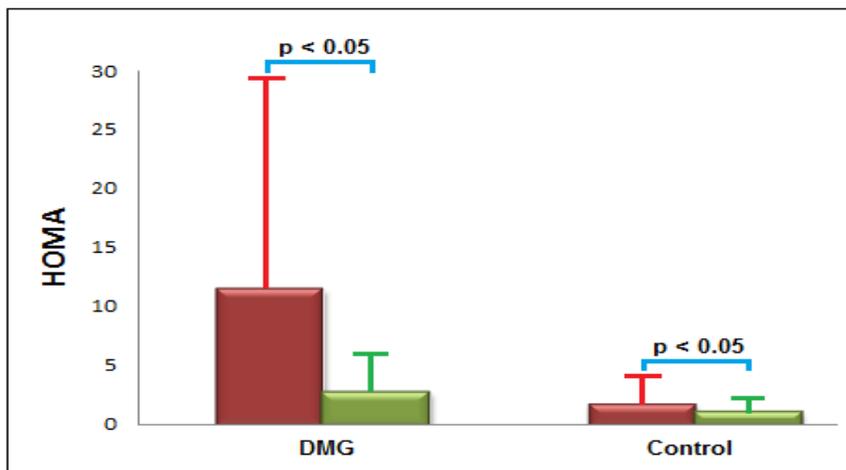
\* p <0.05 Embarazo – Posparto

† p < 0.05 DMG – Control

Los datos se presentan como X ± DE



■ Embarazo  
■ Posparto



**Figura 12. Niveles de OC, insulina y resistencia a la insulina en el tercer trimestre de gestación y 6 semanas posparto en mujeres con DMG y mujeres con embarazo normal.**

Los datos se presentan como  $X \pm DE$

En el análisis de correlación la osteocalcina se asoció con la ganancia de peso ( $r=0.379$ ,  $p<0.05$ ), IMC ( $r=0.379$ ,  $p<0.05$ ) y resistencia a la insulina ( $r=0.316$ ,  $p<0.05$ ) en mujeres con DMG (Figura 13). Mientras que en las mujeres del grupo control sólo se encontró asociación de osteocalcina con triglicéridos ( $r=0.354$ ,  $p<0.05$ ).

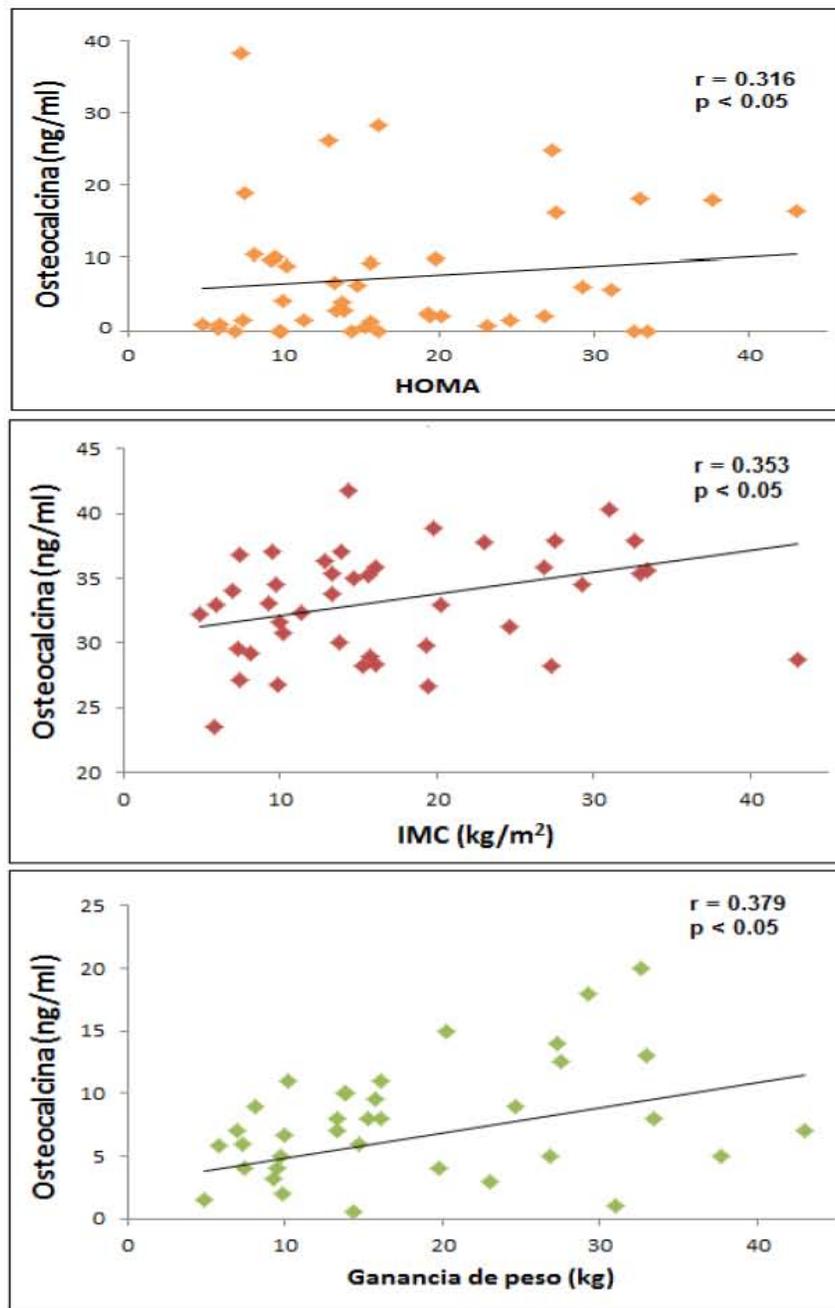


Figura 13. Asociación de OC con RI, IMC y ganancia de peso durante el embarazo en mujeres diagnosticadas con DMG.

A las seis semanas posparto a las mujeres del grupo con DMG se les realizó una prueba de tolerancia a la glucosa y 40 fueron clasificadas con tolerancia normal a la glucosa (93.02%), dos con intolerancia a la glucosa (4.65%) y una con diabetes (2.33%) (Figura 14).

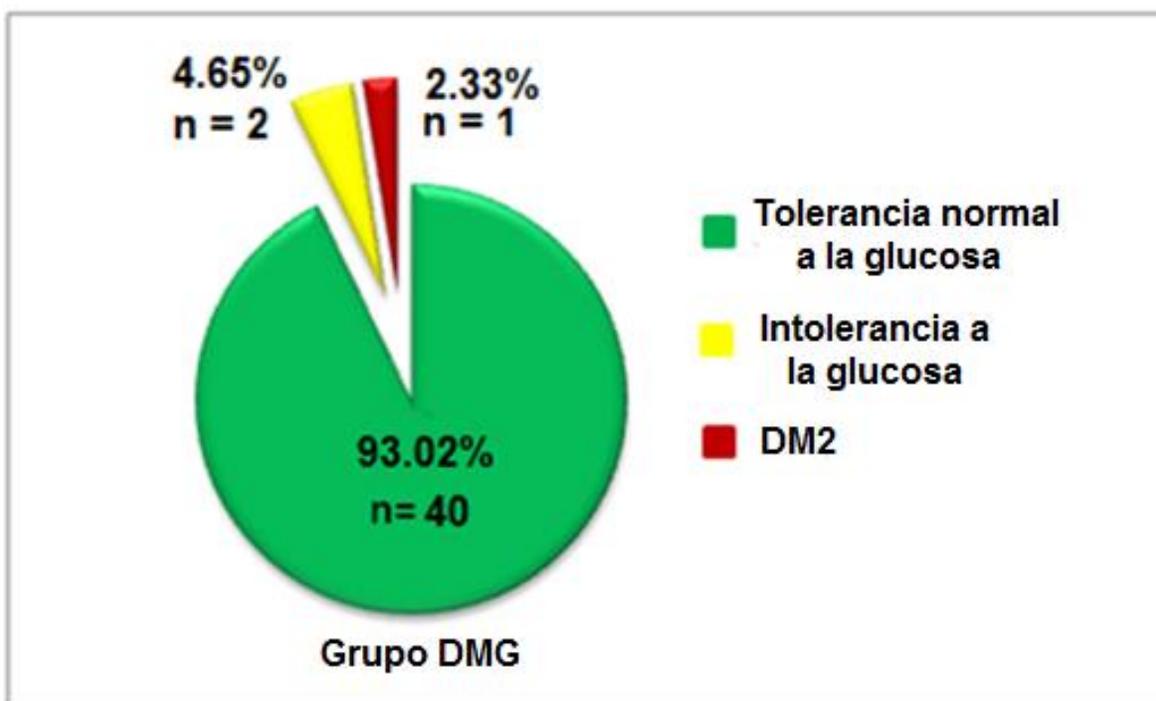
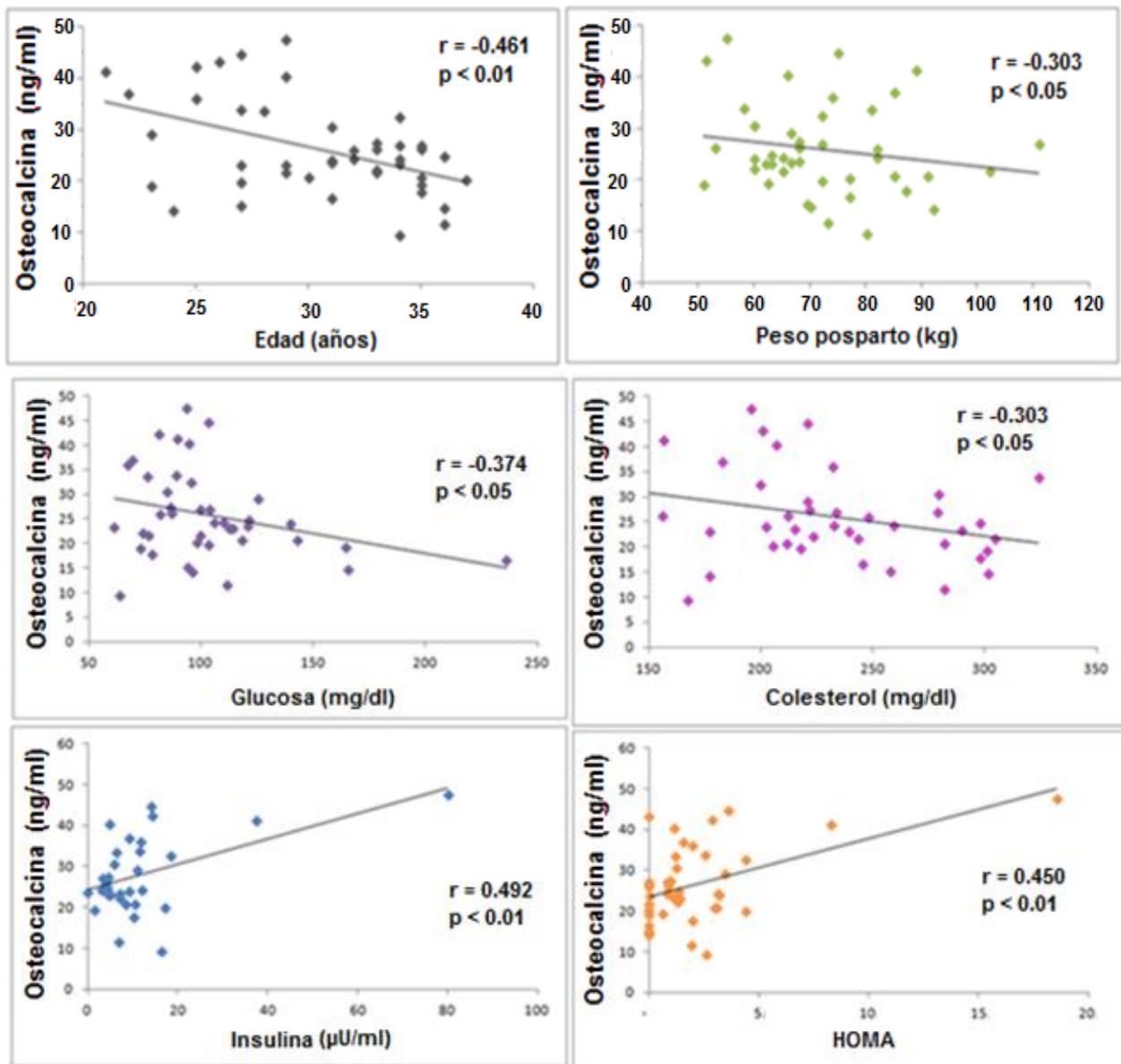


Figura 14. Evaluación de metabolismo de glucosa en pacientes con DMG previa.

En el posparto las mujeres del grupo con DMG presentaron mayor peso e IMC, así como niveles más altos de glucosa, insulina y colesterol que el grupo control. En relación a la osteocalcina, ésta se elevó significativamente en ambos grupos, siendo mayor en las pacientes del grupo control (Figura 14).

La osteocalcina del grupo con DMG se asoció de manera negativa con la edad ( $r = -0.461$ ,  $p < 0.01$ ), peso ( $r = -0.303$ ,  $p < 0.05$ ), glucosa ( $r = -0.374$ ,  $p < 0.05$ ) y colesterol ( $r = -0.303$ ,  $p < 0.05$ ). De forma positiva con insulina ( $r = 0.492$ ,  $p < 0.01$ ) y resistencia a la insulina ( $r = 0.450$ ,  $p < 0.01$ ) (Figuras 15).



**Figura 15. Asociaciones de osteocalcina a las seis semanas posparto en mujeres con DMG previa.**

En el grupo control no se encontró asociación entre osteocalcina y triglicéridos, sin embargo estos se asociaron con el IMC ( $r=0.378$ ,  $p<0.05$ ) e insulina ( $r=0.381$ ,  $p<0.05$ ).

Por otra parte se evaluó el efecto de la lactancia en el posparto y se encontró que ésta no afectaba los niveles de osteocalcina (Tabla 7).

**Tabla 7. Niveles de OC en mujeres lactantes y no lactantes de ambos grupos.**

		Osteocalcina (ng/ml)
Grupo DMG	Lactancia	26.84 ± 9.44
	No lactancia	22.75 ± 7.49
Grupo control	Lactancia	36.02 ± 11.70
	No lactancia	31.81 ± 12.63

Los datos se presentan como  $X \pm DE$

## 8. DISCUSIÓN.

La DMG es un padecimiento que deriva de un trastorno en el metabolismo de los carbohidratos con diversos grados de severidad, que se reconoce por primera vez durante el embarazo.<sup>22</sup> Es el tercer problema de salud pública más importante, ya que representa casi el 90% de todos los embarazos complicados con diabetes. Es un problema frecuente y grave debido a las múltiples complicaciones materno-fetales que acarrea. Además las mujeres que desarrollan DMG tienen alto riesgo de desarrollar DM2 en los 10 años posteriores al embarazo.<sup>31-37</sup>

La DMG, al igual que la DM2, es una enfermedad multifactorial, ya que diversos factores como edad, historia heredofamiliar, obesidad y grupo étnico influyen en su desarrollo.<sup>33-37</sup> En nuestro estudio encontramos que las mujeres con DMG presentaron mayor porcentaje en factores de riesgo como historia heredofamiliar, cesáreas y DMG previa. Además presentaron mayor edad, peso e IMC que el grupo control.

Durante el embarazo, el grupo con DMG presentó niveles significativamente más altos de glucosa, colesterol, insulina y resistencia a la insulina. Esto como consecuencia de la incapacidad de las células  $\beta$  del páncreas de la madre para compensar el estado de resistencia periférica progresiva a la insulina característico del embarazo.<sup>8</sup> Los niveles plasmáticos de osteocalcina fueron similares en ambos grupos durante la gestación.

Sin embargo se encontró asociación de osteocalcina con ganancia de peso, IMC y con resistencia a la insulina en mujeres con DMG. Mientras que en las mujeres del grupo control sólo se encontró asociación de osteocalcina con triglicéridos. Las mujeres con DMG presentaban obesidad, que se ve reflejado en el IMC y en la ganancia de peso; se sabe que la obesidad promueve la formación de hueso disminuyendo el riesgo de fractura y que éste pueda cumplir su función de sostén, locomoción y protección de una masa corporal mucho más grande de la prevista.

En el posparto, las mujeres con DMG permanecieron con niveles de glucosa e insulina elevados. En el grupo control disminuyeron colesterol, triglicéridos, insulina y resistencia a la insulina. En relación a la osteocalcina, ésta se elevó significativamente en ambos grupos, siendo mayor en las pacientes del grupo control. La osteocalcina del grupo con DMG se asoció de manera negativa con la edad, peso, glucosa y colesterol; y positivamente con insulina y resistencia a la insulina. Mientras que en el grupo control se perdió la asociación de osteocalcina con triglicéridos observada en el embarazo.

El incremento de osteocalcina en el posparto se ha asociado a modificaciones del metabolismo óseo durante la gestación. Se sabe que durante el embarazo la mujer debe formar y mantener el esqueleto del feto y el neonato. Durante el tercer trimestre de gestación se da la demanda máxima de calcio.<sup>86</sup> Aproximadamente 35 gramos de calcio atraviesan la placenta por transporte activo y otros treinta gramos de calcio son cedidos durante los primeros cuatro meses de lactancia, provenientes del esqueleto y la dieta materna.<sup>87, 88</sup> Los marcadores bioquímicos del metabolismo óseo que se han evaluado durante la gestación han indicado un aumento de la resorción del hueso en la última mitad de la gestación y ésta se mantiene elevada durante la lactancia. A su vez la formación de hueso, reflejada en los niveles de osteocalcina, aumenta en el tercer trimestre y alcanza su punto máximo durante la lactancia.<sup>89-94</sup> En este estudio no se encontró diferencia de osteocalcina en relación a la lactancia en los dos grupos. Con respecto a la evaluación del metabolismo de glucosa en las mujeres del grupo con DMG el 6.98% presentó alteración en el metabolismo de glucosa a las seis semanas posparto. Se sabe que las mujeres mexicanas tienen un riesgo elevado de desarrollar DM2 en los 10 años posteriores al embarazo.

Nuestros resultados difieren con los obtenidos en el estudio realizado en mujeres europeas, donde las mujeres con DMG presentaron mayores niveles de osteocalcina durante la gestación, además se encontró un incremento de osteocalcina doce semanas después del alumbramiento. Sin embargo los niveles

de OC fueron similares entre ambos grupos y no encontraron las asociaciones de OC que habían observado en el embarazo.<sup>84</sup> Las diferencias entre estos dos estudios pueden atribuirse a las características de la población como edad, peso, carga genética, estilo de vida y actividad física. En el estudio realizado en mujeres europeas con DMG, los grupos se encontraban pareados, es decir, presentaban características similares en cuanto a edad, peso e IMC, además ninguna de las mujeres presentaron factores de riesgo. Además señalaron que todas las mujeres con DMG regresaron a un estado normal de tolerancia a la glucosa a las 10-12 semanas posparto. Además señalaron que todas las mujeres con DMG regresaron a un estado normal de tolerancia a la glucosa a las 10-12 semanas posparto.

Por otra parte diversos estudios en pacientes con DM2 han descrito un menor nivel de OC que personas con metabolismo normal de la glucosa.<sup>66, 74-77</sup> Lo que concuerda con nuestro estudio, en el que los niveles de osteocalcina son más bajos en el grupo con DMG previa. Sin embargo las asociaciones de los niveles de osteocalcina con los niveles de glucosa, insulina y RI en pacientes con DM2 han sido negativas y en nuestro estudio la osteocalcina se asoció de manera positiva con insulina y resistencia a la insulina. Se sabe que durante la resorción ósea, el medio se acidifica, favoreciendo la decarboxilación y liberación de osteocalcina a la circulación, cuando la osteocalcina se une a su receptor en el páncreas estimula la producción y secreción de insulina, que a su vez se une a su receptor en el osteoblasto limitando la producción de osteoprotegerina, este mecanismo facilita la resorción ósea, lo que señala una interacción entre el hueso y el metabolismo energético.<sup>79</sup>

Es importante señalar que en nuestro estudio se cuantificó la osteocalcina total, que incluye a la osteocalcina carboxilada y decarboxilada. En estudios realizados en modelos animales se ha encontrado que la osteocalcina decarboxilada presenta un efecto hormonal participando en el metabolismo energético, mientras que la osteocalcina carboxilada es la forma inactiva en el metabolismo, cumpliendo su función únicamente como fijadora de calcio durante la formación

ósea.<sup>61</sup> Sin embargo los resultados obtenidos de modelos animales difieren de lo encontrado en estudios realizados en humanos, los cuales a su vez han sido diversos y en ocasiones contradictorios, teniendo en cuenta que los niveles de osteocalcina varían según el género y la etapa.

Se sabe que la población mexicana cuenta con alta prevalencia de obesidad, vida sedentaria y elevada carga genética de DM2. El demostrar y entender la interacción que hay entre el hueso y el metabolismo energético puede contribuir al entendimiento de esta patología desde una nueva perspectiva, contemplando que la diabetes mellitus es una patología multifactorial.

## 9. CONCLUSIONES.

- ❖ Los niveles de osteocalcina son similares entre las mujeres con DMG y embarazadas con tolerancia normal a la glucosa.
- ❖ Se encontró una asociación de osteocalcina con insulina y con resistencia a la insulina en mujeres con DMG.
- ❖ En el posparto los niveles de osteocalcina se elevan significativamente en ambos grupos, siendo más altos en mujeres con tolerancia normal a la glucosa.

## 10. PERSPECTIVAS.

- ❖ Para estudios futuros se sugiere trabajar con grupos pareados, es decir, que no presenten diferencias significativas en edad, peso, IMC.
- ❖ Es conveniente evaluar la osteocalcina decarboxilada, ya que se ha reportado que ésta cumple la función hormonal.

## 11. REFERENCIAS.

- 1.Saucedo GR. Proteína de unión al retinol se asocia a diabetes gestacional como factor de riesgo directo para el desarrollo de diabetes 2 [Tesis doctoral]. México, Universidad Nacional Autónoma de México; 2011.
- 2.Zárate A, Basurto L, Hernández M. Endocrinología de la mujer. Editorial Prado. México. 2002. p. 19-24, 161-169.
- 3.Silverthorn DU. Fisiología humana. Un enfoque integrado. 4a edición. Médica Panamericana. Argentina. 2008. p. 848-852.
- 4.Salud de altura. La menstruación. [en línea] [Fecha de acceso 20 de junio de 2013]: URL disponible en: <http://www.saluddealtura.com/?id=291>
- 5.Más allá de la biología. Ciclo menstrual. [en línea] [Fecha de acceso 20 de junio de 2013]: URL disponible en: <http://masalladelabiologia.blogspot.mx/2012/09/ciclo-menstrual.html>
- 6.Biocarampangue. Hormonas en embarazo. [en línea] [Fecha de acceso 20 de junio de 2013]: URL disponible en: <http://www.carampangue.cl/Biocarampangue/2-Hormonas-en-embarazo.jpg>
- 7.Araya R. Pregnancy and diabetes. Rev Med Clin Condes. 2009; 20: 614-629
- 8.Reina FM, David ML, Roque A, Tula HE. Insulina-resistencia y embarazo. Rev End Gin Reprod. 2012; 55-62.
- 9.García GC. Diabetes mellitus gestacional. Med Int Mex. 2008; 24: 148-56.
- 10.Núñez-González J, Sanabria Vera C, Romero-Adrián T, Núñez L, Montiel I, Boscán F, Boccechiampe E. Óxido nítrico, malondialdehído, perfil lipídico, factor de necrosis tumoral alfa y sus receptores solubles en mujeres no embarazadas, gestantes normales y preeclámpicas. Gac Méd Caracas. 2001; 109: 352-360.
- 11.Osorio JH. Metabolismo de los lípidos durante el embarazo. Rev Colomb Obstet Ginecol. 2000; 51: 113-117.
- 12.Sattar N, Bedomir A, Berry C, Shepherd J, Greer IA, Packard CJ. Lipoprotein subfraction concentrations in preeclampsia: pathogenic parallels to atherosclerosis. Obstet Gynecol. 1997; 89: 403-408.
- 13.Sattar N, Greer IA, Loudon J, Lindsay G, McConnell M, Shepherd J, et al. Lipoprotein subfraction changes in normal pregnancy: threshold effect of plasma trygliceride on appearance of small, dense low density lipoprotein. J Clin Endocrinol Metab. 1997; 82: 2483-2491.

14. Winkler K, Wetzka B, Hoffman MM, Friedrichl, Kinner M, Baumstark MW, et al. Low density lipoprotein (LDL) subfraction during pregnancy: accumulation of buoyant LDL with advancing gestation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 4543-4550.
15. Rached De Paoli I, Azuaje A, Henriquez G. Cambios en las variables hematológicas y bioquímicas durante la gestación en mujeres eutróficas. *An Venez Nutr.* 2002; 15: 11-17.
16. Rojas J, Bermúdez V, Leal E, Cano R, Luti Y, Acosta L, et al. Insulinorresistencia hiperinsulinemia como factores de riesgo para enfermedad cardiovascular. *Scielo.* 2008; 30-40.
17. Reina FM, David ML, Roque A, Tula HE. Insulino-resistencia y embarazo. *Rev End Gin Reprod.* 2012; 55-62.
18. Bokemark L, Froden A, Attvall S, Wikstrand J, Fagerberg B. The euglycemic hyperinsulinemic clamp examination: variability and reproducibility. *Scand J Clin Lab Invest.* 2000; 60: 27-36.
19. Pérez MM, Montanya ME. Técnicas para el estudio de la resistencia insulínica. Una valoración crítica. *Av Diabetol.* 2001; 17: 179-186.
20. Levy JC, Matthews DR, Hermans MP. Correct homeostasis model assessment (HOMA). Evaluation uses the computer program (Letter). *Diabetes Care.* 1998; 21: 2191-2192.
21. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of homa modeling. *Diabetes Care.* 2004; 27: 1486-1495.
22. Ferrada C, Molina M, Cid L, Riedel G, Ferrada C, Arévalo R. Relación entre diabetes gestacional y síndrome metabólico. *Rev Med Chile.* 2007; 135: 1539-1545.
23. Nutrición personalizada [en línea] [Fecha de acceso 29 de abril de 2013] URL disponible en:  
[http://nutricionpersonalizada.wordpress.com/2010/08/03/patofisiologia\\_diabetes\\_embarazo/](http://nutricionpersonalizada.wordpress.com/2010/08/03/patofisiologia_diabetes_embarazo/)
24. Blanco QA. Obesidad y respuesta inflamatoria. *Bol Pediatr.* 2007; 47: 237-249.
25. Forsbach G, Contreras-Soto JJ, Fong G, Flores G, Moreno O. Prevalence of gestational diabetes and macrosomic newborns in a mexican population. *Diabetes Care.* 1998; 11: 235-238.

26. Tamez HE, Rodríguez M, Treviño M, Espinosa J, Salas LR, Barquet J, Páez FJ. Experiencia con un programa de escrutinio de diabetes gestacional. Rev Invest Clin. 1993; 45: 453-456.
27. Meza E, Barraza L, Martínez G, Fernández V, Ramos E, Cano C, Valdez A, Izaguirre R. Gestational diabetes in a Mexican-U.S. border population: prevalence and epidemiology. Rev Invest Clin. 1995; 47:433-438.
28. López-de la Peña X, Cajero-Avelar JJ, de León-Romo LF. Prevalence of gestational diabetes in a group of women receiving treatment at the Mexican institute of social security in Aguascalientes, Mexico. Arch Med Res. 1997; 28: 281-284.
29. Forsbach G, Cantú-Díaz C, Vázquez-Lara J, Villanueva-Cuellar MA, Álvarez y García C, Rodríguez-Ramírez E. Gestational diabetes mellitus and glucose intolerance in a Mexican population. Int J Gynaecol Obstet. 1997; 59: 229-32.
30. Guía de Práctica, Diagnóstico y Tratamiento de la Diabetes en el Embarazo, México: Secretaria de Salud; 2009 [en línea] [Fecha de acceso 29 de abril de 2013] URL disponible en:  
[http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/320\\_IMSS\\_10\\_Diabetes\\_embarazo/EyR\\_IMSS\\_320\\_10.pdf](http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/320_IMSS_10_Diabetes_embarazo/EyR_IMSS_320_10.pdf)
31. Hinojosa HM, Hernández AF, Barrera TE, Gayosso MM. Prevalencia de diabetes mellitus gestacional en el hospital Juárez de México. Rev Hosp Jua Mex. 2010; 77: 123-128.
32. Duarte-Gardea M, Muñoz G, Rodríguez-Saldaña J, Escorza-Domínguez AB. Prevalencia, detección y tratamiento de la diabetes gestacional. Rev Pub Nutr. 2004; 5: 1-8.
33. Alvariñas JH, Salzberg S. Diabetes y embarazo. Separata Laboratorios Montpellier. 2003: 2-22.
34. Alvariñas JH, Mezzabotta L, González C, Salzberg S. Importancia de los factores de riesgo en el diagnóstico de diabetes gestacional. Revista de la asociación latinoamericana de diabetes. Diabetes Gestacional. Primera parte. 2001; 9: 76-104.
35. Diabetes Gestacional. Fisterra.com [en línea] 20 de mayo de 2001 [Fecha de acceso 3 de abril de 2013]: URL disponible en:  
<http://www.fisterra.com/guias-clinicas/diabetes-gestacional/>
36. Embarazo y diabetes. Tuotromedico.com [en línea] 10 de marzo de 2005 [Fecha de acceso 3 de abril de 2013] URL disponible en:  
[http://www.tuotromedico.com/temas/diabetes\\_y\\_embarazo.htm](http://www.tuotromedico.com/temas/diabetes_y_embarazo.htm)

37. Contreras ZE, Arango LG, Zuluaga MS, Ocampo V. Diabetes y embarazo. Rev Colomb Obs Gin. 2008; 59: 38-45.
38. Aschner P. Definición y diagnóstico de la diabetes mellitus. Guías ALAD de diagnóstico, control y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. 2000; 1: 121-123.
39. Carpenter MW, Coustan CR. Criteria for screening test for gestational diabetes. Am J Obstet Gynecol. 1982; 144: 768-773.
40. IADPSG. Diabetes Care. 2010; 33: 676-682
41. ADA: Standards of medical care in diabetes. Diabetes Care. 2011; 34: 11-61.
42. HAPO study. N Engl J Med. 2008; 358: 1991-2002.
43. Hadden WHO Study Group. Prevention of diabetes mellitus. World Health Organization. Geneva, Switzerland. 1994: 844.
44. American Diabetes Association. Gestational diabetes mellitus. Diabetes Care. 2001; 24: S77-S79.
45. Secretaría de Salud. Norma Oficial Mexicana. NOM-015-SSA2-1994, para prevención, tratamiento y control de la diabetes. México, Diario Oficial de la Federación. Octubre. 2000.
46. Sweeney AT, Brown FM. Gestational diabetes mellitus. Clin Lab Med. 2001; 21: 173-192.
47. Hahn BH. Osteopontic bone disease. En Koopman WJ, editor. Arthritis and allied conditions. A textbook of Rheumatology 13th edition. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997: 2203-2231.
48. Tanaka Y, Morimoto. Osteoblasts are regulated by the cellular adhesion through ICAM-1 and VCAM-1. J Bone Min Res. 1995; 10: 1462-1468.
49. Hofbauer LC, Heufelder AE. The role of osteoprotegerina and receptor activator of nuclear factor KB ligand in the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 2001; 44: 253-259.
50. Cañas CA, Iglesias A. Fisiopatología de la osteoporosis. En Ardila E, Mautalen CA. Eds. Osteoporosis en Iberoamérica. Santafé de Bogotá: Vesaluis. 2000: 23-34.

51. Cañas CA. Fisiopatología del recambio óseo. Revista de Menopausia. [en línea] [Fecha de acceso 25 de junio de 2013]: URL disponible en: <http://www.encolombia.com/medicina/menopausia/meno8102-contrifisio.htm>
52. Compston JE. Sex steroids and bone. *Physiol Rev.* 2001; 81: 419-447.
53. Lind M, Deleuran B, Thestrup-Pedersen K, Soballe K, Eriksen EF, Bunger C. Chemotaxis of human osteoblasts. Effects osteotropic growth factors. *APMIS.* 1995; 130: 140-146.
54. Fernández TI, Hernández GMA, Alobera GM, Pingarrón LB. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2006; 11: E151-157.
55. Sociedad española de bioquímica y biología molecular. Especial sobre regeneración ósea. [en línea] [Fecha de acceso 19 de mayo de 2013]: URL disponible en: [http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos\\_10/especial-sobre-regeneracion-osea-3-articulos\\_545](http://www.sebbm.es/ES/divulgacion-ciencia-para-todos_10/especial-sobre-regeneracion-osea-3-articulos_545)
56. Zárate TA, Basurto AL, Saucedo GR. El tejido óseo se incorpora a la constelación hormonal. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2010; 48: 1-5.
57. Johansen Js, Williamson MK, Rice JS, Price PA. Identification of proteins secreted by human osteoblastic cells in cultura. *J Bone Miner Res.* 1992; 7: 501-512.
58. Butler WT, D'souza RN, Bronckers AL, Happonen RP, Somerman MJ. Recent investigations on dentin specific proteins. *Proc Finn Dent Soc.* 1992; 88: 369-376.
59. Díaz DE. Osteocalcina: evaluación de diferentes ensayos utilizados para su medida. Aplicación al estudio de las formas inmunorreactivas presentes en el medio de cultivo de osteoblastos humanos y circulantes en suero. [Tesis doctoral]. Universidad Complutense de Madrid; 1996.
60. Castillo V, Lalia J, Rodríguez M, Casas G, Márquez A. Osteocalcina: marcador bioquímico de osteogénesis y patología ósea durante el crecimiento del cachorro de raza grande. *Rev Cien FCV-LUZ.* 1999; 10: 138-142.
61. Booth S, Centi A, Smith SR, Gundberg C. The role of osteocalcina in human glucose metabolism: marker or mediator?. *Nat Rev Endocrinol.* 2013; 9: 43-55.
62. Nishimoto SK, Price PA. The vitamin K-dependent bone protein is accumulated within cultureosteosarcoma cells in the presence of vitamin K antagonist warfarin. *J Biol Chem.* 1985; 260: 2832-2836.

63. Pan LC, Williamson MK, Price PA. Sequence of the precursor to rat bone gamma-carboxyglutamic acid protein that accumulates in warfarin-treated osteosarcoma cells. *J Biol Chem.* 1985; 260: 13398-13401.
64. Price PA, Williamson MK. Effects of warfarin on bone: studies on the vitamin K-dependent protein of rat bone. *J Biol Chem.* 1981; 256: 12754-12759.
65. Van Haarlem LJ, Knapen MH, Hamuliak K, Vermeer C. Circulating osteocalcin during oral anticoagulant therapy. *Tromb Haemostasis.* 1988; 60: 79-82.
66. Pi M, Zhang L, Lei SF, Huang MZ, Zhu W, Zhang J, et. al. Impaired osteoblast function in GPRC6A null mice. *J Bone Miner Res.* 2010; 25: 1092-1102.
67. Pi M, Quarles LD. GPRC6A regulates prostate cancer progression. *Prostate.* 2012; 72: 399-409.
68. Oury F, Sumara G, Sumara O, Ferron M, Chang H, Smith CE, et. al. Endocrine regulation of male fertility by the skeleton. *Cell.* 2011; 144: 796-809.
69. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferro M, Ahn JD, Confavreux C, et. al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell.* 2007; 130: 456-469.
70. Pi M, Wu Y, Quarles LD. GPRC6A mediates responses to osteocalcin in  $\beta$ -cells in vitro and pancreas in vivo. *J Bone Miner Res.* 2011; 26: 1680-1683.
71. Pi M, Quarles LD. Multiligand specificity and wide tissue expression of GPRC6A reveals new endocrine networks. *Endocrinology.* 2012; 153: 2062-2069.
72. Horton HR, Moran LA, Scrimgeour KG, Perry MD, Rawn JD. Principios de bioquímica. 4a edición. Pearson Education. México. 2008. p. 285-288.
73. Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamamoto M, Yamauchi M, Kurioka S, Yano S, Sugimoto T. Serum osteocalcin level is associated with glucose metabolism and atherosclerosis parameters in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 45-49.
74. Lee NK, Karsenty G. Reciprocal regulation of bone and energy metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2008; 19: 161-166.
75. Lihn AS, Pedersen SB, Richelsen B. adiponectina: action, regulation and association to insulin sensitivity. *Obes Rev.* 2005; 6: 13-21.
76. Karsenty G, Ferron M. The contribution of bone to whole-organism physiology. *Nature.* 2012; 481: 314-320.
77. Zhang Y, Zhou P, Wanjiru KJ. Adiponectin and osteocalcin: relation to insulin sensitivity. *Biochem. Cell Biol.* 2012; 90: 613-618.

78. Fernández-Real JM, Izquierdo M, Ortega F, Gorostiaga E, Gómez-Ambrosio J, Moreno-Navarrete JM, et. al. The relationship of serum osteocalcin concentration to insulin secretion, sensitivity, and disposal with hypocaloric diet and resistance training. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 237-245.
79. Rosen CJ, Motyl KJ. No bones about it: insulin modulates skeletal remodeling. *Cell.* 2010; 142: 198-200.
80. Rosato MT, Scheneider SH, Shapses SA. Bone turnover and insulin-like growth factor 1 levels increase after improved glycemic control in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *Calcif Tissue Int.* 1998; 63: 107-111.
81. Sealand R, Razavi C. Diabetes mellitus and osteoporosis. *Curr Diab Rep.* 2013.
82. Yamaguchi T, Sugimoto T. Bone metabolism and fracture risk in type 2 diabetes mellitus. *Bonekey Rep.* 2012; 7: 1-6.
83. Okazaki R, Totsuka Y, Himano K, Ajima M, Miura M, Hirota Y, et al. Metabolic improvement of poorly controlled non-insulin dependent diabetes mellitus decreased bone turnover. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82: 2915-2920.
84. Winhofer Y, Handisurya A, Tura A, Bittighofer C, Klein K, Schneider B, et. al. Osteocalcin is related to enhanced insulin secretion in gestacional diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2010; 33: 139-143.
85. Hulley SB, Cummings SM, Browner WS, Grady DG, Newman TB. Diseño de investigaciones clínicas. 3a edición. Wolters Klumer. España. 2007. p. 134.
86. Namgung R, Tsang RC. Bone in the pregnant mother and newborn at birth. *Clin Chim Acta.* 2003; 333: 1-11.
87. Khovidhunkit W, Epstein S. Osteoporosis in pregnancy. *Osteoporosis Int* 1996; 6: 345-54.
88. Kovacs C, Kronenberg H. Maternal-fetal calcium and bone metabolism during pregnancy. *Puerperium and lactation. Endocrine Rev.* 1997; 18: 832-872.
89. Cross NA, Hillman LS, Allen SH, Krause GF, Vieira NE. Calcium homeostasis and bone metabolism during pregnancy, lactation, and postweaning: a longitudinal study. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 514-23.
90. Kent GN, Price RI, Gutteridge DH. The efficiency of intestinal calcium absorption is increased in late pregnancy but not in established lactation. *Calcif Tissue Int* 1991; 48: 293-5.

91. Akesson A, Vahter M, Berglund M, Eklof T, Bremme K, Bjellerup P. Bone turnover from early pregnancy to postweaning. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004; 83: 1049-1055.
92. Ritchie LD, Fung EB, Halloran BP. A longitudinal study of calcium homeostasis during human pregnancy and lactation and after resumption of menses. *Am J Clin Nutr.* 1998; 67: 693-701.
93. Naylor KE, Iqbal P, Fledelius C, Fraser RB, Eastell R. The effect of pregnancy on bone density and bone turnover. *J Bone Miner Res.* 2000; 15: 129-137.
94. Sowers M, Scholl T, Grewal J, Chen X, Jannausch M. IGF-1, osteocalcina, and bone change in pregnant normotensive and pre-eclamptic women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 5898-903.

## 12. ANEXOS.

### ANEXO 1. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

México DF a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Por medio de la presente \_\_\_\_\_ acepto participar en el protocolo de investigación titulado: Niveles de osteocalcina en mujeres con diabetes mellitus gestacional con riesgo a desarrollar diabetes mellitus 2, el objetivo del estudio es medir la concentración de la osteocalcina en la diabetes gestacional y en el embarazo normal e identificar la asociación de la resistencia a la insulina con la concentración de esta hormona. Se me ha explicado que mi participación consistirá en tomas de sangre venosa en el último trimestre del embarazo y en la sexta semana posparto. Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes: los riesgos y molestias asociados con la toma de la muestra sanguínea son desmayo o sensación de mareo, hematoma (acumulación de sangre bajo la piel) y punciones múltiples para localizar las venas. Los beneficios de mi participación es que se evaluará continuamente mis niveles de glucosa y mi riesgo a desarrollar diabetes en el futuro.

El Investigador Responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto.

El Investigador Responsable me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma

\_\_\_\_\_  
Investigador Responsable

Renata Patricia Saucedo García

Matrícula 99091877

\_\_\_\_\_  
Médico responsable

Armando Cruz Rodríguez

Los números telefónicos a los cuales puedo comunicarme en caso de emergencia, dudas o preguntas relacionadas con el estudio son el 56276900 Ext. 21479 y el 57662232

Testigos:

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma

## ANEXO 2. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

Referida por: \_\_\_\_\_ Folio: \_\_\_\_\_  
 Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_  
 No. Afiliación: \_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_ Ocupación: \_\_\_\_\_

### Semana 24-36 de embarazo:

FUR: \_\_\_\_\_  
 Edad gestacional (semanas): \_\_\_\_\_ Fecha probable de parto: \_\_\_\_\_  
 Peso previo al embarazo: \_\_\_\_\_ Peso actual: \_\_\_\_\_ Talla: \_\_\_\_\_  
 Ganancia de peso en el embarazo: \_\_\_\_\_ IMC previo al embarazo: \_\_\_\_\_  
 TA (1): \_\_\_\_\_ TA (2): \_\_\_\_\_  
 HAS previa al embarazo: NO \_\_\_\_\_ SI \_\_\_\_\_ controlada: \_\_\_\_\_  
 HAS durante el embarazo: No \_\_\_\_\_ SI \_\_\_\_\_ Tiempo de evolución \_\_\_\_\_  
 Tx. \_\_\_\_\_  
 Controlada: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_  
 Paridad Gestas: \_\_\_\_\_ Partos: \_\_\_\_\_ Cesáreas: \_\_\_\_\_ Abortos: \_\_\_\_\_  
 Parto previo de un bebé por encima de 4 Kg. de peso: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_  
 Peso de bebé(s) previo(s): \_\_\_\_\_  
 Muerte de un bebé o recién nacido: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_  
 Bebé anterior con una malformación: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_  
 Diabetes gestacional previa: SI \_\_\_\_\_ NO \_\_\_\_\_  
 Familiar en primer grado con DM: NO \_\_\_\_\_ SI \_\_\_\_\_ (quién) \_\_\_\_\_  
 Tabaquismo: Nunca: \_\_\_\_\_ Actual: \_\_\_\_\_ Previo al embarazo: \_\_\_\_\_ Duración: \_\_\_\_\_  
 Cantidad: \_\_\_\_\_  
 Alcoholismo: Nunca: \_\_\_\_\_ Actual: \_\_\_\_\_ Previo al embarazo: \_\_\_\_\_ Duración: \_\_\_\_\_  
 Cantidad: \_\_\_\_\_  
 Actividad física actual: ligera: \_\_\_\_\_ moderada: \_\_\_\_\_ severa: \_\_\_\_\_  
 Act. física previa al embarazo: \_\_\_\_\_  
 Glucosa previa y fecha: \_\_\_\_\_

**Tx para la diabetes gestacional:** Dieta: \_\_\_\_\_  
 Insulina: \_\_\_\_\_ Dosis: \_\_\_\_\_ Tiempo: \_\_\_\_\_  
 Cuando le Dx la DMG: \_\_\_\_\_  
 Motivo de internamiento: \_\_\_\_\_

### Semana 6 posparto:

Edad gestacional al momento del parto o cesárea: \_\_\_\_\_  
 Parto o cesárea: \_\_\_\_\_ Motivo: \_\_\_\_\_  
 Peso del bebé al nacimiento: \_\_\_\_\_ Talla del bebé: \_\_\_\_\_  
 Peso actual del bebé: \_\_\_\_\_  
 Amamanta a su bebé: \_\_\_\_\_  
 Peso: \_\_\_\_\_ Talla: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_ TA (1): \_\_\_\_\_ TA (2): \_\_\_\_\_

### Resultados:

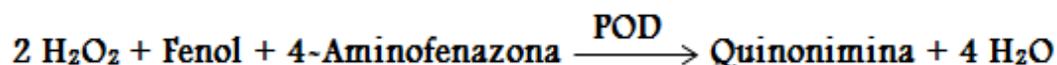
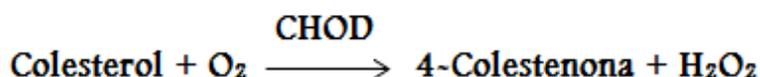
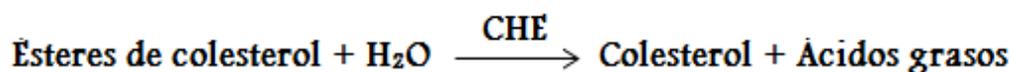
	Semana 24-36 de embarazo	Semana 6 posparto
Peso		
IMC		
Glucosa		
Colesterol		
Triglicéridos		
Insulina		
Osteocalcina		
HOMA		

## ANEXO 3. ANÁLISIS BIOQUÍMICOS.

### 3.1 Determinación cuantitativa de colesterol (SPINREACT).

#### Principio del método.

El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la reacción siguiente:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra ensayada.

#### Reactivos.

Todos los reactivos están listos para su uso.

<b>R</b>	PIPES pH 6.9	90mmol/l
	Fenol	26mmol/l
	Colesterol estearasa (CHE)	1000 U/l
	Colesterol oxidasa (CHOD)	300 U/l
	Peroxidasa (POD)	650 U/l
	4-Aminofenazona (4-AF)	0.4mmol/l
<b>CHOLESTEROL CAL</b>	Patrón primario acuoso de Colesterol 200mg/dl	

#### Procedimiento.

1. Condiciones de ensayo:

Longitud de onda..... 505nm (500-550)  
Cubeta..... 1cm de paso de luz.  
Temperatura..... 37°C/15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta:

	<b>Blanco</b>	<b>Patrón</b>	<b>Muestra</b>
<b>R (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Patrón (μl)</b>	-	10	-
<b>Muestra (μl)</b>	-	-	10

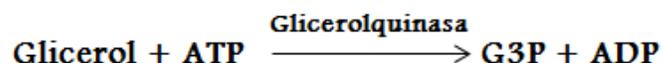
4. Mezclar e incubar 5 min a 37°C ó 10 min a 15-25°C
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al blanco de reactivo.  
El color es estable como mínimo 60 minutos.

### 3.2 Determinación de triglicéridos (SPINREACT).

#### Principio del método.

Los triglicéridos incubados con lipoproteinlipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) por GPO.

Al final el peróxido de hidrógeno reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada.

#### Reactivos.

Todos los reactivos están listos para su uso.

<b>R</b>	GOOD pH 6.3	50mmol/l
	p-clorofenol	2mmol/l
	Lipoprotein lipasa (LPL)	150000 U/l
	Glicerol quinasa (GK)	500 U/l
	Glicerol-3-oxidasa (GPO)	3500 U/l
	Peroxidasa (POD)	400 U/l
	4-Aminofenazona (4-AF)	0.1mmol/l
	ATP	0.1mmol/l
<b>TRIGLYCERIDES CAL</b>	Calibrador primario de Triglicéridos	

## Procedimiento.

1. Condiciones de ensayo:

Longitud de onda..... 505nm (490-550)

Cubeta..... 1cm de paso de luz.

Temperatura..... 37°C/15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	<b>Blanco</b>	<b>Patrón</b>	<b>Muestra</b>
<b>R (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Patrón (µl)</b>	-	10	-
<b>Muestra (µl)</b>	-	-	10

4. Mezclar e incubar 5 min a 37°C ó 10 min a 15-25°C

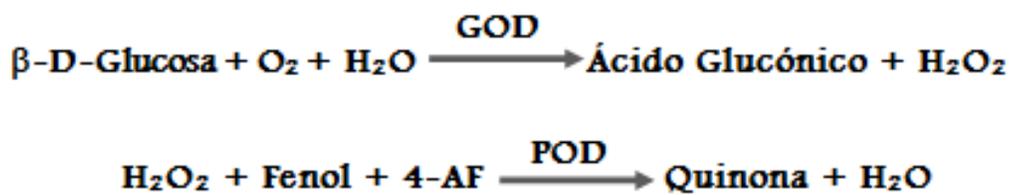
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al blanco de reactivo.

El color es estable como mínimo 30 minutos.

### 3.3 Determinación de glucosa (SPINREACT).

#### Principio del método.

La glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico. El peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) producido, se detecta mediante un receptor cromogénico de oxígeno, fenol, 4-aminofenazona (4-AF), en presencia de peroxidasa (POD):



La intensidad de color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra analizada.

#### Reactivos.

Todos los reactivos están listos para su uso.

<b>R</b>	TRIS pH 7.4	92mmol/l
	Fenol	0.3mmol/l
	Glucosa oxidasa	15000 U/l
	Peroxidasa	1000 U/l
	4-Aminofenazona (4-AF)	2.6mmol/l
<b>GLUCOSA CAL</b>	Patrón primario acuoso de glucosa 100mg/dl	

#### Procedimiento.

- Condiciones de ensayo:  
Longitud de onda..... 505nm (490-550)  
Cubeta..... 1cm de paso de luz.  
Temperatura..... 37°C/15-25°C
- Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
- Pipetear en una cubeta:

	<b>Blanco</b>	<b>Patrón</b>	<b>Muestra</b>
<b>R (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Patrón (μl)</b>	-	10	-
<b>Muestra (μl)</b>	-	-	10

4. Mezclar e incubar 5 min a 37°C ó 10 min a 15-25°C
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al blanco de reactivo.  
El color es estable como mínimo 30 minutos.

## **ANEXO 4. INMUNOENSAYOS.**

El inmunoensayo es una técnica analítica que se basa en la reacción de conjugación antígeno-anticuerpo (Ag-Ab). Su gran sensibilidad y especificidad permite la cuantificación de compuestos presentes en líquidos orgánicos en concentración reducida, del orden de ng/ml o pg/ml.

### **4.1 Determinación de osteocalcina (CISBIO).**

OSTEO-RIACT es un kit para el ensayo radioinmunométrico de osteocalcina en suero o plasma humano.

#### **Principio del método.**

Es un ensayo radioinmunométrico (IRMA) de sándwich en fase sólida. Utilizando dos anticuerpos monoclonales contra dos sitios antigénicos apartados entre sí. El primero es fijado en el tubo de recubrimiento y el segundo marcado con yodo ( $I^{125}$ ) se utiliza como trazador. Las moléculas de osteocalcina presentes en los estándares o en las muestras están dispuestas en sándwich entre los dos anticuerpos. El exceso de trazador se elimina fácilmente con un proceso de lavado, de modo que sólo queda sobre el tubo recubierto el complejo anticuerpo fijado/antígeno/anticuerpo marcado.

La radioactividad del tubo recubierto es proporcional a la concentración de osteocalcina presente en la muestra.

## Reactivos.

Cada kit contiene suficientes reactivos para 100 tubos.

Reactivos	Símbolo	Cantidad	Almacenamiento
<b>TUBOS RECUBIERTOS:</b> Listo para su uso. Anticuerpo monoclonal anti-osteocalcina humana fijado al fondo del tubo.	<b>CT</b>	2 paquetes con 50 tubos	A 2-8°C hasta la fecha de expiración. Los tubos extraídos de la caja y no utilizados deben ser almacenados en una bolsa con el kit.
<b>ANTI-OSTEO I<sup>125</sup>:</b> Listo para su uso. Anticuerpo monoclonal anti-osteocalcina humana marcada con I <sup>125</sup> , buffer, albúmina bovina, azida sódica, colorante rojo, inmunoglobulinas de ratón no inmunizado ≤ 577kBq (≤15.6 μCi)	<b>TRACER</b>	1 vial con 32ml	A 2-8°C hasta la fecha de expiración.
<b>ESTÁNDAR 0:</b> Buffer liofilizado, albúmina bovina. Reconstituir con 4ml de agua destilada.	<b>CAL</b>	1 vial con 4ml	A 2-8°C hasta la fecha de expiración. Después de reconstituir, almacenar a -20°C (1 mes)
<b>ESTÁNDARES:</b> Buffer liofilizado, albúmina bovina, Osteocalcina humana (5-40-120-300ng/ml). Reconstituir con 0.5ml de agua destilada.	<b>CAL</b>	4 viales con 0.5ml	A 2-8°C hasta la fecha de expiración. Después de reconstituir, almacenar a -20°C (1 mes)
<b>CONTROL:</b> Buffer liofilizado, albúmina bovina, osteocalcina humana (20ng/ml)*. Reconstituir con 0.5ml de agua destilada.	<b>CONTROL</b>	1 vial con 0.5ml	A 2-8°C hasta la fecha de expiración. Después de reconstituir, almacenar a -20°C (1 mes)
<b>TWEEN 20:</b> Solución concentrada. Diluir 9ml de Tween 20 en 3 litros de agua destilada. Agitar suavemente.	<b>TWEEN 20</b>	1 vial con 10 ml	A 2-8°C hasta la fecha de expiración. Después de la dilución, almacenar en un recipiente cerrado por 15 días máximo.
<b>Bolsa plástica.</b>		1	

## Procedimiento.

Todos los reactivos deben ponerse a temperatura ambiente (18-25°C) 30 minutos antes de ser utilizados. El control y los estándares deben ser reconstituidos 15 minutos antes de ser utilizados.

El ensayo requiere de grupos de tubos seguidos:

- Grupo 0 estándar: Para la determinación de la unión no específica,
- Grupos estándar, para establecer la curva estándar.

- Grupo control para realizar el control.
- Grupo muestra, para las muestras analizadas.

Respetar el orden de adición de cada reactivo.

1. Agregar 50µl de estándar, control o muestra a analizar, dentro del tubo correspondiente.
2. Agregar 300µl de Anti-Osteocalcina humana I<sup>125</sup> a cada tubo.
3. Mezclar suavemente cada tubo en Vórtex.
4. Incubar durante 2horas a temperatura ambiente (18-25°C) con agitación (400rpm)
5. Continuar con los lavados.
6. Aspirar el contenido de los tubos tanto como sea posible.
7. Agregar 2.0ml de solución de lavado (Tween 20 diluido) a cada tubo, y volver a aspirar.
8. Repetir el proceso una vez más.
9. Medir la radiación unida a cada tubo con un contador de centelleo gamma.

## 4.2 Determinación de insulina (MILLIPORE).

Kit de RIA específico para Insulina Humana (Cat. # HI-14K)

### Principio del método.

Radioinmunoanálisis (RIA), una concentración preparada de antígeno marcado es incubado con una dilución constante de antisuero, donde la concentración de antígeno ligado al anticuerpo está limitada, es decir, sólo el 50% de la concentración total del marcador se puede unir al anticuerpo. Si el antígeno no marcado es agregado al sistema, habrá competencia entre el antígeno marcado y el no marcado para ocupar los sitios del anticuerpo que se encuentra en concentración constante y limitada.

### Reactivos.

Reactivos	Cantidad
<b>BUFFER DE ENSAYO:</b> Fosfatasa alcalina 0.05M pH 7.4, contiene EDTA 0.025M, azida sódica al 0.08%.	1 vial con 40ml
<b>ANTICUERPO INSULINA HUMANA:</b> Anticuerpo específico de cobayo anti-insulina humana en buffer de ensayo.	1 vial con 26ml
<b><sup>125</sup>I-INSULINA:</b> <sup>125</sup> I-Insulina marcada, purificada por HPLC. Liofilizada para estabilizar.	1 vial con 27ml
<b>BUFFER DE HIDRATACIÓN:</b> Buffer de ensayo, contiene suero de cobayo. Usado para hidratar la hormona marcada.	1 vial con 27ml
<b>ESTÁNDARES DE INSULINA HUMANA:</b> Insulina humana recombinada purificada, contenida en buffer de ensayo en concentraciones: 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 µU/ml.	1 vial con 1ml
<b>CONTROLES 1 Y 2:</b> Insulina humana recombinada purificada, contenida en buffer de ensayo.	1 vial con 1ml
<b>AGENTE PRECIPITANTE:</b> Suero de cabra con IgG anti-cobayo, fosfatasa alcalina 0.05M, EDTA 0.025M, azida sódica al 0.08%, Triton X-100 al 0.05% y PEG al 3%	1 vial con 260ml

## Procedimiento.

Día 1						Día 2		
Pasos	1	2-3	4	5	6	7	8	9-11
Tubos	Agregar buffer de ensayo	Agregar estándar o muestra	Agregar Insulina humana marcada I <sup>125</sup>	Agregar anticuerpo anti insulina humana	Mezclar en Vórtex, cubrir e incubar de 20-24 horas a temperatura ambiente.	Agregar agente precipitante	Mezclar en Vórtex e incubar a 4 °C por 20 minutos.	Centrifugar 4 °C por 20 minutos, decantar y contar.
1,2	-	-	100 µl	-		-		
3,4	300 µl	-	100 µl	-		1.0 ml		
5,6	200 µl	-	100 µl	100 µl		1.0 ml		
7,8	100 µl	100 µl de 3.125µU/ml	100 µl	100 µl		1.0 ml		
9,10	100 µl	100 µl de 6.25 µU/ml	100 µl	100 µl		1.0 ml		
11,12	100 µl	100 µl de 12.5 µU/ml	100 µl	100 µl		1.0 ml		
13,14	100 µl	100 µl de 25 µU/ml	100 µl	100 µl		1.0 ml		
15,16	100 µl	100 µl de 50 µU/ml	100 µl	100 µl		1.0 ml		
17,18	100 µl	100 µl de 100 µU/ml	100 µl	100 µl		1.0 ml		
19,20	100 µl	100 µl de 200 µU/ml	100 µl	100 µl		1.0 ml		
21,22	100 µl	100 µl de QC1	100 µl	100 µl		1.0 ml		
23,24	100 µl	100 µl de QC2	100 µl	100 µl		1.0 ml		
25,26	100 µl	100 µl de muestra	100 µl	100 µl	1.0 ml			
27-n	100 µl	100 µl de muestra	100 µl	100 µl	1.0 ml			