



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Hospital Infantil de México Federico Gómez

Ciencias Médicas

Genotoxicidad por estrés oxidativo en recién nacidos de madres con diabetes en el embarazo: estudio comparativo transversal

Tesis que para optar por el grado de Maestría en Ciencias Médicas

Presenta:

María Fernanda Castilla Peón

Tutora: D.C. Patricia Guadalupe Medina Bravo

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

CIUDAD DE MÉXICO, MARZO 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ÍNDICE

1. Resumen.....	3
2. Marco Teórico.....	4
3. Planteamiento del problema.....	12
4. Justificación.....	14
5. Objetivos.....	15
6. Hipótesis.....	16
7. Metodología.....	17
8. Aspectos éticos.....	24
9. Resultados.....	26
10. Discusión.....	30
11. Tablas y figuras.....	39
12. Anexos.....	49
13. Referencias.....	54

Genotoxicidad por estrés oxidativo en recién nacidos de madres con diabetes en el embarazo: estudio comparativo transversal

1. RESUMEN

Antecedentes. Los productos de madres con diabetes durante el embarazo tienen en la vida adulta mayor frecuencia de condiciones de riesgo cardiovascular como obesidad, resistencia a la insulina e hipertensión en comparación con los productos de madres sin diabetes. El estrés oxidativo está aumentado en sujetos con diabetes, lo cual ocasiona daño oxidativo al ADN, lo cual, a su vez, está vinculado al desarrollo de dichas condiciones de riesgo cardiovascular. No se sabe si los productos de los embarazos de mujeres con diabetes también sufren este daño oxidativo al ADN.

Objetivo. Comparar los niveles del marcador de daño oxidativo al ADN, 8-hidroxi desoxiguanosina (8-OH-dG) entre los productos de madres con diabetes en el embarazo y las madres sin diabetes.

Metodología. Se compararon los niveles de 8-OH-dG en suero de cordón umbilical, entre los productos de madres con diabetes diagnosticada en el embarazo y los productos de madres sin diabetes. También se cuantificaron los niveles de 8-OH-dG en las madres y dos marcadores de estrés oxidativo tanto en las madres como en los recién nacidos: los productos de la degradación de óxido nítrico (NOx) y la actividad de la glutatión peroxidasa (GSH-px).

Resultados. Los productos de madres con diabetes en el embarazo tuvieron niveles más altos de 8-OH-dG en suero que los productos de madres sin diabetes. La 8-OH-dG y el resto de los marcadores medidos también fue más alto tanto en las madres con diabetes como en sus productos, a excepción del NOx en las madres. La asociación de la diabetes con la 8-OH-dG es independiente del índice de masa corporal (IMC) materno, de la edad, y de la vía de nacimiento.

Conclusión. Los resultados apoyan la teoría de que los productos de madres con diabetes nacen con mayor genotoxicidad por estrés oxidativo que los nacidos de madres sin diabetes.

2. MARCO TEÓRICO

La diabetes durante el embarazo es una condición frecuente: se han reportado prevalencias desde el 1.3% hasta el 20.4% (1),(2) en distintas poblaciones y dependiendo de los métodos de tamizaje y criterios diagnósticos utilizados. Se sabe que la hiperglucemia materna se asocia a complicaciones neonatales, siendo las mejor descritas la macrosomía, el hiperinsulinismo y las malformaciones congénitas(3). Sin embargo, cada vez se conocen mejor los efectos a largo plazo de los productos de madres con diabetes en el embarazo, en particular, el aumento del riesgo de condiciones de riesgo cardiovascular como la hipertensión, la obesidad y la resistencia a la insulina en la vida adulta.

Asociación entre diabetes, estrés oxidativo y genotoxicidad

Una de las alteraciones bioquímicas relacionadas con la diabetes es el aumento en el estrés oxidativo en el organismo. El estrés oxidativo es el desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y los mecanismos antioxidantes endógenos para contrarrestar los efectos de las ROS o reparar los daños que provocan en las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos necesarios para el correcto funcionamiento celular (4).

Gran parte de las complicaciones de la diabetes en los órganos blanco surgen por la elevación crónica de glucosa a través de una producción aumentada de ROS y especies reactivas de nitrógeno que generan estrés oxidativo. La producción excesiva de radicales libres de oxígeno puede acelerar el daño oxidativo a las macromoléculas incluyendo el daño al ADN (5),(6).

El aumento en el daño oxidativo al ADN en sujetos con diabetes se ha documentado, y se ha sugerido que puede ser un marcador clínico útil para predecir complicaciones de la diabetes como micro- y macroangiopatía. El daño al ADN es mayor en pacientes con enfermedad arterial coronaria y dislipidemia o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) que en individuos sin estas enfermedades (7).

En relación al daño al ADN en sujetos con diabetes mellitus tipo 1 o 2, se ha demostrado un alto nivel de aberraciones cromosómicas estables en los linfocitos periféricos asociados y relacionados directamente con el riesgo de muerte temprana en estos pacientes (8).

Asociación entre diabetes en el embarazo, estrés oxidativo y genotoxicidad en la madre y en el producto

Se sabe que la diabetes incrementa el estrés oxidativo en la madre y probablemente también en el producto (8-10). Este estrés oxidativo causa daño al ADN –también llamado genotoxicidad- en los sujetos con diabetes y podría causarlo también en el producto,

Al respecto, en 2007 Zúñiga-González y cols. evaluaron la genotoxicidad mediante la técnica de cuantificación de eritrocitos micronucleados (EMN). Los “micronúcleos” observados en los EMN corresponden a fragmentos de cromosomas en los eritrocitos, visibles mediante microscopía de luz, y que se asume son producto de un daño en el material genético del eritrocito inmaduro. Estos autores encontraron mayor frecuencia de EMN en recién nacidos de madres con diabetes durante el embarazo comparados con los productos de madres aparentemente sanas. Sin embargo, analizaron solamente 7 mujeres con diabetes, sin reportar el tipo ni el control de ésta y con amplia dispersión de los datos: hijos de madres aparentemente sanas (n=37) con 3.5 ± 4.1 EMN/ 10.000 eritrocitos vs. hijos de madres con diabetes (n=7) con 7,7 EMN/ 10 000 eritrocitos (11).

Por su parte, en 2012 Lima y cols. estudiaron la genotoxicidad mediante ensayo cometa (otra de las formas de evaluar genotoxicidad basada en la longitud e intensidad de la fracción de ADN que migra en una electroforesis). Encontraron correlación entre el grado de daño al ADN en ratas embarazadas con diabetes y el grado de daño al ADN en sus productos (12),(13). Estos autores demostraron un gradiente en la magnitud de daño al ADN en los productos de ratas embarazadas con diabetes según las concentraciones de glucosa en sangre, encontrando mayor daño en los productos de las madres con concentraciones más altas (12). Lo anterior constituye evidencia en animales a favor de que la diabetes causa genotoxicidad en los productos de madres con diabetes.

En 2011, Zengi y cols. estudiaron el daño al ADN en 60 adultos jóvenes sanos, sin obesidad ni otros factores de riesgo cardiovascular, que eran hijos de madres con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) desde antes del embarazo. Evaluaron la genotoxicidad mediante el marcador 8-hidroxi-desoxiguanosina (8-OH-dG) y encontraron mayores niveles de este biomarcador en los hijos de madres con diabetes que en controles sin antecedentes familiares de DM2 (9).

Estudios sobre genotoxicidad en productos de madres con diabetes			
Referencia	Modelo	Marcador de genotoxicidad	Resultado
Zúñiga-González, 2007 (11)	Murino, diabetes experimental,	Eritrocitos micronucleados (EMN) en sangre periférica	Crías de ratas con diabetes tuvieron mayores niveles de EMN que crías de ratas sin diabetes. La suplementación con ácido fólico no tuvo efecto.
Lima, 2008 (13)	Murino, diabetes experimental	Ensayo cometa en leucocitos de sangre periférica.	Mayor genotoxicidad en crías recién nacidas de madres con diabetes que en crías de madres sin diabetes
Zengi, 2011(14)	Humanos. Hijos adultos de madres con diabetes tipo 2 en el embarazo	Cuantificación de 8-OH-dG, NOx, GSH-px y otros marcadores de estrés oxidativo.	Los hijos adultos de madres con diabetes en el embarazo tuvieron niveles más altos de 8-OH-dG que los hijos de madres sin diabetes.
Lima, 2012(12)	Murino, diabetes experimental severa vs leve	Ensayo cometa en leucocitos de sangre periférica.	Mayor genotoxicidad en crías recién nacidas de madres con diabetes grave que en crías de madres con diabetes leve.

Ante estos datos, nos preguntamos si los productos humanos de madres con diabetes durante el embarazo también tendrían mayor genotoxicidad que los productos de madres sin diabetes desde el nacimiento. Para evaluar la genotoxicidad elegimos el biomarcador 8-oxo-2-desoxi-guanosina (8-OH-dG) que ha mostrado ser un marcador confiable de daño oxidativo al ADN (15-19). Esta molécula resulta de la hidroxilación en la posición 8 de la guanina integrada al ácido desoxinucleico nuclear y mitocondrial. La 8-OH-dG se ha estudiado no sólo como producto y biomarcador de la genotoxicidad sino también como agente intermedio en el proceso de la misma. En el ADN, la 8-OH-dG se aparea preferentemente con adenina en vez de citosina, causando transversiones GC → TA después de la replicación. La reparación se lleva a cabo principalmente por escisión de bases y se libera el producto de la reparación, la 8-OH-dG (20).

Con el advenimiento de técnicas inmunoenzimáticas para la medición de 8-OH-dG, este marcador ha permitido el estudio de la genotoxicidad por estrés oxidativo en investigación clínica, ya que con este método es posible cuantificar fácilmente la concentración de 8-OH-dG en muestras pequeñas de plasma, orina, tejido o ADN (16). Este biomarcador se ha utilizado para el estudio de genotoxicidad en

diversos escenarios incluyendo enfermedades inflamatorias, exposición a contaminantes ambientales y laborales, tabaquismo, carcinogénesis, enfermedades neurodegenerativas, obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares, entre otras (16),(21).

Las fuentes dietéticas y las provenientes del recambio celular de 8-OH-dG son insignificantes, por lo que este marcador es un buen indicador de daño a ADN inducido por estrés oxidativo (16)(18). La evidencia indica que este marcador no cruza la barrera hematoplacentaria ya que no se observa correlación entre los niveles en la madre durante el parto y los niveles en el cordón umbilical (22). La 8-OH-dG urinaria ha adquirido auge como biomarcador en diabetes y sus complicaciones, sin embargo no parece ser un buen marcador en recién nacidos ya que su excreción urinaria aumenta de forma lineal con la edad en días hasta llegar a niveles estables alrededor de los seis meses (23)

Aún no se conocen todas las implicaciones que la genotoxicidad podría tener en el organismo ni todas las consecuencias que ésta tiene para la salud. Sin embargo, se ha implicado a la genotoxicidad en general, y a la genotoxicidad medida mediante 8-OH-dG en particular, en la fisiopatología de diversas enfermedades relacionadas con el envejecimiento, como diabetes, aterosclerosis y cáncer (24-30).

En relación a la diabetes, se ha observado que las concentraciones de 8-OH-dG están aumentadas en pacientes con DM2 comparados con individuos sin diabetes y en pacientes con complicaciones microvasculares (retinopatía y nefropatía) en comparación con pacientes sin complicaciones. Además, hay evidencia de que dichas concentraciones son mayores conforme aumentan las complicaciones macrovasculares. También se ha observado reducción en los niveles de 8-OH-dG con intervenciones de estilo de vida, hipolipemiantes y antihipertensivos. En cuanto a la capacidad predictiva de este marcador, se ha encontrado que niveles aumentados de 8-OH-dG se han asociado a mayor incidencia de microalbuminuria y, de hecho, en análisis de regresión logística multivariada se sugirió que la 8-OH-dG era el predictor más fuerte de nefropatía entre varios factores de riesgo conocidos(31). Al-Aldubay y cols. han descrito niveles de 8-OH-dG significativamente más elevados en prediabéticos que en sujetos con metabolismo normal de la glucosa, y también han descrito un efecto independiente de la obesidad en estos niveles en pacientes con DM (32).

Efectos a largo plazo en los productos de madres con diabetes en el embarazo

Se sabe que los hijos de madres con diabetes mellitus (DM) en el embarazo tienen riesgo aumentado de desarrollar morbilidades que confieren alto riesgo cardiovascular en la vida adulta, como obesidad, resistencia a la insulina (RI) y alteraciones proateroscleróticas relacionadas con el envejecimiento, por mecanismos genéticos, estilos de vida aprendidos y por un ambiente intratuterino adverso (3)(33). Los efectos del ambiente intrauterino adverso han despertado el interés en los mecanismos de programación metabólica fetal que puedan explicar la relación entre la diabetes materna y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares en la vida adulta (34)(35).

Algunos estudios muestran que la diabetes gestacional puede asociarse con una duplicación del riesgo de obesidad en el producto a los 5-7 años de edad, en comparación con los hijos de madres sanas y hay observaciones que muestran que el tratamiento más intensivo con insulina en la diabetes gestacional (DG) puede asociarse con menos adiposidad en el producto a los 2-3 años de vida (36),(37). En una revisión sistemática de la literatura donde se analizó el efecto de la diabetes gestacional en el riesgo de obesidad a largo plazo en el producto, se encontraron resultados contradictorios ya que se reportan momios para obesidad en la infancia desde 0.7:1 hasta 6.3:1 en hijos de madres con diabetes. Algunos de estos estudios son retrospectivos y la mayoría no ajusta para variables confusoras como el tipo de alimentación y el ejercicio de los niños, la obesidad materna o factores genéticos (33),(38).

Más importante aún que el riesgo de obesidad por sí sola, es el hecho de que los productos de madres con diabetes tengan un aumento en otros factores de riesgo cardiovascular. Los productos de madres con DM también han mostrado tener tensión arterial más alta entre los 7 y 14 años de vida, independientemente de la adiposidad, y menores respuestas de insulina a una curva de tolerancia oral a la glucosa, mayor frecuencia de intolerancia a la glucosa, mayores concentraciones de marcadores de disfunción endotelial así como un aumento de la relación colesterol total / colesterol de lipoproteínas de alta densidad (c-HDL). También se ha descrito aumento en la e-selectina, la molécula-1 de adhesión de células vasculares (VCAM-1) y menores niveles de adiponectina (37),(39).

Los potenciales factores que se cree predisponen a un producto de madre con diabetes a tener obesidad, diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y mayor riesgo cardiovascular son (sin ser excluyentes): la predisposición a heredar ciertos polimorfismos, la probabilidad de compartir estilos de vida nocivos y el haber tenido un ambiente intrauterino predisponente. La importancia de este último tipo

de factores se ha formulado como la hipótesis de “teratogénesis inducida por sobrenutrición” dando lugar al concepto de “programación metabólica fetal” o “memoria metabólica” (3)(37).

A favor de la contribución del ambiente intrauterino a aumentar los factores de riesgo cardiovascular se encuentran los estudios en poblaciones de indios Pima que reportan diferencias en los factores de riesgo cardiovascular entre hermanos gestados antes y después de que la madre desarrollara DM y antes y después de una cirugía bariátrica en la madre. En estos estudios se observó un riesgo 3 veces mayor para desarrollar diabetes si el individuo se gestó cuando la madre ya había desarrollado DM en comparación con sus hermanos gestados antes de que la madre desarrollara esta enfermedad, así como un IMC 2.6 kg/m² más alto en los gestados después del desarrollo de la DM. La prevalencia de obesidad fue 52% menor si se gestaron después de cirugía bariátrica de la madre (37),(40),(41).

Los mecanismos por medio de los cuales el exceso de peso materno y/o la diabetes durante el embarazo predisponen a enfermedades en el producto durante la niñez y la adultez aún no se comprenden por completo. En particular, las hormonas y nutrientes son organizadores dosis-dependiente del organismo en desarrollo. Los fetos y neonatos productos de madres con diabetes, característicamente cursan con un marcado hiperinsulinismo como consecuencia de la hiperglucemia materno-fetal. Datos epidemiológicos, clínicos y experimentales indican que tanto la insulina como la glucosa en altas concentraciones durante la vida perinatal pueden programar una predisposición a obesidad y diabetes a través de mecanismos epigenéticos y existen múltiples mecanismos propuestos de esta programación perinatal (35).

El estrés oxidativo –a través de la genotoxicidad que provoca- podría estar involucrado en los mecanismos responsables del aumento de condiciones de riesgo cardiovascular en los productos de madres con diabetes en el embarazo. Una pregunta de interés, que no será resuelta en este estudio, es si las alteraciones metabólicas en hijos de madres con diabetes podrían estar relacionadas con mayores niveles de genotoxicidad desde el nacimiento.

La obesidad como factor modificador del estrés oxidativo

Además de la diabetes, existen otros factores relacionados con un aumento crónico en el estrés oxidativo del organismo; algunos de ellos son la obesidad, las enfermedades inflamatorias y la exposición a diversos tóxicos. De éstos, es particularmente importante analizar el efecto de la **obesidad**, ya que es una condición estrechamente relacionada con la diabetes en el embarazo y con el

estrés oxidativo y al mismo tiempo, difícil de estudiar por separado. De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud 2016, 72.2% de las mujeres de 20 a 49 años en México padecen sobrepeso u obesidad (42). La diabetes gestacional (DG) en particular, se relaciona estrechamente con el índice de masa corporal pregestacional: el riesgo de desarrollar DG es 2.1 veces más alto en mujeres con sobrepeso, 3.5 veces mayor en mujeres obesas y 5.5 a 8.6 veces mayor en mujeres embarazadas con obesidad severa comparadas con mujeres embarazadas de peso normal (43).

El estrés oxidativo crónico puede ser un mecanismo importante subyacente a las comorbilidades relacionadas con la obesidad. Específicamente, la expansión del tejido adiposo abdominal determina la exposición de los órganos a un exceso de ácidos grasos libres que se sabe afectan las vías de señalización de la insulina e inducen disfunción endotelial debido al aumento de ROS. Algunos estudios han mostrado la asociación entre la obesidad y niveles elevados de oxidantes (32). Otros trabajos han demostrado que mayores índices de inestabilidad genómica (mayor frecuencia de micronúcleos y malsegregación cromosómica) se asocian positivamente con el IMC y el grado de resistencia a la insulina (44).

Medición del estrés oxidativo

Es difícil medir las ROS *in vivo* debido a su vida media tan corta. La evaluación del estrés oxidativo se realiza de forma indirecta mediante la cuantificación de diversos biomarcadores que reflejan el efecto oxidativo en macromoléculas (lípidos, proteínas, azúcares, ácidos nucleicos, etc.) y micromoléculas como el óxido nítrico.(45)

Un gran número de moléculas han sido utilizadas como marcadores de estrés oxidativo. Dos de ellas son la glutatión peroxidasa (GSH-Px) y los nitritos, productos de la degradación del óxido nítrico (NOx).

La GSH-Px es una enzima antioxidante que reduce peróxidos (incluyendo peróxido de hidrógeno e hidroperóxidos de lípidos) a agua y alcoholes mediante la oxidación de glutatión (GSH). La isoforma Gpx3 de la GSH-px se secreta a plasma(46).

Los productos de la degradación del óxido nítrico (NOx), es decir nitritos y nitratos, son moléculas que resultan de la interacción entre el óxido nítrico y especies reactivas de oxígeno que dan como resultado especies reactivas de nitrógeno. Estas especies reactivas de nitrógeno, principalmente nitratos y nitritos, interactúan con proteínas causando "nitricación" de las mismas, una reacción

reversible pero considerada un marcador clásico de estrés oxidativo también llamado “estrés nitrooxidativo”. La nitración de proteínas se ha asociado a diversas enfermedades asociadas al envejecimiento como aterosclerosis, falla cardiaca, diabetes, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, degeneración macular y fibrosis hepática (45),(47).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hay evidencia de que la diabetes en la madre durante el embarazo crea un ambiente intrauterino con efectos a largo plazo en el riesgo cardiovascular del producto, independiente de la transmisión de factores genéticos tradicionales y estilos de vida aprendidos.

Se sabe que la diabetes se asocia a estrés oxidativo y el estrés oxidativo causa genotoxicidad y ambos se han implicado en la fisiopatología de diversas enfermedades relacionadas con el envejecimiento y con riesgo cardiovascular aumentado (hipertensión, obesidad, resistencia a la insulina, aterosclerosis, entre otras).

Se ha descrito genotoxicidad en crías recién nacidas de ratas con diabetes y en humanos adultos hijos de madres con diabetes. Sin embargo, se desconoce si en humanos, los recién nacidos de madres con diabetes también tienen daño al ADN.

En la **figura 1** se esboza gráficamente el papel que podría jugar el estrés oxidativo materno asociado a diabetes en el aumento del riesgo de enfermedades cardiovasculares en la vida adulta.

La pregunta específica que pretende responder esta tesis es si la diabetes se asocia a mayor genotoxicidad en los productos, medida a través de uno de sus biomarcadores, la 8-OH-dG.

Preguntas de investigación

Pregunta primaria

¿Es mayor el grado de daño al ADN (medido a través de 8-OH-dG en suero) entre los productos de madres que cursaron con diabetes en el embarazo en comparación con los productos de madres sin diabetes?

Preguntas secundarias

1. ¿La asociación entre diabetes materna y genotoxicidad en el producto es independiente de la edad, del índice de masa corporal, de la vía de nacimiento y de la hemoglobina glucosilada?
2. ¿Existe asociación independiente entre el índice de masa corporal pregestacional materno y el marcador de genotoxicidad 8-OH-dG en el producto?
3. ¿Existe asociación independiente entre los niveles de hemoglobina glucosilada en la madre y el marcador de genotoxicidad en el producto?
4. ¿Las madres con diabetes tienen niveles más elevados de marcadores de estrés oxidativo que las madres sin diabetes?
5. ¿Los recién nacidos de madres con diabetes tienen niveles más elevados de marcadores de estrés oxidativo que las madres sin diabetes?

4. JUSTIFICACIÓN

La prevalencia de diabetes en mujeres embarazadas es alta (entre 4.8 y 20%) y esta enfermedad tiene un efecto a largo plazo en el riesgo cardiovascular del producto.

Los niveles aumentados de 8-OH-dG son un marcador de genotoxicidad asociados a enfermedades que confieren alto riesgo cardiovascular.

Es muy difícil estudiar los factores del ambiente intrauterino relacionados con el riesgo cardiovascular de los productos en la vida adulta, dada la poca factibilidad de seguir a estos individuos hasta una edad avanzada. Es por esto que el uso de marcadores sustitutos de genotoxicidad como la 8-OH-dG podría ser útil para el estudio de este proceso.

El presente estudio será, hasta donde sabemos, el primero en explorar el efecto de la diabetes materna durante el embarazo sobre los niveles del marcador de daño al ADN, la 8-OH-dG.

5. OBJETIVOS

Objetivo primario

Comparar el grado de genotoxicidad a través del marcador 8-OH-dG entre los recién nacidos de madres con diabetes en el embarazo y los recién nacidos de madres sin diabetes.

Objetivo secundarios:

1. Analizar si la asociación entre diabetes materna y genotoxicidad es independiente del índice de masa corporal, edad, hemoglobina glucosilada y vía de nacimiento.
2. Analizar la asociación entre obesidad materna y daño al ADN por estrés oxidativo en el recién nacido a través de su biomarcador 8-OH-dG.
3. Analizar la asociación entre la hemoglobina glucosilada materna y el daño al ADN en recién nacido a través de su biomarcador 8-OH-dG.
4. Comparar los niveles de estrés oxidativo entre las madres con y sin diabetes a través de dos marcadores: productos de la degradación de óxido nítrico (NOx) y glutatión peroxidasa (GSH-px).
5. Comparar los niveles de estrés oxidativo entre los productos de madres con y sin diabetes a través de los marcadores NOx y GSH-px.

6. HIPÓTESIS

Los niveles de 8-OH-dG en suero de sangre de cordón umbilical serán 0.66 desviaciones estándar superiores en recién nacidos de madres con diabetes diagnosticada durante el embarazo comparados con los niveles de los recién nacidos de madres sin diabetes.

7. METODOLOGÍA

7.1. Tipo y diseño del estudio

Estudio observacional, transversal, comparativo (analítico).

7.2. Población

Universo de estudio: Recién nacidos de término (37 a 41 semanas de gestación) y sus madres.

Población de estudio: Recién nacidos de término nacidos en el Hospital General de México y sus madres.

Unidad de estudio: Binomio madre-hijo

Método de muestreo: Se reclutaron consecutivamente las pacientes que atendieron la resolución de su embarazo en la unidad tocoquirúrgica del Hospital General de México durante el turno matutino de lunes a viernes y que cumplían con los criterios de inclusión. Reclutadas durante el período del 01 de junio de 2013 al 15 de octubre de 2015.

Criterios de inclusión:

- Cesáreas programadas o partos no complicados
- Vivir en la ciudad de México o zona conurbada
- Madre de 18 a 35 años de edad al momento del parto

Grupo 1 (Expuesto)

Diabetes diagnosticada durante el embarazo, antes de las 32 SDG. que puede ser de dos tipos:

- a. Diabetes gestacional confirmada : No se conocía con diabetes antes del embarazo y cumple los criterios de la ADA 2012 (curva de tolerancia oral con 75 gramos de glucosa después de las 24 semanas de gestación (SDG), con al menos uno de los siguientes niveles de glucosa sérica: ≥ 92 mg/dl en ayuno , ≥ 180 mg/dl a los 60 minutos ≥ 153 mg/dl a los 120 minutos)(48) **y además** se cuenta con al menos una determinación de glucosa entre las 12 semanas preconcepcionales hasta las 12 SDG menor a 100

mg/dl en ayuno o una hemoglobina glucosilada (HbA1C) menor de 6.5% antes de las 28 SDG.

- b. Diabetes gestacional no confirmada: Cumple los criterios de la ADA 2012 para diabetes gestacional y no se conocía con diabetes antes del embarazo, pero no se puede documentar normoglucesmia antes de las 12 SDG.

Grupo 2 (no expuesto)

- Sin diagnóstico de diabetes durante el embarazo
- Glucosa a su ingreso a la unidad tocoquirúrgica < 180 mg/dl
- Hemoglobina glucosilada A1c tomada a su ingreso a la unidad tocoquirúrgica menor de 6.5%

Criterios de exclusión:

- Madres con diagnóstico de diabetes de cualquier tipo previo a las 12 semanas de gestación.
- Hemoglobina glucosilada al diagnóstico mayor de 6.5% antes de las 24 SDG.
- Glucosa al azar mayor de 200 mg/dl o glucosa en ayuno mayor de 126 mg/dL antes de las 12 SDG.
- Dificultad o no aceptación para la toma de alguna de las muestras.
- Con condiciones que pueden influir en los niveles de estrés oxidativo de la madre y/o el producto:
 - Foráneas: que vivan fuera de la ciudad de México o área conurbada
 - Enfermedades no asociadas al embarazo: hipertensión arterial sistémica, enfermedades reumatológicas, enfermedades respiratorias, uso de anticonvulsivantes.
 - Hipertensión asociada al embarazo
 - Cesárea de urgencia (no programada)
 - Óbitos
 - Partos pretérmino
 - Embarazo múltiple
 - Recién nacidos ingresados a UCIN
 - Recién nacidos que requirieron maniobras de reanimación con ventilación con presión positiva
 - Recién nacidos a quienes se les diagnosticó sufrimiento fetal agudo

Grupo 2 (no expuestos):

- Glucosa capilar a su ingreso > 180 mg/dl
- Hemoglobina glucosilada > 6.5%

Tamaño de muestra: El tamaño de muestra se definió para detectar una diferencia en las concentraciones de 8-OHdG de 120 pg/ml, asumiendo una desviación estándar de 200 pg/ml (diferencia de 0.66 desviaciones estándar) de acuerdo a los datos de Zengi, 2011(14), para un error alfa a una cola de 0.05 y un error beta de 0.2. Con estos supuestos se calculó un tamaño de muestra de 34 binomios por grupo mediante la fórmula:

$$N = [2s^2(Z_\alpha + Z_\beta)^2] / d^2$$

$$N = [2(200)^2(1.64 + 0.84)^2] / 120^2 = 34.1$$

7.3. Variables y mediciones

Variable	Definición operacional e instrumento de medición	Unidades/ Categorías
INDEPENDIENTE		
Presencia de diabetes en el embarazo (DG)	CTOG con 75 g de glucosa a 24-28 SDG con alguno de los siguientes criterios: en ayuno \geq 92 mg/dl, a la hora \geq 180 mg/dl o a las 2h \geq 153 mg/dl. O bien, glucosa al azar $>$ 200 mg/dl o en ayuno $>$ 126mg/dl. (48)	Sí / NO
DEPENDIENTES		
8-hidroxi-desoxi-guanosina en el producto (8-OH-dG P)	Biomarcador de genotoxicidad, formado por la oxidación del nucleósido guanosina integrado al ADN y liberado a la circulación por acción de mecanismos de reparación de ADN. Medición: ELISA en suero de sangre venosa de cordón umbilical (Ver abajo)	pg/ml
Glutación peroxidasa en el producto (GSH-Px P)	Antioxidante enzimático que se utiliza como marcador de daño oxidativo Medición: (Ver abajo)	U/mg de proteína.
Productos de la degradación de óxido nítrico (NOx) en el producto	Nitritos y nitratos generados a partir de la oxidación de la interacción del óxido nítrico con especies reactivas de oxígeno y que se utilizan como marcador de estrés oxidativo. Medición: cuantificación total de nitritos en plasma de sangre venosa de cordón umbilical (Ver abajo)	μ mol/l
8-hidroxi-desoxi-guanosina en la madre (8-OH-dG M)	(Ver arriba) Medición: ELISA en sangre venosa de la madre	pg/ml
Glutación peroxidasa en la madre (GSH-Px M)	Antioxidante enzimático que se utiliza como marcador de daño oxidativo Medición: (Ver abajo)	U/mg de proteína.
Productos de la degradación de óxido nítrico (NOx M) en la madre	Nitritos y nitratos generados a partir de la oxidación de la interacción del óxido nítrico con especies reactivas de oxígeno y que se utilizan como marcador de estrés oxidativo Medición: cuantificación total de nitritos en plasma de sangre venosa de cordón umbilical	μ mol/l

OTRAS COVARIABLES DE INTERÉS		
Variable	Definición operacional e instrumento de medición	Unidades/ Categorías
Hemoglobina glucosilada (HbA1C)	Hb. Glucosilada tomada en sangre venosa de la madre durante las 24 horas antes o después del parto.	%
Relación peso observado/ideal al final del embarazo (POF/PIF)	Variable compuesta por [Peso al final del embarazo] / Peso ideal al final del embarazo * (Ver abajo)	Sin unidades
Índice de masa corporal pregestacional	Peso pregestacional/ talla ²	Kg/m ²
Ganancia de peso durante el embarazo	Peso al final del embarazo- peso pregestacional	Kilogramos
Ganancia de peso recomendada (49)	Ganancia de peso recomendada (GPR): <ul style="list-style-type: none"> • Sobrepeso pregestacional: (IMC >25) (SDG-12) x 200 • Peso normal pregestacional (IMC 20-25) (SDG-12) x 400 • Peso bajo pregestacional: (IMC < 25) (SDG-12) x 600 	Kilogramos
Tabaquismo previo al embarazo.	Cigarrillos a la semana, consumidos en los tres meses anteriores al embarazo, estimados por la madre.	Numero de cigarrillos
Tratamiento DG	Tratamiento recibido para control de la diabetes gestacional: 1)Dieta 2)Dieta y metformina 3)Dieta e insulina 4)Dieta, metformina e insulina 5)Otro	Dieta/ Dieta y metformina/ Dieta e insulina/ Dieta, insulina y metformina
Ingesta de ácido fólico en el embarazo	Ingesta de ácido fólico en cualquier dosis durante al menos tres meses del período de embarazo	Sí/No
Ingesta de multivitamínicos en el embarazo	Ingesta de multivitamínico en cualquier presentación durante más de tres meses de la duración del embarazo	Sí/No
Edad gestacional (EG) al momento de su atención en el HGM	Días de gestación contadas a partir del primer día de la última menstruación (FUM). En caso de que ésta no se recuerde o los ciclos menstruales hubieran sido irregulares (variabilidad mayor a 15 días) se tomará la edad gestacional valorada por Capurro. Si existe diferencia mayor de dos semanas entre la EG por FUM y por Capurro, se tomará esta última como el valor de EG al final del embarazo y se hará la traspolación a la fecha de inicio de su atención.	Días de gestación.
Edad materna	Años cumplidos al momento del embarazo	Años
Número de gesta	Número de veces que se ha embarazado	Veces
Vía de nacimiento	Procedimiento mediante el cual nació el producto	Parto/Cesárea iterativa
Variable	Definición operacional e instrumento de medición	Unidades/ Categorías
Peso del RN	Peso en gramos medido por báscula mecánica o digital con precisión mínima de 20g, redondeado a los 20 g más cercanos.	Gramos.

Variable	Definición operacional e instrumento de medición	Unidades/ Categorías
Talla del RN	Longitud del neonato en estiramiento máximo en posición anatómica medido por dos personas con infantómetro y redondeado al milímetro más cercano.	Centímetros
Sexo del RN	Sexo asignado en hoja de atención del recién nacido	F/M
Talla Madre	Mediante estadímetro de pared, de pie, en estiramiento máximo, estatura medida en centímetros y redondeada a la décima de centímetro más cercana	Centímetros
Peso pregestacional	Primer peso registrado en el expediente, siempre y cuando éste sea antes de las 12 SDG. En su defecto, se registrará el referido por el sujeto mediante interrogatorio directo.	Kilogramos.
Peso ideal pregestacional	$22 \times (\text{talla})^2$	Kilogramos.
Peso al final del embarazo	Peso el día del parto, o en su defecto, último peso registrado en el expediente en la última semana antes del parto.	Kilogramos.
Peso ideal al final del embarazo	Peso ideal al inicio del embarazo + 14	
Otros medicamentos no relacionados con la DG.	Medicamentos de cualquier tipo recibidos durante el embarazo con fines distintos al tratamiento de la diabetes.	Cualitativa.

Determinación de estrés oxidativo en el recién nacido y en la madre

Determinación de 8-OH-dG. Kit comercial de enzimoimmunoanálisis competitivo específico para 8-OH-dG (Cedarlane®). Este ensayo cuantifica tanto 8-OH-dG libre como unida a ADN. Se utilizó para medir 8-OH-DG en plasma de la madre y del cordón umbilical de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Los resultados se expresan en pg/ml. El coeficiente de variación de este ensayo es menor del 5%(50).

Productos de la degradación de óxido nítrico (nitritos y nitratos). La medición de NOx se realizó mediante la determinación de la cantidad total de nitritos (NO₂), que son los productos estables del metabolismo de NO en los líquidos biológicos. Se utilizó el reactivo de Griess (solución acuosa de sulfanilamida al 1% [(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) y 0.1% naftilenediamina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO,) en 2.5% H₃PO₄ (2.5%, JT Baker) el cual forma un cromóforo estable con NO₂⁻, y que absorbe a 546 nm. La curva de calibración se hizo con diferentes concentraciones de nitrito de sodio disuelto en NaCl al 0.9%(51)^l. Los resultados se expresaron en µmol/ l.

GSH peroxidasa. La medición de las proteínas totales en suero se realizó según el método de Bradford utilizando el azul de Coomassie G-250 (Amresco, Solon, OH. USA) como colorante. Para la curva de calibración se utilizó albúmina bovina

fracción V (BSA) como estándar(52). La actividad de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) se analizó mediante el método de Beutler. GSH-Px se encarga de degradar al ter-butil-hidroperóxido (t-BOOH) en presencia de GSH que es consumido. El GSH remanente se midió con el 5,5' ditiobis-(2-ácido nitrobenzoico) (DTNB). La mezcla de reacción contiene 1 mL de GSH (Amresco) 2 mmol en PBS 400 mmol (pH 7.0), EDTA 4 mM, 0.5% de azida de sodio 1 mmol, 250 µL de los líquidos biológicos y agua bidestilada para aforar a 4 mL. Tras la incubación a 37 °C durante cinco minutos, se añadió 1 mL de T-BOOH 1.25 mmol precalentado y se vuelve a incubar por cuatro minutos más. Al final de ese periodo se recuperó 1 mL y se le añaden 4 mL de ácido fosfórico (HighPurity de México), se centrifuga a temperatura ambiente, y a 2000 xg durante 10 minutos. Se recuperaron 2 mL del sobrenadante y se le añadieron 2 mL de Na₂HPO₄ 400 mmol y 1 mL del reactivo de DTNB. La absorbencia se midió a 412 nm. Los blancos y los estándares se prepararon de manera similar. La actividad de GSH-Px se expresa como U/mg de proteína (53).

Hemoglobina glucosilada. HPLC por cromatografía de intercambio catiónico con analizador Tosoh G8 HPLC (Tosoh Bioscience).

7.4. Procedimientos

Al ingreso de la madre a la unidad tocoquirúrgica, se invitó a las mujeres a participar en el estudio y se solicitó su consentimiento.

Se registraron las variables demográficas y antropométricas de la madre mediante interrogatorio directo y registro en el expediente: edad, enfermedades crónicas, historia obstétrica, peso pregestacional. A las madres se les tomó una muestra de sangre periférica de 10 ml. Las muestras se tomaron en un tubo con EDTA (5ml) para obtener plasma y concentrado eritrocitario. En un tubo sin anticoagulante se colocaron 3 ml aproximadamente de la muestra tomada para obtener el suero. Las muestras, selladas y rotuladas por paciente, se colocaron en una caja con congelantes para llevar a cabo la centrifugación de las muestras por 10 minutos a 1,500 rpm en dos ocasiones obteniendo plasma (tubo con anticoagulante EDTA) y suero (tubo sin anticoagulante), que se guardaron en tubos Eppendorf de 1ml y en otro tubo se colocó el concentrado eritrocitario.

La talla y el peso al final del embarazo (PF) fueron medidos mediante estadímetro de pared y báscula después del reclutamiento. Se calcularon el índice de masa corporal (IMC) pregestacional, la ganancia de peso durante el embarazo y el peso ideal al final del embarazo. Al nacer el producto, se registraron su peso, talla y sexo.

Inmediatamente después del nacimiento del producto, el cordón umbilical fue pinzado en dos puntos. La muestra de sangre se extrajo enseguida del espacio entre las dos pinzas a un tubo estéril que contenía EDTA y centrifugado (3,500 rpm/15 min/48C); el plasma fue separado y congelado a -40° hasta su análisis bioquímico.

7.5. Análisis Estadístico

Análisis descriptivo. Las variables cuantitativas se resumieron mediante medianas e intervalos intercuantilares ya que la distribución de la mayoría de los datos no fue normal. Las variables cualitativas se resumieron mediante frecuencias.

Análisis bivariados. Las características basales de tipo cuantitativo y las concentraciones de la 8-OH-dG, del NOx y de la GSH-Px entre los dos grupos se compararon mediante U de Mann Whitney. La asociación entre variables cualitativas se realizó mediante prueba exacta de Fisher o Chi cuadrada lineal según correspondiera para variables dicotómicas u ordinales respectivamente. Las asociaciones entre variables cuantitativas se realizaron mediante cálculo de coeficiente de correlación de Spearman.

Análisis multivariados. Se realizaron modelos de regresión lineal múltiple para estimar el efecto de la diabetes materna en la 8-OH-dG y los marcadores de estrés oxidativo ajustando para el índice de masa corporal, edad, hemoglobina glucosilada y vía de nacimiento así como sus interacciones. Las variables a incluir en los modelos fueron introducidas tomando en cuenta las asociaciones observadas en los análisis bivariados y a la pertinencia dentro del modelo teórico.

En un análisis *exploratorio*, se dividió el grupo de madres sin diabetes en dos según sus niveles de hemoglobina glucosilada (mayor-igual o menor de 5.7) y según su índice de masa corporal pregestacional (mayor o menor-igual de 25) para realizar comparación entre estos dos grupos y el grupo de madres con diabetes mediante prueba de Kruskal Wallis. La penalización para comparaciones múltiples se hizo mediante método de Bonferroni.

Los análisis se realizaron con SPSS versión 22.0. Las gráficas se realizaron con GraphPad PRISM versión 7.00.

8. ASPECTOS ÉTICOS

Este fue un estudio de riesgo mínimo para la madre y sin riesgo para el recién nacido.

Autonomía y respeto. Se recabaron los datos necesarios del expediente y sólo se interrogó a las participantes sobre la información no registrada en éste con el fin de incomodarla lo menos posible durante el tiempo previo al parto.

Se solicitó a la participante, consentimiento para recabar 10 ml de sangre de ella y 10 ml de sangre del cordón umbilical del recién nacido así como para realizarle al día siguiente un cuestionario durante quince minutos. El consentimiento fue solicitado al ingreso de la madre a la unidad tocoquirúrgica. Se anexa carta de consentimiento informado (Anexo 1).

Para guardar la **confidencialidad** de la información, se asignó un número identificador a cada participante mediante el cual se etiquetaron los tubos con los productos biológicos y la hoja de captura de datos. La relación de los identificadores con los nombres y teléfonos de las participantes fue resguardado por el investigador responsable y el coordinador.

Riesgos. Este fue un estudio de **riesgo mínimo para la madre y sin riesgo para el recién nacido** ya que se extrajeron menos de 40 cc de sangre de la madre y no se extrajo sangre circulante del recién nacido. La sangre de la madre se obtuvo siempre que fue posible al colocarse las soluciones parenterales o al tomársele las muestras que rutinariamente se toman al ingreso a la unidad tocoquirúrgica. Consideramos que el riesgo psicológico derivado de la expectativa de los resultados de las determinaciones bioquímicas es mínimo ya que se le explicó a la madre que éstas eran con fines exclusivos de investigación y que no tendrían ninguna relevancia para su atención clínica. Consideramos que no existió riesgo social ni económico para las participantes y sus hijos.

Beneficios. Los **sujetos de investigación** no tuvieron ningún beneficio directo por su participación en el estudio.

Existen posibles beneficios **para el conocimiento científico** acerca de la patogénesis de enfermedades cardiovasculares en hijos de madres con diabetes y posibles beneficios a largo plazo **para la sociedad** si el conocimiento resultante de esta investigación contribuye a la modificación de factores de riesgo cardiovascular en esta población.

Justicia. Los sujetos de investigación eran **población vulnerable** ya que se incluyó a mujeres en estado de **gravidez-puerperio y a recién nacidos**. Puesto que es una investigación de riesgo mínimo para las madres y sin riesgo para el recién nacido y dado que no era posible seleccionar a sujetos sin estas características debido al objetivo del estudio, fue aceptable seleccionar a estos sujetos a pesar de su vulnerabilidad.

El consentimiento fue solicitado por un investigador no relacionado con la atención del parto ni del recién nacido para **evitar coerción e influencia indebida**. Se le hizo saber a la participante que su autorización o falta de ésta no tendría implicaciones en su atención o la de su hijo.

El protocolo fue aprobado por los comités de Ética e Investigación del Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIM/2013-073) y del Hospital General de México O.D. Dr. Eduardo Liceaga (DI/13/112/03/039).

9. RESULTADOS

Características de los participantes. Se incluyeron 34 mujeres con diabetes durante el embarazo y 56 mujeres sin diabetes y sus respectivos productos. De las 34 madres con diabetes, 28 (82%) fueron diagnosticadas mediante curva de tolerancia oral a la glucosa durante las semanas 24 a 28 del embarazo. El resto fueron diagnosticadas por una glucosa en ayunas > 126 mg/dl o una glucosa al azar mayor de 200 mg/dl en algún momento de la gestación. En cuanto al tratamiento de la diabetes, todas excepto una fueron tratadas exclusivamente con un plan de alimentación; una mujer recibió metformina y ninguna recibió insulina.

Las características de los binomios participantes se presentan en la **tabla 1**. La mediana de edad de las madres con diabetes fue 10 años mayor que la edad de las madres sin diabetes ($p < 0.001$). De los tres indicadores de obesidad materna, el índice de masa corporal al inicio del embarazo fue significativamente mayor en el grupo de mujeres con diabetes que en el grupo de mujeres sin diabetes (28.2 vs 23.9, $p < 0.001$), así como la proporción de mujeres con obesidad o sobrepeso pregestacional (72% vs 31%). Si bien la ganancia de peso durante el embarazo fue similar, la relación de peso observado/ ideal al final del embarazo fue de 1.14 en el grupo de mujeres con diabetes en comparación con 1.03 en el grupo de mujeres sin diabetes ($p = 0.004$).

La proporción de nacimientos por cesárea fue diferente entre los dos grupos: 47% de los nacimientos de bebés de madres sin diabetes fue por cesárea en comparación con 79% de los nacimientos de bebés de madres con diabetes ($p = 0.006$).

La mayor parte de las madres de ambos grupos recibieron ácido fólico y multivitamínicos durante al menos 3 meses del embarazo, sin diferencia significativa entre los grupos. Seis de las madres sin diabetes fumaron durante el embarazo y 2 consumieron alcohol, mientras que ninguna de las madres con diabetes lo hizo, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa. No se encontraron diferencias en las cifras de presión arterial entre los dos grupos.

Al resolverse el embarazo, no se encontró diferencia entre las concentraciones de hemoglobina glucosilada materna entre ambos grupos, si bien 54% de las mujeres sin diabetes tuvieron hemoglobina glucosilada mayor o igual a 5.7 %. Tampoco se encontraron diferencias en el peso ni en la talla de los productos entre los dos grupos.

Estrés oxidativo y genotoxicidad en madres con y sin diabetes. En la **figura 2** se muestran las medianas de los marcadores de estrés oxidativo en las madres con y sin diabetes y en sus productos.

Se observaron concentraciones de 8-OH-dG más elevadas en los productos de madres con diabetes en comparación con los productos de madres sin diabetes (5699 vs 3560 pg/dl, $p < 0.001$). La diferencia entre las medias de este marcador en ambos grupos fue de 1706 pg/dl, lo que corresponde a 0.96 desviaciones estándar, magnitud mayor a la propuesta en nuestra hipótesis.

Las concentraciones de 8-OH-dG y de GSH en las madres con diabetes fueron mayores que en sus pares sin diabetes. Por su parte, tanto el NOx como la GSH-px se encontraron más elevadas en los productos de madres con diabetes que en sus pares sin diabetes.

Se encontró correlación significativa entre las concentraciones de GSH-px y de 8-OH-dG entre la madre y el producto ($r=0.48$ y 0.55 , respectivamente, $p < 0.01$) pero no en las concentraciones de NOx. Así mismo, se mostró correlación positiva entre la GSH-px de la madre y la 8-OH-dG de la madre y del recién nacido ($r=0.4$ para ambos, $p < 0.01$) (**tabla 2**).

Al dividir el grupo de estudio de mujeres sin diabetes en dos según la presencia o no de obesidad/sobrepeso no se encontraron diferencias significativas entre la concentración de 8-OH-dG en el producto de madres eutróficas sin diabetes y con sobrepeso/obesidad sin diabetes. (**tabla 3 y figura 3**). Los demás marcadores no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos (sin diabetes/eutróficas y sin diabetes/sobrepeso) cuando se hicieron penalizaciones para comparaciones múltiples (**tabla 3**).

Se exploraron las asociaciones de diferentes variables en los marcadores de estrés oxidativo, incluyendo la vía de nacimiento, la hemoglobina glucosilada al momento del parto y distintas variables relacionadas con el exceso de peso materno. Los niveles 8-OH-dG en el producto mostraron una correlación positiva con la edad materna ($r=0.3$, $p < 0.01$) y con el IMC pregestacional ($r=0.43$, $p < 0.01$).

De entre las variables relacionadas con adiposidad materna (IMC pregestacional, incremento de peso y exceso de peso al final del embarazo), se encontró que el IMC pregestacional es el que mejor describe las concentraciones de 8-OH-DG del producto y además que el efecto es mayor en el grupo de mujeres que no fue diagnosticado con diabetes que en el grupo de las mujeres con diabetes. También se encontró un efecto independiente de la hemoglobina glucosilada de la madre en la concentración de 8-OH-DG del producto, más notable en el grupo de los productos de madres sin diabetes (**tabla 4, figuras 4A y 4B**).

Mediante modelos de regresión lineal múltiple se encontró que la asociación de la diabetes durante el embarazo en la 8-OH-dG del producto y en el resto de los

marcadores de estrés oxidativo (excepto óxido nítrico materno) es independiente del IMC pregestacional, la edad, la vía de nacimiento y la hemoglobina glucosilada. La edad y la vía de nacimiento no tienen un efecto independiente significativo en los niveles de 8-OH-dG del recién nacido (**tabla 4**). Existe interacción significativa entre el IMCp y la diabetes ($p < 0.01$) y entre la HbA1c y la diabetes ($p < 0.001$), es decir el efecto del IMCp y de la HbA1c es diferente en el grupo de hijos de madres con diabetes en comparación de los hijos de madres sin diabetes, como se puede apreciar en las **figuras 4A y 4B**

En la **tabla 5** se muestran las diferencias (coeficientes de regresión) entre las concentraciones de los marcadores de genotoxicidad y estrés oxidativo en el grupo de madres con diabetes y el grupo de madres sin diabetes ajustadas para las diferentes variables confusoras. El efecto de la diabetes en la 8-OHdG materna, NOx del producto y GSHpx de madre y producto es independiente del IMCp, la HbA1c, la edad y la vía de nacimiento.

El modelo que mejor describe los niveles de 8-OH-dG en el producto indica un efecto aún mayor de la diabetes en los niveles de 8-OH-dG del producto cuando se ajusta para el IMC pregestacional, la hemoglobina glucosilada y la interacción entre la diabetes y la HbA1c. Este último modelo explica de forma significativa ($p < 0.0001$) el 65% de la varianza en los niveles de este marcador (**tabla 4, modelo 9**)

No encontramos correlación entre los marcadores de estrés oxidativo y el peso o talla de los productos.

10. DISCUSIÓN

En este estudio encontramos niveles más altos de 8-OH-dG en los productos de madres con diabetes durante el embarazo que en las mujeres sin diabetes, independientemente del peso pregestacional materno, de la HbA1c al final del embarazo, de la edad de la madre y de la vía de nacimiento, lo cual apoya la teoría de que la diabetes durante el embarazo se asocia a genotoxicidad del producto desde su vida intrauterina.

Hasta donde tenemos conocimiento, este es el primer estudio donde se evalúa daño oxidativo al ADN en hijos de madres con diabetes durante el embarazo mediante la medición de 8-OH-dG en sangre venosa del cordón umbilical. El hallazgo de concentraciones de 8-OH-dG más elevadas en productos de madres con diabetes en el embarazo que en productos de madres sin diabetes es consistente con lo descrito en animales de experimentación (12).

Los estudios en humanos realizados hasta ahora no han encontrado evidencia de genotoxicidad por estrés oxidativo en los productos de madres con diabetes. Durante la conducción de nuestro estudio se han publicado dos trabajos con objetivos similares al nuestro: Gelaleti et al. evaluaron la genotoxicidad mediante estudio cometa(54) y Moreli et al. lo hicieron mediante la amplificación selectiva de genes por reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (RT-PCR) y por la expresión de mRNA y de proteínas involucradas en la reparación de ADN por escisión de bases(55). La diferencia entre las conclusiones de estos dos estudios y el nuestro se puede explicar por la diferencia en los métodos utilizados para la evaluación de la genotoxicidad, pero aun así, los resultados de estos estudios no son opuestos a lo encontrado en el nuestro: si bien Gelaleti et al. no demostraron diferencias significativas en el grado de daño al ADN de los recién nacidos entre los tres grupos de estudio (normoglucemia, hiperglucemia gestacional leve [HGL] y diabetes), sí encontraron correlación significativa entre los niveles de glucosa en la madre y la magnitud de daño al ADN en el producto. Cabe señalar que este estudio incluyó pocos sujetos (22,12 y 22 sujetos por grupo) lo que puede explicar la ausencia de significancia. Por otra parte, los autores atribuyen la ausencia de diferencias entre los grupos al estricto control de la diabetes a la que estuvieron sometidas las mujeres con esta enfermedad. Es posible que las mujeres con diabetes que participaron en nuestro estudio tuvieran un control menos riguroso de la enfermedad, a juzgar por el hecho de que sólo una mujer de nuestra muestra recibió tratamiento farmacológico y las pacientes de esta clínica no reciben un plan de actividad física proporcionado por la clínica, a diferencia de las mujeres incluidas en el estudio de Gelaleti.

Por su parte, si bien Moreli et al. no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el daño al ADN nuclear de los leucocitos entre los productos de madres con tolerancia normal a la glucosa y los productos de madres con diabetes, sí se demostraron mayores niveles de genotoxicidad en las madres con diabetes que en las madres sin esta enfermedad. En el estudio mencionado, los productos de daño al ADN de madres con diabetes mostraron mayor expresión de genes relacionados con la reparación del ADN que los productos de madres sin diabetes. Los investigadores atribuyen la falta de evidencia de genotoxicidad en los productos –no así en sus madres- a un efecto protector de la unidad feto-placentaria.

Si bien, el objetivo primario de nuestro estudio fue evaluar y comparar los niveles de 8-OH-dG entre los productos de madres con diabetes y sin diabetes y sus productos, también se midieron otros dos marcadores de estrés oxidativo: la actividad de la GSH-px y los NOx. El estrés oxidativo en madres con diabetes durante el embarazo y en sus productos ha sido estudiado extensamente mediante la determinación de gran variedad de marcadores. Si bien la mayor parte de ellos indican un mayor estrés oxidativo en las madres con diabetes en comparación con las madres sin diabetes, esta diferencia no se ha demostrado de forma consistente en sus productos. Se sabe que la placenta tiene un papel importante en la regulación del estrés oxidativo al que está expuesto el producto, si bien aún no está claro hasta qué punto, ni los mecanismos por los cuales opera(10).

Biri et al. reportaron disminución de la actividad de la GSH-px en los productos de madres con diabetes gestacional (46), mientras que Orham et al. no encontraron diferencias en la actividad de GSH-px entre los productos ni entre las madres con diabetes gestacional y los controles, pero sí encontró niveles muy elevados en los productos de madres con diabetes mellitus tipo 1 respecto a los controles(56). Si bien el significado de las mediciones de la actividad de la GSH peroxidasa son difíciles de interpretar, nosotros hipotetizamos que este aumento en la actividad de GSH-px puede ser interpretado como un mecanismo compensatorio de la enzima para defender al organismo de un aumento en el estrés oxidativo.

La elevación de NOx en productos de madres con diabetes evidenciadas en nuestro estudio, es consistente con la teoría de que la genotoxicidad observada en estos recién nacidos tiene relación causal con el estrés oxidativo y concuerda con lo descrito en otros estudios sobre estrés oxidativo en madres con diabetes durante el embarazo (10), (46),(57), (58). Zengui et al. no encontraron aumento en NOx sérico, GPH-px ni otros marcadores de estrés oxidativo en hijos adultos de madres con diabetes (pero sí en 8-OH-dG) mientras que Malti et. al, encontraron

niveles elevados de óxido nítrico y otros marcadores de estrés oxidativo en madres con obesidad y en el cordón umbilical de sus productos (59) pero no tenemos conocimiento de reportes de este fenómeno en madres con diabetes

Respecto a la ausencia de diferencia en los niveles de NOx entre las madres con o y sin diabetes, esto podría estar explicado por el hallazgo niveles medianos de NOx más elevados en el subgrupo de madres sin diabetes/con sobrepeso/obesidad que el subgrupo de madres sin diabetes/sin sobrepeso/sin obesidad y también más elevados que el grupo de madres con diabetes lo que puede haber obscurecido la diferencia entre el grupo de madres con y sin diabetes. Sin embargo, la diferencia entre el subgrupo de mujeres eutróficas sin diabetes, no es significativamente menor al de mujeres con diabetes. Miembros de nuestro equipo encontraron en un estudio relacionado a éste, un gradiente de menor a mayor en los niveles de NOx entre madres eutróficas, con sobrepeso y con obesidad, así como en sus hijos, lo que es congruente con nuestros hallazgos en el grupo sin diabetes.

Serán necesarios más estudios con mayor tamaño de muestra y estratificación por IMC para corroborar o descartar que exista asociación entre la diabetes materna y los niveles de NOx y GSH-px en cordón umbilical de los recién nacidos.

Análisis de la relación de la genotoxicidad con otras variables potencialmente confusoras

A diferencia de los estudios en animales de laboratorio en quienes la diabetes es inducida por lesión tóxica del páncreas, los estudios sobre el efecto de la diabetes en los niveles de estrés oxidativo y genotoxicidad en humanos se ven complicados por la gran dificultad de separar el fenómeno de la diabetes de otros factores como la edad y la obesidad. Si bien el procedimiento ideal para dilucidar el papel de estos factores por separado sería un diseño en el que se compararan 4 grupos de estudio (con/sin diabetes y con/sin sobrepeso-obesidad) y además se estratificara por edad y se limitara la muestra a productos nacidos solamente por cesárea iterativa, el tamaño de muestra de nuestro estudio no fue suficiente para hacerlo de esta manera –sólo se reclutaron 10 mujeres con diabetes con IMC normal. Sin embargo, mediante análisis de regresión lineal múltiple es posible hacer algunas inferencias:

Vía de nacimiento y edad. Si bien la frecuencia de nacimientos por cesárea y la edad fueron mayores en el grupo de madres con diabetes, la diabetes por sí sola explica mejor los niveles de 8-OH-dG mejor de lo que lo hacen la vía de nacimiento o la edad por sí solas. La asociación (el coeficiente) entre diabetes y

niveles de 8-OH-dG del producto continúa casi sin cambios al ajustar para edad y vía de nacimiento (**tabla 4, modelos 4 y 5**). Además, al ajustar para estas variables, el coeficiente de determinación r^2 casi no se modifica, lo que indica que estas variables casi no contribuyen a explicar los niveles de 8-OH-dG más allá de lo que los hace la diabetes. Por último, los coeficientes para edad y vía de nacimiento, no tienen significancia estadística. Todo lo anterior se puede interpretar como que la edad y la vía de nacimiento no parecen ser variables confusoras.

Índice de masa corporal. Dados los hallazgos reportados en diversos estudios, en los cuales se ha descrito que la obesidad materna puede tener un efecto en el grado de estrés oxidativo durante el embarazo, una pregunta crucial sobre todo a partir del estudio paralelo de Gallardo y cols. (60) es si el IMC es una variable con un “efecto”ⁱ propio sobre los niveles de 8-OH-dG del producto. De las distintas variables antropométricas relacionadas con la adiposidad materna que se midieron en este estudio, el IMC pregestacional fue el que tuvo mayor asociación con los niveles de 8-OH-dG. Al comparar los niveles de 8-OH-dG entre madres eutróficas sin diabetes, con los de las madres con sobrepeso u obesidad sin diabetes, se aprecian niveles más altos de 8-OH dG en estas últimas (aunque no de forma significativa, quizá por el tamaño de muestra) lo que apunta hacia un efecto independiente del sobrepeso/obesidad en este marcador. Desafortunadamente el grupo de mujeres eutróficas con diabetes fue demasiado reducido para poder realizar este análisis en el grupo de mujeres con diabetes. Sin embargo, sería importante la realización de estudios futuros que nos permitieran corroborar dicha hipótesis.

Decidimos estudiar el problema de la obesidad mediante la variable “IMC pregestacional” porque una variable cuantitativa como esta es mucho más informativa y da mayor poder a un análisis que una variable dicotómica –como obesidad/no obesidad- en especial cuando se sabe que muchos de los riesgos asociados a obesidad aumentan de forma continua y lineal a partir de IMC de 20 o 22 kg/m² (61).

En los análisis de regresión lineal, se aprecia cómo, al ajustar el “efecto” de la diabetes en los niveles de 8-OH-dG para el IMC, esta variable modifica

ⁱ La palabra “efecto” se escribe entre comillas para denotar que este término se está utilizando en su acepción estadística y no epidemiológica. Para establecer una relación causa-efecto, sería necesario un estudio, cuando menos, longitudinal.

importantemente el coeficiente de la variable “diabetes” (lo reduce un 20%) y aumenta el coeficiente de determinación R^2 de 0.16 a 0.21, es decir, aumenta la capacidad explicativa del modelo (**tabla 4, modelo 2**). El resultado es aún más notorio al agregar el término de interacción entre IMC y diabetes (**tabla 4, modelo 6**), el cual indica que el efecto del IMC es diferente en el grupo de mujeres con diabetes que en el grupo sin diabetes. Desafortunadamente, el tamaño reducido de la muestra no permite obtener resultados estadísticamente significativos al dividir la muestra en subgrupos, pero sí permite apreciar las tendencias como se muestra en la **figura 4A**.

Hemoglobina glucosilada. Lo más notable del análisis de la hemoglobina glucosilada fue la contribución del término de interacción entre hemoglobina glucosilada y diabetes a la bondad de ajuste del modelo, hasta alcanzar una r^2 de 0.65 (**tabla 4, modelo 9**) Este término de interacción, indica que el efecto de la hemoglobina glucosilada es distinto entre los dos grupos (con y sin diabetes) como se puede observar en la **figura 4B**.

De nuestro estudio, llama la atención la gran variabilidad en las concentraciones de 8-OH-dG en el grupo de madres sin diabetes y en sus productos. Así mismo, es notable que la media de hemoglobina glucosilada al final del embarazo fue mayor en el grupo de mujeres sin diabetes que en el grupo de mujeres con diabetes, aunque no de forma significativa. Lo anterior lo atribuimos a una heterogeneidad importante en este grupo de estudio en cuanto a algunas variables relacionadas con el metabolismo de la glucosa como el índice de masa corporal pregestacional y la hemoglobina glucosilada. Asimismo, se ha sugerido que un grupo importante de mujeres que no cumplen criterios para diagnóstico de diabetes gestacional tienen, no obstante, una alteración en el metabolismo de la glucosa que se asocia a desenlaces adversos en salud tanto en ellas como en sus productos. El estudio de Hiperglucemia y Desenlaces Obstétricos Adversos (HAPO), una cohorte multinacional, demostró que el riesgo de desenlaces adversos maternos, fetales y neonatales aumenta en forma continua en función de la glucemia materna, incluso en rangos considerados tradicionalmente como normales. Para la mayoría de las complicaciones no hubo un umbral para definir el aumento de riesgo (62). Por ejemplo, se ha descrito que hasta el 36% de las mujeres con obesidad pregestacional a quienes se les descartó diabetes mediante curva de tolerancia oral a la glucosa tienen hemoglobina glucosilada mayor de 5.7% en comparación con el 12% de las mujeres sin sobrepeso pregestacional, y que esta elevación de hemoglobina glucosilada se asocia a macrosomía del producto y a elevación de marcadores de riesgo cardiovascular tanto en las madres como en los productos (63).

Por los motivos mencionados arriba, en los estudios más recientes sobre genotoxicidad, incluyendo los de Gelaleti y Moreli, se ha incluido un grupo de estudio etiquetado como “Hiperglucemia Gestacional Leve”(HGL) en el que se incluyen a mujeres embarazadas a quienes se les descartó diabetes mediante curva de tolerancia oral a la glucosa pero tuvieron un “perfil glucémico” anormal. Es notable que en ambos estudios, el grupo de recién nacidos que mostró mayor daño al ADN en fue el de HGL.

Nuestro estudio no fue diseñado para identificar diferencias entre el grupo de mujeres con hiperglucemia gestacional leve y las mujeres normoglucémicas, ya que esta clasificación no tiene un uso generalizado en la práctica clínica. Sin embargo, realizamos un análisis *exploratorio* en el que se observaron concentraciones más altas de 8-OH-DG en el grupo de mujeres sin diabetes pero con hemoglobina glucosilada mayor o igual de 5.7% que en el de mujeres sin diabetes y HbA1c < de 5.7%, (**figura 3. A**). Así mismo, se observan mayores concentraciones de 8-OH-DG en el grupo de mujeres sin diabetes con sobrepeso/obesidad que en el grupo de mujeres eutróficas sin diabetes (**figura 3 B**), lo cual es consistente con el mayor estrés oxidativo descrito en productos de mujeres con obesidad que en eutróficas (60). Los resultados anteriores apoyan el concepto de que existe un grupo de mujeres sin diabetes de acuerdo a los criterios de la ADA, pero con alteraciones metabólicas con potenciales efectos genotóxicos en ellas y en sus productos. Es posible que la mayor homogeneidad observada en los marcadores de genotoxicidad en el grupo de madres con diabetes se explique parcialmente por una atención más uniforme y estricta y mayor apego a un estilo de vida saludable que las mujeres diagnosticadas como “sanas”, quienes probablemente recibieron un seguimiento menos estricto, sin realizar ninguna intervención.

Por otra parte, es notable que entre los indicadores de exceso de peso materno, el índice de masa corporal pregestacional estuviera más asociado a la genotoxicidad que el peso al final del embarazo o la ganancia ponderal durante el mismo, lo cual apunta hacia la importancia de mantener un peso y estilo de vida saludables desde antes del embarazo para optimizar la salud del producto.

Limitaciones del estudio

Puesto que no contamos con determinaciones de glucosa ni hemoglobina glucosilada en el primer trimestre en el embarazo, no podemos descartar que algunas de las mujeres con diabetes cursaran con esta enfermedad desde antes de la gestación, razón por la cual este grupo se etiquetó como “diabetes durante la gestación” y no como “diabetes gestacional”. Se hizo lo posible por descartar otras formas de DM2 como interrogatorio, exclusión de mujeres con hiperglucemia y

mujeres con HbA1C elevada al inicio del embarazo. De cualquier forma, la diabetes gestacional y la DM2 comparten suficientes factores fisiopatológicos como para poder considerarlas, desde cierta óptica, como una misma enfermedad con distintos tiempos de evolución, ya que incluso se ha documentado en diversos estudios que hasta un 30% de las mujeres con diabetes gestacional desarrollan DM2 en algún momento de su vida.

Desafortunadamente no todas las mujeres sin diabetes contaban con una curva de tolerancia oral a la glucosa que descartara esta enfermedad. Si bien, lo ideal desde el punto de vista tanto clínico como de investigación, hubiera sido contar con este dato, esto no fue posible, pues nuestro equipo no tuvo ninguna injerencia en el manejo y en la atención del embarazo de las mujeres incluidas en el estudio. Se intentó subsanar esta deficiencia mediante la exclusión del grupo “sin diabetes” a todas las mujeres con hiperglucemia o hemoglobina glucosilada mayor o igual de 6.5% a pesar de que el significado de este marcador durante el embarazo no esté bien establecido. Por otra parte, consideramos que si bien no podemos descartar que se incluyeran erróneamente mujeres con diabetes en el grupo de mujeres “sin diabetes”, esto hubiera sesgado los resultados hacia una menor o nula diferencia entre los grupos, en sentido opuesto a nuestras conclusiones.

Por otra parte, el diseño transversal de este estudio no permite establecer relaciones causales entre la diabetes y/o sobrepeso, el estrés oxidativo y la genotoxicidad en los productos. La calidad de la evidencia podría mejorar mediante estudios longitudinales en los que se evaluara el efecto de acciones que disminuyan el estrés oxidativo como ejercicio o alimentación, durante o – preferentemente- desde antes del embarazo en la genotoxicidad de los productos. O cuando menos estudios observacionales de cohorte, en los que se siguiera a los productos con y sin genotoxicidad hasta la aparición de desenlaces adversos.

Por último, existe la posibilidad de que los niveles de 8-OH-dG medidos en la sangre venosa del cordón umbilical reflejen solamente el paso transplacentario de la 8-OH-dG materna. Si bien no podemos descartar esta posibilidad, en otros estudios no se ha observado correlación entre los niveles de 8-OH-dG materna y del cordón (22) y en nuestro estudio la correlación fue moderada ($r=0.48$) lo que indica que cuando menos, existen otros factores además de la 8-OH-dG materna que influyen en los niveles de 8-OH-dG del producto. Una manera de resolver esta interrogante es medir los niveles de 8-OH-dG en leucocitos en vez de en suero, pues se sabe con seguridad que estas células no cruzan la barrera hemotoplacentaria. En este estudio no fue posible hacerlo por la insuficiencia del volumen de las muestras sanguíneas que fue posible recolectar del cordón.

Preguntas generadas a partir de los resultados de este estudio para investigaciones futuras

1. ¿La 8-OH-dG medida en suero de cordón umbilical es la 8-OH-dG materna que ha cruzado la placenta o es generada en el feto por el estrés oxidativo al que está expuesto? Una forma de resolver esta pregunta sería medir la 8-OH-dG integrada en el genoma de los leucocitos de la sangre del cordón. La técnica para hacer esta medición requiere de un volumen sanguíneo mayor del que fuimos capaces de recolectar en este estudio. En el futuro, se puede considerar tomar sangre de los vasos placentarios con lo que será posible obtener mayor cantidad de ésta. También es posible cuantificar la 8-OH-dG en tejido placentario.

2. ¿Los recién nacidos con mayor genotoxicidad tienen mayor riesgo de desarrollar condiciones de riesgo cardiovascular? El diseño ideal para resolver esta pregunta sería un estudio de cohortes donde se siguiera a estos recién nacidos durante varios años para medir los cambios antropométricos, cambios en el metabolismo de la glucosa y cambios vasculares, entre otros, a lo largo de la vida, ajustando para otras variables confusoras.

3. ¿Existe alguna intervención con efecto antioxidante durante el embarazo, previo al embarazo o después del nacimiento que pueda disminuir los niveles de genotoxicidad a través de la disminución del estrés oxidativo? Dentro de las posibles intervenciones estaría la suplementación con vitaminas antioxidantes (E y C, principalmente), modificaciones en la alimentación o en la actividad física. Más importante aún sería la pregunta de si estas intervenciones tienen algún efecto en las condiciones de riesgo cardiovascular del hijo de madre con diabetes. Hasta el momento, no se ha encontrado evidencia de peso respecto a la utilidad de la suplementación con antioxidantes en desenlaces clínicos en adultos (enfermedad vascular, mortalidad, etc.).

Conclusiones. Se encontró evidencia de mayor estrés oxidativo y de mayor genotoxicidad en los recién nacidos de madres con diabetes durante el embarazo en comparación con los productos de madres sin diabetes. De persistir dichas alteraciones durante la niñez y la vida adulta, esto podría ser considerado un potencial factor de riesgo que incremente el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y alteraciones en el metabolismo de glucosa en la vida adulta.

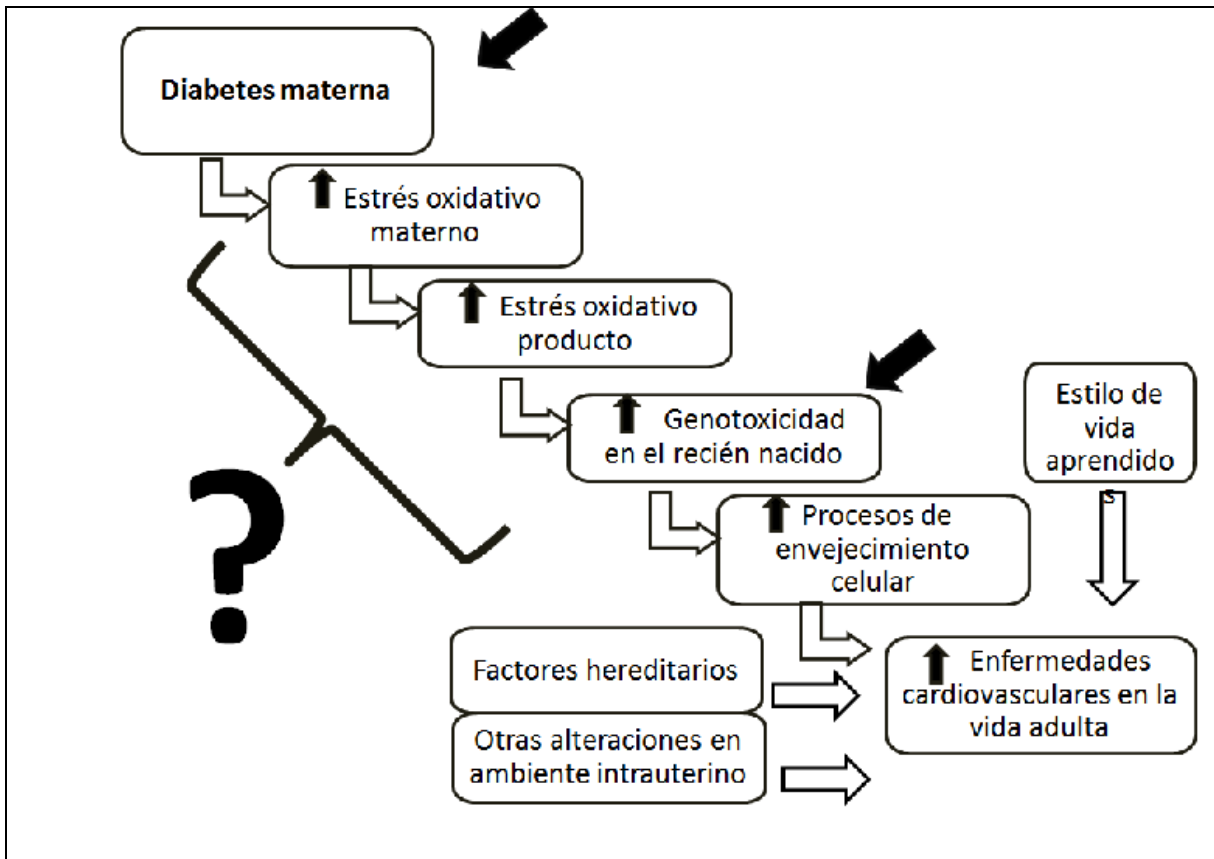
Es posible que el grupo de mujeres embarazadas clasificadas como normoglicémicas –en particular aquéllas con obesidad/ sobrepeso- tengan alteraciones en el metabolismo energético que contribuyan a aumentar el estrés oxidativo y genotoxicidad en sus productos.

Es por esto que la promoción de estilos de vida saludable y el tamizaje activo para detección de alteraciones tanto leves como floridas en el metabolismo de la glucosa se inicie tempranamente en el embarazo o incluso antes del mismo. Los hijos de mujeres que cursaron con obesidad y/o diabetes en el embarazo también deben tener una vigilancia estrecha de condiciones de riesgo cardiovascular a lo largo de su vida.

Son necesarios estudios longitudinales para corroborar la asociación causal entre diabetes y/u obesidad materna en el embarazo y la genotoxicidad en los recién nacidos, así como evaluar sus potenciales efectos a corto, mediano y largo plazo.

11. TABLAS Y FIGURAS

Figura1. Modelo teórico para explicar uno de los posibles mecanismos por los que la diabetes materna se asocia a aumento de riesgo cardiovascular en la vida postnatal.



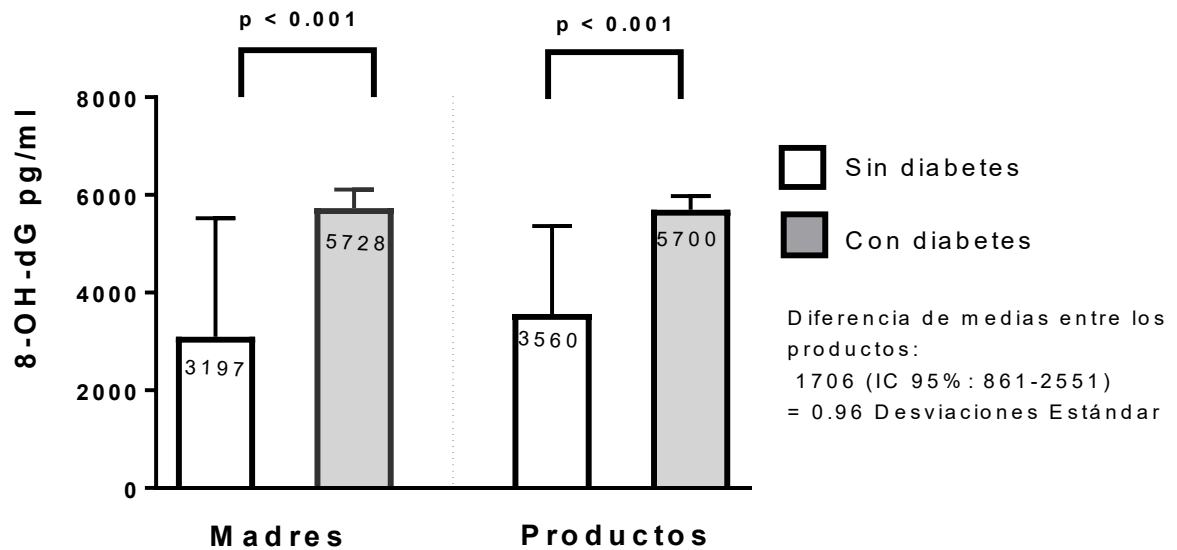
Los productos de madres que cursaron con diabetes durante el embarazo tienen un incremento en el riesgo cardiovascular durante su vida postnatal por mecanismos multifactoriales: genéticos-hereditarios, conductuales y de programación metabólica fetal por exposición a un ambiente intrauterino adverso. El estrés oxidativo podría jugar un papel en la programación metabólica fetal a través del daño al ADN (genotoxicidad) desde la vida intrauterina por una aceleración de los procesos de envejecimiento celular incluyendo envejecimiento de células de endotelio y músculo liso vascular en particular.

Tabla 1. Características de los binomios participantes			
	Sin Diabetes (n=56)	Con Diabetes (n=34)	p
	Mediana (25°-75°&)	Mediana (25°-75°&)	
Edad materna (años)	22 (19-29)	32 (24-35)	<0.001#
Número de embarazos	2 (1-3)	2 (1-3)	0.33#
PA sistólica (mmHg)	110 (104-110)	110 (105-120)	0.25#
PA diastólica (mmHg)	70 (60-72)	70 (70-75)	0.33#
HbA1c al Parto (%)	6.05 (5.47-6.4)	5.8 (5.55-6.30)	0.37#
IMC pregestacional (kg/m²)	23.41 (20.54-26.67)	27.4 (24.57-30.94)	<0.001#
Ganancia de peso (kg)	12 (8.5-16.5)	8.5 (6.2-14)	0.21#
POF/PIF*	1.03 (0.94-1.18)	1.145 (1.00-1.32)	0.004#
Peso del producto (g)	3140 (2910-3400)	3075 (2745-3405)	0.32#
Talla del producto (cm)	49 (48-50.5))	49 (47-51)	0.63#
	Porcentaje	Porcentaje	p
ESCOLARIDAD			
Primaria o menos	14%	9%	
Secundaria	43%	50%	0.77+
Preparatoria o técnica	36%	29%	
Profesional	7%	12%	
Cesárea	47%	79%	0.006&
Producto masculino	57%	38%	0.2&
Ganancia excesiva de peso[‡]	33%	38%	0.79&
IMC PREGESTACIONAL MATERNO (kg/m²)			
Desnutrición (<18)	14%	0	
Normal (18-24.9)	54%	28%	
Sobrepeso (25-30)	23%	41%	<0.001+
Obesidad (>30)	9%	31%	

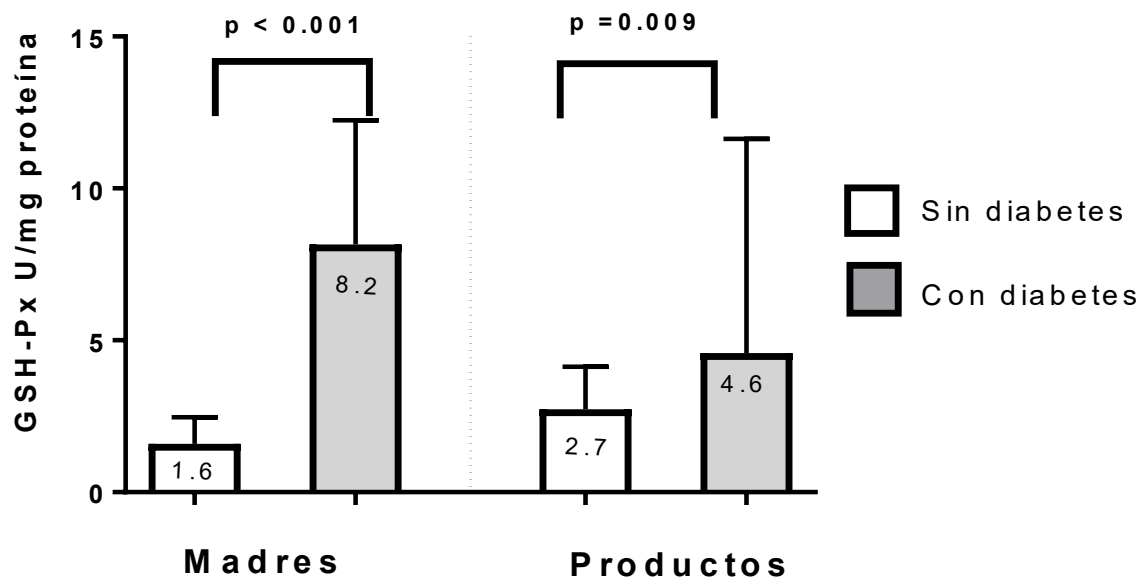
[&]Percentila 25°-75° (intervalo intercuartilar). PA: presión arterial. *POF: peso observado al final del embarazo, PIF: peso ideal al parto. †U de Mann Whitney. ‡Chi cuadrada lineal, & Prueba Fisher

Figura 2. Niveles de A) 8-hidroxi-desoxi-guanosina (8-OH-dG), B) Glutación peroxidasa (GSH-px), C) Productos de la degradación de óxido nítrico (NOx), en madres con y sin diabetes y sus productos. La significancia estadística (p) fue calculada mediante U de Mann Whitney. Barras: mediana y amplitud intercuartil.

2A.



2B



2C

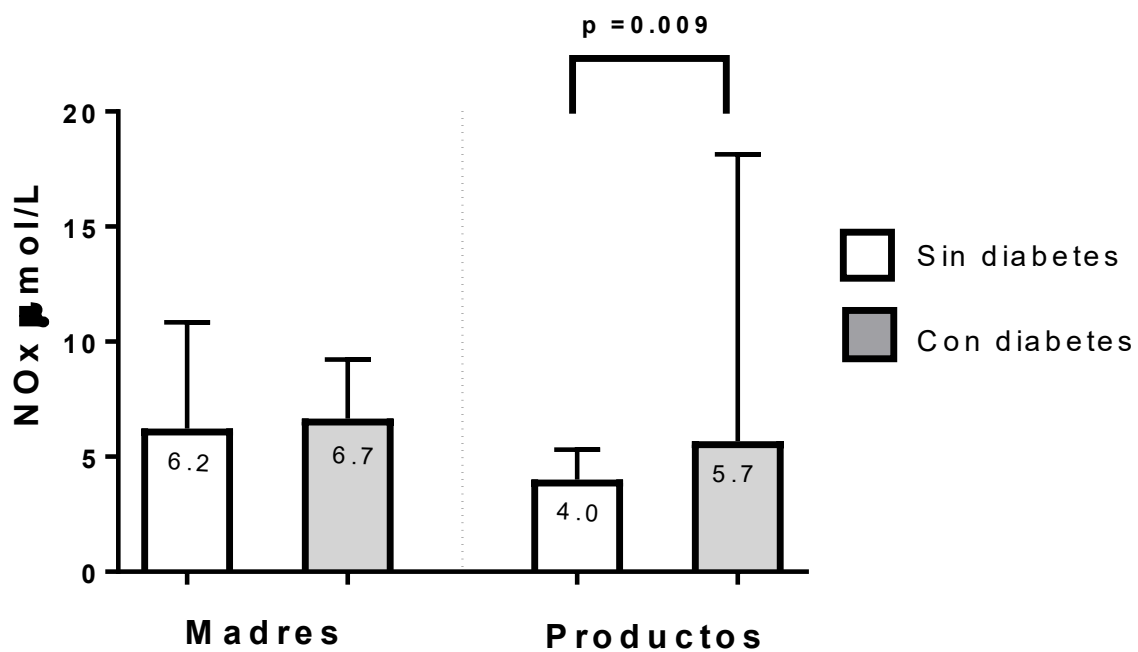
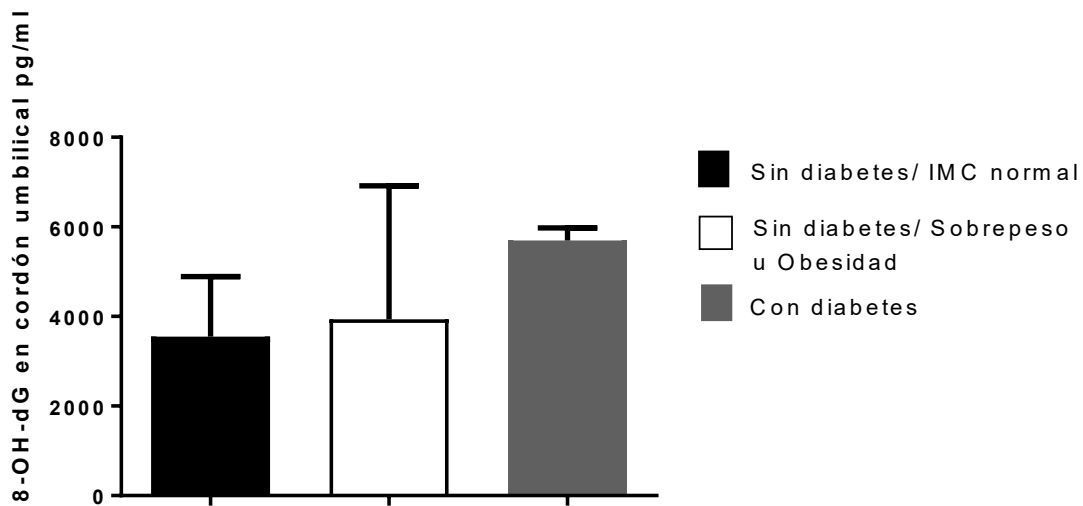


Tabla 2. Correlaciones significativas entre marcadores de estrés oxidativo, índice de masa corporal y edad materna		
		<i>r</i>
8-OH-dG producto	8-OH-dG materno	0.48*
	GSH-px materno	0.40*
	Edad materna	0.33*
	IMC pregestacional	0.43*
GSH-px materno	GSH-px producto	0.55*
	Edad materna	0.48*
	IMC pregestacional	0.30**
8-OH-dG materna	Edad materna	0.37*
	IMC pregestacional	0.27**
	GSH-px-materno	0.4*
IMC pregestacional	Edad materna	0.37*
<i>r</i> : Coeficientes de correlación de Spearman. * p < 0.01, ** p < 0.05		

Fig. 3. A. Niveles de 8-OH-dG del producto en los grupos de madres eutróficas sin diabetes, con sobrepeso/obesidad sin diabetes y con diabetes. B. Niveles 8-OH-dG del producto entre las madres con hemoglobina glucosilada normal sin diabetes, hemoglobina glucosilada alta sin diabetes y diabetes. Se muestra mediana e intervalo intercuartil.

A.



B.

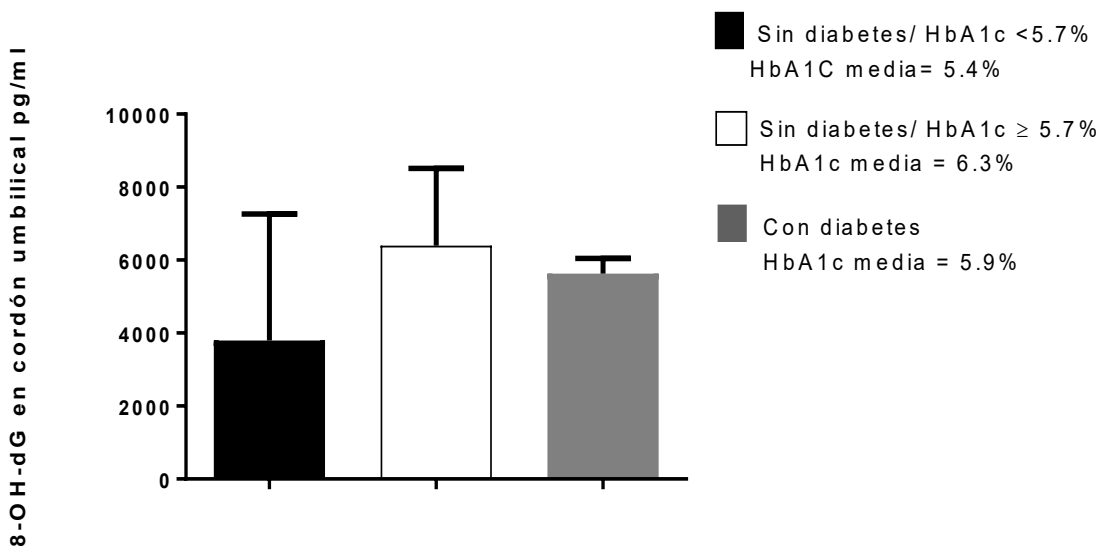


Tabla 3. Niveles de marcadores de genotoxicidad y de estrés oxidativo de acuerdo al estado nutricional y presencia de diabetes en las madres.

	Eutróficas sin diabetes (1) n=38	Sobrepeso/ Obesidad sin diabetes (2) n=18	Con Diabetes (3) n=34	p[#]
8-OH-dG P (pg/ml)	3447	3939	5700⁺	<0.001
8-OH-dG M (pg/ml)	2963	3563	5728^{**}	<0.001
NOx P (µmol/L)	4.13	3.49[*]	5.68^{**}	0.002
NOx M (µmol/L)	5.73	7.39	6.66	0.88
GSH-px P (U/mg prot.)	3.36	2.21	4.58^{&}	0.03
GSH-px M (u/mg prot.)	1.08	1.77	8.1^{**}	<0.001
Edad Materna (años)	21	23.5	32^{**}	0.002
HbA1 (%)	5.9	6.2	5.8	0.24
IMC Pregestacional (kg/m²)	21.47	28.2[*]	27.4	<0.001

Se reportan las medianas para cada grupo. # Prueba Kruskal-Wallis entre los tres grupos. Prueba U de Mann-Whitney entre grupos 1 y 2: *p <0.01. Comparaciones entre grupos 2 y 3: **p<0.01 & p<0.05, +p=0.06.

Tabla 4. Modelos de regresión lineal múltiple para describir los niveles de 8-OH-dG en el producto.

Términos introducidos en el modelo ↓	Modelo 1 $R^2=0.16$ $p<0.001$	Modelo 2 $R^2=0.21$ $p<0.001$	Modelo 3 $R^2=0.18$ $p=0.06$	Modelo 4 $R^2=0.18$ $p=0.004$	Modelo 5 $R^2=0.15$ $p<0.001$	Modelo 6 $R^2=0.28$ $p<0.001$	Modelo 7 $R^2=0.22$ $p=0.07$	Modelo 8 $R^2=0.30$ $P=0.04$	Modelo 9 $R^2=0.65$ $p<0.001$	Modelo 10 $R^2=0.34$ $p=0.01$	Modelo 11 $R^2=0.23$ $p=0.22$
Constante	4040	1892	1287	3818	3318	-403	-238	-3510	-33918	-13718	-451
Diabetes	1528***	1093*	1551*	1327**	1297**	6890**	1177^{NS}	7525*	57640***	30039*	1051
IMCp		90 ⁺				180**	84 ^{NS}	181*	277***		73
HbA1c			458 ^{NS}				378 ^{NS}	514 ^{NS}	4872***	2785*	383
Vía de nacimiento				465 ^{NS}							310
Edad					30 ^{NS}						12
IMCp x Diabetes ¹						-223*		-243 ⁺			
HbA1c x Diabetes ¹									-9971***	-4956*	
<p>R^2: coeficiente de determinación del modelo. IMCp: índice de masa corporal pregestacional. HbA1c: Hemoglobina glucosilada materna al momento del parto. ¹ Términos de interacción. & Se resaltan los modelos en el que el coeficiente de "diabetes" se modifica más del 20% respecto al del modelo sin ajustar. Significancia estadística (ANOVA para el modelo, t de Student para el coeficiente): *$p<0.1$ **$p<0.05$, ***$p<0.01$, ^{NS}No significativo.</p> <p>Modelo 1: Diabetes Modelo 2: Diabetes + IMCp Modelo 3: Diabetes + IMCp+ HbA1C Modelo 4: Diabetes + Vía de nacimiento Modelo 5: Diabetes + Edad Modelo 6: Diabetes + IMCp + (Diabetes x IMCp) Modelo 7: Diabetes + IMCp + HbA1c Modelo 8: Diabetes+IMCp + HbA1c + (Diabetes x IMCp) Modelo 9: Diabetes + IMCp+ HbA1c + (Diabetes x HbA1c) Modelo 10: Diabetes+HbA1c+ (Diabetes x HbA1c) Modelo 11: Diabetes+ IMCp + HbA1c +Edad + Vía de nacimiento</p>											

Tabla 5. Coeficientes de regresión lineal múltiple para el término “diabetes” en los marcadores de genotoxicidad y estrés oxidativo en la madre y el producto.

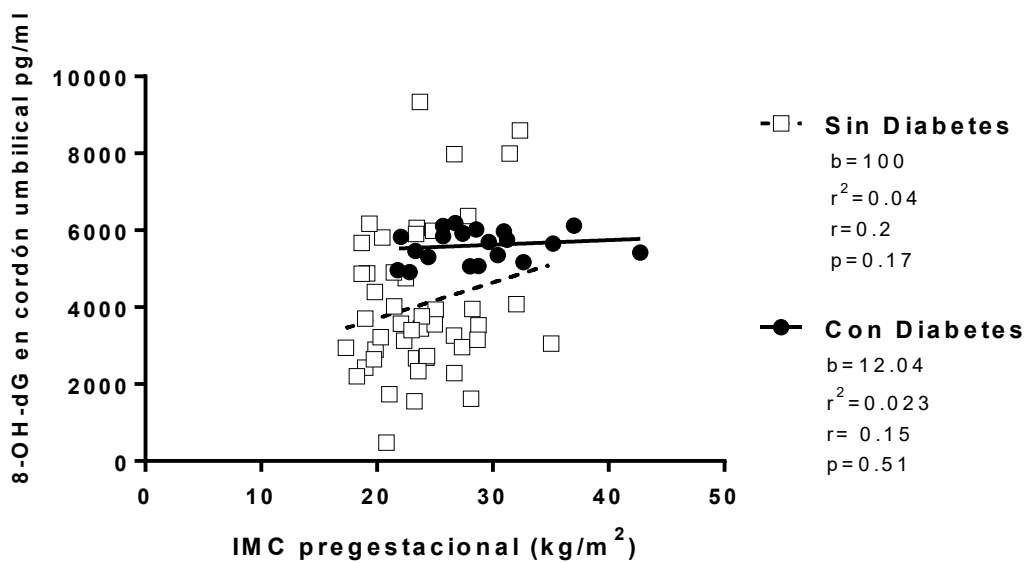
Variable dependiente ↓	Modelo 1		Modelo 2		Modelo 3		Modelo 4		Modelo 5		Modelo 6		Modelo 7	
	<i>B</i>	<i>R</i> ²	<i>B</i>	<i>R</i> ²	<i>B</i>	<i>R</i> ²	<i>B</i>	<i>R</i> ²	<i>B</i>	<i>R</i> ²	<i>B</i>	<i>R</i> ²	<i>B</i>	<i>R</i> ²
8-OH-dG Madre	1650***	0.19	1503**	0.2	1716*	0.2	1714***	0.19	1360**	0.22	4780⁺	0.22	1590*	0.21
NOx Producto	7.40***	0.17	8.30**	0.18	7.46**	0.17	7.47***	0.17	6.86**	0.17	0.33^{NS}	0.18	8.37*	0.18
NOx Madre	0.98 ^{NS}	0.01	1.48 ^{NS}	0.01	1.29 ^{NS}	0.04	0.37 ^{NS}	0.03	1.2 ⁺	0.43	-10.8 ^{NS}	0.04	1.96 ^{NS}	0.05
GSHpx Producto	4.45**	0.13	3.73 ⁺	0.15	4.41*	0.133	3.73*	0.16	4.42*	0.13	-12.3^{NS}	0.2	3.69 ⁺	0.15
GSHpx Madre	6.3***	0.42	6.2***	0.42	6.3***	0.42	6.2***	0.42	5.6***	0.44	6.0 ^{NS}	0.42	6.26***	0.42

Se especifican 7 modelos de regresión lineal múltiple para describir los niveles de los marcadores 8-OH-dG maternos, NOx del producto y de la madre y GSHpx del producto y de la madre. Sólo se reportan los coeficientes del término “diabetes” en cada uno de los 35 modelos. *B*=Coeficientes de regresión para el término “diabetes”. *R*²: coeficiente de determinación del modelo. IMCp: índice de masa corporal pregestacional. HbA1c: Hemoglobina glucosilada materna al momento del parto.& Se resaltan los modelos en el que el coeficiente de “diabetes” se modifica más del 20% respecto al del modelo sin ajustar. *p<0.1 *p<0.05, ** p<0.01,***p<0.001, ^{NS} No significativo

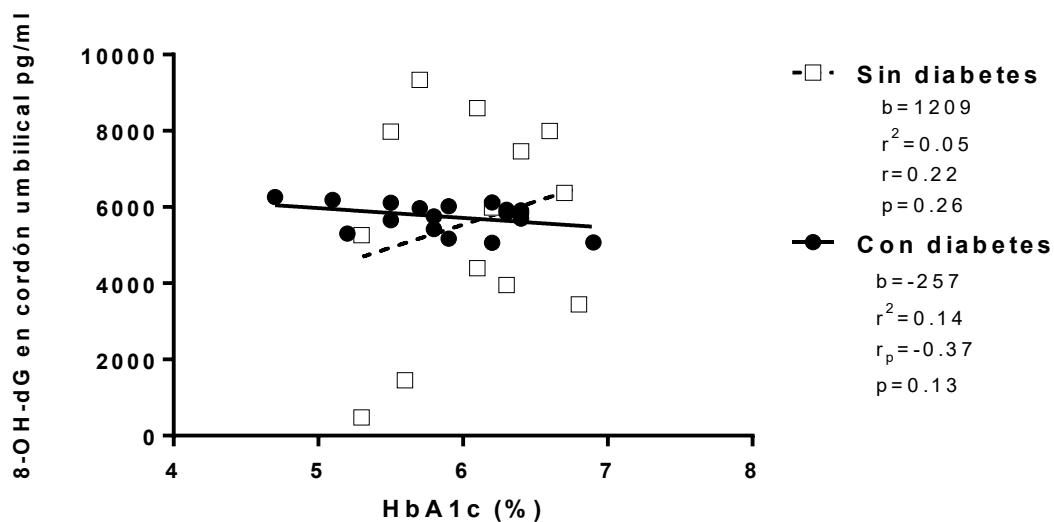
Modelo 1: Diabetes
 Modelo 2: Diabetes + IMCp
 Modelo 3: Diabetes + IMCp+ HbA1C
 Modelo 4: Diabetes + Vía de nacimiento
 Modelo 5: Diabetes + Edad
 Modelo 6: Diabetes + IMCp + (Diabetes x IMCp)
 Modelo 7: Diabetes + IMCp + HbA1c

Figura 4. Regresión lineal simple entre el IMC pregestacional (**4A**) y la HbA1c (**4B**) y los niveles de 8-OH-dG en cordón umbilical de acuerdo a la presencia o no de diabetes.

4A



4B



b= coeficiente de regresión (pendiente), r^2 = coeficiente de determinación, r_p = coeficiente de correlación de Pearson, p= significancia del coeficiente de regresión.

12. ANEXOS

Página 1/2

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROTOCOLO “Genotoxicidad por estrés oxidativo en recién nacidos de madres con diabetes y obesidad en el embarazo: estudio comparativo transversal”.

Grupo 1

La diabetes es una enfermedad muy frecuente en mujeres embarazadas. Se ha observado que los hijos de estas mujeres tienen predisposición a desarrollar obesidad y enfermedades del corazón y de las arterias en su vida adulta; sin embargo, todavía no se sabe con precisión cómo ni por qué.

Es por esto que la estamos invitando a participar en un protocolo de investigación que tiene como fin estudiar este fenómeno. La seleccionamos porque usted ha cursado con diabetes durante su embarazo y, como usted, participarán otras 49 mujeres con esta condición.

Si decide participar, le solicitaremos que nos permita guardar 15 ml (tres cucharadas aproximadamente) de su sangre que extraeremos mediante la punción de una vena y 10 ml de sangre que tomaremos del cordón umbilical de su hijo(a) después de que se lo hayan cortado. Las molestias que usted puede experimentar son dolor en el sitio de punción y posiblemente un moretón. Su hijo no sufrirá ninguna molestia ni riesgo. En la sangre de usted y en la de su hijo mediremos unas sustancias necesarias para nuestra investigación. A usted le mediremos además hemoglobina glucosilada que nos servirá para conocer cómo ha estado su glucosa en los últimos tres meses.

Ni usted ni su hijo tendrán ningún beneficio directo por su participación. Los resultados de este estudio nos ayudarán a comprender mejor por qué los hijos de madres con diabetes tienen predisposición a desarrollar enfermedades cardiovasculares y quizá a que en un futuro puedan encontrarse mejores formas de prevenirlas.

Usted es libre de no participar en el estudio; y si este es el caso, ni usted ni su hijo(a) dejarán de recibir la atención que se les debe brindar.

Tanto sus datos como los de su hijo(a) serán confidenciales y sus nombres no se harán públicos ni se les proporcionarán los resultados a personas ajenas al equipo de investigación

Si usted tiene alguna pregunta acerca de este protocolo de investigación, puede comunicarse con la Dra. María Fernanda Castilla Peón. Tel: 55 28 78 41 23 Dirección: Hospital Infantil de México Federico Gómez, Dr. Márquez, 162, Col. Doctores, Cuauhtémoc, México, D.F.

“Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio. Además, he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe”.

Nombre de la participante: _____ Firma: _____

Fecha: _____ Teléfono: _____

Dirección: _____

Cónyuge/concubinario: _____ Firma: _____

Fecha: _____ Teléfono: _____

Dirección: _____

Testigo: _____ Firma: _____

Teléfono: _____ Relación: _____

Dirección: _____

Testigo: _____ Firma: _____

Teléfono: _____ Relación: _____

Dirección: _____

Nombre de quien solicitó el consentimiento: _____

Fecha: _____ Teléfono: _____

Dirección: _____ Firma: _____

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROTOCOLO “Genotoxicidad por estrés oxidativo en recién nacidos de madres con diabetes y obesidad en el embarazo: estudio comparativo transversal”.

Grupo 2

La diabetes es una enfermedad muy frecuente en mujeres embarazadas. Se ha observado que los hijos de estas mujeres tienen predisposición a desarrollar obesidad y enfermedades del corazón y de las arterias en su vida adulta; sin embargo, todavía no se sabe con precisión cómo ni por qué.

Es por esto que la estamos invitando a participar en un protocolo de investigación que tiene como fin estudiar este fenómeno. **Usted NO tiene diabetes**, pero la seleccionamos para comparar sus resultados con los de las mujeres con diabetes. Como a usted, seleccionaremos a otras 49 mujeres.

Si decide participar, le solicitaremos que nos permita guardar 15 ml (tres cucharadas aproximadamente) de su sangre que extraeremos mediante la punción de una vena y 10 ml de sangre que tomaremos del cordón umbilical de su hijo(a) después de que se lo hayan cortado. Las molestias que usted puede experimentar son dolor en el sitio de punción y posiblemente un moretón. Su hijo no sufrirá ninguna molestia ni riesgo. En la sangre de usted y en la de su hijo mediremos unas sustancias necesarias para nuestra investigación. A usted le mediremos además hemoglobina glucosilada que nos servirá para conocer cómo ha estado su glucosa en los últimos tres meses.

Ni usted ni su hijo tendrán ningún beneficio directo por su participación. Los resultados de este estudio nos ayudarán a comprender mejor por qué los hijos de madres con diabetes tienen predisposición a desarrollar enfermedades cardiovasculares y quizá a que en un futuro puedan encontrarse mejores formas de prevenirlas.

Usted es libre de no participar en el estudio; y si este es el caso, ni usted ni su hijo(a) dejarán de recibir la atención que se les debe brindar.

Tanto sus datos como los de su hijo(a) serán confidenciales y sus nombres no se harán públicos ni se les proporcionarán los resultados a personas ajenas al equipo de investigación.

Si usted tiene alguna pregunta acerca de este protocolo de investigación, puede comunicarse con la Dra. María Fernanda Castilla Peón. Tel: 55 28 78 41 23 Dirección: Hospital Infantil de México Federico Gómez, Dr. Márquez, 162, Col. Doctores, Cuauhtémoc, México, D.F.

“Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio. Además, he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción. Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe”.

Nombre de la participante: _____ Firma: _____

Fecha: _____ Teléfono: _____

Dirección: _____

Cónyuge/concubinario: _____ Firma: _____

Fecha: _____ Teléfono: _____

Dirección: _____

Testigo: _____ Firma: _____

Teléfono: _____ Relación: _____

Dirección: _____

Testigo: _____ Firma: _____

Teléfono: _____ Relación: _____

Dirección: _____

Nombre de quien solicitó el consentimiento: _____

Fecha: _____ Teléfono: _____

Dirección: _____ Firma: _____

ANEXO 2. HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

México DF , Fecha (día / mes / año): ____/____/____

Nombres

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Apellido Paterno

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Apellido Materno

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

No. Teléfono

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Domicilio (Calle y Ciudad, Código postal)

No. Colonia,

No. Expediente

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Datos demográficos

<p>Edad (años cumplidos) _____</p> <p>Fecha de Nacimiento (día / mes / año)</p> <table border="1"> <tr> <td></td><td>/</td><td></td><td>/</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td></td><td>/</td><td></td><td>/</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> </table> <p>Nacionalidad</p> <p><input type="checkbox"/> 1). Mexicana</p> <p><input type="checkbox"/> 2). Otra</p> <p>Lugar de Nacimiento</p> <p>_____</p> <p><input type="checkbox"/> 1). Urbana</p> <p><input type="checkbox"/> 2). Rural</p>		/		/							/		/						<p>Lugar de Residencia</p> <p>_____</p> <p><input type="checkbox"/> 1). Urbana</p> <p><input type="checkbox"/> 2). Rural</p> <p>Estado civil</p> <p><input type="checkbox"/> 1). Soltera</p> <p><input type="checkbox"/> 2). Casada</p> <p><input type="checkbox"/> 3). Viuda</p> <p><input type="checkbox"/> 4). Divorciada</p> <p><input type="checkbox"/> 5). Unión libre</p>	<p>Ocupación</p> <p><input type="checkbox"/> 1). Agricultura</p> <p><input type="checkbox"/> 2). Obrera</p> <p><input type="checkbox"/> 2). Empleada</p> <p><input type="checkbox"/> 3). Negocio propio</p> <p><input type="checkbox"/> 4). Hogar</p> <p><input type="checkbox"/> 5). Estudiante</p> <p><input type="checkbox"/> 6). JubiladaPens</p> <p><input type="checkbox"/> 7). Desempleada</p> <p><input type="checkbox"/> 8). Otro(s)</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
	/		/																	
	/		/																	

Socioeconómicos

Escolaridad	Ingreso Mensual Familiar	Actividad física
<input type="checkbox"/> 1). Analfabeta	<input type="checkbox"/> 1). Menor de 1000	<input type="checkbox"/> 1). Ninguna (Sedentario)
<input type="checkbox"/> 1). Lee y escribe	<input type="checkbox"/> 2). de 1001 a 5000	<input type="checkbox"/> 2). Muy baja
<input type="checkbox"/> 2). Primaria completa	<input type="checkbox"/> 3). de 5001 a 10000	<input type="checkbox"/> 3). Baja media
<input type="checkbox"/> 3). Secundaria completa	<input type="checkbox"/> 4). de 10001 a 15000	<input type="checkbox"/> 4). Media
<input type="checkbox"/> 4). Preparatoria completa	<input type="checkbox"/> 5). mayor de 15001	<input type="checkbox"/> 5). Media alta
<input type="checkbox"/> 5). Técnica		<input type="checkbox"/> 6). Alta
<input type="checkbox"/> 6). Profesional		
<input type="checkbox"/> 7). Posgraduado		

Antecedentes heredofamiliares

Sus padres han padecido de	Sus hermanas (os) han padecido de
<input type="checkbox"/> 1). Enfermedades cardíacas 0=No	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Enfermedades cardíacas
<input type="checkbox"/> 2). Hipertensión arterial 1= Uno de	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 2). Hipertensión arterial
<input type="checkbox"/> 3). Diabetes mellitus los padres	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 3). Diabetes mellitus
<input type="checkbox"/> 4). Enfermedades pulmonares 2.= Ambos	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 4). Enfermedades pulmonares
<input type="checkbox"/> 5). Enfermedades renales padres	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 5). Enfermedades renales
<input type="checkbox"/> 6). Tumores o cáncer	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 6). Tumores o cáncer
<input type="checkbox"/> 7). Enfermedades Mentales	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 7). Enfermedades Mentales
<input type="checkbox"/> 8). Enfermedades nerviosas	<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 8). Enfermedades nerviosas

Antecedentes personales

Enfermedades activas durante el embarazo no relacionadas a éste	Tabaquismo
Fecha de diagnóstico	<input type="checkbox"/> 1). Si. <input type="checkbox"/> 2). No
<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 1). Riñón _____	<input type="checkbox"/> 3). Pasivo
<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 2). Corazón _____	<input type="checkbox"/> 4). Dejó de fumar
<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 3). Vascular _____	_____/_____/_____
<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 4). Pulmonar _____	día mes año
<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 5). Gastrointestinal/Hígado _____	Edad de inicio <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/>
<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 6). Tumores o Cáncer _____	Años fumando <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/>
<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 7). Neurológicas _____	Cigarros / día <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/>
<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 8). Mentales _____	Alcohol
<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 9). Reumatológicas _____	<input type="checkbox"/> 1). Si <input type="checkbox"/> 2). No
<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 10) Cirugías _____	No. de copas o cervezas / semana <input style="width: 20px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/>
<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 11). Hipercolesterolemia _____	
<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 12) Hipertrigliceridemia _____	
<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No 12) Otras (especificar) _____	
Especificar: _____	
Trasfusiones	
Fecha de la última:	
<input type="checkbox"/> 1). Si. <input type="checkbox"/> 2). No <input type="checkbox"/> 3). No sabe _____	
día mes año	

Medicamentos ó suplementos alimenticios (vitaminas o minerales) administrados el último mes (Dosis, y meses desde el inicio de la administración)

Medicamento	Dosis	Tiempo desde el inicio de la administración

GinecoObstetricos

No. Embarazos

--	--

No.	Aborto	Óbito	Pretérmino	Término	Peso
1°					
2°					
3°					
4°					
5°					
6°					
7°					
8°					

Fecha última menstruación

--	--	--

 Fecha inicio control prenatal

--	--	--

		Resultado	Fecha
CTOG	Glu.0´	mg/dl	/ /
	Glu.120´	mg/dl	/ /
Glu. 1°trim		mg/dl	/ /
Glu 2° trim		mg/dl	/ /
HbA1C		%	/ /

Enfermedades relacionadas con el embarazo

- [] 1. Amenaza de aborto
- [] 2. Amenaza de parto pre término
- [] 3.Ruptura prematura de membranas
- [] 4.Hipertensión asociada al embarazo
- [] 5.Infección vaginal o de vías urinarias
- [] 6.Otra _____

Parto

Ruptura de membranas
 [] No [] Sí Duración: _____
 Tiempo trabajo de parto: _____

Cesárea:
 [] No [] Urgencia [] Iterativa

Anestesia
 [] No [] Regional [] General

Exploración física

Signos vitales		Antropometría		Recién Nacido	
Temperatura axilar (°C)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Estatura (cm)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Diabetes Mellitus:	
Frecuencia cardiaca (lat/min)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Peso al inicio del embarazo (kg)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Sí	No
Frec. respiratoria (Resp/min)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Peso al final del embarazo (kg)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	NS	
TA Sistólica (mmHg)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Porcentaje de grasa	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Padre	[] [] []
TA Diastólica (mmHg)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Porcentaje de agua	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Abuelo Materno	[] [] []
Acantosis Nig. :Si [] No []				Abuela Materna	[] [] []
				Abuelo Paterno	[] [] []
				Abuela Paterna	[] [] []
				Sexo: M[] F[]	
				Edad gestacional (semanas)	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
Reanimación neonatal:			Estado de Salud de Recién Nacido		
<input type="checkbox"/> 1. Rutina <input type="checkbox"/> 2. Ventilación Presión Positiva <input type="checkbox"/> 3. Compresiones Torácicas			Apgar 1 min 5 min <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>		
Peso (g) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Talla (cm) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Perímetro cefálico (cm) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Perímetro torácico (cm) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Perímetro abdominal (cm) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Segmento inferior (cm) <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>			Sano Sí [] No [] No se sabe [] Ingresa a UCIN: <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> Sí, para vigilancia o estudio <input type="checkbox"/> Si por estado de salud*		
Glucosa sérica materna (mg/dL)			HbA1c materna (%)		
*Especificar diagnóstico(s): _____ _____					

<input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/>	<input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/>
DETERMINACION BIOQUÍMICA DE ESTRÉS OXIDATIVO (Para ser llenado en el laboratorio)	
<p>MADRE</p> <p>EOx</p> <p>AGEs UAF <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>MDA uM <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>NOxuM <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>AOx</p> <p>Vit C mg/dL <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>Ac. Úrico mg/dL <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>SOD UI/L <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>Catalasa UI/L <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>8-OH-dG <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p>	<p>RECIÉN NACIDO</p> <p>EOx</p> <p>AGEs UAF <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>MDA uM <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>NOxuM <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>AOx</p> <p>Vit C mg/dL <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>Ac. Úrico mg/dL <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>SOD UI/L <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>Catalasa UI/L <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p> <p>8-OH-dG <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/> <input style="width: 40px; height: 20px; border: 1px solid black;" type="text"/></p>

13. REFERENCIAS

1. Meza E, Barraza L, Martínez G, Fernández V, Ramos-Jáquez E, Cano-Vargas C, Valdez-Torres A IR. Gestational diabetes in a Mexican-U.S. border population: prevalence and epidemiology. *Rev Invest Clin.* 1995;47(6):433–8.
2. Forsbach G, Vázquez-Lara J, Alvarez-y-García C V-RJ. Diabetes and pregnancy in Mexico. *Rev Invest Clin.* 1998;50(3):227–31.
3. Yessoufou A, Moutairou K. Maternal diabetes in pregnancy: Early and long-term outcomes on the offspring and the concept of “metabolic memory.” *Exp Diabetes Res.* 2011;2011:1–12.
4. Yung LM, Leung FP, Yao X, Chen Z-Y, Huang Y. Reactive oxygen species in vascular wall. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets [Internet].* 2006 Mar [cited 2016 Aug 3];6(1):1–19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16724932>
5. Cassio A, Corrias A, Gualandi S, Tato' L, Cesaretti G, Volta C, et al. Influence of gender and pubertal stage at diagnosis on growth outcome in childhood thyrotoxicosis: results of a collaborative study. *Clin Endocrinol (Oxf) [Internet].* 2006 Jan [cited 2015 Feb 11];64(1):53–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16402928>
6. Collins AR, Raslova K, Somorovska M, Petrovska H, Ondrusova' A, Vohnout B, et al. DNA damage in diabetes: correlation with a clinical marker. - PubMed - NCBI. *Free Radic Biol Med [Internet].* 1998;25(3):373–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%2522Free+radical+biology+%2526+m+edicine%2522%255BJour%255D+AND+1998%255Bpdat%255D+AND+collins%255Bfirst+author%255D&cmd=detailssearch>
7. Hinokio Y, Suzuki S, Hirai M, Chiba M, Hirai A, Toyota T. Oxidative DNA damage in diabetes mellitus: its association with diabetic complications. *Diabetologia [Internet].* 1999 Aug [cited 2016 Aug 3];42(8):995–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10491760>
8. Boehm BO, Möller P, Högel J, Winkelmann BR, Renner W, Rosinger S, et al. Lymphocytes of type 2 diabetic women carry a high load of stable chromosomal aberrations; A novel risk factor for disease-related early death. *Diabetes.* 2008;57(11):2950–7.
9. Chen X, Scholl TO. Oxidative Stress : Changes in Pregnancy and with Gestational Diabetes Mellitus. *Am J Clin Nutr.* 2005;
10. Lappas M, Hiden U, Desoye G, Froehlich J, Hauguel-de Mouzon S, Jawerbaum A. The Role of oxidative Stress in the Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus. *Hypertens Res.* 2011;15(12):3061–101.
11. Zúñiga-González GM, Batista-González CM, Gómez-Meda BC, Ramos-Ibarra ML, Zamora-Perez AL, Muñoz-Magallanes T, et al. Micronuclei in diabetes: Folate supplementation diminishes micronuclei in diabetic patients but not in an animal

- model. *Mutat Res - Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2007;634(1–2):126–34.
12. Lima PHO, Sinzato YK, Gelaleti RB, Calderon IMP, Rudge MVC, Damasceno DC. Genotoxicity evaluation in severe or mild diabetic pregnancy in laboratory animals. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2012;120(5):303–7.
 13. Lima P, Damasceno D, Sinzato YK, de Souza Mda S, Salvadori D, Calderon Ide M, et al. Levels of DNA damage in blood leukocyte samples from non-diabetic and diabetic female rats and their fetuses exposed to air or cigarette smoke. - PubMed - NCBI. *Mutat Res [Internet]*. 2008;653(1–2):44–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18455954>
 14. Zengi A, Ercan G, Caglayan O, Tamsel S, Karadeniz M, Simsir I, et al. Increased oxidative DNA damage in lean normoglycemic offspring of type 2 diabetic patients. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2011;119(8):467–71.
 15. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993;90(17):7915–22.
 16. Rossner P, Sram RJ. Immunochemical detection of oxidatively damaged DNA. *Free Radic Res [Internet]*. 2012;46(4):492–522. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22034834>
 17. Ferguson KK, McElrath TF, Chen YH, Loch-Carusio R, Mukherjee B, Meeker JD. Repeated measures of urinary oxidative stress biomarkers during pregnancy and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol [Internet]*. Elsevier Inc.; 2015;212(2):208.e1-208.e8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2014.08.007>
 18. European Standards Committee on Oxidative Stress Damage (ESCODD). Measurement of DNA oxidation in human cells by chromatographic and enzymic methods. - PubMed - NCBI. *Free Radic Biol Med [Internet]*. 2003 [cited 2013 Feb 1];34(8):1089. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=2003%25Bpdat%25D+AND+measurement+of+dna+oxidation&TransSchema=title&cmd=detailssearch>
 19. Lee S, Perivaiz S. Assessment of oxidative stress-induced DNA damage by immunofluorescent analysis of 8-oxodG. - PubMed - NCBI. *Methods Cell Biol [Internet]*. 2011;103:99–113. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21722801>
 20. De Bont R, van Larebeke N. Endogenous DNA damage in humans: A review of quantitative data. *Mutagenesis*. 2004;19(3):169–85.
 21. Delaney S, Jarem DA, Volle CB, Yennie CJ. Chemical and Biological Consequences of Oxidatively Damaged Guanine in DNA. *Free Radic Res*. 2012;46(4):420–41.
 22. Schulpis KH, Lazaropoulou C, Vlachos GD, Partsinevelos G a, Michalakakou K, Gavrili S, et al. Maternal-neonatal 8-hydroxy-deoxyguanosine serum concentrations as an index of DNA oxidation in association with the mode of labour and delivery. *Acta Obstet Gynecol Scand [Internet]*. 2007;86(3):320–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17364307>

23. Drury JA, Jeffers G, Cooke RWI. Urinary 8-Hydroxydeoxyguanosine in Infants and Children. 1998;28:423–8.
24. Andreassi MG. DNA damage, vascular senescence and atherosclerosis. *J Mol Med*. 2008;86(9):1033–43.
25. Federici C, Botto N, Manfredi S, Rizza A, Fiandra M Del, Andreassi MG. Relation of Increased Chromosomal Damage to Future Adverse Cardiac Events in Patients With Known Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol* [Internet]. Elsevier Inc. Elsevier Inc.; 2008;102(10):1296–300. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.amjcard.2008.07.024>
26. Andreassi MG, Barale R, Iozzo P, Picano E. The association of micronucleus frequency with obesity, diabetes and cardiovascular disease. *Mutagenesis*. 2011;26(1):77–83.
27. Chen JH, Hales CN, Ozanne SE. DNA damage, cellular senescence and organismal ageing: Causal or correlative? *Nucleic Acids Research*. 2007. p. 7417–28.
28. Ferrari AU, Radaelli A, Centola M. Physiology of Aging Invited Review: Aging and the cardiovascular system. *J Appl Physiol*. 2003;95:2591–7.
29. Erusalimsky J, Kurz D. Cellular senescence in vivo: its relevance in ageing and cardiovascular disease. Title. *Exp Geronto*. 2005;40(8–9):634–42.
30. Minamino T, Komuro I. Vascular cell senescence: Contribution to atherosclerosis. *Circ Res*. 2007;100(1):15–26.
31. Broedbaek K, Weimann A, Stovgaard ES, Poulsen HE. Urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2-deoxyguanosine as a biomarker in type 2 diabetes. *Free Radic Biol Med* [Internet]. Elsevier Inc.; 2011;51(8):1473–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.07.007>
32. Al-Aubaidy HA, Jelinek HF. Oxidative DNA damage and obesity in type 2 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*. 2011;164(6):899–904.
33. Kim SY, England JL, Sharma JA, Njoroge T. Gestational diabetes mellitus and risk of childhood overweight and obesity in offspring: A systematic review. *Exp Diabetes Res*. 2011;2011.
34. Haffner SM. Relationship of metabolic risk factors and development of cardiovascular disease and diabetes. *Obesity* [Internet]. 2006;14 Suppl 3(June):121S–127S. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16931493>
35. Plagemann A. Maternal diabetes and perinatal programming. *Early Hum Dev* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2011;87(11):743–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2011.08.018>
36. Silverman BLL, Rizzo T a. a, Cho NHH, Metzger BEE. Long-term effects of the intrauterine environment. *Diabetes Care* [Internet]. 1998;21:B142. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9704242>
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9704242/>

37. Dabelea D, Crume T. Maternal environment and the transgenerational cycle of obesity and diabetes. *Diabetes*. 2011;60(7):1849–55.
38. Crume TL, Ogden L, Daniels S, Hamman RF, Norris JM, Dabelea D. The impact of in utero exposure to diabetes on childhood body mass index growth trajectories: The EPOCH study. *J Pediatr* [Internet]. Mosby, Inc.; 2011;158(6):941–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2010.12.007>
39. West NA, Crume TL, Maligie MA, Dabelea D. Cardiovascular risk factors in children exposed to maternal diabetes in utero. *Diabetologia*. 2011;54(3):504–7.
40. Boney CM, Verma A, Tucker R, Vohr BR. Metabolic Syndrome in Childhood: Association With Birth Weight, Maternal Obesity, and Gestational Diabetes Mellitus. *Pediatrics* [Internet]. 2005;115(3):e290–6. Available from: <http://pediatrics.aappublications.org/cgi/doi/10.1542/peds.2004-1808>
41. Kral J, Biron S, Simard S, Hould F, Lebel S, Marceau S, et al. Large maternal weight loss from obesity surgery prevents transmission of obesity to children who were followed for 2 to 18 years. *Pediatrics*. 2006;118(6):e1644-9.
42. Simón B, Campos I, Hernández L, Pedroza Tobías A. Informe final de resultados. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino. Secretaría. 2016. p. 64–127.
43. Scott-Pillai R, Spence D, Cardwell CR, Hunter A, Holmes VA. The impact of body mass index on maternal and neonatal outcomes: A retrospective study in a UK obstetric population, 2004-2011. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol*. 2013;120(8):932–9.
44. Agarwal A, Gupta S, Sikka S. The role of free radicals and antioxidants in reproduction. *Curr Opin Obstet Gynecol* [Internet]. 2006 Jun [cited 2016 Aug 3];18(3):325–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16735834>
45. Giustarini D, Dalle-Donne I, Tsikas D, Rossi R. Oxidative stress and human diseases: Origin, link, measurement, mechanisms, and biomarkers. *Crit Rev Clin Lab Sci* [Internet]. 2009 [cited 2016 Aug 3];46(5–6):241–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19958214>
46. Biri A, Onan A, Devrim E, Babacan F, Kavutcu M, Durak I. Oxidant status in maternal and cord plasma and placental tissue in gestational diabetes. *Placenta*. 2006;27(2–3):327–32.
47. Jayakumari NR, Reghuvaran AC, Rajendran RS, Pillai VV, Karunakaran J, Sreelatha HV, et al. Are nitric oxide-mediated protein modifications of functional significance in diabetic heart? *Nitric Oxide - Biol Chem* [Internet]. Elsevier Inc.; 2014;43:35–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.niox.2014.08.002>
48. American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care* [Internet]. 2016;39(January):S13–22. Available from: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/dc15-S005>
49. Medicine I of. Weight Gain During Pregnancy [Internet]. *Weight Gain During Pregnancy : Reexamining the Guidelines*. National Academy Press; 2009. Available

from:
<http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006250-196901000-00025>

50. Curve TS, Types S, Background S. DNA Damage ELISA Kit [Internet]. [cited 2011 May 10]. p. 7–9. Available from: <file:///C:/Users/fernandaa/Downloads/CL89120K-480TS.pdf>
51. Green L, Wagner D, Glogowski J, Skipper P, Wishnok J, Tannenbaum S. Analysis of nitrite, nitrate and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem.* 1982;126:131–8.
52. Bradford M. Rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72:248–54.
53. Beutler E, Duron O MB. Improved method for determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med.* 1963;61:882–8.
54. Gelaleti RB, Damasceno DC, Santos DP, Calderon IMP, Rudge MVC. Increased DNA damage is related to maternal blood glucose levels in the offspring of women with diabetes and mild gestational hyperglycemia. *Reprod Sci* [Internet]. 2016;23(3):318–23. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L608343801%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1177/1933719115602766%5Cnhttp://findit.library.jhu.edu/resolve?sid=EMBASE&issn=19337205&id=doi:10.1177/1933719115602766&atitle=Increased+DNA+damage+is+>
55. Moreli JB, Santos JH, Lorenzon-Ojea AR, Corrêa-Silva S, Fortunato RS, Rocha CR, et al. Hyperglycemia differentially affects maternal and fetal DNA integrity and DNA damage response. *Int J Biol Sci.* 2016;12(4):466–77.
56. Orhan H, Onderoglu L, Yücel A, Sahin G. Circulating biomarkers of oxidative stress in complicated pregnancies. *Arch Gynecol Obstet.* 2003;267(4):189–95.
57. Kinalski M, Sledziewski A, Telejko B, Kowalska I, Kretowski A, Zarzycki W, et al. Lipid peroxidation, antioxidant defence and acid-base status in cord blood at birth: the influence of diabetes. *Horm Metab Res* [Internet]. 2001;33(4):227–31. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=11383927>
58. Al-Shebly MM, Mansour MA. Evaluation of oxidative stress and antioxidant status in diabetic and hypertensive women during labor. *Oxid Med Cell Longev.* 2012;2012.
59. Malti N, Merzouk H, Merzouk SA, Loukidi B, Karaouzene N, Malti A, et al. Oxidative stress and maternal obesity: Feto-placental unit interaction. *Placenta* [Internet]. Elsevier Ltd; 2014;35(6):411–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2014.03.010>
60. Gallardo JM, Gómez-López J, Medina-Bravo P, Juárez-Sánchez F, Contreras-Ramos A, Galicia-Esquivel M, et al. Maternal obesity increases oxidative stress in the newborn. *Obesity.* 2015;23(8):1650–4.
61. MacMahon S, Baigent C, Duffy S, Rodgers A, Tominaga S, Chambless L, et al.

Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: Collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet* [Internet]. Elsevier Ltd; 2009;373(9669):1083–96. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60318-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60318-4)

62. Waters TP, Dyer AR, Scholtens DM, Dooley SL, Herer E, Lowe LP, et al. Maternal and Neonatal Morbidity for Women Who Would Be Added to the Diagnosis of GDM Using IADPSG Criteria: A Secondary Analysis of the Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome Study. *Diabetes Care* [Internet]. 2016;dc161194. Available from: <http://care.diabetesjournals.org/lookup/doi/10.2337/dc16-1194>
 63. Ensenauer R, Brandlhuber L, Burgmann M, Sobotzki C, Zwafink C, Anzill S, et al. Obese nondiabetic pregnancies and high maternal glycosylated hemoglobin at delivery as an indicator of offspring and maternal postpartum risks: The prospective PEACHES mother-child cohort. *Clin Chem*. 2015;61(11):1381–90.
-