



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
IZTACALA**

**Estudio del efecto protector de la glicina en  
un modelo animal de embriopatía diabética**

**T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
B I Ó L O G O**

**PRESENTA:  
ADRIANA LUCERO RIVAS RAMÍREZ**

**DIRECTOR DE TESIS:  
Q.B.P. ARTURO RIVAS FARIAS**



**Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, 2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



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

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

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

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



**El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio del Metabolismo de la Diabetes Mellitus, el cual forma parte de la UMF bajo la asesoria del QBP Arturo Rivas Farias y la co-asesoría del Dr. Martin Palomar Morales.**

## **AGRADECIMIENTOS**

A la UNAM por brindarme las instalaciones y el plan de estudios para realizar mi licenciatura.

Al Biól. Tomás Ernesto Villamar Duque y a la MVZ Leticia Olga Flores Sánchez por porporcionarme la plática de manejo de animales y apoyarme en la supervisión de los mismos.

Al Dr. Martín Palomar Morales y a la Biól. Gladys Chirino Galindo por aceptarme en el laboratorio y confiar en mí para realizar este proyecto. También gracias por los consejos de vida, los regaños y las risas.

A mis profesores que, buenos o malos, me transmitieron su conocimiento y ayudaron a formarme de manera profesional. Los llevaré en mi corazón siempre.

A mis padres, Adriana y Arturo, por darme la vida y acompañarme en cada paso dado y etapa culminada. No sería lo que soy ahora sin su infinito apoyo y guía. No me alcanzarían las palabras y la vida para terminar de agradecerles.

A mi familia, que, de alguna u otra manera, ha formado la persona que soy ahora, me ha alentado a seguir y siempre dar lo mejor de mí. Gracias infinitas de aquí hasta el cielo.

A mis amigos y compañeros de la carrera por las risas, las anécdotas; también, por las discusiones y el desafío que era, a veces, trabajar en equipo. Nunca se me olvidarán estos años.

A Coral, Darío, Rene, Fernando, Axel, Lulú y Mabel por haber sido parte importante durante la carrera, por las pláticas nocturnas, las risas y los recuerdos creados. Espero seguir en contacto en el futuro.

A Amauri por volverse un gran apoyo para mi en todos los aspectos. Por aguantarme y tratar de entenderme. No hay más que decir que no haya dicho ya antes. Muchas gracias y espero que esto dure mucho.

A la vida que me ha permitido conocer a distintas personas que me han enseñado tantas cosas y han dejado parte de su ser conmigo, además, gracias por permitirme llegar hasta aquí.

*“Para convertirse en algo bello, se debe mantener en el dolor. Para convertirse en un ser perfecto, se debe mantener en la tristeza.*

*¿Dónde está la flor que florece sin ser empapada por la lluvia? ¿Dónde está la flor que forece sin ser sacudida por el viento?”*

Proverbio coreano.

*“Somos polvo de estrellas que piensa acerca de las estrellas. Somos la forma en la que universo se piensa a sí mismo”.*

Carl Sagan

*“El conocimiento nos hace responsables.”*

Ernesto “Che” Guevara

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL .....	IV
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS .....	VI
ABREVIATURAS .....	VII
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	3
2.1 DEFINICIÓN DE LA DIABETES MELLITUS.....	3
2.1.1 Clasificación de la DM .....	3
2.1.2 Diagnóstico .....	6
2.1.3 Tratamiento.....	9
2.2 MODELOS DE DIABETES EXPERIMENTAL.....	14
2.3 ESTRÉS OXIDATIVO Y EMBRIOPATÍA DIABÉTICA .....	19
2.4 GLICINA.....	22
2.4.1 Importancia de la glicina .....	22
2.4.2 Metabolismo .....	24
3. ANTECEDENTES.....	26
4. JUSTIFICACIÓN.....	29
5.- HIPÓTESIS .....	30
6. OBJETIVOS .....	30
6.1 General: .....	30
6.2 Particulares: .....	30
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
7.1 Apareamiento.....	31
7.2 Inducción de diabetes .....	31
7.3 Administración del tratamiento .....	31
7.4 Obtención de muestras .....	31
7.5 Análisis bioquímico.....	32
7.6 Análisis morfométrico .....	33
7.7 Análisis histológico .....	33
7.8 Análisis estadístico.....	34
8. RESULTADOS .....	35
8.1 PESO MATERNO .....	35

8.2 FETOS .....	35
Morfología general.....	35
8.3 HISTOLOGÍA .....	39
Riñón .....	39
Hígado.....	40
Fetos: corazón, cerebro e hígado .....	41
8.4 Análisis de sangre.....	44
8.5 ENZIMAS .....	45
CAT .....	45
GST .....	46
GPx .....	47
SOD .....	48
TBARS .....	49
9. DISCUSIÓN.....	51
10. CONCLUSIONES .....	58
11. LITERATURA CITADA .....	59

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

### TABLAS

Tabla 1. Clasificación de otros tipos de DM .....	4
Tabla 2. Valores de referencia. ....	7
Tabla 3. Valores obtenidos de los parámetros determinados en fetos y útero. ....	36
Tabla 4. Características morfológicas de fetos de madres tratadas con STZ con o sin glicina .....	37
Tabla 5. Porcentaje de malformaciones.....	38
Tabla 6. Malformaciones externas observadas en los fetos.....	39
Tabla 7. Cortes histológicos de riñón materno .....	40
Tabla 8. Cortes histológicos de hígado materno .....	41
Tabla 9. Cortes histológicos de corazón fetal.....	42
Tabla 10. Cortes histológicos de cerebro fetal .....	43
Tabla 11. Cortes histológicos de hígado fetal .....	44

### FIGURAS

Figura 1. Formación de AGEs.....	20
Figura 2. Ganancia de peso total .....	35
Figura 3. Glucosa, colesterol y triglicéridos.....	45
Figura 4. Actividad de CAT .....	46
Figura 4. Actividad de GST .....	47
Figura 6. Actividad de GPx .....	48
Figura 7. Actividad de SOD .....	49
Figura 8. TBARS.....	50

## ABREVIATURAS

ADA	Asociación Americana de Diabetes
AGEs	Productos finales de la glicación avanzada
CAT	Catalasa
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
DMG	Diabetes Mellitus Gestacional
EO	Estrés oxidativo
GC	Grupo control
GCGLY	Grupo control con glicina
GDGLY	Grupo diabético con glicina
GD	Grupo diabético
Gly	Glicina
GPx	Glutación Peroxidasa
GST	Glutación-S-transferasa
H-E	Hematoxilina-Eosina
HIF1 $\alpha$	Factor inducible por hipoxia-1 $\alpha$
LD <sub>50</sub>	Dosis letal media
MDA	Malondialdehído
MODY	Diabetes de inicio en la madurez
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAS	Ácido peryódico-Eosina
RL	Radicales libres
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SOD	Superóxido Dismutasa
STZ	Estreptozotocina
TBARS	Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico

## 1. RESUMEN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica, que se desencadena cuando el páncreas no produce suficiente insulina, o cuando el organismo no puede utilizarla eficientemente. La hiperglucemia propia del estado diabético se ha descrito como el principal teratógeno debido al aumento del estrés oxidativo. El efecto dañino principal de la hiperglucemia a largo plazo es la glicación de proteínas, que trae como consecuencia diversas reacciones químicas que terminan en la formación de productos finales de la glicación avanzada (AGEs). El grupo de Carvajal en 1995 estudió previamente la prevención de daños producidos por la DM, y concluyeron que la glicina evita la glicación en ratas macho; pero no estudiaron los efectos en hembras sanas o gestantes. Con el propósito de investigar si la glicina, además de prevenir los efectos metabólicos de la DM, es capaz de mejorar el pronóstico de la embriopatía diabética, se diseñó este trabajo. Se usaron ratas *Wistar*, hembras, sanas, que fueron preñadas por el método de trío y luego separadas en cuatro grupos: control (GC), control con glicina (GCGLY), diabéticas con glicina (GDGLY) y diabéticas sin glicina (GD). Al día 19 de gestación se sacrificaron y se obtuvieron los fetos, además de muestras de sangre e hígado materno. En suero sanguíneo se determinaron la glucosa, el colesterol, los triglicéridos y las actividades de enzimas antioxidantes; en suero y en hígado materno y fetal se midieron las actividades de las enzimas antioxidantes y las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, como medida indirecta del estrés. En los fetos se evaluaron las características morfológicas. En hígado materno y fetal se realizaron análisis histológicos. Los resultados fueron analizados con ANOVA bifactorial, tomando una  $p = 0.05$ . Los resultados obtenidos muestran que la ganancia de peso materno del GDGLY tuvo mayor incremento que el GD. Con respecto a la morfología, talla, peso y porcentaje de reabsorciones de los fetos, en el GDGLY se mejoró talla y peso, y se disminuyó el número de reabsorciones respecto al GD. En el GDGLY se redujo cuatro veces el porcentaje y tipo de

malformaciones. Aunque no hubo diferencia significativa entre los grupos, el GD presentó menor tamaño de la camada. Con respecto a la histología de fetos y madres, en el GDGLY el tejido se observó mejor formado al igual que los grupos controles, en contraste con el GD donde las células se veían más pequeñas y separadas. Los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos fueron menores en el GDGLY con respecto al GD, cuyos valores fueron significativamente altos respecto a GC. El GDGLY presentó, sin ser significativo, la mayor actividad de catalasa (CAT) en hígado materno y fetal, comparado con GD cuya actividad fue nula. En la actividad de glutatión-s-transferasa (GST) el GDGLY mostró mayor valor, aunque no hubo diferencia significativa; sin embargo, en GD se encontraron niveles bajos. En el caso de glutatión peroxidasa (GPx) se encontró mayor actividad en los grupos tratados con glicina. También la actividad de SOD fue mayor, sin ser significativa, en los grupos con glicina. Respecto a la lipoperoxidación (TBARS) fue mayor en los grupos en los que se administró glicina, especialmente significativo para GCGLY. En conclusión, la glicina mostró una tendencia a proteger el desarrollo embrionario, sobre todo en cerebro e hígado; en las ratas gestantes el efecto protector se observó en los niveles sanguíneos, tejidos y peso ganado. En el caso del grupo control con Gly, no casuó alteraciones negativas y participó en la actividad de las enzimas antioxidantes.

## **2. INTRODUCCIÓN**

### **2.1 DEFINICIÓN DE LA DIABETES MELLITUS**

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica, que se desencadena cuando el páncreas no produce suficiente insulina o se presenta resistencia a la misma. Este síndrome es un problema de salud pública, y en las últimas décadas ha aumentado de manera alarmante el número de casos y la prevalencia de la enfermedad. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia, es decir, altas concentraciones de glucosa en sangre. Todos los tipos de diabetes pueden provocar complicaciones en muchas partes del organismo, e incrementar el riesgo general de muerte prematura. Entre las posibles complicaciones se incluyen: ataques cardíacos, accidentes cerebrovasculares, insuficiencia renal, amputación de piernas, pérdida de visión y daños neurológicos. Además, recientemente se ha definido como “embriopatía diabética” el daño que la hiperglucemia causa en el embrión en desarrollo.

Según las estimaciones de la OMS, en el 2014, 422 millones de adultos en todo el mundo tenían diabetes; además, la prevalencia mundial de esta enfermedad casi se ha duplicado en dos años, pues ha pasado del 4,7% al 8,5% en la población adulta. En 2012, esta enfermedad provocó 1.5 millones de muertes debidas sólo a la hiperglucemia y otras 2.2 millones de muertes aunadas a complicaciones cardiovasculares y otras enfermedades (OMS, 2016).

#### **2.1.1 Clasificación de la DM**

Según la Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés) la diabetes se puede clasificar en las siguientes categorías generales:

1. Diabetes tipo 1 (DM1): debida a la destrucción autoinmune de células  $\beta$ , que generalmente conduce a una deficiencia absoluta de insulina.
2. Diabetes tipo 2 (DM2): debida a la pérdida progresiva de la secreción de insulina de las células  $\beta$ , con frecuencia con resistencia a la insulina).

3. Diabetes mellitus gestacional (DMG): diabetes diagnosticada en el segundo o tercer trimestre del embarazo y que no fue evidente antes de la gestación.

4. Tipos específicos de diabetes debido a otras causas (Tabla 1); por ejemplo, síndromes de diabetes monogénica (como la diabetes neonatal y la diabetes de inicio en la madurez [MODY]), enfermedades del páncreas exocrino (como fibrosis quística y pancreatitis) y el uso de medicamentos o diabetes inducida por sustancias químicas (como con el uso de glucocorticoides, en el tratamiento del VIH/SIDA o después de un trasplante de órganos).

**Tabla 1. Clasificación de otros tipos de DM** (Adaptada de: Standars of American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes, 2018).

<b>A. DEFECTOS GENÉTICOS EN LA FUNCIÓN DE LA CÉLULA <math>\beta</math></b>	
1. Cromosoma 12, HNF-1 $\alpha$ (MODY3) 2. Cromosoma 20, HNF-4 $\alpha$ (MODY1) 3. Cromosoma 7, glucoquinasa (MODY2) 4. Otras formas muy raras de MODY	5. Diabetes neonatal transitoria 6. Diabetes neonatal permanente 7. DNA mitocondrial 8. Otros
<b>B. DEFECTOS GENÉTICOS EN LA ACCIÓN DE LA INSULINA</b>	
1. Resistencia a la insulina tipo A 2. Leprechaunismo 3. Síndrome de Rabson-Mendenhall	4. Diabetes lipoatrófica 5. Otros
<b>C. ENFERMEDADES DEL PÁNCREAS EXOCRINO</b>	
1. Pancreatitis 2. Trauma/pancreatectomía 3. Neoplasia 4. Fibrosis quística	5. Hemocromatosis 6. Pancreatopatía fibrocalculosa 7. Otros
<b>D. ENDOCRINOPATÍAS</b>	
1. Acromegalia 2. Síndrome de Cushing 3. Glucagonoma 4. Feocromocitoma	5. Hipertiroidismo 6. Somatostatinaoma 7. Aldosteronoma 8. Otros.

<b>E. INDUCIDA POR FÁRMACOS O SUSTANCIAS</b>	
1. Vacor 2. Pentamidina 3. Ácido nicotínico 4. Glucocorticoides 5. Hormona tiroidea 6. Diazóxido	7. Agonistas $\beta$ -adrenérgicos 8. Tiazidas 9. Dilantin 10. Interferón- $\gamma$ 11. Otros
<b>F. INFECCIONES</b>	
1. Rubéola congénita 2. Citomegalovirus	3. Otros
<b>G. FORMAS INFRECIENTES DE DIABETES MEDIADA POR INMUNIDAD</b>	
1. Síndrome de "Stiff-man" 2. Anticuerpos anti receptores de insulina	3. Otros
<b>H. OTROS SÍNDROMES GENÉTICOS OCASIONALMENTE ASOCIADOS A DIABETES</b>	
1. Síndrome de Down 2. Síndrome de Klinefelter 3. Síndrome de Turner 4. Síndrome de Wolfram 5. Ataxia de Friedreich 6. Corea de Huntington	7. Síndrome de Laurence-Moon-Biedl 8. Distrofia Miotónica 9. Porfiria 10. Síndrome de Prader-Willi 11. Otros

La DM1 y la DM2 son enfermedades heterogéneas, en las que la presentación clínica y la progresión de la enfermedad pueden variar considerablemente. La clasificación es importante para determinar la terapia, pero algunos individuos no pueden clasificarse claramente con DM1 o DM2 en el momento del diagnóstico. Los paradigmas tradicionales de que la DM2 la padecen sólo los adultos y la DM1 sólo los niños ya no son precisos, ya que ambas enfermedades ocurren en ambos grupos de edad. Los niños con DM1 generalmente presentan los síntomas distintivos de poliuria/polidipsia y aproximadamente un tercio presentan cetoacidosis diabética (Dabelea *et al*, 2014a). La aparición de la DM1 puede ser más variable en los adultos y puede que no se presenten con los síntomas clásicos observados en los niños. Ocasionalmente, los pacientes con DM2 pueden presentar

cetoacidosis diabética, especialmente las minorías étnicas. Aunque al inicio pueden aparecer dificultades para distinguir el tipo de diabetes en todos los grupos de edad, el verdadero diagnóstico se vuelve más obvio con el tiempo. Tanto en la DM1 como en la DM2, varios factores genéticos y ambientales pueden resultar en la pérdida progresiva de la masa y/o función de las células  $\beta$  que se manifiesta clínicamente como hiperglucemia. Una vez que se produce la hiperglucemia, los pacientes con todas las formas de diabetes están en riesgo de desarrollar las mismas complicaciones crónicas, aunque las tasas de progresión pueden diferir (Newton y Raskin, 2004).

### **2.1.2 Diagnóstico**

La diabetes se puede diagnosticar en función de los criterios de glucosa en plasma, ya sea el valor de glucosa en plasma en ayunas o el valor de glucosa en plasma a 2 h, durante una prueba de tolerancia oral a la glucosa de 75 g, o los criterios de hemoglobina glicosilada (International Expert Committee, 2009). En general, todas las pruebas antes mencionadas son igualmente apropiadas para las pruebas de diagnóstico. Se ha demostrado la eficacia de las intervenciones para la prevención primaria de la DM2, principalmente en individuos con tolerancia a la glucosa alterada, con o sin glucosa en ayunas elevada, pero no para personas con glucosa en ayunas elevada e insuficiencia renal; o para aquellos con prediabetes, diagnosticados por criterios de hemoglobina glicosilada. Se pueden usar las mismas pruebas antes mencionadas para detectar y diagnosticar la diabetes y para detectar individuos con prediabetes (Knowler *et al*, 2002; Tuomilehto *et al*, 2001).

### **\*PREDIABETES**

Es el término usado para las personas cuyos niveles de glucosa no entran en los criterios para la DM, pero son demasiado altos para ser considerados normales. Estos pacientes se diagnostican por la presencia de hemoglobina glicosilada de 5.7–6.4%. También se asocia con obesidad (especialmente obesidad abdominal o visceral), dislipidemia con triglicéridos elevados y/o

colesterol HDL bajo, e hipertensión (Selvin *et al* 2013; Selvin, 2016). Cabe señalar que la Organización Mundial de la Salud (OMS) y muchas otras organizaciones de diabetes definen el límite de glucosa en ayunas con insuficiencia renal en 110 mg/dL (6.1 mM/L) (Tabla 2).

**Tabla 2. Valores de referencia.** En la siguiente tabla se muestran los valores de los parámetros para diagnóstico. (Diabetes Care. ADA, 2015).

	<b>Glucosa en ayunas</b>	<b>Glucosa a 2h</b>	<b>Hemoglobina glicosilada</b>
<b>Normal</b>	70-100 mg/dL	≤125 mg/dL	≤5.7%
<b>Prediabetes</b>	100-125 mg/dL	140-199 mg/dL	5.7-6.4%
<b>Diabetes</b>	≥126mg/dL	≥200 mg/dL	≥6.5%

#### \*DIABETES TIPO 1 (DM1)

En un paciente con síntomas clásicos, la medición de la glucosa plasmática es suficiente para diagnosticar la diabetes. Es posible en algunos casos también se determine la hemoglobina glicosilada para conocer cuánto tiempo ha tenido el paciente el estado diabético.

La DM1 autoinmune, anteriormente llamada "diabetes dependiente de insulina" o "diabetes de inicio juvenil", representa del 5 al 10% de todos los casos de diabetes. Los marcadores autoinmunes incluyen anticuerpos dirigidos a células  $\beta$  de los islotes y anticuerpos contra: GAD (GAD65), insulina, tirosina fosfatasa (IA-2 y IA-2b) y ZnT8. La DM1 se diagnostica por la presencia de uno o más de estos marcadores autoinmunes.

Algunas formas de DM1 no tienen causas conocidas. Estos pacientes tienen insulinopenia permanente, y son propensos a la cetoacidosis diabética, pero no tienen evidencia de autoinmunidad contra células  $\beta$ . Aunque sólo una minoría de pacientes con éste tipo de diabetes se encuentran en esta categoría, la mayoría son de ascendencia africana o asiática. Las personas

con esta forma de diabetes padecen episodios de cetoacidosis diabética y presentan diversos grados de deficiencia de insulina entre los episodios y es fuertemente heredada (Dabelea *et al*, 2014b).

### \*DIABETES TIPO 2 (DM2)

Anteriormente conocida como "diabetes no dependiente de insulina" o "diabetes de inicio en la edad adulta", representa el 90–95% de todos los casos de diabetes. Tanto inicialmente, y con frecuencia durante su vida, estas personas pueden no necesitar tratamiento con insulina para sobrevivir. Aunque se desconocen las causas específicas, no se produce la destrucción autoinmune de las células  $\beta$  y los pacientes carecen de otras causas conocidas de diabetes.

La cetoacidosis diabética rara vez ocurre espontáneamente; pero cuando se presenta, generalmente surge en asociación con otra enfermedad, como una infección o el uso de ciertos medicamentos. Este tipo de diabetes con frecuencia no se diagnostica durante muchos años porque la hiperglucemia se desarrolla gradualmente y en etapas más tempranas; a menudo, no es lo suficientemente grave como para que el paciente note los síntomas clásicos de la diabetes. Sin embargo, incluso los pacientes no diagnosticados tienen un mayor riesgo de desarrollar complicaciones macro y microvasculares (Kester *et al*, 2012).

A menudo se asocia con una fuerte predisposición genética o antecedentes familiares en primer grado, más que en la DM1. Sin embargo, la genética de la DM2 es poco conocida. En adultos sin factores de riesgo tradicionales para la DM2 y/o una edad más temprana, se consideran las pruebas de anticuerpos para excluir el diagnóstico de DM1, además en la última década, la incidencia y la prevalencia de la DM2 en adolescentes ha aumentado dramáticamente (Wu *et al*, 2013a).

### \*DIABETES MELLITUS GESTACIONAL (DMG)

Este tipo de diabetes conlleva riesgos para la madre, el feto y el neonato, aunque no todos los resultados adversos son de igual importancia. Su diagnóstico se puede lograr con una de dos estrategias (Metzger *et al*, 2008):

1. Enfoque de “un paso” de prueba de tolerancia oral a la glucosa de 75 g, o
2. Enfoque de “dos pasos” con una evaluación de 50 g (sin ayuno) seguida de una prueba de tolerancia oral a la glucosa de 100 g para aquellos que tienen un resultado positivo.

Los datos que comparan los resultados de toda la población con los enfoques de “un paso” en comparación con los de “dos pasos” han sido inconsistentes hasta la fecha (Wei *et al*, 2014; Feldman *et al*, 2016). Además, los embarazos complicados por DM según los criterios de La Asociación Internacional de Diabetes y Embarazo (IADPSG), pero no reconocidos como tales, tienen resultados comparables a los embarazos diagnosticados como DMG por los criterios de “dos pasos” más estrictos (Ethridge *et al*, 2014; Mayo *et al*, 2015).

#### **2.1.3 Tratamiento**

La diabetes es una enfermedad crónica y compleja, que requiere atención médica continua con estrategias de reducción de riesgos multifactoriales más allá del control glucémico. Existe evidencia significativa que respalda una gama de intervenciones para mejorar los resultados de la diabetes.

Para muchas personas con diabetes, la parte más difícil del plan de tratamiento es determinar qué comer y seguir un plan de comidas. No existe un patrón de alimentación único para personas con diabetes, y la planificación de las comidas debe ser individualizada. El control y la reducción de peso son importantes para las personas con DM1, DM2 o prediabetes que tienen sobrepeso u obesidad. Los programas de intervención en el estilo de vida deben ser intensivos y tener un seguimiento frecuente para lograr reducciones significativas en el exceso de peso

corporal y mejorar los indicadores clínicos. Existe evidencia sólida y consistente de que la pérdida de peso moderada y persistente puede retrasar la progresión de la prediabetes a la DM2 (MacLeod *et al*, 2017; Mudaliar *et al*, 2016; Balk *et al*, 2015) y es benéfica para el manejo de la DM2.

#### \*TERAPIA PARA DM1

Debido a que en la DM1 está casi o totalmente ausente la función de las células  $\beta$ , el tratamiento con insulina es esencial para estas personas. La falta de insulina no sólo causa hiperglucemia, sino también trastornos metabólicos sistemáticos como la hipertrigliceridemia y la cetoacidosis; así como, el catabolismo tisular. Los fármacos inyectables y orales que disminuyen la glucosa han sido estudiados por su eficacia como complemento del tratamiento con insulina de la DM1. Los estudios muestran reducciones variables de hemoglobina glicosilada (0–0,3%) y peso corporal (1-2 kg) con la adición de pramlintida al tratamiento con insulina (Ratner *et al*, 2004; Edelman *et al*, 2006). De manera similar, se han reportado resultados para varios medicamentos actualmente aprobados sólo para el tratamiento de la DM2. El uso de metformina e insulina en adultos con DM1 causa pequeñas reducciones en el peso corporal y los niveles de lípidos, pero no mejora la hemoglobina glicosilada (Meng *et al*, 2018; Petrie *et al*, 2017).

#### \*TERAPIA PARA DM2

Como terapia inicial, la metformina debe iniciarse en el momento en que se diagnostica DM2 a menos que haya contraindicaciones. Para la mayoría de los pacientes, se da monoterapia en combinación con modificaciones de estilo de vida. La metformina es efectiva, segura, económica y puede reducir el riesgo de eventos cardiovasculares y la muerte (Holman *et al*, 2008). La metformina está disponible en forma de liberación inmediata para dosis dos veces al día o de liberación prolongada que se puede administrar una vez. En comparación con las sulfonilureas, la metformina como tratamiento de primera línea tiene efectos beneficiosos sobre la hemoglobina glicosilada, el peso y la mortalidad por complicaciones cardiovasculares; hay pocos datos

sistemáticos disponibles para otros medicamentos orales como tratamiento inicial de DM2. Muchos pacientes con DM2 eventualmente requieren y se benefician del tratamiento con insulina.

#### \*TERAPIA PARA DMG; DM1 Y DM2 EN EMBARAZO

La prevalencia de la diabetes en el embarazo ha aumentado. La mayoría de los casos son de DMG, mientras que el resto principalmente tiene DM1 y DM2 preexistentes. El aumento de DMG, DM2 y obesidad en el mundo es motivo de especial preocupación. Tanto la DM1 como la DM2 en el embarazo confieren un riesgo materno y fetal significativamente mayor que la DMG, con algunas diferencias según el tipo de diabetes. En general, los riesgos específicos de la diabetes no controlada en el embarazo incluyen aborto espontáneo, anomalías fetales, preeclampsia, muerte fetal, macrosomía, hipoglucemia neonatal e hiperbilirrubinemia neonatal, entre otros. Además, la diabetes en el embarazo puede aumentar el riesgo de obesidad y desarrollo de DM2 en los hijos (Holmes *et al*, 2011; Dabelea *et al*, 2000).

La macrosomía fetal es la complicación más claramente asociada con la hiperglucemia materna. El manejo de los niveles de glucosa postprandial conlleva un menor riesgo de hipoglucemia neonatal, macrosomía y parto por cesárea en comparación con el manejo de los niveles de glucosa preprandial solos (DeVeciana *et al*, 1995).

La terapia médica nutricional para la DMG es un plan de nutrición individualizado desarrollado por la mujer y un dietista registrado que está familiarizado con el manejo de la DMG (Han *et al*, 2013). El plan alimenticio debe proporcionar una ingesta adecuada de calorías para promover la salud fetal, neonatal y materna, lograr objetivos glucémicos y promover una ganancia de peso gestacional adecuado. La insulina es el agente de primera línea recomendado para el tratamiento de la DMG, aunque los ensayos controlados aleatorios apoyan la eficacia limitada de la metformina (Rowan *et al*, 2008; Gui *et al*, 2013) y la glibenclamida (Langer *et al*, 2000) en la reducción de los niveles de glucosa en el tratamiento de la DMG; estos

agentes no se recomiendan como primera línea de tratamiento para la DMG porque se sabe que atraviesan la barrera placentaria y faltan datos sobre la seguridad en la descendencia (Committee on Practice Bulletins-Obstetrics, 2018). Se sabe que las sulfonilureas atraviesan la placenta y se han asociado con un aumento de la hipoglucemia neonatal. Las concentraciones de glibenclamida en el plasma del cordón umbilical son aproximadamente el 70% de los niveles maternos (Hebert *et al*, 2009; Malek y Davis, 2016). El uso de la metformina se asoció con un menor riesgo de hipoglucemia neonatal y menor incremento de peso materno, comparado con el de insulina en las revisiones sistemáticas (Balsells *et al*, 2015; Camelo-Castillo *et al*, 2015; Jiang *et al*, 2015); sin embargo, la metformina puede aumentar ligeramente el riesgo de prematuridad. La metformina atraviesa la placenta y sus niveles en el cordón umbilical son más altos que los niveles maternos simultáneamente (Vanky *et al*, 2005; Charles *et al*, 2006).

En conclusión, tanto las inyecciones diarias múltiples de insulina como la infusión subcutánea continua de insulina son estrategias de administración razonables, y ninguna ha demostrado ser superior durante el embarazo (Farrar *et al*, 2016).

Las mujeres con antecedentes de DMG tienen una predisposición mayor de desarrollar DM2 con el tiempo (Kim *et al*, 2002). El riesgo de padecer diabetes después de un historial de DMG es significativamente menor en las mujeres que siguen patrones de alimentación saludables (Tobias *et al*, 2012). El embarazo o el aumento de peso después del parto se asocian con una mayor posibilidad de resultados adversos en embarazos posteriores y un desarrollo más temprano de DM2 (Villamor y Cnattingius, 2006). Tanto la metformina como la intervención intensiva en el estilo de vida previenen o retrasan el desarrollo de diabetes en mujeres con prediabetes y antecedentes de DMG. De las mujeres con antecedentes de DMG y prediabetes, sólo 5 a 6 de ellas deben ser tratadas durante 3 años para prevenir un caso de diabetes (Ratner *et al*, 2008). En estas pacientes, el cambio en el estilo de vida y el uso metformina, durante 10 años, redujeron el

desarrollo de diabetes en un 35% y un 40%, respectivamente, en comparación con el placebo (Aroda *et al*, 2015).

### MANEJO DE LA DM1 PREEEXISTENTE Y DM2 EN EL EMBARAZO

La fisiología del embarazo requiere el análisis frecuente de la insulina para cumplir con los requisitos cambiantes y subraya la importancia del autocontrol diario y frecuente de la glucosa en sangre. A principios del primer trimestre, hay un aumento en la demanda de insulina, seguido de una disminución de ésta de las semanas 9 a 16 (García-Patterson *et al*, 2010). El embarazo es un estado cetogénico, y las mujeres con DM1 y, en menor medida, aquellas con DM2, tienen riesgo de cetoacidosis diabética con niveles de glucosa en sangre más bajos que cuando no hay embarazo (Chew *et al*, 1995).

La DM2 a menudo se asocia con la obesidad. El aumento de peso recomendado durante el embarazo para las mujeres con sobrepeso es de 7 a 11 kg y para las mujeres obesas es de 4.5 a 9 kg (Institute of Medicine and National Research Council, 2009). El control glucémico a menudo es más fácil de lograr en mujeres con DM2 que en aquellas con DM1, pero puede requerir dosis mucho más altas de insulina. Al igual que en la DM1, los requisitos de insulina disminuyen drásticamente después del parto. El riesgo de hipertensión y otras comorbilidades puede ser igual o más alto tanto en la DM2 como en la DM1, incluso si la diabetes está mejor controlada y tiene una duración aparente más corta (Clausen *et al*, 2005; Cundy *et al*, 2007). Debido a que la DMG puede representar DM2 o incluso DM1 preexistente no diagnosticada, las mujeres con DMG deben someterse a una prueba de diabetes persistente o prediabetes de las 4 a 12 semanas después del parto, mediante una prueba de tolerancia a la glucosa oral de 75 g que utilice los criterios de no embarazo.

## 2.2 MODELOS DE DIABETES EXPERIMENTAL

El uso de algunos modelos animales representa grandes ventajas para la investigación científica, ya que se puede disponer de varias generaciones en un periodo relativamente corto (Andrews *et al*, 1979; Wolf, 1976). Existen numerosos modelos biológicos en animales que reproducen varias de las manifestaciones clínicas de la diabetes humana mediante diversos métodos.

### A) DIABETES ESPONTÁNEA

Se trata de estirpes que se mantienen relativamente inalteradas mediante cruces endogámicos y que proceden de un animal en el que se ha detectado diabetes espontánea, o bien de una serie de cruces selectivos favoreciendo un determinado rasgo fenotípico de la DM2 humana. A veces no son totalmente “espontáneos”, en el sentido de que se requieren modificaciones dietéticas adicionales para generar la diabetes (Arias-Díaz y Balibrea, 2007).

#### 1. *Animales no obesos*

La rata BioBreeding (BB) fue descubierta como una mutación espontánea de la cepa Wistar. Aproximadamente en el 30% de estos animales desarrollan un síndrome agudo de hiperglucemia (niveles de 250-750 mg/dL), hipoinsulinemia (<1 mg/mL) y cetoacidosis; en otro 30%, se presenta intolerancia a la glucosa sin progresión a cetosis. En animales muy jóvenes o muy viejos de esta cepa, rara vez se desarrolla el síndrome de la diabetes. Esta enfermedad afecta con igual frecuencia a ambos sexos y su incidencia se ve incrementada con la consanguinidad (Andrews *et al*, 1979; Mordes *et al*, 1981).

El estrés produce hiperglucemia y glucosuria (presencia de glucosa en la orina) en el hombre y los animales. Este síndrome es denominado glucosuria emocional; hámsters chinos sometidos a estrés continuo desarrollaron glucosuria persistente por varias semanas aun después de retirar el estímulo (Reid, 1981).

## 2. Animales obesos

Los síndromes de hiperglucemia, hiperinsulinemia y obesidad son comunes en roedores de laboratorio. En general, tienden a ser obesos y presentan reversión espontánea de la diabetes (Stauffer *et al*, 1976; Gerristen *et al*, 1976).

En 1949, fue descubierto el ratón obeso (ob) como una mutación espontánea autosómica recesiva (Mordes *et al*, 1981). El C57BL/6j (ob/ob) es ligeramente hiperglucémico, hiperinsulinémico y notablemente obeso. Poco a poco retornan a la normoglucemia a pesar de la persistencia de la obesidad. Los receptores de insulina están disminuidos en las células renales, hepáticas y adiposas, así como en los linfocitos. En estas cepas de ratones el síndrome diabético es trifásico. La primera fase se caracteriza por hiperglucemia, hiperinsulinemia y aumento en el peso. En la segunda, hay mejoría en glucosa y decremento de la insulina plasmática. En la fase final, los animales permanecen obesos, pero normoglucémicos y normoinsulinémicos. Metabólicamente, los tejidos adiposo y hepático muestran aumento en la lipogénesis (síntesis de ácidos grasos de cadena larga). Los niveles de glucocorticoides están elevados, pero ni la adrenalectomía ni la hipofisectomía pueden revertir completamente el síndrome (Molina *et al*, 1984; Reich *et al*, 1989).

El ratón diabético (db) es otro animal con una mutación autosómica recesiva descubierta en el ratón C57BL/ksj. El patrón de liberación de insulina varía con la edad y el grado de tolerancia a la glucosa. En animales jóvenes, la cinética en la liberación de insulina es normal y manifiesta una elevación rápida en la fase inicial, seguida por una fase secundaria hiperglucémica bien definida. La primera alteración que se detecta es la hiperinsulinemia, acompañada por hipoglucemia ligera. Alrededor de las cuatro semanas de edad, los animales están hiperglucémicos, hiperinsulinémicos, hiperfágicos y obesos, pero conforme avanza la edad se vuelven hiperglucémicos e

hipoinsulinémicos, pierden peso y casi siempre mueren (Andrews *et al*, 1979).

El ratón amarillo (AY) fue descubierto en el siglo XIX. El gene A es letal cuando se presenta la homocigosis. Todos se caracterizan por una intolerancia a la glucosa ligera y obesidad.

El ratón japonés KK es ligeramente obeso, hiperglucémico e hiperinsulinémico. Dos variantes interesantes de este roedor son el Toronto-KK y el Amarillo-KK; ambos presentan hiperglucemia máxima entre los cuatro y los nueve meses de edad, pero, al año, sus niveles de glucosa sanguínea e insulina plasmática están en valores normales (Stauffer *et al*, 1976; Molina *et al*, 1984).

En el ratón NZO (Nueva Zelanda obeso), los niveles basales de insulina plasmática están elevados, aunque la liberación inicial de la hormona inducida por glucosa puede estar disminuida; en la fase tardía, las concentraciones aumentan significativamente. La hiperglucemia no es severa y alcanza un nivel máximo de 250 mg/dL entre los cuatro y seis meses de edad (Reid, 1981).

Otros roedores diabéticos obesos, todos caracterizados por hiperinsulinemia, son el PBB/Ld y el hámster sirio.

Las ratas Zuckery BHE son obesas e hiperinsulinémicas, mas no hiperglucémicas (Reich *et al*, 1989; Tze y Tai, 1984).

## B) DIABETES INDUCIDA

El uso de agentes químicos para producir diabetes, permite realizar estudios detallados de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren durante y después de la inducción del estado diabético (Rerup, 1970). Existen varias clases de agentes químicos. Los agentes más utilizados son la aloxana y la estreptozotocina. Estos compuestos en dosis diabetogénicas actúan específicamente sobre las células  $\beta$  (Brosky y Logothetopoulos, 1968). Sólo

en el hámster chino se ha observado que la estreptozotocina puede dañar a las células  $\alpha$  además de las  $\beta$  (Hermansen, 1981). Otros compuestos empleados por su acción diabetogénica son el ácido caproico, derivados del ácido ascórbico, alfa-dipiridil, ácido 5-hidroxisseudoúrico, ácido picrolónico, derivados de la aloxana (aloxantina) (Koref *et al*, 1944), derivados del xantato de potasio (Kadota y Midorikawa, 1951), clorhidrato de hidrouracilo, dietiltiocarbamato de sodio, ditiocarbamato de amonio, 2-hidroxiquinolina (Root y Chen, 1952), tiourea (Dominis *et al*, 1984) y triamcinolona, entre otros. Algunos de éstos poseen un mecanismo de acción similar al de la aloxana, induciendo diabetes o síndromes hiperglucémicos reversibles, según sea el caso (Grunert y Phillips, 1951).

#### \*Estreptozotocina

La estreptozotocina (STZ) se ha reportado y usado como inductor de DM en distintos modelos animales. La STZ causa toxicidad en las células  $\beta$  al alterar el DNA, principalmente, y también por otros mecanismos. Uno de estos es por la activación de la enzima poli-ADP-ribosa polimerasa, que probablemente sea más importante para la inducción de la DM que el daño al DNA. La STZ es similar a la glucosa en la forma en que es transportada a las células  $\beta$  por la proteína de transporte de glucosa GLUT2; pero no es reconocida por los otros transportadores de glucosa. Las células  $\beta$  tienen niveles relativamente altos de GLUT2. Por lo tanto, esto explica la toxicidad específica de STZ para las células  $\beta$  (Sakata *et al*, 2012).

La acción de la STZ en las células  $\beta$  se acompaña de alteraciones características de los niveles de insulina en la sangre y la glicemia. Dos horas después de la inyección, aumentan los niveles de glucosa y disminuyen los de insulina en sangre. Aproximadamente seis horas después, se presenta hipoglucemia con altos niveles de insulina en la sangre. A partir de las 12 horas de administración, se vuelve a presentar hiperglucemia la cual ya es permanente y disminuyen los niveles de insulina en la sangre. Estos cambios de glucosa en sangre y las concentraciones de insulina

reflejan anomalías en la función de las células  $\beta$ . La STZ altera la oxidación de la glucosa y disminuye la biosíntesis y la secreción de insulina (Szkudelski, 2001).

Analizando detalladamente el mecanismo molecular de la acción de la STZ se conoce que la transferencia del grupo metilo de la STZ a la molécula de DNA causa daños, lo que, a lo largo de una cadena de eventos definida, resulta en la fragmentación del DNA. La glicosilación de proteínas puede ser un factor dañino adicional. En el intento de reparar el DNA, la poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP) se sobreestimula. Esto disminuye el  $\text{NAD}^+$  celular, y posteriormente las reservas de ATP. El agotamiento de las reservas de energía celular en última instancia resulta en necrosis de células  $\beta$ . Aunque la estreptozotocina también metila proteínas, la metilación del DNA es en última instancia responsable de la muerte de las células  $\beta$ , pero es probable que la metilación de la proteína contribuya a los defectos funcionales de las células  $\beta$  después de la exposición a la estreptozotocina (Lenzen, 2008).

#### \*Influencia del sexo

Se informa que en la mayoría de las ratas hay una diferencia significativa entre machos y hembras en relación con la incidencia, evolución y severidad del síndrome diabético. En los ratones la proporción es de 85% en hembras y 15% en machos. En el hámster, afecta de preferencia a los machos (Wolf, 1976). En las ratas hay una marcada diferencia en la manifestación del síndrome diabético cuando se elimina el 95% del páncreas. En los machos la enfermedad se presenta en una proporción mayor que en las hembras. La resistencia de éstas, al parecer se relaciona con la producción de estradiol, porque las ratas a las que se les retiran los ovarios son menos resistentes a la aloxana (Foglia, 1946).

Existen multitud de modelos experimentales potencialmente útiles para el estudio de los diversos aspectos de la DM humana. La decisión acerca del modelo a usar para un experimento en particular es a menudo multifactorial. De modo ideal, los experimentos deberían ser llevados a cabo en varios

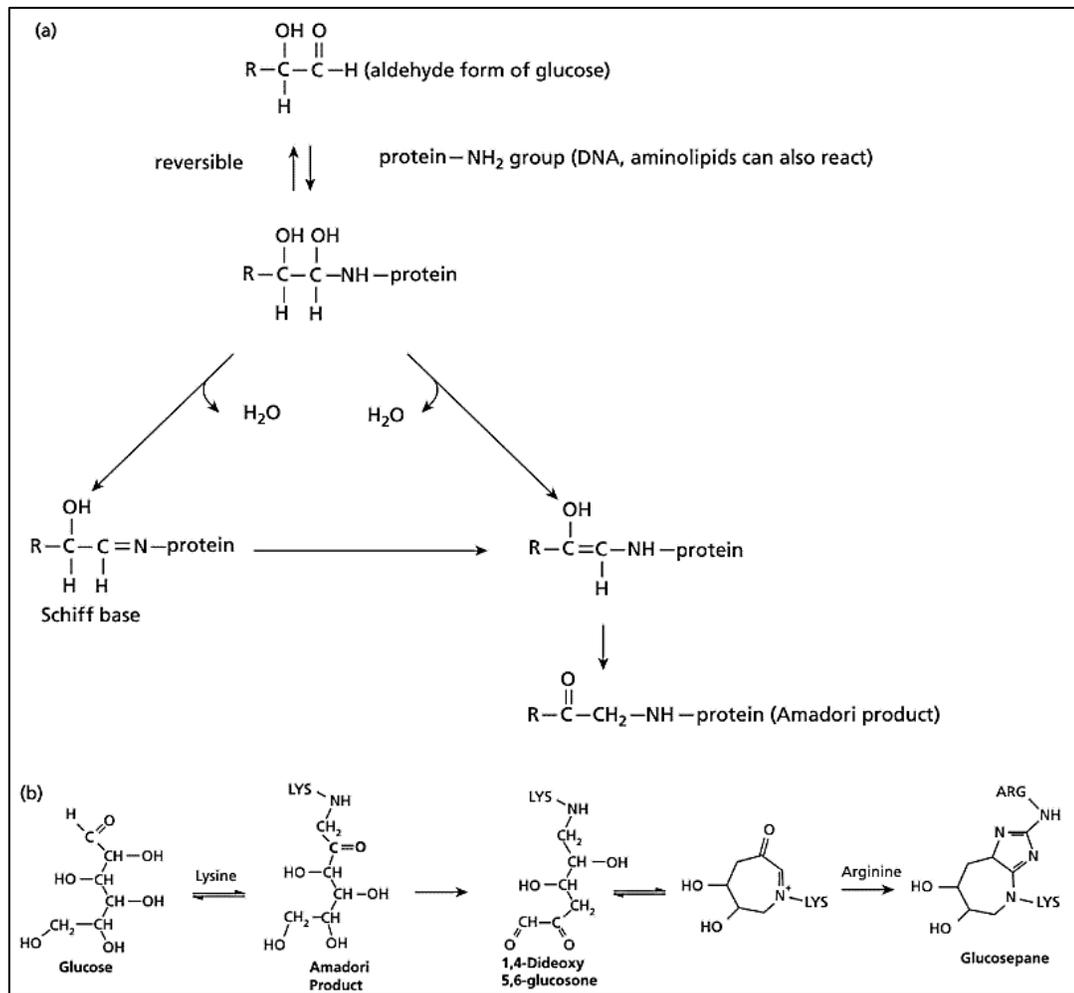
modelos diferentes, aunque en la práctica los grupos de investigación tienden a acumular experiencia con una cepa determinada. En cualquier caso, es necesario comprender que, en general, un modelo animal a lo más que puede aspirar es a representar un aspecto o subtipo de DM humana, y que, por tanto, hay que extremar las precauciones a la hora de hacer cualquier tipo de extrapolación a la clínica (Arias-Díaz y Balibrea, 2007).

### **2.3 ESTRÉS OXIDATIVO Y EMBRIOPATÍA DIABÉTICA**

La hiperglicemia, característica del estado diabético, se ha descrito como el principal teratógeno en el desarrollo embrionario, debido a un mecanismo que involucra el aumento del estrés oxidativo. Éste se define como un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la capacidad de desintoxicar los reactivos intermedios o reparar el daño resultante. Las ROS pueden dañar todos los componentes de la célula, incluidos las proteínas, los lípidos y el ADN. Algunas ROS actúan como mensajeros celulares en la señalización redox y, por lo tanto, un estado de estrés oxidativo puede alterar la señalización celular normal. Las ROS se producen a través de múltiples mecanismos; por ejemplo, por las enzimas NADPH oxidasa (NOX) y en las mitocondrias donde aproximadamente 1% a 2% de los electrones que pasan a través de la cadena transportadora de electrones se reducen de forma incompleta y dan lugar al radical superóxido ( $\cdot\text{O}_2^-$ ). La ROS con la capacidad más alta para causar daño celular es el radical hidroxilo que, una vez formado, altera el DNA, RNA, proteínas, lípidos y carbohidratos, sin ser eliminado por ningún sistema enzimático (Eriksson y Wentzel, 2015).

Los principales efectos bioquímicos de la hiperglicemia, que caracteriza a la DM, son la glicación y la reacción de Maillard. En este sentido, inicialmente se produce una reacción entre la glucosa y las proteínas formando una base de Schiff, cuya estructura se reordena a una forma más estable conocida como producto de Amadori; éste sufre una serie de complejas transformaciones que llevan a la formación de los productos finales de

glicosilación avanzada (AGEs), (Figura 1) los cuales favorecen al estrés oxidativo (Valdéz-Penagos y Mendoza-Núñez 2004). Se ha postulado que el proceso bioquímico de la formación de los AGEs, que se acelera en la diabetes como resultado de la hiperglucemia crónica y el aumento del estrés oxidativo, desempeña un papel central en el desarrollo de complicaciones diabéticas (Goh y Cooper *et al*, 2008). Se sabe que los AGEs aceleran el daño oxidativo a las células en un entorno diabético. Bajo estrés oxidativo debido a la hiperglucemia en pacientes con diabetes, la formación de AGEs aumenta más allá de los niveles normales.



**Figura 1. Formación de AGEs.** (a) Reacción de la glucosa con proteínas (otros azúcares reductores pueden reaccionar de manera similar) para generar productos finales de la glicosilación avanzada. (b) Formación del glucosepano (un complejo reticulado de arginina/lisina) a partir de la glucosa. (Halliwell & Gutteridge, 2015).

Durante el embarazo, si la diabetes no se controla de forma adecuada, aumenta el riesgo de muerte fetal y otras complicaciones. A pesar de los mayores esfuerzos clínicos para mejorar el control glucémico durante el embarazo diabético, la tasa de malformaciones congénitas sigue aumentando en los estudios de gestación complicada con DM1 (Mølsted-Pedersen *et al*, 1964) y DM2 (Verheijen *et al*, 2005). Se ha encontrado que la tasa de malformación en el embarazo con DM1 no difirió de la del embarazo con DM2 (Balsells *et al*, 2009; Gizzo *et al*, 2013), y se estimó que ambas tasas estaban en torno al 5%-6%. Las tasas similares de malformación pueden relacionarse con la mayor edad y la adiposidad concomitante en mujeres con DM2, las cuales pueden aumentar la incidencia de malformación en este grupo (Blomberg y Kallen, 2010).

La razón biológica en la célula que da como resultado el efecto teratogénico del estado diabético no se conoce. Sin embargo, tanto los factores ambientales (estado diabético materno y las condiciones intrauterinas) como la predisposición genética parecen ser importantes en la embriopatía diabética, es decir, es un caso de interacción entre el entorno y los genes. Es probable que las malformaciones congénitas se induzcan en la gestación temprana (Mills *et al*, 1979), y el riesgo de dar a luz a un niño con una malformación aumenta con el aumento de la desregulación metabólica materna (Miller *et al*, 1981).

En apoyo a la idea de que el mecanismo mediante el cual la hiperglicemia es el principal teratógeno y las ROS son sus mediadores, se ha logrado prevenir o reducir la frecuencia y severidad de las malformaciones reportadas en diabetes experimental mediante la administración *in vivo* de diferentes antioxidantes, tales como vitamina C y/o E, alfa-tocoferol, ácido lipoico, butilhidroxitolueno, resveratrol, N-acetil cisteína, entre otros. También se ha demostrado que las poliaminas putrescina, espermina y espermidina administradas a partir del día cinco de gestación, pueden prevenir las reabsorciones y los efectos embriotóxicos causados por DM inducida por aloxana (Méndez y Palomar, 1999).

## **2.4 GLICINA**

El químico francés H. Braconnot fue el primero en aislar la glicina de los hidrolizados ácidos de proteína en 1820 (Wang *et al*, 2013). El sabor de este aminoácido es dulce como la glucosa, debido a su naturaleza, y su nombre deriva de la palabra griega "glykys". Se produce por hidrólisis alcalina de carne y gelatina con hidróxido de potasio. Cahours la sintetizó químicamente a partir de ácido monocloroacético y amoníaco y estableció su estructura (Wu *et al*, 2013b). La glicina es el aminoácido más simple sin configuración química L o D. Las proteínas estructurales extracelulares como la elastina y el colágeno están formadas por ella en abundancia. Para los mamíferos como los cerdos, roedores y seres humanos, la glicina es un aminoácido nutricional no esencial. Pero algunos de los informes indican que la cantidad de ésta producida *in vivo* en cerdos, roedores y seres humanos no es adecuada para la actividad metabólica de los mismos (Wu, 2010). La escasez de glicina en pequeñas cantidades no es perjudicial para la salud, pero la escasez grave puede llevar al fracaso de la respuesta inmune, al bajo crecimiento, al metabolismo anormal de los nutrientes y a efectos indeseables en la salud. Por lo tanto, se le considera como un aminoácido condicionalmente esencial en los humanos y otros mamíferos para mejorar el buen crecimiento. En el caso de las aves, la glicina es un requisito esencial para el crecimiento neonatal y fetal, ya que los neonatos y los fetos no pueden producirla adecuadamente para cumplir con las actividades metabólicas requeridas (Wu, 2010).

### **2.4.1 Importancia de la glicina**

La glicina se utiliza en el organismo para sintetizar gran número de sustancias; por ejemplo, el grupo C<sub>2</sub>N de todas las purinas se consigue gracias a esta; además este aminoácido es necesario para la síntesis de colágeno. La DL<sub>50</sub> es de 7930 mg/kg en ratas (vía oral) (Nestler *et al*, 2001). Diversos estudios han demostrado que la glicina aminora los daños al paciente diabético. Algunas de las investigaciones isotópicas y nutricionales

afirmaron que esta se sintetiza en cerdos, humanos y otros mamíferos (Balleve *et al*, 1990) a partir de la treonina (a través de la vía de la treonina deshidrogenasa), la colina (a través de la formación de sarcosina) y la serina (a través de la serina hidroximetiltransferasa). De los estudios recientes se afirmó que la hidroxiprolina y el glioxilato son sustratos para la síntesis de glicina en humanos y mamíferos (Wu *et al*, 2011; Meléndez-Hevia *et al*, 2009).

Tiene funciones muy importantes en el metabolismo y la nutrición de muchos mamíferos y seres humanos. Del contenido total de aminoácidos en el cuerpo humano, el 11,5% está representado por glicina y el 20% del nitrógeno total de aminoácidos en las proteínas corporales proviene de la misma. Generalmente para el crecimiento del cuerpo humano o para otros mamíferos, el 80% de la glicina del cuerpo entero se usa para la síntesis de proteínas. En el colágeno, se encuentra en cada tercera posición y los residuos de glicina forman la triple hélice del colágeno. La flexibilidad de los sitios activos en las enzimas es proporcionada por este aminoácido (Yan y Sun Qing, 1997). En el sistema nervioso central, desempeña un papel crucial como neurotransmisor, ya que controla la ingesta de alimentos, el comportamiento y la homeostasis completa del cuerpo (Rajendra *et al*, 1997). También regula la función inmune, la producción de superóxido y la síntesis de citocinas mediante la alteración de los niveles intracelulares de  $Ca^{2+}$ . La conjugación de ácidos biliares en humanos y cerdos es facilitada por la glicina; por lo tanto, juega indirectamente un papel crucial en la absorción y digestión de las vitaminas liposolubles y los lípidos. El RNA, el DNA, la creatina, la serina y el grupo hemo se generan por varias vías que la utilizan.

Colectivamente, la glicina tiene una función crucial en la citoprotección, la respuesta inmune, el crecimiento, el desarrollo, el metabolismo y la supervivencia de los humanos y muchos otros mamíferos (Zhong *et al*, 2003).

La suplementación oral de glicina a la dosis adecuada es muy eficaz para disminuir varios trastornos metabólicos en personas con enfermedades cardiovasculares, diversas enfermedades inflamatorias, cáncer, diabetes y obesidad. Se necesitan más investigaciones para explorar su papel en las enfermedades en las que intervienen las citoquinas proinflamatorias, la reperfusión o la isquemia y los radicales libres. Los mecanismos de protección de la glicina deben explicarse por completo y tomarse las precauciones necesarias para una ingesta y dosis seguras. Este aminoácido tiene un enorme potencial para mejorar la salud, el crecimiento y el bienestar de los seres humanos y los animales (Razak *et al*, 2017).

#### **2.4.2 Metabolismo**

En cerdos jóvenes, casi el 30% de la glicina suministrada a través de la dieta se metaboliza en el intestino delgado. Varios tipos de cepas bacterianas presentes en el lumen del intestino son responsables de la degradación (Dai *et al*, 2010, 2011, 2012). La degradación de la glicina en humanos y mamíferos se realiza a través de tres vías: 1) La D-aminoácido oxidasa, que convierte la glicina en glioxilato; 2) La serina hidroximetiltransferasa, que convierte la glicina en serina; y 3) la desaminación y descarboxilación por el sistema de enzima de escisión de glicina (Thureen *et al*, 1995). En cultivos primarios de hepatocitos de ovinos fetales de gestación media, casi el 30-50% de la glicina extracelular se utiliza para la biosíntesis de serina (Lamers *et al*, 2007; Shoham *et al*, 2001).

Diferentes factores, como la cinética enzimática y la concentración intracelular de productos y sustratos, inician el sistema enzimático de escisión de glicina. El sistema de escisión de glicina mitocondrial está muy presente en muchos mamíferos y seres humanos; es la principal enzima para la degradación de la glicina en sus cuerpos (Kikuchi *et al*, 2008). Pero esta enzima no está presente en las neuronas. El sistema de escisión de glicina mitocondrial cataliza la interconversión de la glicina en serina y requiere N5-N10-metilen tetrahidrofolato o tetrahidrofolato (Dos Santos *et al*, 2001; Kawai

*et al*, 2015). La ausencia del sistema de escisión de glicina mitocondrial causa, en los seres humanos, encefalopatía por glicina y niveles muy altos de glicina plasmática. Después de la fenilcetonuria, la encefalopatía por glicina es el error innato más frecuente del metabolismo de los aminoácidos (Conter *et al*, 2006). La acidosis metabólica, las dietas ricas en proteínas y el glucagón aumentan la degradación de la glicina y la actividad del sistema de escisión hepática de la glicina en diferentes mamíferos. Pero en el caso de los humanos, el alto nivel de ácidos grasos en el plasma suprime la cantidad de glicina y no parece influir en la oxidación de ésta (Dasarathy *et al*, 2009).

### 3. ANTECEDENTES

En 1995, Carvajal-Sandoval y colaboradores evaluaron la inhibición de la glicación de la hemoglobina en la DM; describieron que, después de dos meses de inducir la diabetes experimental tipo I en ratas Wistar, la hemoglobina glicosilada aumentó de 2.89 a 4.2%, mientras que las ratas diabéticas que tomaron glicina (1%) *ad libitum* presentaron un valor de 2.9%. Al realizar el mismo experimento en 38 pacientes diabéticos tipo I y II, se encontró que todos presentaron una disminución del 4.5% en los valores de hemoglobina glicosilada; además de mejoría en los síntomas de la enfermedad como cansancio, somnolencia, neuropatías periféricas, entre otros. Se reportó un único caso que después de 9 meses del tratamiento con glicina disminuyó de 21.9% de hemoglobina glicosilada a 6.0%, lo cual indicó que el paciente se volvió euglicémico y presentó también curvas de resistencia a la glucosa, niveles de insulina y de péptido C normales. Con lo anterior, concluyeron que la glicina mejoró el estado general del paciente diabético; por lo que, su uso ayuda a restablecer la función de las proteínas, dependiendo de su recambio, lo cual mejoraría la calidad de vida de los mismos.

Por su parte Alvarado-Vásquez y colaboradores, en el 2003, evaluaron el efecto de la glicina en ratas diabetizadas por estreptozotocina (STZ). Las ratas fueron divididas en dos grupos, uno fue tratado con glicina (1%) y taurina (0.5%), que fueron administradas en el agua de consumo. Se realizaron análisis de hemoglobina glicosilada en sangre y determinación de las concentraciones de glucosa, colesterol y triglicéridos. Las ratas diabéticas tratadas con glicina al 1% y taurina al 0.5% *ad libitum* mostraron una disminución significativa de la concentración de glucosa en plasma después de 5 meses de tratamiento. Las observaciones al microscopio del páncreas de todas las ratas diabéticas revelaron atrofia en los islotes pancreáticos, necrosis pancreática y vascularización de las células  $\beta$ . Los análisis histológicos de los riñones mostraron glomeruloesclerosis difusa en el 80%

de los glomérulos de las ratas diabéticas sin el tratamiento con aminoácidos; mientras que las ratas tratadas con glicina o taurina presentaban un 60%.

El y colaboradores, en el 2004, estudiaron que la ingesta de glicina disminuye los niveles de ácidos grasos libres en plasma, el tamaño de las células adiposas y la presión sanguínea en las ratas alimentadas con sacarosa, y llegaron a la conclusión de que sus hallazgos implican que la protección de la glicina contra la presión sanguínea elevada podría atribuirse a su efecto en el aumento de la oxidación de ácidos grasos, la reducción de la acumulación de grasa intraabdominal y la circulación de ácidos grasos no esterificados, que se han propuesto como vínculos entre la obesidad y la hipertensión.

Martínez-Angoa y colaboradores, en el 2006, obtuvieron, como resultados de su investigación, que la administración de glicina al 2% durante el periodo gestacional tiene un efecto de protección parcial sobre la teratogénesis inducida por ácido retinoico, ya que disminuye la frecuencia de exencefalia, protrusión de la lengua, anoftalmia, acrania y micrognathia; así como, costillas y vértebras lumbares adicionales.

También, Alvarado-Vásquez y colaboradores, en el 2006, evaluaron la capacidad de la glicina (1% p/v, 130 mM) para atenuar las complicaciones diabéticas en ratas Wistar inducidas con estreptozotocina (STZ) y se comparó con ratas diabéticas con y sin tratamiento de taurina (0,5% p/v, 40 mM). Las ratas diabéticas tratadas con glicina mostraron una importante disminución en el porcentaje de animales con opacidad en el cristalino, así como microaneurismas en los ojos y tuvieron una pérdida de peso corporal menos intensa en comparación con los animales no tratados. Sus resultados sugieren que la administración de glicina atenúa las complicaciones diabéticas, probablemente debido a la inhibición del proceso de glicación de proteínas.

Por último, en el 2007, el Carvajal-Sandoval y colaboradores estudiaron la prevención de los daños producidos por la diabetes y la senescencia, ya que ambos son consecuencia de la glicación de proteínas que conduce a la formación de una variedad de productos avanzados de la glicación, conocidos como AGEs. Las ratas Wistar fueron diabetizadas con estreptozotocina (60 mg/Kg) y se administró glicina al 1% *ad libitum*; se observó que el aminoácido corrigió la neuropatía diabética y hubo mejoría de la inmunidad humoral. Se llegó a la conclusión de que la glicina evita la glicación de proteínas y por ende disminuye las molestias generales de la diabetes.

#### **4. JUSTIFICACIÓN**

El aumento y prevalencia de los distintos tipos de DM representa un problema de salud pública y de preocupación gubernamental, sobre todo los casos de DM complicada con el embarazo; ya que, la progenie se puede ver afectada debido a la glicación de proteínas y la generación de AGEs que promueven el estrés oxidativo. Por lo anterior, es necesario buscar y/o desarrollar nuevos tratamientos para dicha enfermedad. En estudios anteriores, se ha visto que sustancias como las poliaminas, vitaminas y ciertos extractos vegetales reducen la frecuencia y severidad de las malformaciones en modelos de embriopatía diabética. Por otra parte, se ha demostrado que la glicina inhibe la glicación de proteínas y reduce el estrés oxidativo presentes en la DM. Se ha relacionado al último con el desarrollo de malformaciones durante la gestación. Por lo anterior, se esperaría que el uso de este aminoácido pudiera tener un efecto protector en el desarrollo embrionario durante la gestación en organismos diabéticos.

## **5.- HIPÓTESIS**

Se ha demostrado que la glicina inhibe la glicación de proteínas, la producción de AGEs y el estrés oxidativo en pacientes con DM y en modelos experimentales, por lo que se espera que su administración reducirá los defectos que la embriopatía daibética causa sobre el desarrollo.

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1 General:**

Evaluar el efecto protector de la glicina en un modelo de embriopatía diabética.

### **6.2 Particulares:**

- 1) Demostrar si el consumo de la glicina tiene efectos benéficos sobre la madre y los fetos, utilizando un modelo animal de DM1 complicada con gestación.
- 2) Estudiar la actividad de las principales enzimas antioxidantes para determinar si la glicina ayuda contra el estrés oxidativo presente en condiciones de diabetes complicada con embarazo.
- 3) Determinar si el uso de glicina disminuye los valores sanguíneos de glucosa, colesterol y triglicéridos en madres diabeticas gestantes.

## **7. MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizaron 20 ratas Wistar hembras, adultas, de 250-350 g, que fueron proporcionadas por el Bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Los organismos se mantuvieron en condiciones controladas con temperatura de 22 °C, humedad al 25%, fotoperiodo de 12h luz y 12h oscuridad, alimento marca Enviro S2018 y agua a libre acceso.

### **7.1 Apareamiento**

Las ratas hembras fueron apareadas con machos sanos de la misma cepa, por el método de trío, es decir, dos hembras por un macho en la misma jaula durante toda la noche. Al día siguiente, alrededor de las 9 am, se realizó un frotis vaginal y la presencia de espermatozoides se consideró como el día 0 de gestación.

### **7.2 Inducción de diabetes**

Los organismos se dividieron al azar en 4 grupos: control (GC), control con glicina (GCGLY), diabético con glicina (GDGLY) y diabético (GD). Al día 4 de gestación se les aplicó una dosis intraperitoneal de 50 mg/Kg de STZ para inducir la diabetes a los grupos diabéticos y a los grupos controles se les inyectó amortiguador de citratos. (Trejo-González *et al.* 2015).

### **7.3 Administración del tratamiento**

La glicina (Gly) se obtuvo comercialmente (Droguería Cosmopolita) y se administró *ad libitum* una solución al 2% en bebederos de 500 mL del día 5 al día 19 de gestación. El contenido se cambió cada tercer día. Se manejaron 3 ratas por caja, por lo tanto, se estima que cada rata consumió 55.55mL al día durante el periodo experimental.

### **7.4 Obtención de muestras**

Después de 19 días de gestación, las ratas fueron sacrificadas con una dosis letal de 60 mg/Kg de pentobarbital, y antes de la muerte, pero durante la

inconsciencia, se obtuvo por punción cardiaca la mayor cantidad de sangre materna, la cual se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos para obtener suero, el cual se transfirió con una pipeta Pasteur a tubos Eppendorf de 1.5 y 2.0 mL, y luego se guardó en congelación. Se tomó un fragmento de hígado materno de aproximadamente 1 g para homogeneizarlo en 5 mL de solución salina, y se colocó en un tubo de 5 mL, el cual se guardó en congelación; otro fragmento de hígado se fijó en formol al 10%, además, se extrajo un riñón por cada organismo, que también se fijó en formol al 10%.

Se extrajo todo el útero y los ovarios por laparotomía. Los ovarios se separaron del útero y se fijaron en formol al 10%. Posteriormente el útero se colocó en una caja Petri sobre hielo para luego abrir el útero e ir obteniendo uno por uno a los fetos. También se obtuvo hígado, de dos fetos por camada, uno para homogeneizarlo con 2.0 mL de solución salina que se pasó en un tubo Eppendorf de 1.5 y 2.0 mL, y luego se guardó en congelador; y el otro hígado se fijó en formol al 10%; además, se extrajo corazón y cerebro, los cuales fueron fijados en formol al 10%.

### **7.5 Análisis bioquímico**

Las muestras de suero sanguíneo fueron descongeladas a temperatura ambiente y se determinaron los valores de glucosa (Spinreact REF14101), colesterol (EliTech CHSL-5505) y triglicéridos (EliTech TGML-5414). También se cuantificó la actividad de las enzimas catalasa (CAT) por el método de Aebi (1983), glutatión-S-transferasa (GST) por la técnica de Tsuchida (1999), glutatión peroxidasa (GPx) por el procedimiento de Paglia y Valentine (1967), superóxido dismutasa (SOD) por el método de Beauchamp y Fridovich (1971), y la prueba de Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) descrita por Ohkawa *et al* (1979); la actividad de las enzimas y la cantidad de MDA producido se relacionaron con la cantidad de proteínas, determinadas por el método de Lowry *et al.* (1951). La actividad de dichas enzimas también se midió en los homogeneizados de hígado materno

y fetal, cuyas muestras fueron de igual manera descongeladas a temperatura ambiente.

### **7.6 Análisis morfométrico**

Se registró el peso materno en balanza para animales los días 4 y 19 para calcular la ganancia de peso en los distintos grupos.

Los fetos fueron pesados tres veces en balanza semianalítica, el primer pesaje fue completo, así como se obtuvo del útero, el segundo sin la placenta y el tercero sin corión ni amnios. El tercer pesaje fue el que se considero como el peso final; luego fueron medidos con vernier para registrar la talla en centímetros. Se calculó el porcentaje de reabsorciones y el tamaño de la camada. Los fetos se fijaron en solución Bouin para realizar cortes anatómicos por el método modificado de Wilson (Barrow y Taylor, 1969); pero, a los fetos que se les extrajo el hígado, corazón y cerebro fueron fijados en formol al 10% así como las reabsorciones. Además, se registró el porcentaje de malformaciones externas e internas.

### **7.7 Análisis histológico**

Se analizó por medio de técnica histológica el hígado, corazón y cerebro fetal, y riñón e hígado materno. Estos órganos primero fueron fijados en formol, luego se deshidrataron, aclararon, y embebieron, y después se incluyeron en parafina; posteriormente se realizaron cortes de 5 - 6  $\mu\text{m}$  en microtomo de rotación de la marca Leica modelo RM2125 RTS. Los cortes fueron montados en portaobjetos de vidrio, y por último se tiñeron por la técnica de tinción de Hematoxilina y Eosina (H-E) el hígado y el corazón fetal, y con la técnica de ácido periódico-*Schiff* (PAS) el cerebro fetal. En el caso de riñón e hígado materno se realizó el mismo proceso histológico y se tiñó el tejido por medio de la técnica de tinción de H-E. Todos los cortes fueron montados con balsámico de Canadá y cubreobjetos largos.

### **7.8 Análisis estadístico**

Los resultados fueron analizados por medio de un ANOVA de dos factores con un nivel de confianza del 0.05 en el paquete estadístico Statistic V10 Enterprise.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 PESO MATERNO

En cuanto al peso materno, el GD tuvo el menor aumento de peso (62.72 g) con respecto al GC (102 g). En el caso del GDGLY la ganancia (86.2 g) fue mayor que el GD, pero menor que el GC. El GCGLY tuvo un valor similar (87.6 g) al GDGLY (Figura 2).

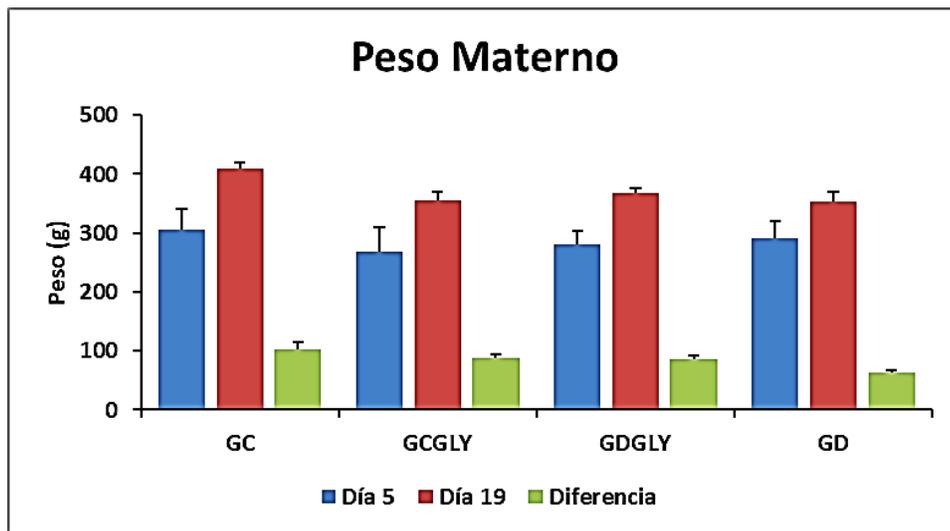


Figura 2. Ganancia de peso total, del día 5 al 19 de gestación.

### 8.2 FETOS

#### Morfología general

Hubo una disminución importante en la talla y el peso de los fetos del GD con respecto al GC. El grupo tratado con glicina presentó mayor valor de talla y peso fetal con respecto al GD, siendo significativa la diferencia. En cuanto al porcentaje de absorciones, en el GD el valor fue mucho mayor que el control y se observó una disminución a la mitad en el GDGLY, pero no hubo diferencias significativas. El tamaño de camada del GD fue menor con respecto al grupo control y, por su parte, GDGLY presentó un valor similar a los grupos controles sin ser esto significativo (Tabla 3).

Con respecto a los cortes anatómicos de Wilson, en el GD se observan orificios con hemorragia en el hígado (esteatosis), que se muestra en la imagen D (Tabla 4). El GDGLY y en el resto de los grupos no se observa. También en el GD se muestran fetos con tamaño reducido y retraso en el desarrollo a comparación del GC (Tabla 4), mientras que en GDGLY se observa igual que GC.

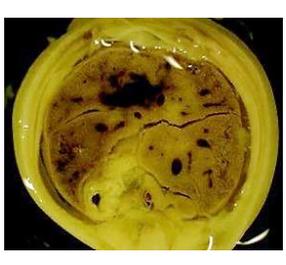
**Tabla 3. Valores obtenidos de los parámetros determinados en fetos y útero.**

Diferencia significativa con el GC (\*); Diferencia significativa con GD (\*), Diferencia significativa con GDGLY (\*).

	<b>GC</b>	<b>GCGLY</b>	<b>GDGLY</b>	<b>GD</b>
<b>Peso (g)</b>	2.80±0.11	2.74±0.03	2.52±0.05**	2.10±0.07*
<b>Talla (cm)</b>	2.96±0.04	2.86±0.02*	2.86±0.03**	2.63±0.05*
<b>Tamaño de camada (#Fetos)</b>	12.00±1.22	11.60±0.60	11.57±1.90	9.83±0.70
<b>% Reabsorciones</b>	1.19±1.19	9.08±5.51	14.02±10.67*	27.80±14.19**

En el caso de las malformaciones, en el GD se presentó esteatosis hepática (Imagen D, Tabla 4), exencefalia, hidramnios y protusión de lengua. (Tabla 5 y 6). Además, se observó un hipodesarrollo de los ojos y de los párpados. En el GDGLY se presentó anasarca, anoftalmia (ausencia de uno o ambos ojos), edema local en extremidades superiores e inferiores, hematoma e hidramnios (acumulación de líquido amniótico). A pesar de que se presentaron malformaciones, el tratamiento con glicina provocó que estas fueran en menor porcentaje y severidad. En el GC no se presentó ninguna, en el GCGLY solamente anasarca (edema generalizado) y protusión de lengua.

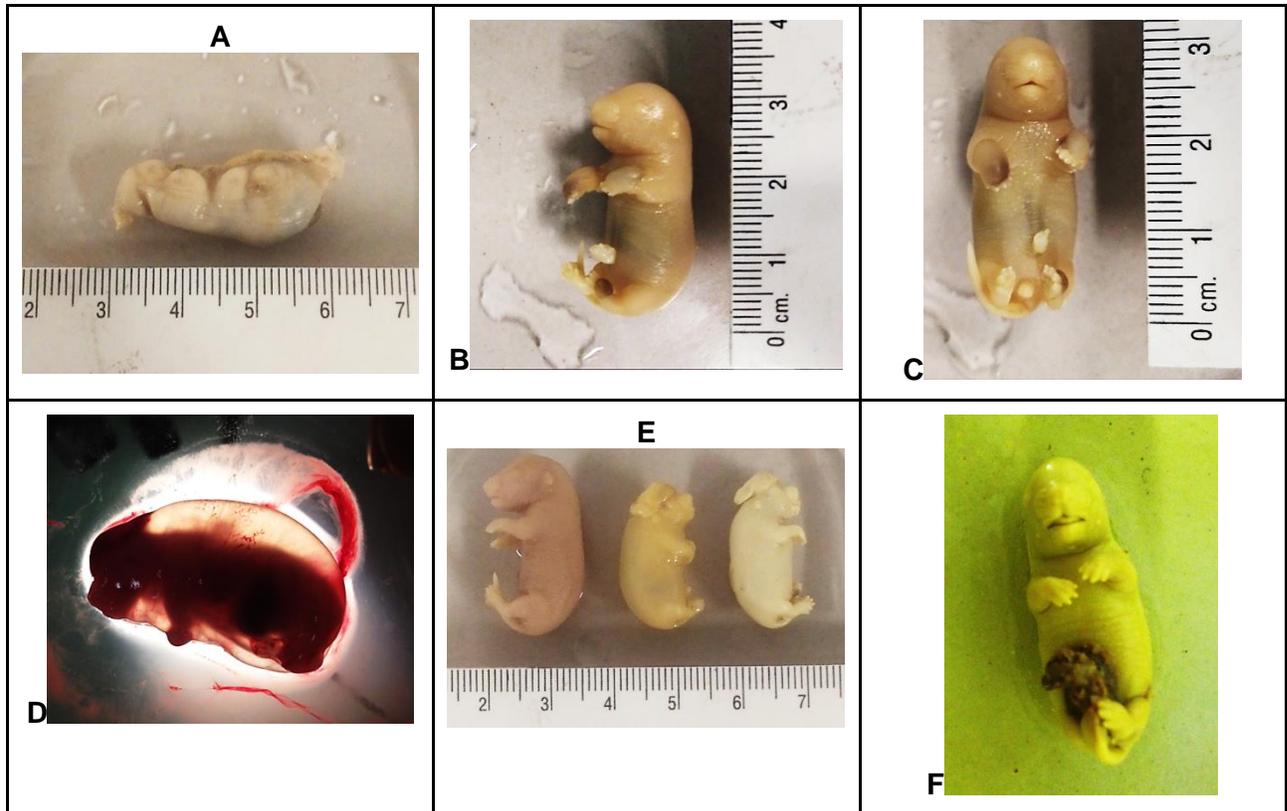
**Tabla 4. Características morfológicas de fetos de madres tratadas con STZ con o sin glicina.** A-D. Cortes transversales en hígado por técnica de Wilson. E-H. Fetos de 19 días de gestación de los distintos grupos.

GC	GCGLY	GDGLY	GD
<p style="text-align: center;"><b>A</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>B</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>C</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>D</b></p> 
<p style="text-align: center;"><b>F</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>G</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>H</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>I</b></p> 

**Tabla 5. Porcentaje de malformaciones.** Porcentaje de cada tipo de malformaciones observadas por grupo.

<b>Malformaciones</b>	<b>GC</b>	<b>GCGLY</b>	<b>GDGLY</b>	<b>GD</b>
<b>Anasarca</b>	0%	1.01%	1.01%	0%
<b>Anoftalmia</b>	0%	0%	0.85%	0%
<b>Edema local</b>	0%	0%	1.71%	0%
<b>Esteatosis hepática</b>	0%	0%	0%	4.05%
<b>Exencefalia</b>	0%	0%	0%	4.2%
<b>Hematoma</b>	0%	0.9%	1.01%	0%
<b>Hidramnios</b>	0%	0%	0.85%	10.9%
<b>Protusión de lengua</b>	0%	1.1%	0%	7.9%
<b>Total</b>	0%	3.01%	5.43%	27.05%

**Tabla 6. Malformaciones externas observadas en los fetos.** A. Reabsorciones (GD), B y C. Edema local (GDGLY), D. Hidramnios (GD), E. Exencefalia (GD); F. Protusión de lengua (GD).

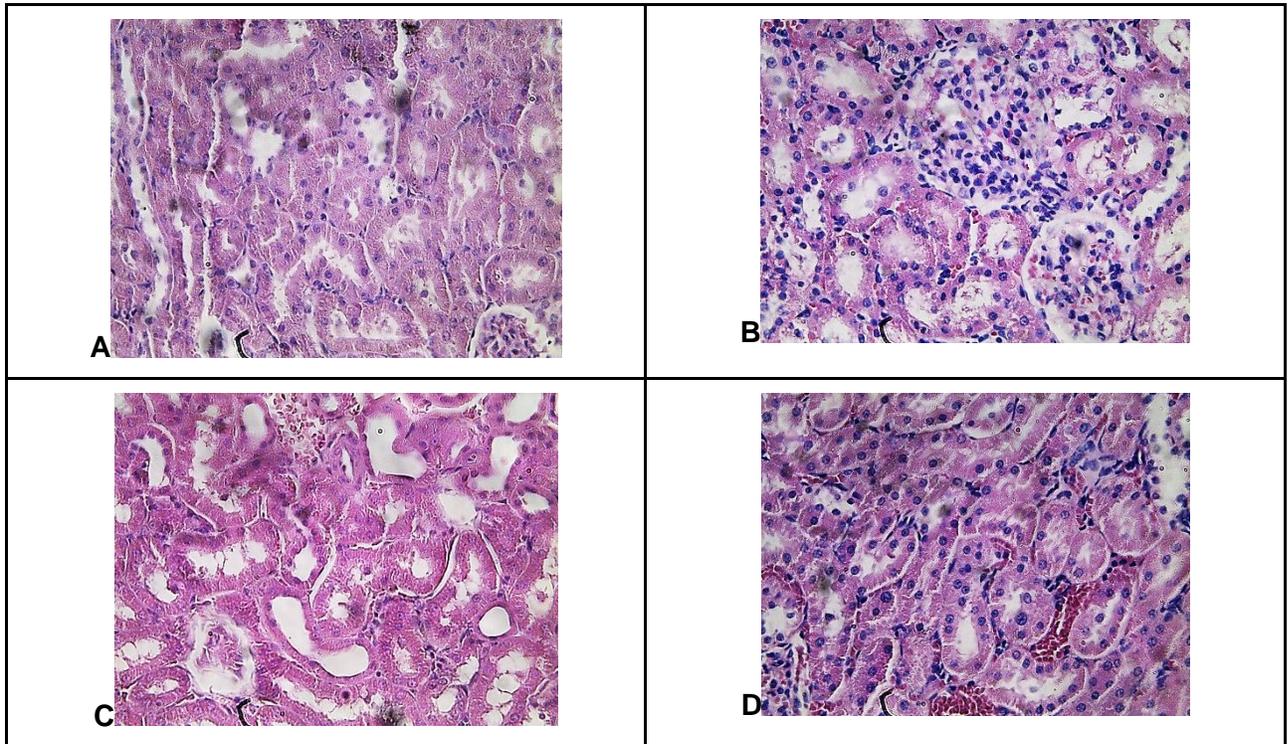


### 8.3 HISTOLOGÍA

#### Riñón

En los cortes de riñón materno, en el GD se observan las células separadas o poco compactadas a diferencia del GC; mientras que, en el GDGLY las células están más compactadas y con mejor forma, casi igual que GC (Tabla 7). El GCGLY no muestra diferencias con el GC.

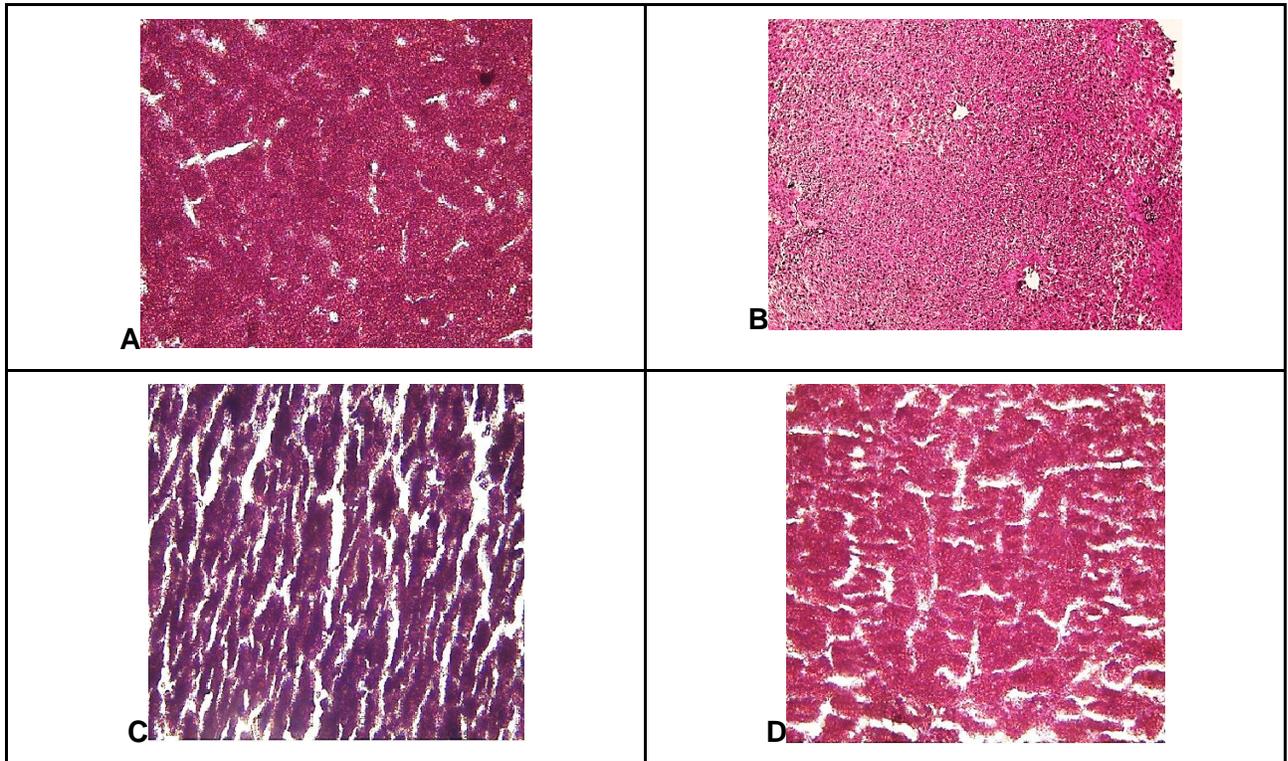
**Tabla 7. Cortes histológicos de riñón materno (H-E) 40X. A. Grupo Control; B. Grupo Control con Gly; C. Grupo Diabético; D. Grupo Diabético con Gly.**



### **Hígado**

En los cortes de hígado materno, en el GD se observan las células separadas o poco compactadas a diferencia del GC; mientras que, en el GDGLY las células están más compactadas y con mejor forma, casi igual que el GC. Se puede observar que en el GCGLY se ven más compactadas las células que en el GC. (Tabla 8).

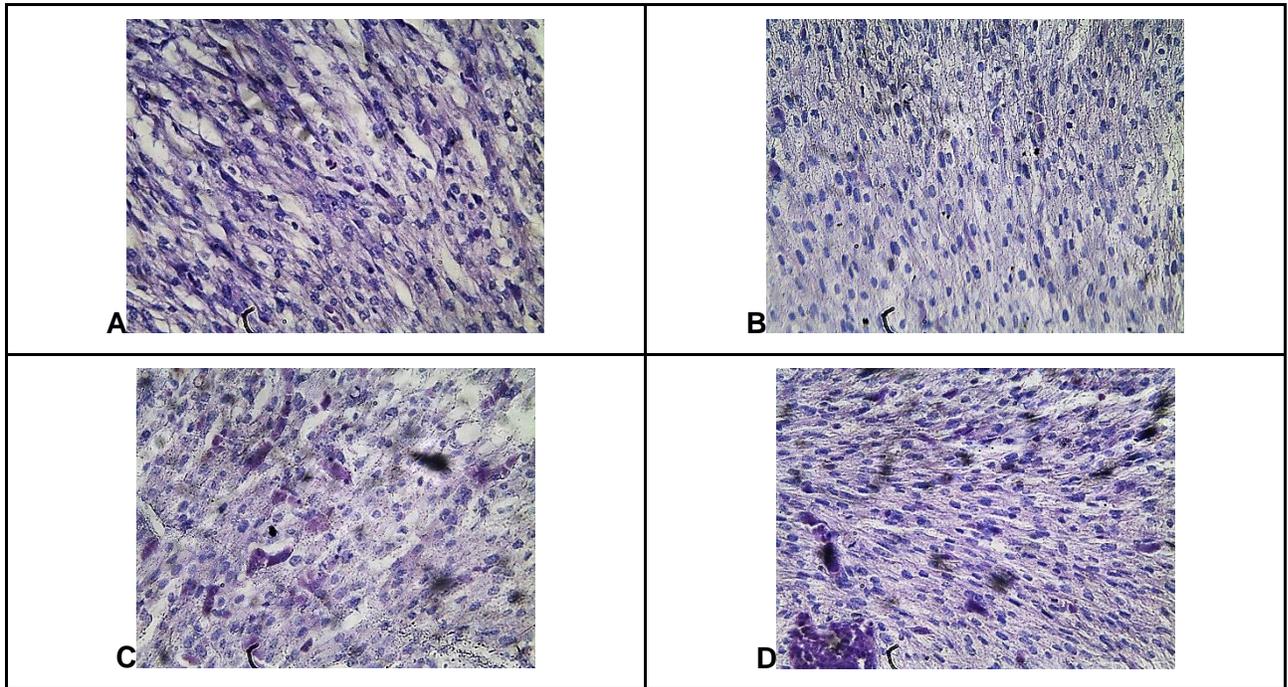
**Tabla 8. Cortes histológicos de hígado materno (H-E) 10X.** A. Grupo Control; B. Grupo Control con Gly; C. Grupo Diabético; D. Grupo Diabético con Gly.



### **Fetos: corazón, cerebro e hígado**

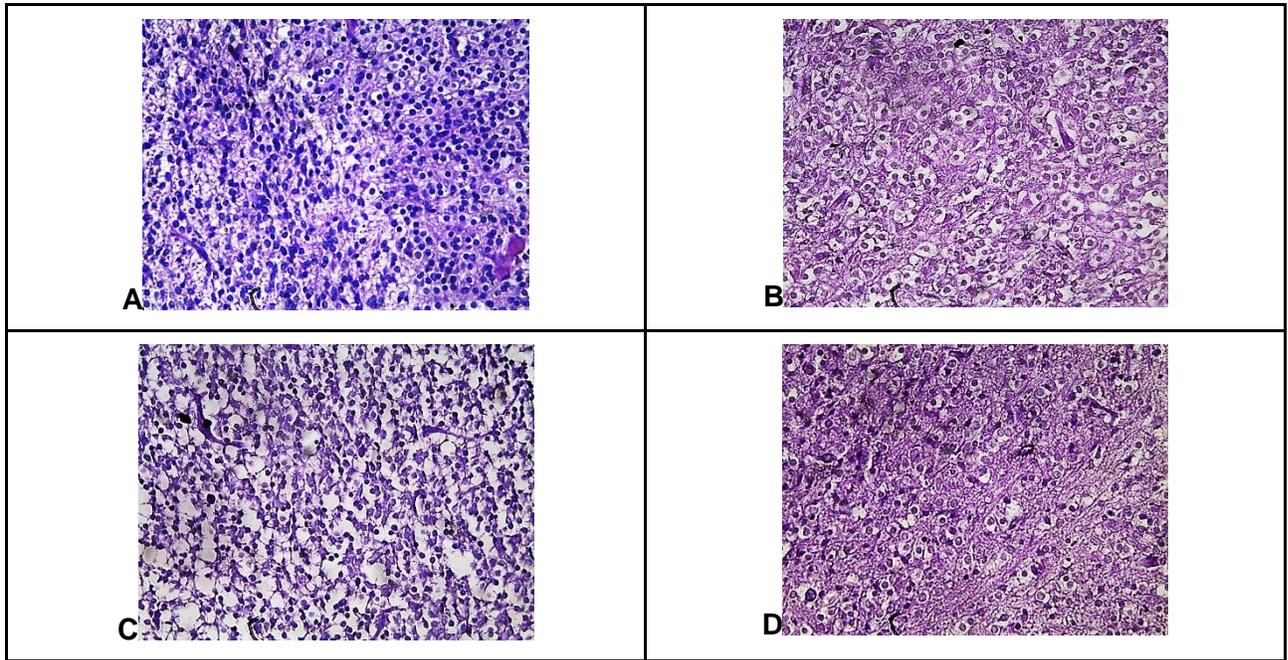
En el GD se observan las células un poco más pequeñas y separadas, con falta de continuidad. En el GDGLY se observa mejoría en la forma, tamaño y distribución de las células, parecido al GC. Se puede observar en GC las células musculares cardíacas bien formadas y compactas; y que en el GCGLY se ven aún más compactas (Tabla 9).

**Tabla 9. Cortes histológicos de corazón fetal (H-E) 40X. A. Grupo Control; B. Grupo Control con Gly; C. Grupo Diabético; D. Grupo Diabético con Gly.**



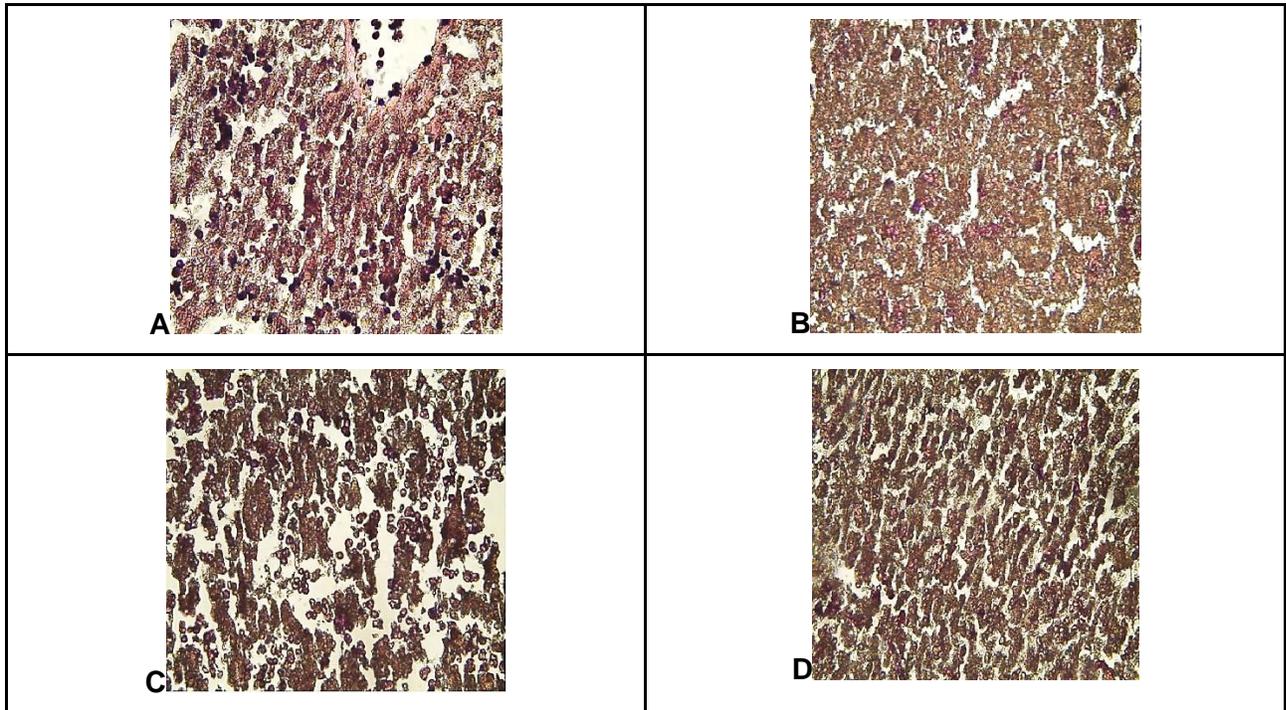
Con respecto al tejido nervioso fetal se observa en el GD las células se observan separadas unas de otras; mientras que, en el GDGLY las células se observan compactas y bien formadas, prácticamente igual que en el GC (Tabla 10). En los cortes del GCGLY no hay diferencias con el GC.

**Tabla 10. Cortes histológicos de cerebro fetal (PAS) 40X. A. Grupo Control; B. Grupo Control con Gly; C. Grupo Diabético; D. Grupo Diabético con Gly.**



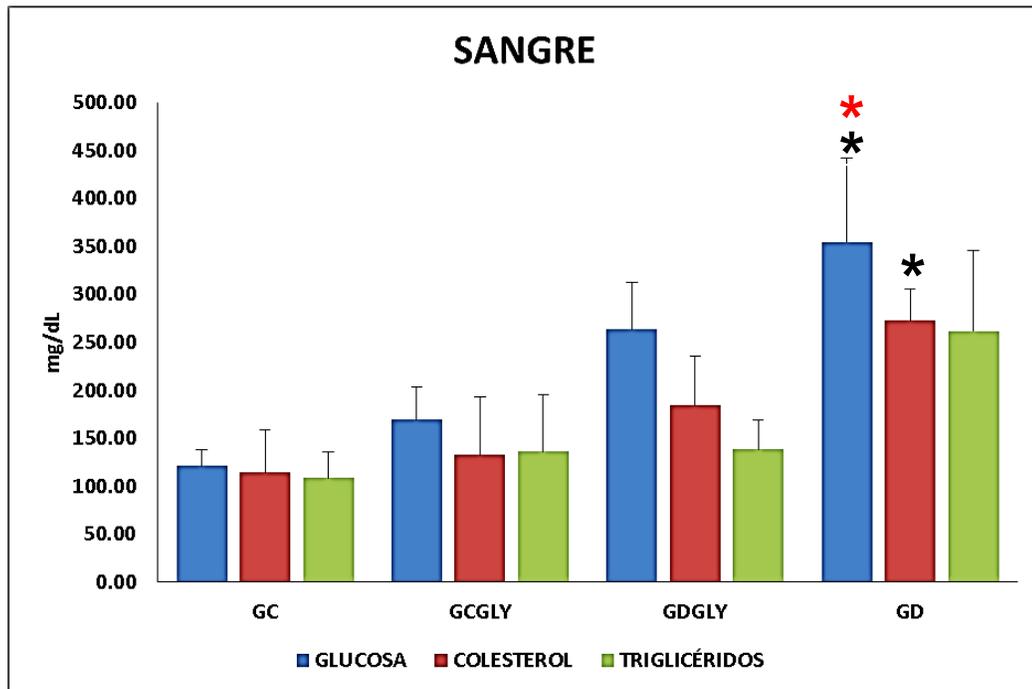
En el tejido hepático fetal se puede observar que en el GD las células se encuentran separadas a diferencia del GC que son más compactas; en cambio, en el GDGLY las células están más compactadas y con mejor forma casi igual que el GC, esto mismo, pasa con los cortes de GCGLY (Tabla 11).

**Tabla 11. Cortes histológicos de hígado fetal (H-E) 10X. A. Grupo Control; B. Grupo Control con Gly; C. Grupo Diabético; D. Grupo Diabético con Gly.**



#### **8.4 Análisis de sangre**

En el GD se encontraron los niveles más altos de glicemia en comparación con todos los grupos; siendo significativa la diferencia respecto al GC y GCGLY. El GD presenta valores altos de colesterol respecto al GC, con diferencia significativa; en el caso del GDGLY el valor es ligeramente mayor al del GC, pero es menor al GD. No hay diferencia significativa en los niveles de triglicéridos entre los grupos, sin embargo, es relevante el hecho que el GD presentó los valores más altos (Figura 3).



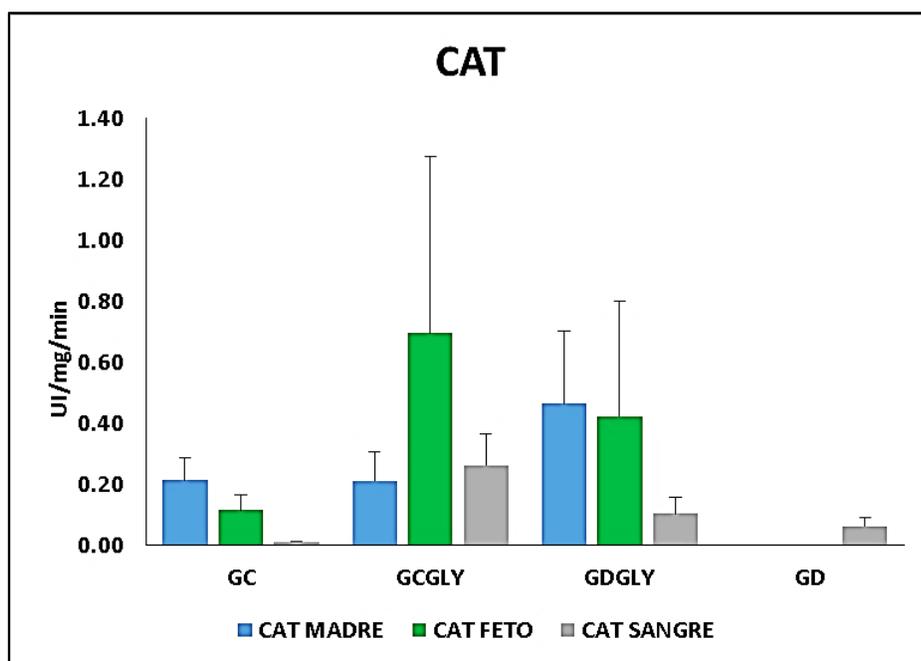
**Figura 3. Glucosa, colesterol y triglicéridos en sangre** de ratas gestantes, por efecto de la administración de STZ o glicina. Diferencia significativa con el GC (\*), Diferencia significativa con GCGLY (\*).

## 8.5 ENZIMAS

Los datos de los siguientes parámetros incluyen los valores determinados en sangre e hígado materno y fetal.

### CAT

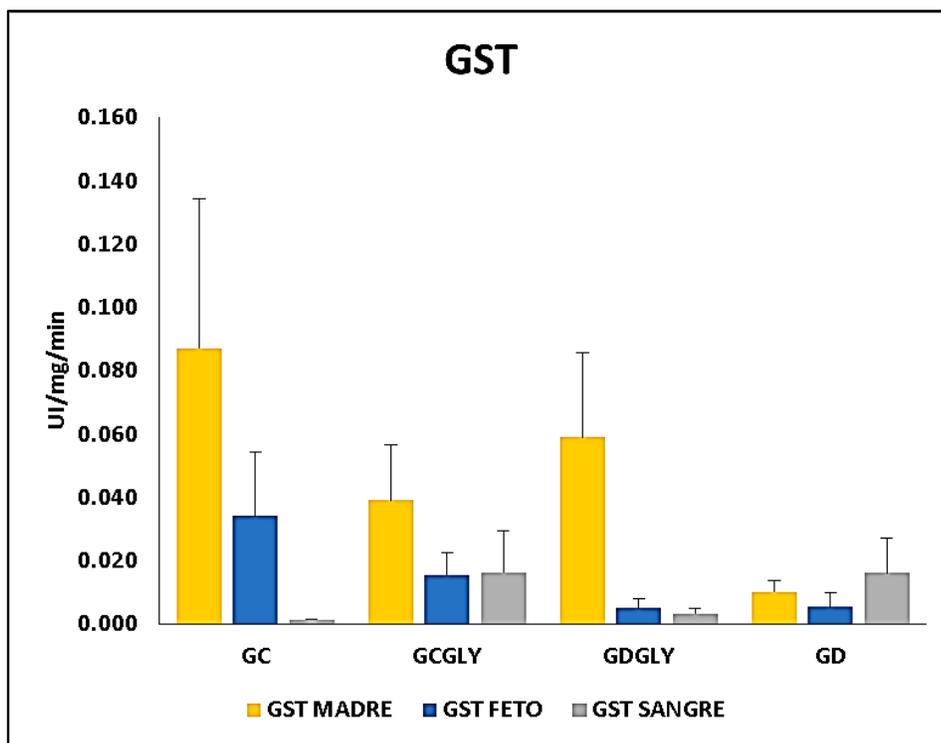
La actividad de esta enzima en el GD en hígado materno y fetal fue nula. Los grupos tratados con Gly presentaron mayor actividad de CAT en hígado materno respecto al GC, en especial el GDGLY; sin embargo, no hubo diferencia significativa. (Figura 4). En hígado fetal el comportamiento de la actividad fue similar al hígado materno pero el GCGLY presentó el valor mayor de todos los grupos. Respecto a sangre materna sí se encontró actividad en GD cuyo valor es mayor que el GC y la actividad de GDGLY es mayor que el GD, pero menor que el GCGLY sin diferencia significativa.



**Figura 4. Actividad de CAT** en hígado y sangre de ratas gestantes, y en hígado de feto de rata, por efecto de la administración de STZ o glicina.

### **GST**

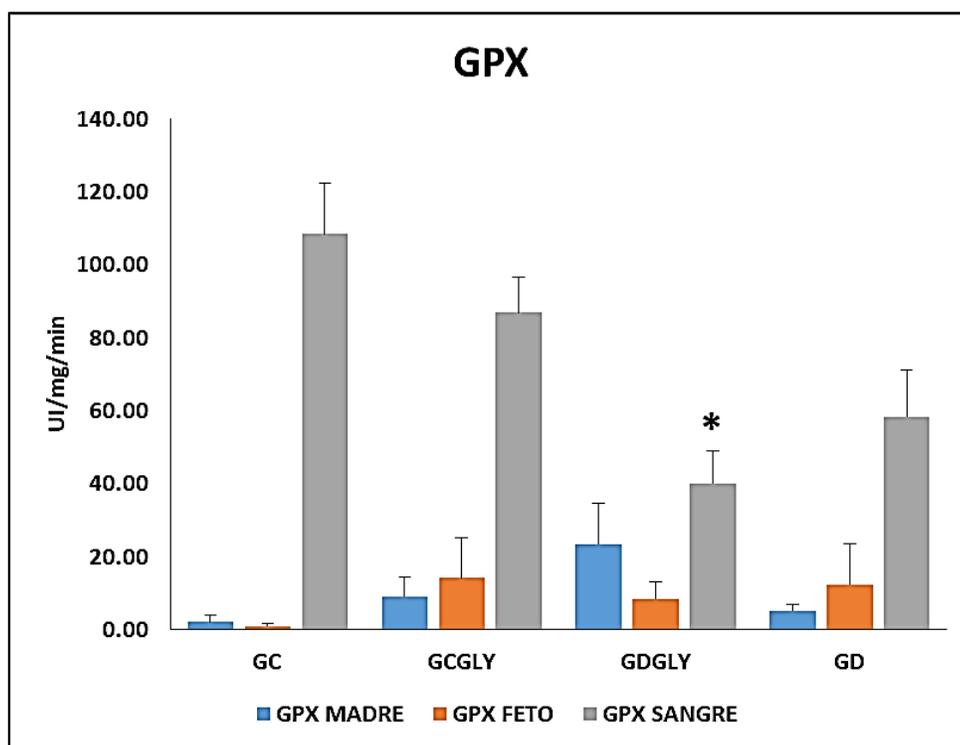
Con respecto a GST en hígado materno la actividad del GD es menor que el GC, pero la actividad del GDGLY es mayor que la del GD y menor que el GC. En hígado fetal no hubo diferencias significativas entre los grupos, pero el GD presentó un valor menor con respecto al GC cuyo valor fue el mayor de todos los grupos; la actividad del GDGLY fue muy similar al GD, mientras que el en GCGLY su actividad fue mayor que los grupos diabéticos, pero menor que el GC. En cuanto a la actividad en sangre se puede resaltar que la actividad en GD fue la mayor que el GC, sin diferencias significativas; El GDGLY presentó menor actividad que el GD, pero mayor que el GC. El GCGLY mostró el mayor valor de todos los grupos (Figura 5).



**Figura 4. Actividad de GST** en hígado y sangre de ratas gestantes, y en hígado de feto de rata, por efecto de la administración de STZ o glicina.

### GPx

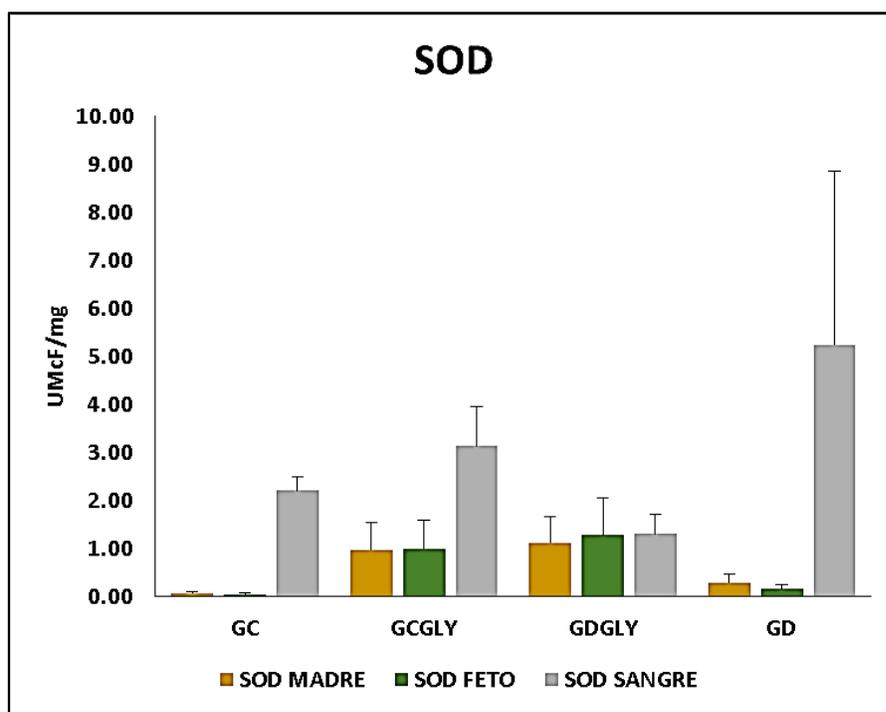
En el caso de la actividad de GPx en en hígado materno el GD tuvo mayor actividad que el GC y el GDGLY presentó un valor mayor que el GC y el GD sin diferencia significativa. En hígado fetal, el GD presentó un valor mayor que el GC sin diferencias significativa. En el GDGLY la actividad es menor que el GD, pero mayor que el GC. EL GCGLY mostró la mayor actividad. En cuanto a la actividad en sangre, el GD mostró menor valor que el GC y con el tratamiento la actividad fue todavía menor. El GDGLY tuvo diferencia significativa con el GC (Figura 6).



**Figura 6. Actividad de GPx** en hígado y suero de ratas gestantes, y en hígado de feto de rata, por efecto de la administración de STZ o glicina. Diferencia significativa con el GC (\*).

## SOD

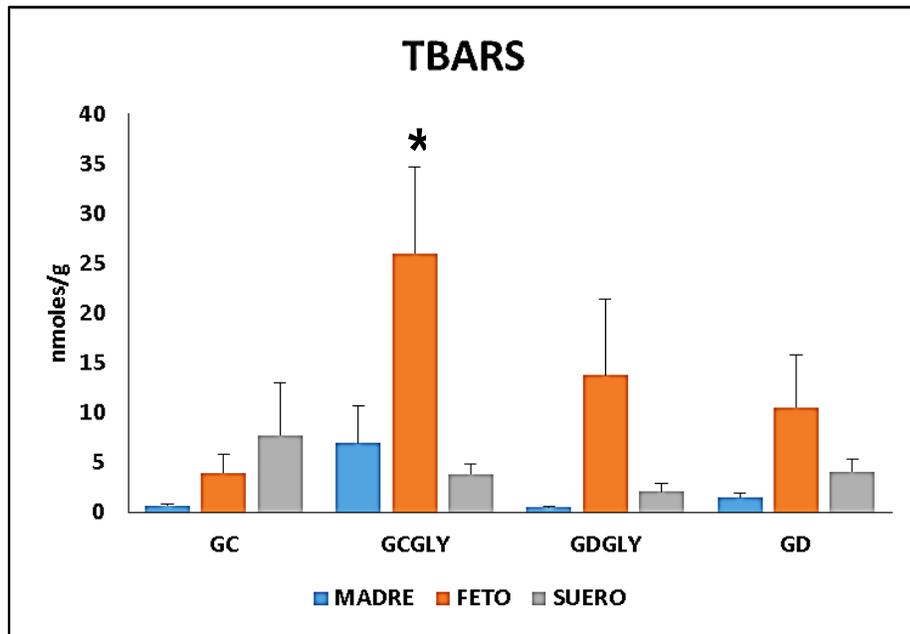
A pesar de no haber diferencias significativas en la actividad de SOD en hígado materno, el GD mostró mayor actividad que el GC sin diferencia significativa en ninguno de los casos. En hígado fetal, el GD presentó un valor mayor que el GC; además, el GDGLY mostró mayor actividad que GD y el GC. Aunque no hubo diferencia significativa en la actividad en sangre, el GD presentó un valor mayor que el GC; mientras que, el GDGLY tuvo actividad menor que el GD y mayor que el GC (Figura 7).



**Figura 7. Actividad de SOD** en hígado y suero de ratas gestantes, y en hígado de feto de rata, por efecto de la administración de STZ o glicina.

## TBARS

Respecto a la lipoperoxidación, en hígado materno no hubo diferencia significativa, pero el GD mostró mayor lipoperoxidación que GC; el GDGLY tuvo menos lipoperoxidación que el GD y que el GC. El GCGLY presentó el mayor valor sin diferencias significativas. En hígado fetal el GD tuvo un valor mayor que el GC; el GDGLY tuvo un valor ligeramente mayor que el GD y al GC. El GCGLY mostró el valor más alto y tuvo diferencia significativa con respecto al GC. En sangre tampoco hubo diferencias significativas pero el GD tuvo menos lipoperoxidación que el GC, y en el GDGLY fue menor que el GD y que el GC (Figura 8).



**Figura 8. TBARS** en hígado y suero de ratas gestantes, y en hígado de feto de rata, por efecto de la administración de STZ o glicina. Diferencia significativa con el GC (\*).

## 9. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este proyecto sugieren que la administración de Gly protege a los organismos diabéticos durante el periodo de gestación, probablemente al evitar la liberación de aminoácidos glucogénicos a partir de proteínas musculares, evitando así su destrucción y la remoción de ácidos grasos de tejido adiposo para la beta-oxidación a nivel celular y la obtención de energía. Otros trabajos han reportado también baja ganancia de peso materno durante el periodo de gestación. Salazar (2010) encontró que, aunque no había diferencia significativa, las ratas del grupo diabético ganaron menos peso que el control. Así mismo, Trejo-González (2015) reportó menor ganancia de peso en el grupo diabético durante el estado gestacional, de igual forma sin diferencias significativas. Esto se debe a los síntomas característicos de la enfermedad como la poliuria, polidipsia y polifagia, acompañados de la disminución acelerada de peso, como resultado de la movilización de aminoácidos de músculo esquelético para la gluconeogénesis, y el aumento de beta-oxidación para obtener energía.

En este trabajo se encontró que la talla y peso fetal del GD fue menor que en los demás grupos; mientras que en GDGLY estos parámetros aumentaron y se acercaron al GC. Con respecto al porcentaje de reabsorciones, el valor es mayor en el GD con respecto a los controles, y con la administración de Gly este disminuyó a la mitad con respecto a GD. En el caso del tamaño de camada, el GD mostró el menor valor de todos los grupos, y la administración de Gly en GDGLY aumentó el valor acercándose a los controles (Tabla 3). La disminución de talla y peso fetal, junto con el aumento del porcentaje de reabsorciones, se han presentado en diversos estudios de embriopatía diabética. Paniagua-Castro *et al* (2006) utilizaron Gly para reducir la teratogénesis inducida por cadmio y sus resultados mostraron mejoría en la talla y el peso, el tamaño de camada y el porcentaje de reabsorciones en los grupos tratados con Gly. Ergaz *et al* (2018) encontraron que el peso fetal era menor en los grupos tratados con dieta de alta sucrosa y bajo cobre. Trejo-González *et al* (2015) probaron el resveratrol como antihiper glucemiante y

antiteratogénico, y obtuvieron como resultado que, aunque no hay diferencia significativa, la talla y peso fetal fueron menores en el grupo diabético comparado con el grupo control. Salazar (2010), reportó aumento del tamaño de camada y disminución del porcentaje de reabsorciones. El efecto de la embriopatía diabética sobre la talla y peso, el tamaño de camada y porcentaje de reabsorciones se debe a que el estado hiperglucémico causa estrés oxidativo en las células y tejidos, lo que afecta directamente la unidad feto-placentaria (Djordjevic *et al*, 2004). Los resultados obtenidos coinciden con la literatura encontrada.

Con respecto a las malformaciones observadas, el GD presentó un 27.05% de estas y en el GDGLY el valor disminuyó a 5.43% mostrando claramente un efecto protector. Estos resultados coinciden con lo reportado por Paniagua-Castro *et al* (2006), en el cual la malformación que más se presentó fue exencefalia; además la glicina al 2% redujo la incidencia de malformaciones en ambos trabajos. En ese trabajo, el estrés oxidativo es causado por el cadmio y produjo malformaciones; mientras que en el presente trabajo el estrés fue provocado por el estado diabético, que de igual manera generó malformaciones. En ambos casos, la administración de glicina disminuyó el número y severidad de malformaciones, por lo tanto, tiene un efecto embrioprotector ante el estrés oxidativo.

Otra parte de este estudio fue realizar análisis histológico de hígado y riñón materno además de corazón, cerebro e hígado fetal.

Histologicamente hablando, en los cortes de hígado materno y fetal, todos los grupos excepto el GD se observan adecuadamente. Es relevante mencionar que en el GD se encontraron células disgregadas. Es probable que lo encontrado sea consecuencia del daño y muerte celular ocasionados por el estrés oxidativo y daño a la colágena como consecuencia de la glicación de proteínas, ambas presentes en el estado diabético. En el GDGLY las células se observaron igual que los controles, lo que supone un efecto protector de la Gly en el tejido hepático.

En los cortes de riñón materno, corazón y cerebro fetal se observó el mismo comportamiento antes mencionado.

Ajiboye *et al* (2018), indujeron diabetes con aloxana, y demostraron que tanto en el hígado como en el riñón del grupo diabético había estructura muy degenerada. En otro estudio reportado por Simon *et al* (2018) de diabetes inducida con estreptozotocina, mostró que en el riñón se observó vacuolización, expansión de las células mesangiales, necrosis del epitelio, proteinuria y engrosamiento de la membrana basal glomerular, y en el hígado se mostró necrosis e infiltración de grasa periportal. Díaz (2015) reportó que el área celular de los túbulos proximales del grupo diabético fue significativamente mayor que el control, y con los tratamientos el área disminuyó con respecto a las ratas diabéticas. Esto se explica ya que en condiciones de alta glucosa aumenta la síntesis de algunas citocinas que estimulan el crecimiento celular, especialmente el factor de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Lo anteriormente mencionado coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

Un estudio realizado por Cerychova *et al* (2018), en el que se usaron ratones con una mutación en el gen que codifica para el factor inducible por hipoxia- $1\alpha$  (*HIF1 $\alpha$* ), mostró que, en condiciones de embriopatía diabética, conlleva al desarrollo acelerado de la disfunción cardíaca del ventrículo izquierdo, además de cambios en la expresión de *Hif1 $\alpha$*  en el ventrículo izquierdo, lo que indica una reprogramación transcripcional como consecuencia de la exposición a la diabetes materna. Además, la combinación de la diabetes materna y la haploinsuficiencia de *Hif1 $\alpha$*  da como resultado cambios metabólicos, estructurales y funcionales significativos en el miocardio del ventrículo izquierdo de la descendencia. De acuerdo con este hallazgo, la haploinsuficiencia de *Hif1 $\alpha$*  puede afectar los niveles de colágeno en el corazón de los ratones mutantes. De manera similar, el entorno diabético desestabiliza el HIF1 $\alpha$  y altera la regulación del HIF1 $\alpha$  (Catrina *et al*, 2004; Bosch-Marce *et al*, 2007), lo que puede afectar el metabolismo del colágeno en el corazón, lo que resulta en la reducción de los niveles de esta proteína

adherente. El colágeno es una de las proteínas más afectadas en el estado diabético; por ende, al administrar la glicina se ayuda al recambio proteico, la protección del colágeno de la oxidación por RL, ROS y la glicación de proteínas. Por lo tanto, se sugiere que lo observado en este trabajo es un reflejo de la protección que tiene la Gly sobre el tejido cardiaco.

En ausencia de insulina (o al no responder a ella), el músculo, el tejido adiposo y muchos otros tejidos no absorben bien la glucosa, minimizando el daño a sí mismos, pero contribuyendo a los niveles elevados de glucosa en plasma. Por el contrario, la retina, el riñón, las células glomerulares renales y las neuronas son libremente permeables a la glucosa y, por lo tanto, están expuestas a la fuerza total de la hiperglucemia y el daño a sí mismas (Halliwell y Gutteridge, 2015b). Lo anterior podría explicar lo observado histológicamente en el GD, que contrasta con el tejido normal que se observa en el GDGLY, lo que de nuevo demuestra que la Gly protege al tejido nervioso, probablemente al disminuir el estrés oxidativo, la glicación de proteínas y por la probable lipoperoxidación de membranas.

En cuanto a los resultados encontrados en este trabajo, se corroboró el efecto hiperglucemiante de la STZ, ya que en el GD los niveles fueron mayores y con diferencias significativas con respecto a los grupos control (GC y GCGLY). En contraste, por la presencia del aminoácido en el GDGLY se presentó un efecto hipoglucemiante al observar una disminución en la glicemia con respecto al GD; lo cual, concuerda con los resultados obtenidos por Carvajal-Sandoval *et al* (1995) en ratas macho tratadas con Gly.

Respecto a colesterol y triglicéridos, en el GD su valor fue más elevado, y se encontró diferencia significativa en la concentración de colesterol con respecto al GC. La administración de Gly en el GDGLY provocó una disminución de los valores de colesterol y triglicéridos con respecto al GD, lo que es más evidente en los triglicéridos. Lo encontrado en este trabajo, coincide con lo reportado por Simon *et al* (2018). El *et al* (2004) reportaron que en el grupo tratado con una dieta alta de sacarosa, el valor de

triglicéridos es mayor y al administrar la glicina este disminuye y tiene un valor igual al control.

Se han realizado diversos estudios con modelos *in vivo* en roedores con diabetes inducida, para evaluar el uso de distintas plantas, aceites vegetales, extractos sólidos como la curcumina, algas y clorofila como protectores en la DM y el estrés oxidativo que causa esta enfermedad. En un estudio realizado por Ajiboye *et al* (2018), reportaron que los valores de glucosa aumentaron en el grupo diabético y con los distintos tratamientos administrados tuvieron niveles casi iguales al control. En otro estudio los niveles de glucosa, colesterol y triglicéridos aumentaron en el grupo diabético, sobre todo los primeros parámetros, y se acercaron a los controles con los distintos tratamientos (Simon *et al*, 2018). Un tercer estudio realizado en pacientes diabéticos con DM2, mostró que el colesterol, los triglicéridos y la glucosa aumentan en estos individuos, sobre todo los triglicéridos (Bravo *et al*, 2007).

El estado diabético genera hiperglucemia y como consecuencia de esto la glicación de proteínas, formación de AGEs y aumento del estrés oxidativo en los organismos, lo cual afecta de manera significativa a los pacientes y en este caso particular, a los embriones, fetos y neonatos. Por lo anterior, es importante conocer el estado del organismo midiendo la actividad de enzimas antioxidantes específicas.

En este estudio se observó un aumento de la actividad de SOD en el GD en hígado materno y fetal, así como en sangre. Esto indica una respuesta intracelular al estrés oxidativo y, además, la presencia de niveles altos de SOD en sangre puede reflejar la existencia de daño y muerte celular. En el GDGLY, se observaron también niveles altos en hígado materno y fetal, pero contrasta que en sangre los niveles son bajos con respecto al GD pudiendo interpretarse que la administración de Gly disminuyó el daño y muerte celular. Estos resultados concuerdan por completo con Djurasevic *et al* (2019) y también con Trejo-González (2015).

La actividad de CAT, fue nula en el GD tanto en sangre como en hígado materno y fetal. El GDGLY presentó mayor actividad en hígado materno y fetal con respecto al GD. La mayoría de los artículos consultados reportan que los valores de la actividad de esta enzima disminuyen en los grupos diabéticos, pero ninguno ha reportado ausencia de actividad. Éste fenómeno, podría deberse a la alta producción de peróxido de hidrógeno lo que causa una autooxidación de la enzima y pérdida de su actividad (Halliwell y Gutteridge, 2015a).

En el caso de GST, en el GD la actividad se ve reducida en hígado materno y fetal, y aumenta en sangre. Esto puede deberse a autooxidación de la enzima por la producción de peróxido de hidrógeno, lo que causa disminución de su actividad. Por otro lado, el valor alto en sangre puede ser un reflejo de daño tisular del hígado producto de la condición hiperglucémica. En el GDGLY la actividad en sangre disminuyó, y en hígado materno aumentó con respecto al GD, lo cual es beneficioso, considerando este incremento como una respuesta intracelular al estrés oxidativo y la menor actividad en sangre como una disminución del daño y muerte celular por la presencia de este aminoácido.

La actividad de GPx en el GD aumentó en hígado materno y fetal, lo cual coincide con los resultados de Djurasevic (2019). El aumento de dicha actividad puede ser debido a que al verse disminuida la actividad de CAT y GST, la GPx aumenta su actividad para metabolizar el peróxido de hidrógeno producido por SOD, y compensar la baja actividad de las otras enzimas. En el caso del GDGLY, la actividad aumentó en hígado materno y fetal con respecto al GD, lo anterior puede explicarse ya que esto contrarresta el efecto del estrés oxidativo.

Por otra parte, al haber estrés oxidativo aumenta la lipoperoxidación y, por ende, la concentración de malondialdeído (MDA). En el caso de este estudio, aumentó la actividad en hígado fetal y materno en GD; cabe señalar que los valores fueron muy parecidos entre sí y en el caso de hígado

materno la lipoperoxidación fue menor. Esto también coincide con los resultados de la mayoría de la literatura consultada y con datos preliminares de estudios realizados en el laboratorio.

Los estudios realizados por Carvajal-Sandoval y colaboradores (1995), demostraron que la glicina inhibe la glicación y por ende la formación de AGEs por lo que se le atribuye un efecto protector. Estudios realizados por distintos autores presentan un patrón peculiar en el comportamiento de los niveles de actividad de dichas enzimas al aplicar distintos tratamientos como la semilla de *Triticum aestivum* (Ajiboye *et al*, 2018), yogurt enriquecido con curcumina (Gutierrez *et al*, 2018), propóleo de Malasia y metformina (Nna *et al*, 2018) y *Spirulina fusiformis* con glibenclamida (Simon *et al*, 2018). Se mostró que la actividad de las enzimas CAT, GST, GPx y SOD son más bajas en el grupo diabético; y con los tratamientos administrados presentan valores iguales o a los controles, pero en la prueba de TBARS la lipoperoxidación aumenta y de igual manera al administrar los tratamientos, se muestran niveles iguales o similares a los controles. Además, un estudio realizado en pacientes con DM2 mostró que la actividad de SOD en estos individuos era menor (Bravo *et al*, 2007). Al contrario, el trabajo de Djurasevic (2019) mostró que la actividad de las enzimas mencionadas anteriormente aumentó en el grupo diabético, mientras que la lipoperoxidación disminuyó y con los tratamientos aplicados se obtuvieron valores cercanos a los controles. Trejo-González *et al*, (2015), obtuvieron que la actividad de CAT y GPx disminuía en el grupo diabético, y con el tratamiento la actividad de ésta enzima se acercaba a la del grupo control, pero la actividad de SOD aumentaba en el grupo diabético e igual se normalizaba con el tratamiento. Todo lo anterior, tiene cierta concordancia con los resultados obtenidos en este trabajo.

## 10. CONCLUSIONES

Es por lo anterior que se concluye que:

1. El uso de glicina aumentó la ganancia de peso materno en condiciones diabéticas.
2. La glicina aumentó los valores del peso y talla fetales, y disminuyó el porcentaje de reabsorciones y de malformaciones.
3. La glicina mostró protección en hígado y riñón en condiciones hiperglucémicas. No causó alteraciones negativas en el GC.
4. La administración de glicina a ratas preñadas diabetizadas mostró un efecto protector en el desarrollo de hígado, cerebro y corazón fetales.
5. La glicina mostró un efecto hipoglucemiante con respecto al grupo diabético. También disminuyó los valores de colesterol y triglicéridos.
6. La administración de la glicina no alteró los valores sanguíneos de glucosa, colesterol y triglicéridos estudiados en el GCGLY.
7. La glicina participó en la actividad de las enzimas antioxidantes en sangre e hígado materno y fetal.

## 11. LITERATURA CITADA

- Aebi, H.E. (1983). Oxidoreductases acting on groups other than CHOH. 3.9 Catalase: hydrogen-peroxidase: hydrogen-peroxidase oxidoreductase E. C. 1. 11. 1. 6. In: Bergmeyer, H.U., ed. *Methods of Enzymatic Analyses*. Vol. III. Weinheim: Verlag Chemie. Pp. 273-286.
- Ajiboye, B.O.; Oloyede, H.O.B. y Salawu, M.O. (2018). Antidiabetic activity of *Triticum aestivum* Seed-Based Diet on Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Journal of Dietary Supplements*. <https://doi.org/10.1080/19390211.2018.1492485>. Recuperado el: 13 de Mayo del 2019.
- Alvarado-Vásquez. N.; Lascurain, R.; Cerón, E.; Vanda, B.; Carvajal-Sandoval, G.; Tapia, A.; Guevara, J.; Montaña, L. F. y Zenteno, E. (2006). Oral glycine administration attenuates diabetic complications in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sciences*; 79: 225-232.
- Alvarado-Vásquez. N.; Zamudio, P.; Cerón, E.; Vanda, B.; Zenteno, E. y Carvajal-Sandoval, G. (2003). Effect of glycine in streptozotocin-induced diabetic rats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*; 134: 521-527.
- Andrews, J.E.; Ward, B.C. y Altman, N.H. (1979). *Spontaneous Animal Models of Human Disease*. Vol. I. Academic Press. USA.
- Arias-Díaz, J. y Balibrea, J. (2007). Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria*; 22(2): 160-168.
- Aroda, V.R.; Christophi, C.A. y Edelstein, S.L. (2015). Diabetes Prevention Program Research Group. The effect of lifestyle intervention and metformin on preventing or delaying diabetes among women with and without gestational diabetes: The Diabetes Prevention Program Outcomes Study 10-year follow-up. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*; 100: 1646–1653.
- Balk, E.M.; Earley, A.; Raman, G.; Avendano, E.A.; Pittas, A.G. y Remington, P.L. (2015). Combined diet and physical activity promotion programs to prevent type 2 diabetes among persons at increased risk:

a systematic review for the Community Preventive Services Task Force. *Annals of Internal Medicine*; 163: 437–451.

- Balleve, O.; Cadenhead, A. y Calder, A. G. (1990). Quantitative partition of threonine oxidative in pigs, effect of dietary threonine. *American Journal of Physiology—Endocrinology and Metabolism*; 25(4): 483–491.
- Balsells, M.; Garcia-Patterson, A.; Gich, I. y Corcoy, R. (2009). Maternal and fetal outcome in women with type 2 versus type 1 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*; 94: 4284–4291.
- Balsells, M.; García-Patterson, A.; Solá, I.; Roqué, M.; Gich, I. y Corcoy R. (2015). Glibenclamide, metformin, and insulin for the treatment of gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *British Medical Journal*; 350:h102.
- Barrow, M. V. y Taylor, J. (1969). A rapid method for detecting malformations in rat fetuses. *International Journal of Morphology*; 127: 291-306.
- Beauchamp, C. y Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*; 44: 276-287.
- Blomberg, M.I. y Kallen, B. (2010). Maternal obesity and morbid obesity: the risk for birth defects in the offspring. *Birth Defects Research Part A: Clinical and Molecular Teratology*; 88: 35–40.
- Bosch-Marce, M.; Okuyama, H.; Wesley, J.B.; Sarkar, K.; Kimura, H.; Liu, Y.V.; Zhang, H.; Strazza, M.; Rey, S. y Savino, L. (2007). Effects of aging and hypoxia-inducible factor-1 activity on angiogenic cell mobilization and recovery of perfusion after limb ischemia. *Circulation Research*; 101(12): 1310–1318.
- Bravo, A.; Araujo, S.; Vargas, M. E.; Mesa, J.; Souki, A.; Bermúdez, V. y Cano, C. (2007). Actividad de la enzima antioxidante superóxido dismutasa y niveles de cobre y zinc en pacientes con diabetes mellitus

tipo 2. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*; 26(1): 1-8.

- Brosky, G. y Logothetopoulos, J. (1968). Streptozotocin induced diabetes in the mouse and guinea pig. *Federation Proceedings*; 27: 547.
- Camelo-Castillo, W.; Boggess, K.; Stürmer, T.; Brookhart, M.A.; Benjamin, D.K. Jr. y Jonsson-Funk, M. (2015). Association of adverse pregnancy outcomes with glyburide vs insulin in women with gestational diabetes. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*; 169: 452–458.
- Carvajal-Sandoval, G.; Juárez C., E.; Ramos-Martínez, G. y Carvajal-Juárez, M. E. (1995). Inhibición de la glicosilación no enzimática de la hemoglobina en la diabetes mellitus. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*; 8(3): 185-188.
- Carvajal-Sandoval, G.; Zamudio-Cortes, P.; Carvajal-Juárez, M. E. y Juárez-de Carvajal (2007). Prevención de los daños producidos por la diabetes mellitus y la senescencia. *Gaceta Médica de México*; 143: 53-61.
- Catrina, S.B.; Okamoto, K.; Pereira, T.; Brismar, K. y Poellinger, L. (2004). Hyperglycemia regulates hypoxia-inducible factor-1alpha protein stability and function. *Diabetes*; 53(12): 3226–3232.
- Cerychova, R.; Bohuslavova, R.; Papouse, F.; Sedmera, D.; Abafy, P.; Benes, V.; Kolar, F. y Pavlinkova, G. (2018). Adverse effects of Hif1a mutation and maternal diabetes on the offspring heart. *Cardiovascular Diabetology*; 17(68): 1-16.
- Charles, B.; Norris, R.; Xiao, X. y Hague, W. (2006). Population pharmacokinetics of metformin in late pregnancy. *Therapeutic Drug Monitoring*; 28: 67–72.
- Chew, E.Y.; Mills, J.L. y Metzger, B.E. (1995). National Institute of Child Health and Human Development Diabetes in Early Pregnancy

Study. Metabolic control and progression of retinopathy: The Diabetes in Early Pregnancy Study. *Diabetes Care*; 18: 631–637.

- Clausen, T.D.; Mathiesen, E.; Ekbom, P.; Hellmuth, E.; Mandrup-Poulsen, T. y Damm, P. (2005). Poor pregnancy outcome in women with type 2 diabetes. *Diabetes Care*; 28: 323–328.
- Conter, C.; Rolland, M. O.; Cheillan, D.; Bonnet, V.; Maire, I. y Froissart, R. (2006). Genetic heterogeneity of the GLDC gene in 28 unrelated patients with glycine encephalopathy. *Journal of Inherited Metabolic Disease*; 29(1): 135–142.
- Cooper, J.R.; Bloom, F. E. y Roth, R. H. (2008). The biochemical basis of neuropharmacology. New York, Oxford University Press.
- Cundy, T.; Gamble, G. y Neale, L. (2007). Differing causes of pregnancy loss in type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Care*; 30: 2603–2607.
- Dabelea, D.; Hanson, R.L. y Lindsay, R.S. (2000). Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships. *Diabetes*; 49: 2208–2211.
- Dabelea, D.; Mayer-Davis, E.J. y Saydah, S. (2014a). SEARCH for Diabetes in Youth Study. Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009. *Journal of the American Medical Association*; 311: 1778–1786.
- Dabelea, D.; Rewers, A. y Stafford, J.M. (2014b); SEARCH for Diabetes in Youth Study Group. Trends in the prevalence of ketoacidosis at diabetes diagnosis: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Pediatrics*; 133: 938–945.
- Dai, Z.L.; Zhang, J.; Wu, G. y Zhu, W.Y. (2010). Utilization of amino acids by bacteria from the pig small intestine. *Amino Acids*; 39(5): 1201–1215.
- Dai, Z.L.; Li, X.L.; Xi, P.B.; Zhang, J.; Wu, G. y Zhu, W.Y. (2012). Metabolism of select amino acids in bacteria from the pig small intestine. *Amino Acids*; 42(5): 1597–1608.

- Dai, Z.L.; Wu, G. y Zhu, W.Y. (2011). Amino acid metabolism in intestinal bacteria: links between gut ecology and host health. *Frontiers in Bioscience*; 16: 1768–1786.
- Dasarathy, S.; Kasumov, T. y Edmison, J. M. (2009). Glycine and urea kinetics in nonalcoholic steatohepatitis in human: effect of intralipid infusion. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*; 297(3): 567–575.
- DeVeciana, M.; Major, C.A. y Morgan, M.A. (1995). Postprandial versus preprandial blood glucose monitoring in women with gestational diabetes mellitus requiring insulin therapy. *The New England Journal of Medicine*; 333: 1237–1241.
- Díaz, S.E.E. (2015). Protección de la vitamina E en las alteraciones morfo-funcionales de la nefropatía diabética y, su relación con la angiotensina II. Tesis para obtener el título de Biólogo. FES Iztacala, UNAM. Estado de México: México.
- Djordjevic, A.; Spasis, S.; Jovanovic, G.A.; Djordjevic, R. y Grubor, L.G. (2004). Oxidative stress in diabetic pregnancy: SOD, CAT and GSH-Px activity and lipid peroxidation products. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*; 16 (6): 367-372.
- Djurasevic, S.; Jasnic, N.; Prokic, M.; Grigorov, I.; Martinović, V.; Djordjevic, J. y Pavlović, S. (2019). The protective role of virgin coconut oil on the alloxane-induced oxidative stress in the liver, kidneys and heart of diabetic rats. *Food and Function*; 1-11.
- Dominis, N.; Rocic, S.; Ashcroft, S.J. H.; Rocic, B.; y Poje, M. (1984). Diabetogenic action of alloxan-like compounds: cytotoxic effects of 5-hydroxypseudouric acid and dehydrouramil hydrate hydrochloride on rat pancreatic  $\beta$  cell. *Diabetologia*; 27: 403-406.
- Dos Santos, F.I.; Rotta, L. N. y Schweigert I. D. (2001). Glycine, serine, and leucine metabolism in different regions of rat central nervous system. *Neurochemical Research*; 26(3): 245–249.

- Edelman, S.; Garg, S. y Frias, J. (2006). A double blind, placebo-controlled trial assessing pramlintide treatment in the setting of intensive insulin therapy in type 1 diabetes. *Diabetes Care*; 29: 2189–2195.
- El, H. M.; Pérez, I.; Zamora, J.; Soto, V.; Carvajal-Sandoval, G. y Baños, G. (2004). Glycine intake decreases plasma free fatty acids, adipose cell size, and blood pressure in sucrose-fed rats. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*; 287: 1387-1393.
- Ergaz, Z.; Weinstein-Fudim, L. y Ornoy, A. (2018). High sucrose low copper diet in pregnant diabetic rats induces transient oxidative stress, hypoxia, and apoptosis in the offspring's liver. *Birth Defects Research*; 110: 1001–1015.
- Eriksson, U.J. y Wentzel, P. (2015). The status of diabetic embryopathy. *Upsala Journal of Medical Sciences*; 121(2): 96-112.
- Ethridge, J.K. Jr; Catalano, P.M. y Waters, T.P. (2014). Perinatal outcomes associated with the diagnosis of gestational diabetes made by the International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups criteria. *Obstetrics and Gynecology*; 124: 571–578.
- Farrar, D.; Tuffnell, D.J.; West, J. y West, H.M. (2016). Continuous subcutaneous insulin infusion versus multiple daily injections of insulin for pregnant women with diabetes. *The Cochrane database of systematic reviews*; 6: 5542.
- Feldman, R.K.; Tieu, R.S. y Yasumura, L. (2016). Gestational diabetes screening: The International Association of the Diabetes and Pregnancy Study Groups compared with Carpenter-Coustan screening. *Obstetrics and Gynecology*; 127: 10–17.
- Foglia, V.G.; Rodríguez, R.R. y Schuster, N. (1946). Influence of sex in rat diabetes. *American Diabetes Association*; 6: 511-513.
- García-Patterson, A.; Gich, I.; Amini, S.B.; Catalano, P.M.; de Leiva, A. y Corcoy, R. (2010). Insulin requirements throughout pregnancy in

women with type 1 diabetes mellitus: three changes of direction. *Diabetologia*; 53: 446–451.

- Gerristen, G.C.; Blanks, M.C.; Schmidt, F.L. y Duling, W.E. (1976). Environmental influences on the manifestation of diabetes mellitus in Chinese hamsters. En: *The Genetics of Diabetes Mellitus* by Creutzfeldt, W. Kobberling, J. and Neel, J.V. Springer- Verlag. Germany.
- Gizzo, S.; Patrelli, T.S.; Rossanese, M.; Noventa, M.; Berretta, R. y Di Gangi, S. (2013). An update on diabetic women obstetrical outcomes linked to preconception and pregnancy glycemic profile: a systematic literature review. *The Scientific World Journal*. 2013:254901.
- Goh, S.Y. y Cooper, M.E. (2008). Clinical review: The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*; 93: 1143–52.
- Grunert, R.R. y Phillips, P.H. (1951). Uric acid diabetes in the rat. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*; 76: 642-645.
- Gui, J.; Liu, Q. y Feng, L. (2013). Metformin vs insulin in the management of gestational diabetes: a meta-analysis. *PLoS One*. 8(5):e645885.
- Gutierrez, V.O.; Assis, R.P; Arcaro, C.A.; Oliveira, J.O.; Lima, T.F.O.; Beretta, A.L.R.Z.; Costa, P.I.; Baviera, A.M. y Brunetti, I.L. (2018). Curcumin improves the effect of a reduced insulin dose on glycemic control and oxidative stress in streptozotocin-diabetic rats. *Phytotherapy Research*; 33(4):1–13.
- Halliwell, B. y Gutteridge, J.M.C. (2015a). Antioxidant defence enzymes: catalases En: *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fifth Edition. Oxford. New York: Estados Unidos de América. pp: 115-119.
- Halliwell, B. y Gutteridge, J.M.C. (2015b). Diabetes En: *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fifth Edition. Oxford. New York: Estados Unidos de América. pp: 532-539.

- Han, S.; Crowther, C.A.; Middleton, P. y Heatley, E. (2013). Different types of dietary advice for women with gestational diabetes mellitus. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2:CD009275.
- Hebert, M.F.; Ma, X. y Narahariseti, S.B. (2009). Obstetric-Fetal Pharmacology Research Unit Network. Are we optimizing gestational diabetes treatment with glyburide? The pharmacologic basis for better clinical practice. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 85: 607–614.
- Hermansen, K. (1981). Characterisation of the abnormal pancreatic  $\beta$  and  $\alpha$  cell function in streptozotocin diabetic dogs: Studies with D-glyceraldehyde, Dihydroxyacetone, D-mannoheptulose, D-glucose and L-arginine. *Diabetología*; 21: 489-494.
- Holman, R.R.; Paul, S.K.; Bethel, M.A.; Matthews, D.R. y Neil, H.A.W. (2008). 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. *The New England Journal of Medicine*; 359: 1577–1589.
- Holmes, V.A.; Young, I.S. y Patterson, C.C. (2011). Diabetes and Pre-eclampsia Intervention Trial Study Group. Optimal glycemic control, pre-eclampsia, and gestational hypertension in women with type 1 diabetes in the Diabetes and Pre-eclampsia Intervention Trial. *Diabetes Care*; 34: 1683–1688.
- International Expert Committee. (2009). International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*; 32: 1327–1334.
- Institute of Medicine and National Research Council. (2009). Weight Gain During Pregnancy: Re-examining the Guidelines. Washington, DC, National Academic Press.
- Jiang, Y.F.; Chen, X.Y.; Ding, T.; Wang, X.F.; Zhu, Z.N. y Su, S.W. (2015). Comparative efficacy and safety of OADs in management of GDM: network meta-analysis of randomized controlled trials. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*; 100: 2071–2080.

- Kadota, I. y Midorikawa, O. (1951). Diabetogenic action of organic reagents: Destructive lesions of islets of Langerhans caused by sodium diethyldithiocarbamate and potassium ethylxanthate. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*; 38: 671-688.
- Kawai, N.; Sakai, N. y Okuro, M. (2015). The sleep-promoting and hypothermic effects of glycine are mediated by NMDA receptors in the suprachiasmatic nucleus. *Neuropsychopharmacology*; 40(6): 1405–1416.
- Kester, L.M.; Hey, H. y Hannon, T.S. (2012). Using hemoglobin A1c for prediabetes and diabetes diagnosis in adolescents: can adult recommendations be upheld for pediatric use?. *Journal of Adolescent Health*; 50: 321–323.
- Kim, C.; Newton, K.M. y Knopp, R.H. (2002). Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care*; 25: 1862–1868.
- Kikuchi, G.; Motokawa, Y. y Yoshida, T. (2008). Glycine cleavage system, reaction mechanism, physiological significance, and hyperglycinemia. *Proceedings of the Japan Academy, Series B*; 84(7): 246–263.
- Knowler, W.C.; Barrett-Connor, E. y Fowler, S.E. (2002). Diabetes Prevention Program Research Group. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *The New England Journal of Medicine*; 346: 393–403.
- Koref, O.; Vargos, L.; Rodriguez, F.H. y Telchi, A. (1944). Alloxantinas a diabetogenic agent in rabbits. *Endocrinology*; 35:391-393.
- Lamers, Y.; Williamson, J.; Gilbert, L. R.; Stacpoole, P. W. y Gregory III, J. F. (2007). Glycine turnover and decarboxylation rate quantified in healthy men and women using primed, constant infusions of [1,2-(13)C2] glycine and [(2)H3] leucine. *Journal of Nutrition*; 137(12): 2647–2652.

- Langer, O.; Conway, D.L.; Berkus, M.D.; Xenakis, E.M.-J., Gonzales, O. (2000). A comparison of glyburide and insulin in women with gestational diabetes mellitus. *The New England Journal of Medicine*; 343: 1134–1138.
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*; 51: 216–226.
- Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L. y Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*; 193: 266-275.
- MacLeod, J.; Franz, M.J. y Handu, D. (2017). Academy of Nutrition and Dietetics nutrition practice guideline for type 1 and type 2 diabetes in adults: nutrition intervention evidence reviews and recommendations. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*; 117: 1637–1658.
- Malek, R. y Davis, S.N. (2016). Pharmacokinetics, efficacy and safety of glyburide for treatment of gestational diabetes mellitus. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*; 12: 691–699.
- Martínez-Angoa, A.; Parra-Hernández, E.; Madrigal-Bujaidar, E.; Chamorro-Cevallos, G.; Carvajal-Sandoval, G. y Zamudio-Cortes, P. (2006). Reduction of all-trans-retinoic acid-induced teratogenesis in the rat by glycine administration. *Birth Defects Research (Part A)*; 76: 731-738.
- Mayo, K.; Melamed, N.; Vandenberghe, H. y Berger, H. (2015). The impact of adoption of the international association of diabetes in pregnancy study group criteria for the screening and diagnosis of gestational diabetes. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*; 212(2):224.e1–224.e9.
- Meléndez-Hevia, E.; De Paz-Lugo, P.; Cornish-Bowden, A. y Cárdenas, M. L. (2009). A weak link in metabolism: the metabolic capacity for glycine biosynthesis does not satisfy the need for collagen synthesis. *Journal of Biosciences*; 34(6): 853–872.

- Méndez, J.D. y Palomar-Morales, M. (1999). Prevention by L-arginine and polyamines of delayed development and embryotoxicity caused by chemically-induced diabetes in rats. *Reproductive Toxicology*; 13(6): 501-9.
- Meng, H.; Zhang, A.; Liang, Y.; Hao, J.; Zhang, X. y Lu, J. (2018). Effect of metformin on glycemic control in patients with type 1 diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes Metabolism Research and Reviews*; 34(4):e2983.
- Metzger, B.E.; Lowe, L.P. y Dyer, A.R. (2008). HAPO Study Cooperative Research Group. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *The New England Journal of Medicine*; 358: 1991–2002.
- Miller, E.; Hare, J.W.; Cloherty, J.P.; Dunn, P.J.; Gleason, R.E. y Soeldner, J.S. (1981). Elevated maternal hemoglobin A1C in early pregnancy and major congenital anomalies in infants of diabetic mothers. *The New England Journal of Medicine*; 304: 1331–1334.
- Mills, J.L.; Baker, L. y Goldman, A.S. (1979). Malformations in infants of diabetic mothers occur before the seventh gestational week. Implications for treatment. *Diabetes*; 28: 292–293.
- Molina, J.M.; Prendas, F.H.; Klenck, R.E.; Eddlestone, G.; Oldman, S.B. y Lipson, L.G. (1984). The dynamic insulin secretory response of isolated pancreatic islets of the diabetic mouse. *Diabetes*; 33(11): 1120-1123.
- Mordes, J.P. y Rossini, A.A. (1981). Animal models of diabetes. *The American Journal of Medicine*; 70: 353-360.
- Mølsted-Pedersen, L.; Tygstrup, I. y Pedersen, J. (1964). Congenital malformations in newborn infants of diabetic women: correlation with maternal diabetic vascular complications. *The Lancet*, 1: 1124–1126.
- Mudaliar, U.; Zabetian, A. y Goodman, M. (2016). Cardiometabolic risk factor changes observed in diabetes prevention programs in US settings: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Medicine*; 2(5):1-13.

- Nestler, E. J. (2001). Antidepressant treatment in the 21<sup>st</sup> century. *Biological Psychiatry*; 44(7): 526-533.
- Newton, C.A.; Raskin, P. (2004). Diabetic ketoacidosis in type 1 and type 2 diabetes mellitus: clinical and biochemical differences. *Archives of Internal Medicine*; 164: 1925–1931.
- Ohkawa, H.; Ohishi, N. y Yagi. (1979). Assay for lipid in animal tissues for thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*; 95: 351-358.
- Organización Mundial de la Salud. (2016). Informe mundial de la diabetes: Resumen de orientación. Recuperado de: [www.who.int/diabetes/global-report](http://www.who.int/diabetes/global-report).
- Paglia, E.D. y Valentine, N.W. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*; 70: 158-168.
- Paniagua-Castro, N.; Escalona-Cardoso, Chamorro-Cevallos, G. (2006). Glycine reduces cadmium-induced teratogenic damage in mice. *Reproductive Toxicology*; 23: 92–97.
- Petrie, J.R.; Chaturvedi, N. y Ford, I. (2017). REMOVAL Study Group. Cardiovascular and metabolic effects of metformin in patients with type 1 diabetes (REMOVAL): a double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*; 5:597–609.
- Rajendra, S.; Lynch, J. W. y Schofield, P. R. (1997). The glycine receptor. *Pharmacology and Therapeutics*; 73(2): 121–146.
- Ratner, R.E.; Christophi, C.A. y Metzger, B.E. (2008). Diabetes Prevention Program Research Group. Prevention of diabetes in women with a history of gestational diabetes: effects of metformin and lifestyle interventions. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*; 93: 4774–4779.
- Ratner, R.E.; Dickey, R. y Fineman, M. (2004). Amylin replacement with pramlintide as an adjunct to insulin therapy improves long-term glycaemic and weight control in type 1 diabetes mellitus: a 1-year, randomized controlled trial. *Diabetic Medicine*; 21: 1204–1212.

- Razak, M.A.; Begum, P.S.; Viswanath, B. y Rajagopal, S. (2017). Multifarious Beneficial Effect of Nonessential Amino Acid, Glycine: A Review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*; 1-8, 2017: 1716701.
- Reich, E.P.; Scaringe, D.; Yagi, J.; Sherwin, S. y Janewaywa C.A. (1989). Prevention of diabetes in NOD mice by injection of auto-reactive T-lymphocytes. *Diabetes*; 38: 1647-1651.
- Reid, P.D. (1981). Animal models of diabetes mellitus: A review. *Lab. Animal*; 40-45.
- Rerup, C.C. (1970). Drugs producing diabetes through damage of the insuline secreting cells. *Pharmacological Reviews*; 22(4):485-518.
- Root, M.A. y Chen, K.K. (1952). Experimental diabetes produced by 8-hydroxyquinoline. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*; 104: 404-411.
- Rowan, J.A.; Hague, W.M.; Gao, W.; Battin, M.R.; Moore, M.P. y MiG Trial Investigators. (2008). Metformin versus insulin for the treatment of gestational diabetes. *The New England Journal of Medicine*; 358: 2003–2015.
- Sakata, N.; Yoshimatsu, G.; Tsuchiya. H.; Egawa, S. y Unno, M. (2012). Animal Models of Diabetes Mellitus for Islet Transplantation. *Experimental Diabetes Research*; 2012: 1-11.
- Salazar, G.M. (2010). Evaluación del efecto teratogénico de la diabetes inducida en rata sobre el desarrollo facial y de las extremidades. Tesis para obtener el grado de Doctorado en Ciencias Quimicobiológicas. ENCB, IPN. Distrito Federal: México.
- Szkudelski, T. (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiological Research*; 50: 536-546.
- Selvin, E.; Rawlings, A.M.; Bergenstal, R.M.; Coresh, J. y Brancati, F.L. (2013). No racial differences in the association of glycosylated

hemoglobin with kidney disease and cardiovascular outcomes. *Diabetes Care*; 36: 2995–3001.

- Selvin, E. (2016). Are there clinical implications of racial differences in HbA1c? A difference, to be a difference, must make a difference. *Diabetes Care*; 39: 1462–1467.
- Shoham, S.; Javitt, D. C. y Heresco-Levy, U. (2001). Chronic high-dose glycine nutrition: effects on rat brain cell morphology. *Biological Psychiatry*; 49;10 :876–885.
- Simon, J.P.; Baskaran, U.L.; Shallaudin, K.B.; Ramalingam, G. y Prince, S.E. (2018). Evidence of antidiabetic activity of *Spirulina fusiformis* against streptozotocin-induced diabetic Wistar albino rats. *Biotechnology Journal*; 8(2): 12.9
- Standards of American Diabetes Association. (2015). Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*; 38: 8-16.
- Stauffacher, W.; Kikkawa, R.; Amherdt, M. y Orci L. (1976). Hereditary hyperglycemic syndromes in laboratory rodents. En: *The Genetics of Diabetes Mellitus* by Creutzfeldt W, Kobberling Jand Neel, J.V. Springer-Verlag. Germany.
- Thureen, P. J.; Narkewicz, M. R.; Battaglia, F. C.; Tjoa, S. y Fennessey, P. V. (1995). Pathways of serine and glycine metabolism in primary culture of ovine fetal hepatocytes. *Pediatric Research*; 38(5): 775–782.
- Tobias, D.K.; Hu, F.B.; Chavarro, J.; Rosner, B.; Mozaffarian, D. y Zhang, C. (2012). Healthful dietary patterns and type 2 diabetes mellitus risk among women with a history of gestational diabetes mellitus. *Archives of Internal Medicine*; 172: 1566–1572.
- Tuomilehto, J.; Lindstrom, J. y Eriksson, J.G. (2001). Finnish Diabetes Prevention Study Group. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *The New England Journal of Medicine*; 344: 1343–1350.

- Trejo-González, N. L., Chirino-Galindo, G. y Palomar-Morales, M. (2015). Capacidad antiteratogénica del resveratrol en diabetes inducida por estreptozotocina en ratas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*; 32(3): 457-63.
- Tsuchida, S. 1999. *Glutathione transferase*. En: Taniguchi N, Gutteridge J, M.C. (editores). *Experimental protocols for reactive oxygen and nitrogen species*. Oxford University Press, Oxford, New York. 1ª ed. pp. 83-85.
- Tze, W.J. y Tai, J. (1984). *All transplantation and xenotransplantation of pseudoislets in diabetic rats and mice*. *Transplantation*. 38(4): 438-40.
- Valdéz-Penagos, A.G. y Mendoza-Núñez, V.M. (2004). *Estrés oxidativo, diabetes mellitus y enfermedad periodontal. Una revisión sistemática*. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 7(2): 103-8.
- Vanky, E.; Zahlsen, K.; Spigset, O. y Carlsen, S.M. (2005). Placental passage of metformin in women with polycystic ovary syndrome. *Fertility and Sterility*; 83: 1575–1578.
- Verheijen, E.C.; Critchley, J.A.; Whitelaw, D.C. y Tuffnell, D.J. (2005). Outcomes of pregnancies in women with pre-existing type 1 or type 2 diabetes, in an ethnically mixed population. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*; 112:1500–1503.
- Villamor, E. y Cnattingius, S. (2006). Interpregnancy weight change and risk of adverse pregnancy outcomes: a population-based study. *The Lancet*; 368: 1164–1170.
- Wang, W.; Liu, H.; Xiao, S.; Liu, S.; Li, X. y Yu, P. (2017). Effects of insulin plus glucagon-like peptide-1 receptor agonists (GLP-1RAs) in treating type 1 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Therapy*; 8: 727–738.

- Wang, W.; Wu, Z.; Dai, Z.; Yang, Y.; Wang, J. y Wu, G. (2013). Glycine metabolism in animals and humans: implications for nutrition and health. *Amino Acids*; 45(3): 463–477.
- Wei, Y.; Yang, H. y Zhu, W. (2014). International Association of Diabetes and Pregnancy Study Group criteria is suitable for gestational diabetes mellitus diagnosis: further evidence from China. *Chinese Medical Journal*; 127: 3553–3556.
- Wolf, S. (1976). Diabetes Mellitus. *The American Journal of Pathology*; 85 (3): 805-808.
- Wu, E.L.; Kazzi, N.G. y Lee, J.M. (2013a). Cost-effectiveness of screening strategies for identifying pediatric diabetes mellitus and dysglycemia. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*; 167: 32–39.
- Wu, G. (2010). Functional amino acids in growth, reproduction, and health. *Advances in Nutrition*; 1(1): 31–37.
- Wu, G.; Bazer, F. W. y Burghardt, R. C. (2011). Proline and hydroxyproline metabolism: implications for animal and human nutrition. *Amino Acids*; 40(4): 1053–1063.
- Wu, G.; Wu, Z. y Dai, Z. (2013b). *Dietary requirements of 'nutritionally non-essential amino acids' by animals and humans*. *Amino Acids*. 44(4):1107–1113.
- Yan, B. X. y Sun Qing, Y. (1997). Glycine residues provide flexibility for enzyme active sites. *Journal of Biological Chemistry*; 272(6): 3190–3194.
- Zhong, Z.; Wheeler, M. D. y Li, X. (2003). L-glycine: a novel antiinflammatory, immunomodulatory, and cytoprotective agent. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*; 6(2): 229–240.