



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

**MODELO METABOLÓMICO DE IDENTIFICACIÓN TEMPRANA DE DIABETES GESTACIONAL
EN POBLACIÓN MEXICANA**

T E S I S
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA EXPERIMENTAL

PRESENTA:
BRENDA MELISSA RAZO AZAMAR

TUTOR:
DRA. BERENICE PALACIOS GONZÁLEZ
UNIDAD DE VINCULACIÓN CIENTÍFICA FACULTAD DE MEDICINA UNAM-INMEGEN

COMITÉ TUTOR:
DRA. MARTHA GUEVARA CRUZ
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

DRA. LILIA GUADALUPE NORIEGA LÓPEZ
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

Ciudad Universitaria, CD. MX.

Agosto 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.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo de investigación fue desarrollado en la Unidad de Vinculación Científica de la Facultad de Medicina UNAM en el Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN).

Beca Conacyt CVU/Becario 851459/634828.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas Odontológicas y de la Salud, campo disciplinario Investigación Clínica Experimental en Salud, Bioquímica Clínica.

A la Secretaría de Salud de la Ciudad de México, Jurisdicciones Sanitarias Tlalpan y Gustavo A. Madero y Centros de Salud C.S.T.II San Miguel Topilejo y C.S.T.III Dr. Gabriel Garzón Cossa.

Al Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz del Instituto Nacional de Pediatría, a la M en C. Isabel Ibarra González y Dra. Marcela Vela-Amieva.

A todas las mujeres embarazadas de la Ciudad de México que aceptaron participar en el presente estudio.

A la Dra. Berenice Palacios González, por compartir conmigo sus conocimientos, experiencia, apoyo y tutoría durante la realización de este proyecto de investigación.

A la Dra. Martha Guevara Cruz, por su generosidad, conocimiento, recomendaciones y contribuciones que ayudaron a la realización y enriquecimiento de este trabajo de investigación.

A la Dra. Lilia Guadalupe Noriega López, por sus conocimientos, comentarios y contribuciones que ayudaron a enriquecer este trabajo de investigación.

Al candidato a Dr. Rafael Nambo Venegas, por todo su apoyo, conocimiento, ideas, comentarios y retroalimentación durante el desarrollo de la investigación.

A mis compañeros de laboratorio M. en C. Jaime Delgadillo Velázquez y L.N. Fernanda Valdéz Palomares por su apoyo, cariño, conocimientos y retroalimentación durante la realización de este proyecto de investigación.

A mis sinodales Dr. Samuel Canizales Quinteros, Dra. Elena Zambrano González y Dra. Andrea Sachi Díaz Villaseñor por sus comentarios y retroalimentación que ayudaron a enriquecer este trabajo de investigación.

A mis padres Magdalena y Guillermo por siempre apoyarme a alcanzar mis metas, por todo su tiempo, amor y apoyo incondicional que me impulsan día a día a mejorar siempre. Muchas gracias por ser mi inspiración para lograr mis metas.

A mi hermana Stephanie por su incansable apoyo, amor, comprensión y conocimientos a lo largo de este período. Gracias por siempre darme tu apoyo y enseñarme que luchando por tus sueños se logran cosas grandiosas. 이 길이 또 멀고 험할지라도, 너와 나 함께라면, 웃을 수 있으니까.

ÍNDICE

Resumen.....	1
Abstract	2
Introducción	3
Marco Teórico.....	4
Embarazo.....	4
Fase anabólica	4
Fase catabólica	5
Diabetes gestacional	7
Diabetes gestacional: Factores de Riesgo	7
Diabetes gestacional: Diagnóstico	8
Diabetes gestacional: Complicaciones.....	9
Diabetes gestacional: Nuevos avances en el diagnóstico.....	10
Planteamiento del problema.....	14
Justificación	15
Hipótesis.....	15
Objetivos	16
Objetivo general	16
Objetivos específicos	16
Diseño experimental	17
Diagrama de flujo.....	17
Diseño del estudio	18
Universo del estudio	18
Criterios de inclusión	18
Criterios de exclusión.....	18
Criterios de interrupción.....	19
Criterios de eliminación	19
Diseño de la muestra	19
Variables.....	20
Primera visita.....	21

Segunda visita	22
Métodos:	22
Análisis estadístico	25
Aspectos éticos	25
Aspectos de bioseguridad	26
Resultados	28
Discusión	41
Conclusiones	53
Perspectivas.....	53
Referencias	55
Anexos	63
ANEXO I: Espectrometría de masas	63
ANEXO II: Consentimiento Informado y carta de aprobación del comité de ética.....	66
ANEXO III: Carta aceptación comité de ética	67
Anexo IV: Gráfica con los casos mal clasificados con base en los dos modelos metabolómicos propuestos.....	69

Índice de tablas y figuras

Tabla 1. Factores de riesgo para el desarrollo de diabetes gestacional	7
Tabla 2. Pruebas y criterios diagnóstico de diabetes gestacional	8
Tabla 3. Modelos de diagnóstico temprano de diabetes gestacional	12-13
Tabla 4. Variables del protocolo de investigación	20-21
Tabla 5. Características descriptivas de la muestra de estudio	28
Tabla 6. Análisis de química sanguínea	29
Tabla 7. Perfil de acilcarnitinas	30-31
Tabla 8. Perfil de aminoácidos.....	32
Tabla 9. Tabla de contingencia modelo 1	36
Tabla 10. Rango de concentraciones de los metabolitos empleados en la construcción del modelo 1	36
Tabla 11. Tabla de contingencia modelo 2	37
Tabla 12. Rango de concentraciones de los metabolitos empleados en la construcción del modelo 2	38
Figura 1. Diagrama de flujo diseño experimental	17
Figura 2. Gráfica de precisión de predicción de los diversos modelos propuestos mediante análisis de árboles de decisión random Forest.	33
Figura 3. Gráfica de selección de los metabolitos por análisis de random Forest	34
Figura 4. Curva ROC del modelo 1 para identificación de diabetes gestacional.....	35
Figura 5. Curva ROC del modelo 2 para identificación de diabetes gestacional.....	37

Figura 6. Correlación de los metabolitos seleccionados para la generación de los modelos de identificación temprana de diabetes gestacional y el índice de resistencia a la insulina HOMA	39
Figura 7. Correlación de los metabolitos seleccionados para la generación de los modelos de identificación temprana de diabetes gestacional y su aminoácido de cadena ramificada	40
Figura I.1 Componentes de un espectrómetro de masas simple	63
Figura I.2 Componentes de un espectrómetro de masas en tándem MS-MS	65
Figura II.1 Gráfica de predicción de probabilidad de clasificación para el modelo 1	69
Figura II.2 Gráfica de predicción de probabilidad de clasificación para el modelo 2	70

Resumen

La diabetes gestacional representa la principal alteración metabólica durante el embarazo, afectando al 17.7% de los embarazos en México. La importancia clínica de esta patología radica en las complicaciones a corto y largo plazo que afectan a la madre y al producto como lo son el desarrollo de diabetes, obesidad, hipertensión y síndrome metabólico. La diabetes gestacional se diagnostica entre la semana 24 a 28 de gestación mediante la realización de una curva de tolerancia a la glucosa.

El objetivo del estudio fue identificar metabolitos presentes en etapas tempranas de la gestación (antes de la semana 18 de gestación) en mujeres que fueron diagnosticadas con diabetes gestacional mediante la realización de la prueba estándar de referencia diagnóstica; con el propósito de generar un modelo de identificación temprana para el desarrollo de diabetes gestacional en población mexicana.

Mediante un análisis de metabolómica dirigida, se seleccionaron biomarcadores séricos en etapas tempranas de gestación que presentaran el mayor valor predictivo para identificar a las mujeres que fueron diagnosticadas con diabetes gestacional en una cohorte de mujeres embarazadas mexicanas. Se evaluaron 75 mujeres embarazadas, las cuales 62 cursaron con embarazos normoevolutivos y 13 mujeres fueron diagnosticadas con diabetes gestacional de acuerdo con los criterios establecidos por la NOM-007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida.

Se realizaron análisis de árboles de decisión random forest para evaluar la contribución y asociación de los metabolitos en etapas tempranas de la gestación identificados con mayor relación al desarrollo de diabetes gestacional. Se desarrollaron modelos que incluyen acilcarnitinas de cadena corta (butirilcarnitina (AC4), isovalerilcarnitina (AC5) y tiglilcarnitina (AC5:1)) con un área bajo la curva (AUC) de 0.913 (0.856-0.959, IC 95%) y 0.93 (0.869-0.991, IC 95%) respectivamente para clasificar a las pacientes que desarrollan diabetes gestacional.

El presente estudio demuestra que el metabolismo de lípidos y aminoácidos en las mujeres que desarrollan diabetes gestacional de forma independiente al IMC pregestacional se encuentra alterado en etapas tempranas de la gestación. Los modelos metabolómicos generados permiten clasificar al 100% de los casos que desarrollan diabetes gestacional, independientemente del IMC pregestacional, edad y paridad; sin embargo, clasifican erróneamente al 20% de los controles.

Abstract

Gestational diabetes (GD) represents the main metabolic alteration during pregnancy affecting 17% of pregnancies in Mexico. The clinical relevance of this pathology is the short and long term complications such as: obesity, diabetes, and hypertension; that affect mother and child. GD is often diagnosed between weeks 24 to 28 of gestation through an oral glucose tolerance test.

The aim of the present study was to identify early pregnancy metabolites (under 18 weeks of gestation) present on women who were diagnosed with GD; in order, to generate an early prediction model to identify those women who will later be diagnosed with GD.

We used targeted metabolomics (11 amino acids and 39 acylcarnitines) to select early serum biomarkers with the most predictive power to identify women who will later be diagnosed with GD on a Mexican cohort of pregnant women. We assessed 79 pregnant women, which 66 underwent a normal pregnancy and 13 were diagnosed with GD under the IADPSG criteria.

Random forest analyses were performed to assess the contribution and association of the metabolites identified to the development of GD. We developed two models that included three short chain acylcarnitines (namely AC4, AC5 and AC5:1) that allowed an AUC of 0.93 (0.87-0.99, CI 95%) for model 1 and an AUC of 0.91 (0.86-0.96, CI 95%) for model 2 for classification of gestational diabetes.

This study shows that lipid and aminoacid metabolism is impaired even on early stages of pregnancy in women who will develop gestational diabetes; regardless of their gestational body mass index (BMI). These metabolic models allow the classification of the totality of cases of gestational diabetes, regardless their BMI, age and parity; however, these models wrongly classify 20% of controls.

This model allows the identification of women on early stages of pregnancy that will be diagnosed with gestational diabetes between weeks 24 to 28 of gestation. However, additional studies in a large sample of pregnant women are required.

Introducción

La diabetes gestacional (DG) constituye la alteración metabólica más frecuente en la gestación, se caracteriza por intolerancia a la glucosa en grados variables, iniciada o reconocida por primera vez durante la gestación y que puede o no resolverse después de ésta (1, 2). En México, este padecimiento ha ido en aumento y actualmente su prevalencia es del 17.7%, lo cual representa la importancia de su diagnóstico y tratamiento (3).

Existen diversos factores de riesgo relacionados al desarrollo de diabetes gestacional entre los que se encuentran: edad, etnia, ganancia excesiva de peso durante el primer trimestre de gestación, el período intergenésico, historia de diabetes gestacional en embarazos previos, historia familiar de diabetes gestacional, hábito de tabaquismo y la presencia de obesidad pregestacional (4, 5).

La importancia clínica de la DG radica en su asociación con las complicaciones tanto maternas como fetales; entre los desenlaces adversos maternos asociadas a la presencia de DG se incluyen; hipertensión arterial gestacional, preeclampsia, eclampsia y resolución del embarazo en cesárea, dentro de las complicaciones neonatales, la más común es la macrosomía (peso neonatal >4,000g independientemente de la talla), que se asocia con el riesgo de desarrollar síndrome de insuficiencia respiratoria aguda, distocia de hombros, parálisis de Erb, hipoglucemia, hipocalcemia, policitemia, hiperbilirrubinemia y trombocitopenia (6, 7). Diversos estudios han demostrado que las madres que cursaron el embarazo con diabetes gestacional tienen siete veces más riesgo de desarrollar diabetes tipo 2, y tienen mayor probabilidad de desarrollar hipertensión arterial, dislipidemias y síndrome metabólico que aquellas mujeres que no cursaron con esta patología en el embarazo (3, 4, 7-11).

Existen dos pruebas estándar de referencia empleadas para el diagnóstico de la diabetes gestacional recomendadas entre la semana 24 a 28 de gestación, ambas son utilizadas internacionalmente, sin embargo, no se ha llegado a un consenso sobre cual prueba es la más adecuada para el diagnóstico (2, 12, 13). En el presente trabajo se empleó la prueba estándar de referencia diagnóstica de un paso, con una carga de 75g de glucosa según los criterios establecidos por la NOM-007-SSA2-2016. Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida (14).

Recientemente, gracias al estudio de la metabolómica se han descubierto diversos biomarcadores que han permitido un mejor entendimiento de las vías metabólicas y metabolitos que derivan en el desarrollo de la diabetes gestacional y que pueden ayudar a desarrollar técnicas y herramientas para el diagnóstico temprano de esta patología en etapas tempranas de la gestación (15).

El objetivo de este trabajo fue la generación de un modelo metabolómico que permita la identificación temprana (antes de la semana 18 de gestación) de aquellas mujeres embarazadas mexicanas que serán diagnosticadas con diabetes gestacional entre las semanas 24 a 28 de gestación por medio la prueba estándar de referencia diagnóstica.

Marco Teórico

Embarazo

El embarazo es un estado que involucra diversas adaptaciones fisiológicas que son necesarias para asegurar un correcto aporte de nutrimentos para un correcto desarrollo y maduración fetal (16). Dichas adaptaciones se clasifican en dos fases: la fase anabólica y la fase catabólica (16, 17).

Fase anabólica

Esta fase ocurre durante los primeros dos trimestres de gestación, en donde ocurren diversas adaptaciones que tienen la finalidad de incrementar los depósitos lipídicos en tejidos maternos:

1. Desarrollo de hiperfagia, la cual se incrementa progresivamente a lo largo de la gestación y por consiguiente, promueve la disponibilidad de sustratos metabólicos exógenos (18, 19).
2. Incremento de lipogénesis *de novo*, durante esta etapa se incrementa la síntesis de ácidos grasos y glicerol, así como la actividad de la lipoprotein lipasa (LPL) para promover la distribución de grasa hidrolizando tanto a los quilomicrones ricos en triacilglicéridos y a las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDLs) circulantes en el plasma liberando ácidos grasos y glicerol que serán captados por el tejido adiposo (20, 21).

3. Incremento de la síntesis de glicerol-3-fosfato, se observa mayor síntesis de glicerol-3-fosfato en el tejido adiposo proveniente de glucosa y de glicerol, lo cual favorece la síntesis de triacilglicéridos y su acumulación en el tejido adiposo (22).
4. Sensibilidad a la insulina, durante esta etapa la sensibilidad a la insulina aumenta en tejidos periféricos (tejido adiposo y músculo esquelético) aproximadamente en un 60% influenciado por la unidad fetal-placentaria (23), debido al incremento en los receptores de insulina en estos tejidos, promoviendo la lipogénesis, reduciendo la oxidación de ácidos grasos y la lipólisis; generando un incremento en los depósitos de grasa (16).
5. Adaptaciones de las células beta pancreáticas, las cuales son clave en la respuesta a la sensibilidad materna a la insulina. Estas adaptaciones son mediadas por hormonas maternas (prolactina) y placentarias (lactógeno humano placentario); las cuales estimulan una hiperplasia de las células β -pancreáticas incrementando la secreción de insulina.
6. Hipoaminoacidemia, los aminoácidos son requeridos tanto por la madre como por el feto como una fuente energética que permite el adecuado crecimiento y desarrollo fetal (24, 25). Principalmente se observa disminución en las concentraciones de aminoácidos gluconeogénicos como: alanina, serina, treonina, glutamato y glutamina (26, 27).
7. Glucosa en ayuno, las concentraciones de glucosa en ayuno disminuyen debido al incremento en el almacenamiento de glucógeno en tejido hepático, así como en músculo esquelético, incremento en la utilización de glucosa periférica, disminución de la gluconeogénesis hepática e incremento de la utilización de glucosa por parte de la unidad feto-placentaria (28-30).

Fase catabólica

Inicia a finales del segundo trimestre del embarazo y se caracteriza por un metabolismo acelerado de los depósitos de lípidos como consecuencia al incremento en la actividad lipolítica basal del tejido adiposo en respuesta a la resistencia a la insulina.

Durante esta fase ocurren adaptaciones fisiológicas como:

1. Resistencia a la insulina durante el segundo y tercer trimestre de gestación se disminuye progresivamente la sensibilidad a la insulina en los tejidos periféricos (tejido adiposo y músculo esquelético); alcanzando su nivel máximo de resistencia en el tercer trimestre de gestación (23). En el hígado, la resistencia a la insulina

genera incremento en la gluconeogénesis y cetogénesis para mantener un estado normoglicémico.

2. Adaptaciones de las células beta pancreáticas, en respuesta a la disminución de la sensibilidad materna a la insulina, se desarrolla hiperinsulinemia mediada por hormonas maternas (prolactina) y placentarias (lactógeno humano placentario); las cuales estimulan la secreción de insulina y el incremento de tamaño y número de las células beta pancreáticas (hipertrofia) (23).
3. Incremento de la gluconeogénesis hepática, esta vía metabólica contribuye a la homeostasis de la glucosa durante el embarazo, al compensar la resistencia a la insulina en los tejidos y mantener un estado normoglicémico (23, 24).
4. Adaptaciones del tejido adiposo y hepático, estudios realizados en esta etapa describen que se presenta mayor expresión y actividad de la lipasa sensible a hormonas (HSL) en tejido adiposo y una disminución en la actividad de la lipoprotein lipasa (LPL) en tejido adiposo disminuyendo el depósito de lípidos en este tejido permitiendo que los ácidos grasos no esterificados (NEFAs) y el glicerol puedan ser convertidos en el hígado en acil-CoA y glicerol-3-fosfato para posteriormente ser re-esterificados (31).
5. Adaptaciones del tejido hepático En el tejido hepático, los triacilglicéridos son transferidos a las VLDL y posteriormente son liberados a la circulación materna, lo que ocasiona que esta fase del embarazo se caracterice por hipertriacilgliceridemia materna (24, 31, 32). Alternativamente, el glicerol puede ser empleado para síntesis de glucosa mientras que los NEFAs pueden ser oxidados a Acetil-CoA para la producción de energía, así como para la síntesis de cuerpos cetónicos que son empleados como sustrato energético fetal y como sustrato para la síntesis de lípidos esenciales para el neurodesarrollo fetal (16, 33, 34). En esta fase el uso preferencial de glicerol como sustrato gluconeogénico es de gran importancia durante períodos de ayuno materno debido a que los sustratos gluconeogénicos son escasos mientras que el aporte de glucosa es vital para el desarrollo fetal (34).
6. Hipoaminoacidemia, en esta fase se acentúa la disminución de concentraciones de aminoácidos como resultado del incremento de la gluconeogénesis hepática, así como del aumento en la transferencia de aminoácidos de la placenta hacia el feto para permitir un adecuado crecimiento y desarrollo fetal (16). De igual manera, la concentración de proteínas séricas maternas disminuye a partir de la semana 20 de gestación de 46 a 38 g/l, ocasionando una disminución de la presión oncótica predisponiendo al desarrollo de edema (24, 35).

La resistencia a la insulina fisiológica y la hipoglucemia relativa resulta en lipólisis, permitiendo a la mujer embarazada preferir el uso de lípidos como sustrato energético, preservando así la disponibilidad de glucosa, aminoácidos y cuerpos cetónicos para su aporte a la unidad feto-placentaria y así asegurar un adecuado crecimiento y desarrollo fetal. Cuando se ven alteradas cualquiera de estas adaptaciones fisiológicas y la mujer embarazada no es capaz de reaccionar adecuadamente a la resistencia a la insulina es entonces cuando se desarrolla hiperglucemia y consecuentemente diabetes gestacional.

Diabetes gestacional

La diabetes gestacional se define como una patología que se caracteriza por la intolerancia a los hidratos de carbono con diversos grados de severidad que se reconoce por primera vez durante el embarazo y que puede o no resolverse después de éste (36). Constituye la principal alteración metabólica en el embarazo (2, 37) y en nuestro país, la prevalencia de diabetes gestacional se reporta entre el 8.7 al 17.7% (3).

Diabetes gestacional: Factores de Riesgo

Las mujeres embarazadas se clasifican de acuerdo con los factores de riesgo que presentan para su desarrollo de diabetes gestacional en tres grupos: riesgo bajo, intermedio y alto (3, 6, 38); los cuales se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Factores de riesgo para el desarrollo de diabetes gestacional

Nivel de Riesgo	Criterios
Riesgo bajo	Se cumplen todos los siguientes factores de riesgo: -Grupo étnico con bajo riesgo de diabetes -Sin antecedentes de diabetes en familiares de primer grado -Edad menor a 25 años -IMC normal antes de la gestación -Peso normal al nacer -Sin antecedente de prediabetes
Riesgo intermedio	No cumplen criterios de bajo ni alto riesgo
Riesgo alto	Se presenta cualquiera de los siguientes factores de riesgo: -Obesidad severa pregestacional -Historia de diabetes en familiares de primer grado -Antecedente de prediabetes en embarazo previo -Diagnóstico establecido de prediabetes -Diagnóstico previo de síndrome de ovarios poliquísticos -Antecedente de productos macrosómicos (>4000g al nacer) -Presencia de glucosuria

Diabetes gestacional: Diagnóstico

Existen dos pruebas para el diagnóstico de la diabetes gestacional recomendadas entre la semana 24 a 28 de gestación, ambas son utilizadas internacionalmente, sin embargo, no se ha llegado a un consenso sobre cuál prueba es la más adecuada para el diagnóstico (2, 12, 13). Ambas pruebas diagnósticas se describen en la Tabla 2:

Tabla 2: Pruebas y criterios diagnóstico de diabetes gestacional

Prueba en Un Paso (2, 14, 37)	Prueba en Dos Pasos (2, 37, 39)
<p>-Curva de tolerancia a la glucosa (CTG) con 75g de glucosa, 3 tomas: ayuno, a la hora y a las dos horas.</p> <p>-Realizar la CTG en la mañana previo ayuno >8 horas.</p> <p>-Diagnóstico de diabetes gestacional si los valores de glucosa en plasma exceden:</p> <ul style="list-style-type: none">*Ayuno: 92mg/dl*1 hora: 180mg/dl*2 horas: 153mg/dl	<p>-Curva de tolerancia a la glucosa (CTG) con 50g de glucosa con toma a la hora (primer paso). En esta prueba, la paciente no necesita ayuno. Si la glucosa a la hora es superior o igual a 140mg/dl se procede a realizar una CTG con 100g de glucosa (segundo paso) con paciente en ayuno.</p> <p>-Diagnóstico de diabetes gestacional si dos o más niveles de glucosa en sangre exceden:</p> <ul style="list-style-type: none">*Ayuno: 95mg/dl*1 hora: 180mg/dl*2 horas: 155mg/dl*3 horas: 140mg/dl

En nuestro país, ambas pruebas estándar de referencia diagnóstica son aceptadas. Según la NOM0015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. 2010, en su apartado "10.4.2" establece que: "se recomienda que los estudios iniciales se hagan entre la semana 24 y 28 de embarazo (alrededor de los 6 meses), aunque las mujeres con mayor riesgo pueden ser estudiadas desde antes. Los estudios consisten en una muestra de glucosa en sangre (50 g de glucosa por vía oral) y si la sospecha es alta se hacen estudios más específicos, como la prueba de tolerancia a la glucosa en tres horas" (39). Así mismo, la NOM-007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida; establece en su apartado 5.3.1.6 lo siguiente: "A todas las mujeres embarazadas se debe realizar la prueba de detección para DG entre la semana 24 y 28 del embarazo, aunque las mujeres con mayor riesgo pueden ser estudiadas desde antes que la prueba" (14).

Sin embargo, como se puede apreciar anteriormente, sólo se menciona que las mujeres embarazadas con riesgo alto pueden ser evaluadas antes, pero no indican de forma específica en qué semana de gestación se recomienda realizar los estudios antes mencionados a la mujer embarazada con moderado y alto riesgo.

Diabetes gestacional: Complicaciones

Las pacientes que cursan con diabetes gestacional presentan un mayor riesgo de complicaciones maternas y fetales en comparación con la población general (6), estas complicaciones pueden ser perinatales y/o postparto (6, 7).

Las complicaciones maternas y fetales perinatales son: desarrollo de preeclampsia, eclampsia, resolución del embarazo en cesárea, malformaciones congénitas en el feto, macrosomía, prematuridad, hipoglucemia neonatal, hipocalcemia neonatal, ictericia neonatal, síndrome de distrés respiratorio y muerte fetal (6, 7, 10, 11). Todas estas complicaciones son relevantes ya que ponen en riesgo la vida materno-fetal en el transcurso y resolución del embarazo.

Las complicaciones postparto relacionadas con la diabetes gestacional son:

1. Desarrollo de diabetes tipo 2: Diversos estudios han demostrado que las mujeres que cursaron con diabetes gestacional tienen mayor probabilidad (siete veces más riesgo) de desarrollar diabetes tipo 2 a largo plazo (cinco años), en comparación con aquellas mujeres que no cursaron con esta patología durante el embarazo (7). En cuanto al desarrollo de diabetes tipo 2 en el recién nacido, se ha propuesto por la teoría de la programación de los Orígenes del Desarrollo de la Salud y la Enfermedad (DOHaD por sus siglas en inglés) que puede predisponer al riesgo de desarrollar enfermedades metabólicas crónico-degenerativas como lo es la diabetes. Esta teoría sostiene que la exposición intaruterina a un excesivo aporte energético, principalmente glucosa, ocasiona cambios metabólicos permanentes en el feto que llevan al desarrollo de diabetes en la edad adulta (7-9, 11, 40, 41).
2. Desarrollo de obesidad: Diversos estudios han demostrado que las pacientes que cursaron con diabetes gestacional tienen un alto riesgo de desarrollar obesidad posterior a la resolución del embarazo (6, 7, 11). Igualmente, la teoría DOHaD ha propuesto que los niños de madres con antecedente de diabetes gestacional tienen un riesgo mucho mayor de desarrollar obesidad en la edad adulta (9, 40, 41).
3. Desarrollo de síndrome metabólico y alto riesgo cardiovascular: Las mujeres con antecedente de diabetes gestacional tienen mayor probabilidad de desarrollar factores de riesgo cardiovasculares como: desarrollo de hipertensión, dislipidemias y síndrome metabólico que aquellas mujeres que no cursaron con esta patología en el embarazo (6, 11). De igual manera, la teoría DOHaD establece que la

hiperglucemia intrauterina en conjunto con la obesidad materna es un factor de riesgo para desencadenar síndrome metabólico en la edad adulta (8, 9, 11, 40).

Diabetes gestacional: Nuevos avances en el diagnóstico

Recientemente, gracias al estudio de la metabolómica (ciencia que lleva a cabo un estudio sistemático de los productos metabólicos así como de las vías metabólicas en organismos biológicos, para obtener huellas fenotípicas), se han descubierto diversos biomarcadores que han permitido un mejor entendimiento de las vías metabólicas y metabolitos que derivan en el desarrollo de la diabetes gestacional y que pueden ayudar a desarrollar técnicas y herramientas para el diagnóstico temprano de esta patología en etapas tempranas de la gestación (15).

Los estudios de metabolómica proveen una ventana para evaluar los mecanismos fisiopatológicos de diversas patologías como lo son la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2 (42). Estudios de metabolómica han correlacionado diversos metabolitos con el desarrollo de diabetes tipo 2 hasta 12 años antes del establecimiento de esta patología (43, 44), dentro de los cuales se incluyen: hidratos de carbono, especies de lípidos como lisofosfatidilcolinas, ácidos grasos, acilcarnitinas y aminoácidos, en especial aminoácidos de cadena ramificada (BCAAs por sus siglas en inglés, leucina, valina e isoleucina) y aromáticos (fenilalanina y tirosina) (43-46). De igual manera y debido a que tanto la diabetes tipo 2 y la diabetes gestacional comparten ciertas características, se han identificado biomarcadores comunes que permiten distinguir a las mujeres que desarrollan diabetes gestacional gracias a los estudios de metabolómica realizados entre las semanas en las que se establece el diagnóstico (47-51) o en semanas previas al diagnóstico (ver tabla 3). Sin embargo, todavía existe divergencia entre los metabolitos identificados y las poblaciones estudiadas.

Se han propuesto diversas teorías sobre la patogénesis de la diabetes gestacional, en donde el descubrimiento de diversos biomarcadores apoya la teoría que la lipotoxicidad desempeña un papel fundamental en el desarrollo de resistencia a la insulina (50, 52-54). El término lipotoxicidad se refiere al aporte excesivo de lípidos y su subsecuente acumulación en tejidos sensibles a la insulina y que interfiere con la vía de señalización de la insulina en estos tejidos (55). Muoio et al (56-58) propusieron un mecanismo alternativo en donde la tasa oxidación de los ácidos grasos sobrepasa el ciclo del ácido tricarbóxico; y, por consiguiente, desencadenando la acumulación de metabolitos

intermediarios tales como las acilcarnitinas, los cuales pueden interferir con la sensibilidad a la insulina.

Las acilcarnitinas (ACs) se generan a partir de la carnitina libre y acil-CoAs por medio de carnitina aciltransferasas en la mitocondria o en los peroxisomas (59). Las ACs son consideradas como la forma de transporte de ácidos grasos de distinta cadena (C2-C26) y estas especies pueden ser empleadas para producción de energía en la mitocondria o para la síntesis de moléculas endógenas; así mismo estas moléculas pueden ser transportadas de los tejidos hacia el plasma, en donde elevación de algunas especies de ACs se ha correlacionado con diversos estados de resistencia a la insulina (59, 60). Esta acumulación de distintas especies de acilcarnitinas se comprueba en estados de resistencia a la insulina (60) tales como síndrome metabólico (61), diabetes tipo 1 (61), diabetes tipo 2 (61-63) y recientemente en estudios de diabetes gestacional (48, 49, 64-67).

El perfil de las distintas especies de ACs, así como sus concentraciones, puede caracterizar el patrón metabólico y puede indicar la presencia de alteraciones en la oxidación de ácidos grasos y en el metabolismo de los ácidos orgánicos. En contraste con las ACs de cadena corta (C2-C5), las cuales pueden derivarse de la degradación de glucosa, aminoácidos y ácidos grasos; las ACs de cadena media (C6-C12) y larga (C14-C26) se derivan exclusivamente del metabolismo de los ácidos grasos. Las ACs de cadena larga principalmente se sintetizan y se metabolizan en la mitocondria, por lo tanto, concentraciones de estas especies de ACs son usadas como marcadores de alteración en la oxidación de ácidos grasos (55, 68).

Derivado de lo anterior, diversos autores han desarrollado diversos modelos predictivos para el diagnóstico temprano de diabetes gestacional (Tabla 3).

Tabla 3: Modelos de diagnóstico temprano diabetes gestacional.

Modelo	Variables	Semanas de gestación	Tamaño de muestra	País	AUC
Variables clínicas (69)	Edad materna, IMC pregestacional, etnia	<20	1560	Canadá	0.668 IC 95% 0.637, 0.699
Variables clínicas (70)	Edad materna >25 años, IMC pregestacional >25kg/m ² , antecedente de complicaciones obstétricas, historia familiar de primer grado de diabetes tipo 2, producto macrosómico en embarazos previos	<20	422	Turquía	0.680 IC 95% 0.649, 0.712
Variables clínicas (71)	IMC pregestacional, etnia, historia familiar de primer grado de diabetes tipo 2, diabetes gestacional en embarazos previos	<20	995	Países Bajos	0.756 IC 95% 0.725, 0.787
Variables clínicas (72)	Edad materna, IMC en la primera visita de control prenatal, etnia, historia familiar de primer grado de diabetes tipo 2, diabetes gestacional en embarazos previos	<20	4276	Australia	0.739 IC 95% 0.701, 0.776
Lipidómico (73)	Especies de triacilglicéridos TG 51:1, TG 48:1, especie de fosfatidilcolina PC 32:1, especie de colin-éter fosfolípido PCae 40:4.	15-16	817	Reino Unido	0.741 IC 95% 0.696, 0.786
Adiponectina (74)	Adiponectina	13	No aplica, meta-análisis		0.79 IC 95% 0.75, 0.83
Hemoglobina glucosilada (75, 76)	Edad materna, adiponectina, apolipoproteína M, apolipoproteína L1	8-14	Ref 75: 1195 Ref 76: 262	Ref 75: España Ref 76: Brasil	0.725 IC 95% 0.2,0.824
Ganancia de peso (77)	Ganancia de peso materna gestacional	14	255	China	OR 2.6, IC 95% 1.3-6.0
Variables clínicas y metabólicas (78)	Edad materna, suma de pliegues cutáneos, presión arterial sistólica, glucosa, HbA1c, fructosamina, adiponectina, SHBG, triacilglicéridos en HDL, 3-hidroxiacetil-CoA	15-18	1303	Reino Unido	0.77 IC 95% 0.73,0.80

Tabla 3: Modelos de diagnóstico temprano diabetes gestacional (continuación).

Modelo	Variables	Semanas de gestación	Tamaño de muestra	País	AUC
Metabolómico y variables clínicas (79)	Metabolitos: ácidos grasos (ácido linoléico, oleico, mirístico), azúcares y alcoholes (d-galactosa, d-sorbitol, o-fosfocolamina), aminoácidos (l-alanina, l-valina, 5-hidroxi-1-triprófano, 1-fenil-fenilalanina, l-serina, sarcosina, ácido glutámico) y ácidos orgánicos (ácido láctico, ácido fumárico y urea) Variables clínicas: edad materna, IMC pregestacional, historia familiar de diabetes en primer grado	16	358	Suecia	0.8485 IC 95% 0.71, 0.87
Metabolómico y variables clínicas (65)	Metabolitos: PAPP-A (proteína plasmática asociada al embarazo- A), arginina, glicina, AC5OH (3-hidroxil-isovalerilcarnitina) Variables clínicas: edad, IMC pregestacional, tabaquismo	<13	364	Finlandia	0.83 IC 95%
Metabolómico (67)	Acetilcarnitina (AC2), butirilcarnitina (AC4), isobutirilcarnitina (IsoAC4), glutamato, leucina	<20	100	Canadá	OR 2.7, IC 95% 1.5-4.9
Huella metabolómica identificada en mujeres embarazadas mexicanas (66)	β -hidroxibutirato, dodecanoilcarnitina (AC12), lactato, urea, propionilcarnitina (AC3), arginina, isovalerilcarnitina (AC5), fenilalanina, leucina, glucosa, acetilcarnitina (AC2), heptadecanoilcarnitina (AC10), valina	9-18	56	México	Estudio piloto realizado en el INMEGEN

En un estudio piloto de tipo longitudinal retrospectivo de casos y controles realizado en nuestro laboratorio (66), se comparó el perfil metabólico a lo largo de la gestación en dos grupos: control (n=50), conformado por mujeres que cursaron un embarazo normoevolutivo y casos (n=6), mujeres que desarrollaron diabetes gestacional. Todas las participantes tuvieron seguimiento de control prenatal mensual en donde se obtuvo una muestra de sangre venosa para determinación de las concentraciones en suero de: glucosa, urea, β -hidroxibutirato, lactato, 28 acil carnitinas y 11 aminoácidos. Entre la semana 24 a 28 de gestación se realizó una CTOG de 75g en 2 horas, para establecer el diagnóstico de diabetes gestacional.

Para el análisis longitudinal se identificaron cuatro ventanas dependiendo de las semanas de gestación (SDG): 1) 9-13, 2) 14-17, 3) 18-21 y 4) 22-26. En el grupo que desarrolló diabetes gestacional, se identificó una huella metabólica antes de la semana 18 de gestación la cual permitió diferenciar a este grupo del control. Esta huella consistió en los siguientes metabolitos: β -hidroxibutirato, AC12, lactato, urea, AC3, arginina, AC5, fenilalanina, leucina, glucosa y AC2 (66).

Este proyecto se centró en la generación de un modelo metabólico para la identificación antes de la semana 18 de gestación de aquellas mujeres embarazadas mexicanas que serán diagnosticadas entre las semana 24 a 28 de gestación con diabetes gestacional mediante la prueba estándar de referencia diagnóstica de un paso tal como lo establece la NOM-007-SSA2-2016 (14).

Planteamiento del problema

El diagnóstico de diabetes gestacional se realiza entre las semanas 24 a 28 de gestación (2, 13, 14, 39), pero existe evidencia que desde el primer trimestre de gestación se pueden identificar biomarcadores que tienen relación significativa en el desarrollo de esta patología (65-67, 69-75, 77-79). Sin embargo, en las poblaciones estudiadas se observa divergencia en los metabolitos utilizados, esto se debe a la presencia de factores de riesgo tales como: la etnicidad, el fondo genético y los elementos presentes en el exposoma de las mujeres que influyen en el desarrollo de diabetes gestacional. Por lo que la pregunta de investigación es: ¿El modelo metabólico generado antes de la semana 18 de gestación permitirá identificar aquellas mujeres embarazadas mexicanas que serán diagnosticadas entre las semanas 24 a 28 de gestación con diabetes gestacional mediante la prueba estándar de referencia diagnóstica?

Justificación

Existen diversos factores de riesgo relacionados al desarrollo de diabetes gestacional y para el caso de la mujer mexicana embarazada ésta tiene mayores posibilidades de desarrollar diabetes gestacional por cuanto:

- 1) pertenece a un grupo étnico de alto riesgo, diversos estudios indican que la mujer latinoamericana tiene más riesgo de diabetes gestacional que las mujeres caucásicas
- 2) por la presencia de obesidad pregestacional, en México el 75.6% de las mujeres en edad reproductiva presentan sobrepeso u obesidad
- 3) tiene cuando menos un familiar en primer grado con diabetes tipo 2, según los datos de la ENSANUT MC 2016 y
- 4) antecedentes personales de diabetes gestacional.

La implicación en la detección temprana permitiría al médico/nutriólogo agregar una ventana de hasta 12 semanas en la identificación de estas mujeres y así, iniciar el manejo médico y nutricional para evitar el desenlace y las complicaciones ocasionadas por la diabetes gestacional.

Hipótesis

La generación de un modelo metabólico antes de la semana 18 de gestación permitirá identificar a aquellas mujeres embarazadas mexicanas que serán diagnosticadas con diabetes gestacional en la semana 24 a 28 de gestación mediante la prueba estándar de referencia diagnóstica.

Objetivos

Objetivo general

Generar un modelo metabólico que permita identificar antes de la semana 18 de gestación, a aquellas mujeres embarazadas mexicanas que serán diagnosticadas con diabetes gestacional entre las semanas 24 a 28 de gestación.

Objetivos específicos

- Obtener antes de la semana 18 de gestación la evaluación clínica, metabólica, y hormonal de las mujeres embarazadas que decidan participar en el estudio.
- Determinar entre la semana 24 y 28 de gestación la presencia de diabetes gestacional de cada participante mediante la prueba estándar de referencia diagnóstica (prueba de tolerancia oral a la glucosa) utilizando 75 g de glucosa, utilizando los criterios que establece la NOM-007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida.
- Identificar los metabolitos antes de la semana 18 de gestación con mayor correlación con la presencia de DG.
- Diseñar un modelo de identificación temprana de diabetes gestacional en mujeres mexicanas a partir de variables con mayor correlación mediante análisis multivariado.
- Determinar el punto de corte óptimo para conocer la exactitud del modelo predictivo que permita identificar aquellas mujeres que serán diagnosticadas con diabetes gestacional entre la 24-28 semanas de gestación mediante la prueba estándar de referencia diagnóstica.

Diseño experimental

Diagrama de flujo

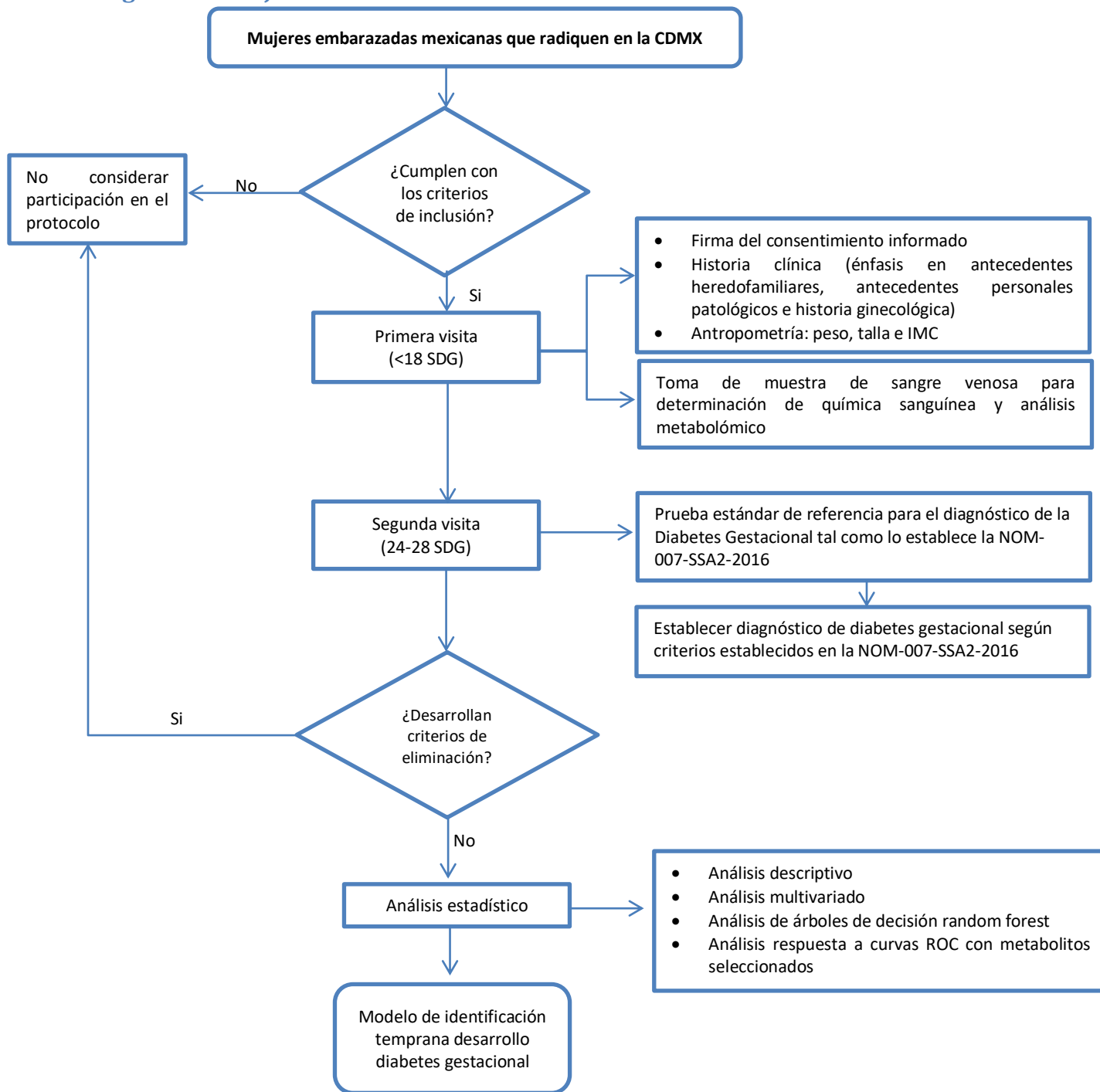


Figura 1. Diagrama de flujo diseño experimental

Diseño del estudio

Estudio cuantitativo observacional, prospectivo, y longitudinal.

Universo del estudio

Mujeres embarazadas mexicanas clínicamente sanas con edad gestacional menor a 18 semanas de gestación que cumplan con los criterios de inclusión y que asistan a la institución de salud participante (Centros de Salud de Primer Nivel pertenecientes a la jurisdicción sanitaria Tlalpan y Gustavo A Madero de la Secretaría de Salud de la Ciudad de México).

Criterios de inclusión

Criterio	Características
Criterios de inclusión	<ul style="list-style-type: none">-Mujeres embarazadas clínicamente sanas mayores de 18 años y menores de 35 años de edad, que vivan dentro del área metropolitana y conurbada de la Ciudad de México sin importar el número de gestas previas, índice de masa corporal pregestacional, antecedentes heredofamiliares de primer grado y antecedente de diabetes gestacional en embarazo(s) previos.-Mujeres embarazadas con producto único vivo que acepten seguir el control prenatal en la institución de salud participante.-Mujeres con edad gestacional menor a 18 semanas, confirmada mediante ultrasonido.-Que acepten participar libremente en el estudio mediante la previa firma del consentimiento informado.

Criterios de exclusión

Criterio	Características
Criterios de exclusión	<ul style="list-style-type: none">-Mujeres que cursen con alguna patología subyacente al embarazo, que requiera tratamiento médico, tales como: diabetes tipo 2, hipertensión arterial sistémica, dislipidemia, síndrome de ovario poliquístico, enfermedades autoinmunes, tiroideas, renales, neurológicas, virales activas (VIH, TORCH), VDRL positivo y cáncer.-Mujeres embarazadas con hábito activo de tabaquismo, alcoholismo y/o toxicomanías.

Criterios de interrupción

Criterio	Características
Criterios de interrupción	- Mujeres embarazadas que presenten influenza estacional, gastroenteritis que no requiera hospitalización, dermatitis por contacto, contusiones leves que no pongan en riesgo la evolución de la gestación.

Criterios de eliminación

Criterios	Características
Criterios de eliminación	<ul style="list-style-type: none">-Mujeres embarazadas que retiren su consentimiento informado-Mujeres embarazadas que desarrollen aborto o muerte fetal temprana u otra patología adyacente a DG antes de la semana 28 de gestación.-Mujeres embarazadas que abandonen el seguimiento prenatal dentro de la institución de salud participante.-Mujeres embarazadas en las que no se pueda realizar la curva de tolerancia a la glucosa-Mujeres embarazadas que abandonen de forma voluntaria el estudio

Diseño de la muestra

La muestra establecida para la cohorte se obtiene del último reporte de natalidad registrado (2015) en la Ciudad de México (135,828 nacimientos). Se utilizará un nivel de confianza del 95% con un margen de error del 5%. Utilizando la siguiente ecuación se obtiene:

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 N p q}{e^2 (N - 1) + Z_{\alpha}^2 p q}$$

n=tamaño de muestra

Z α = 1.96 (nivel de confianza del 95%)

e= 0.05 (margen de error del 5%)

p=0.087 (proporción de individuos que poseen en la población la característica de estudio)

q=0.913 (proporción de individuos que no poseen la característica 1-p)

N=135,828 nacimientos (población de estudio)

A partir de esta ecuación se obtiene que la muestra representativa que se utilizó en el estudio consistió en **147 pacientes**, ya sumando el 20% adicional por posibles pérdidas durante el seguimiento del estudio.

Variables

En la tabla 4 se describen las variables consideradas en este estudio.

Tabla 4: Variables del protocolo de investigación

Variable	Tipo	Definición Operacional	Escala de Medición	Calificación
Edad materna	Control	Edad en años cumplidos de la participante.	Cuantitativa discreta	años
Antecedentes heredofamiliares	Control	Antecedentes heredofamiliares de primer grado de cualquiera de las siguientes patologías: diabetes tipo 2, diabetes gestacional, obesidad, hipertensión arterial y dislipidemias.	Cualitativa nominal	Diabetes/ Diabetes gestacional/ Obesidad/ HAS/ Dislipidemias/ Todas / Ninguna
Antecedente de tabaquismo	Control	Hábito tabáquico antes de embarazo.	Cualitativa dicotómica	Si/ No
Peso actual	Control	Peso reportado en la primera visita.	Cuantitativa continua	kg
Talla	Control	Talla reportada en la primera visita.	Cuantitativa continua	m
IMC	Control	Relación entre el peso / (talla) ² en la primera visita.	Cuantitativa continua	kg/m ²
Diabetes gestacional previa	Independiente	Antecedente de diagnóstico de diabetes gestacional en embarazo previo.	Cualitativa dicotómica	Si/ No
Edad gestacional 1ª visita	Independiente	Semanas de gestación por fecha de última menstruación confirmada por ultrasonido en la primera visita.	Cuantitativa continua	semanas
Glucosa	Independiente	Concentración de glucosa sérica determinada mediante química sanguínea.	Cuantitativa continua	mmol/L
β-hidroxibutirato	Independiente	Concentración de β-hidroxibutirato sérica determinada mediante colorimetría.	Cuantitativa continua	mM/L
Acil-carnitinas (39 especies)	Independiente	Concentración de acil-carnitinas séricas determinadas mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem.	Cuantitativa continua	μmol/L
Aminoácidos (11 tipos)	Independiente	Concentración de aminoácidos séricos determinados mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem.	Cuantitativa continua	μmol/L
Insulina	Independiente	Concentración de insulina sérica determinada mediante ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).	Cuantitativa continua	mmol/L

HOMA-IR	Independiente	Índice de resistencia a la insulina empleando las concentraciones de glucosa e insulina en ayuno. $HOMA - IR: \frac{glucosa\ ayuno\ (mmol/l) \times insulina\ ayuno\ (mmol/l)}{22.5}$	Cuantitativa continua	Unidades con decimales
HOMA-%β	Independiente	Índice para estimar la función de la célula beta pancreática en función de las concentraciones de insulina y glucosa en ayuno. $HOMA - \%β: \frac{20 \times insulina\ ayuno\ (mU/l)}{glucosa\ ayuno\ (mmol/l) - 3.5}$	Cuantitativa continua	Unidades con decimales
Diabetes gestacional	Dependiente	Diagnóstico de diabetes gestacional según los criterios que establece la NOM-007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida. En el numeral 5.3.1.6 y Apéndice K	Cualitativa dicotómica	Positivo / Negativo

Las mujeres embarazadas que cumplieron con los criterios de inclusión fueron invitadas a participar en la investigación mediante un folleto. Mediante este folleto se le explicó a la participante con un lenguaje claro y conciso su participación en el protocolo de investigación.

Las pacientes que aceptaron participar en el estudio previa la firma del consentimiento informado, fueron vistas en dos ocasiones.

Primera visita

Se realizó antes de las 18 semanas de gestación. En esta visita se recolectó la siguiente información:

- Edad materna
- Historia clínica ginecológica para recabar antecedentes heredofamiliares de primer grado de cualquiera de las siguientes patologías: diabetes tipo 2, diabetes gestacional, obesidad, hipertensión arterial y dislipidemias
- Hábito tabáquico antes de embarazo
- El antecedente de diabetes gestacional en embarazos previos
- Edad gestacional
- Medidas antropométricas: peso, talla y cálculo de IMC

Se recolectó una muestra de sangre venosa (5 mL) en ayuno, en tubos con BD Vacutainer con activador de coagulación tapón rojo.

Segunda visita

Se realizó entre la 24 a 28 semanas de gestación. En esta visita se realizó lo siguiente:

- Medidas antropométricas: peso, talla y cálculo de IMC.
- Edad gestacional
- Prueba estándar de referencia diagnóstica según lo establece la NOM-007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida, en el numeral 5.3.16. y Apéndice K (14).

Métodos:

Historia clínica: Se elaboró la historia clínica ginecológica según lo establece la NOM-004-SSA3-2012, Del expediente clínico en su apartado 6.1 Historia Clínica, 6.1.1 Interrogatorio, 6.1.2 Exploración física y 6.1.3 Diagnósticos o problemas clínicos (80).

Edad gestacional: Se define como el periodo transcurrido desde el primer día de la última menstruación normal en una mujer con ciclos menstruales regulares, sin uso de anticonceptivos hormonales; con fecha de última menstruación confiable, hasta el nacimiento o hasta el evento gestacional en estudio. Se expresa en semanas y días completos (14).

Medidas antropométricas:

- Peso: Se colocó a la participante embarazada en el centro de la báscula (marca SECA) con ropa ligera, sin calzado, con los talones juntos y las puntas ligeramente separadas, se le pidió a la participante que se mantuviera erguida con la mirada al frente y los brazos colgados paralelos al eje del cuerpo. El peso se registró en kilogramos.
- Talla: Se colocó a la participante embarazada que se colocara erguida, descalza y con los talones juntos empleando un estadímetro (marca SECA). La talla se registró en metros.

Cálculo del índice de masa corporal (IMC): Se obtuvo por medio de la fórmula de Quetelet (cociente entre el peso en kilogramos entre la estatura en metros al cuadrado). Se empleó la clasificación propuesta por la Organización Mundial de la Salud para la población adulta.

Prueba estándar de referencia diagnóstica (curva de tolerancia oral a la glucosa con carga de 75g de glucosa): se realizó según lo establece la NOM-007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida, en el numeral 5.3.16. y en el Apéndice K (14), la cual consistió en:

1. La participante acudió a la visita en estado de ayuno (no haber consumido ningún tipo de alimento o bebida) de mínimo 8 horas y máximo de 12 horas.
2. Se realizó toma de muestra de sangre venosa en ayuno del antebrazo en donde se extrajeron aproximadamente 5ml de sangre. Posteriormente, la participante ingirió una solución con una carga de glucosa de 75g (DEXTROSOL PTGO, 250ml Solución glucosada sabor natural 75g de glucosa).
3. Después del consumo de la solución, se realizaron dos tomas de muestra de sangre venosa del antebrazo con un intervalo de 60 minutos entre cada toma hasta completar 120 minutos. Cada muestra de sangre fue de aproximadamente 5ml.
4. El diagnóstico de DG se estableció según los criterios mencionados por la NOM 007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida.

Obtención de suero: Se centrifugaron los tubos BD Vacutainer tapón rojo con activador de coagulación a 1,500xg por 10 minutos para la obtención de suero, el cual fue almacenado en alícuotas de 500 µl en ultracongelador a -70°C hasta la realización de los análisis de química sanguínea, determinación de β-hidroxibutirato e insulina.

Química sanguínea: Las concentraciones séricas de glucosa, triacilglicéridos y colesterol total fueron determinadas mediante autoanalizador Miura 200 y los kits Diagnostics Systems, DyaSys.

Determinación de β-hidroxibutirato: la concentración sérica de β-hidroxibutirato fue determinada mediante técnica de colorimetría mediante el uso del kit EnzyChrom Ketone Body Assay Kit.

Determinación de insulina: la concentración sérica de insulina fue determinada mediante la técnica de ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) empleando el kit Human Insulin EZH1-14K/EZHI-14BK, Merck Milipore.

Cálculo de índice HOMA-IR y HOMA-%β: el modelo de evaluación homeostático (HOMA por sus siglas en inglés) es un método para la evaluación y estimación de la función de la célula β-pancreática (HOMA-%β) y la resistencia a la insulina (HOMA-IR por sus siglas en inglés) obtenido a través de las concentraciones en ayuno de glucosa e insulina. Los cálculos del índice HOMA-IR y el cálculo del índice HOMA-%β se realizaron con base en la fórmula descrita por Matthews et al (81).

$$HOMA - IR: \frac{\text{glucosa ayuno (mmol/l)} \times \text{insulina ayuno (mmol/l)}}{22.5}$$

$$HOMA - \%β: \frac{20 \times \text{insulina ayuno (mU/l)}}{\text{glucosa ayuno (mmol/l)} - 3.5}$$

Metabolómica dirigida: para la obtención del perfil metabolómico de carnitina libre, 38 acilcarnitinas y 11 aminoácidos se empleó el kit NeoBase™ Non-derivatized MSMS de PerkinElmer. Se colocaron 20 µl de suero en un papel filtro (Schleicher & Schüell 1992, Dassel, Germany) el cual se dejó secar por 24 horas a temperatura ambiente. Una vez seco el papel filtro se perforó en discos de 3mm de diámetro y se colocaron en una placa de 96 pozos. Se agregó 100 µl de los estándares de acil-carnitinas y aminoácidos provenientes del kit NeoBase™ Non-derivatized MSMS de PerkinElmer, y se incubó la placa a una temperatura de 37°C con agitación suave por 45 minutos. Al término de la incubación se inyectaron 40 µl de cada pozo a la bomba de HPLC para su ionización por medio de la técnica de electrospray empleando nitrógeno. Los iones pasan a través de un analizador de masas (MS1) cuya función es la separación de los iones de interés en relación con su masa/carga correspondiente (m/z). Los iones de interés fueron fragmentados a través de su paso por una cámara de colisión cuya función es generar diferentes fragmentos iónicos característicos de cada compuesto de interés. Estos fragmentos iónicos pasaron a través de un segundo analizador de masas (MS2) en donde finalmente llegan al detector quien registra y amplifica la señal proveniente del espectrómetro de masas. Finalmente se envía la señal a un procesador de datos en donde se registró la representación gráfica de los iones en relación a su valor m/z, ajustando cada señal de acuerdo con el porcentaje de especies más abundantes en la muestra a evaluar (ver Anexo I).

Análisis estadístico

En el análisis descriptivo las variables cuantitativas continuas se expresaron como promedios y desviaciones estándar (paramétricas) o como medianas y percentiles 25 y 75 (no paramétricas), dependiendo de su curva de distribución; para determinar la normalidad de las variables se empleó previamente la prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov. Para presentar las variables dicotómicas se utilizaron frecuencias y porcentajes.

Mediante un análisis multivariado se identificaron los predictores independientes que correlacionaron mejor con el desarrollo de DG.

Las diferencias entre grupo con DG y sin DG se evaluaron mediante un análisis de árboles de decisión random Forest de acuerdo a la distribución de las variables. Para evaluar la asociación y la contribución de las variables para diferenciar al grupo DG del grupo control se realizó un análisis de árboles de decisión random Forest de acuerdo con distintos criterios de selección: frecuencia y media promedio.

Con base en las variables que presentaron una mayor frecuencia y/o una media promedio, se generó un modelo que permitió clasificar al grupo con DG.

Mediante la curva ROC (receiver operating characteristic) se determinó el punto de corte óptimo para discriminar la población con DG de las que no la desarrollaron. En todos los análisis estadísticos se asumió significancia estadística si el valor de probabilidad fue menor de 0.05.

Todos los análisis estadísticos se realizaron en los programas: R versión 64 (análisis de árboles de decisión random Forest, curvas ROC), Stata versión 13 (análisis multivariado y de correlación) y SPSS versión 23 (estadística descriptiva).

Aspectos éticos

Este trabajo mantuvo un apego estricto con el “Reglamento de la Ley General de la Salud en Materia de Investigación para la Salud” (82), la Declaración de Helsinki (83) y los lineamientos reportados por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) (84).

Los aspectos éticos de la investigación en seres humanos dispuestos en el Título Segundo del “Reglamento de la Ley General de la Salud en Materia de Investigación para la Salud”, permitieron clasificar a este proyecto como de riesgo mínimo para los sujetos de

investigación aquí mencionados, como se detalla en el artículo 17 índice II del Capítulo I. Así mismo, los datos clínicos, bioquímicos y antropométricos por recabar de las participantes embarazadas también recaen en esta disposición del Capítulo IV en los artículos 42 al 56 del mismo reglamento (82).

Las mujeres embarazadas participantes fueron informadas de manera verbal de los procedimientos y beneficios por obtener en este proyecto de investigación antes de su participación y consentimiento, para el cual, firmaron una “Carta de Consentimiento Informado” (ver Anexo II) al momento de su aceptación de participación en el protocolo. Se empleó un lenguaje claro y conciso con las participantes para la colecta de datos durante la participación de la participante. Los investigadores no tuvieron autoridad para decidir sobre el manejo del control prenatal, momento, método o procedimiento empleados para terminar el embarazo, ni participaron en decisiones sobre la viabilidad del feto. El grupo de investigación se comprometió y entregó todos los resultados de las pruebas de laboratorio al médico tratante del control prenatal de la participante.

Los datos clínicos e información colectada fueron de uso confidencial y exclusivo para ser analizado por parte de los participantes de este proyecto con todo el manejo apegado a la “Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares” (85).

El protocolo de investigación fue aprobado por el comité de ética del Instituto Nacional de Medicina Genómica con número de registro CEI 2016/04 (Anexo III) y por el comité de ética de la Secretaría de Salud de la Ciudad de México con número de registro 102-010-02-18 (Anexo III).

Aspectos de bioseguridad

El personal encargado del procesamiento de los sueros, fue debidamente capacitado y empleó el equipo de protección básico como bata, lentes de protección, guantes y cubre bocas para evitar una posible contaminación y una posible transmisión de infecciones virales transmitidas por diferentes agentes biológico-infecciosos. Todo el material utilizado en el sitio de procesamiento fue estéril y desechable. Antes y después de cada procedimiento, se realizó la antisepsia de la superficie con hipoclorito de sodio al 0.5% o alcohol al 70%, para eliminar cualquier residuo biológico.

El suero se mantuvo en ultracongelación a -70°C hasta su procesamiento. Los procesos de centrifugación de las muestras se realizaron con estrictas medidas de seguridad con la finalidad de evitar derrames durante el proceso.

El material de desecho (gasas, guantes, puntas de micropipeta, tubos) se depositó en una bolsa de polietileno roja la cual se verificó no sobrepasara el 80% de su capacidad, mientras que los objetos punzo cortantes se desecharon en recipientes de plástico de polipropileno rojo, los cuales son rígidos, resistente a golpes o fracturas y fueron etiquetados con la leyenda “residuos peligrosos punzocortantes biológico-infecciosos”; verificando que su capacidad no sobrepasara el 80% de su capacidad. Tanto las bolsas de polietileno y los recipientes de polipropileno se colocaron en un área específica en el laboratorio y no se almacenaron por más de un mes (86).

Todo el personal del laboratorio participante adoptó las medidas preventivas para su protección en el almacenamiento, transporte y manejo de sustancias tóxicas e infecciosas generadas por el manejo de técnicas moleculares; tomando en cuenta los requisitos que señalen las disposiciones generales aplicables en la materia, en particular las normas oficiales mexicanas NOM-018-STPS-2000 (87) y NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 (88).

Dado que el manejo y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos se llevó a cabo de acuerdo a criterios de seguridad establecidos, este proyecto de investigación no implicó riesgo ambiental, cumpliendo con todo lo establecido en la NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 sobre Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo (88).

Los residuos peligrosos biológicos infecciosos (RPBI) que se generaron de este proyecto en el laboratorio como la sangre, y los objetos punzocortantes, fueron identificados, envasados, recolectados, transportados, desechados y destruidos de forma particular siguiendo las indicaciones del INMEGEN (89) y con apego a la norma NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 (88).

Los residuos químicos fueron identificados y clasificados de acuerdo con los elementos normativos aplicables con base en la NOM-052 SEMARNAT-2005 (90), que enlista los residuos peligrosos para el ambiente por sus características de corrosividad, reactividad, explosividad, toxicidad e inflamabilidad (CRETI).

Resultados

Los análisis descriptivos de la población de estudio se muestran en la tabla 5. Este estudio se conformó por un total de 75 mujeres embarazadas que fueron reclutadas y cumplieron con los criterios de inclusión propuestos. La prevalencia de diabetes gestacional en esta muestra de estudio fue del 17.3% con un total de 13 mujeres embarazadas que fueron diagnosticadas con diabetes gestacional entre las semanas 24 a 28 de gestación. La edad promedio en el grupo de diabetes gestacional fue de 28 años en comparación con el grupo control en donde la media de edad fue de 26 años; sin embargo, estas diferencias no fueron significativas. El promedio de semanas de gestación en la primera visita del estudio fue de 12.5 semanas en el grupo con diabetes gestacional y de 12.7 en el grupo control; sin encontrar diferencias significativas entre los grupos. En cuanto al número de gestas previas, se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos, en donde el grupo de diabetes gestacional presentó una mediana de 3 gestas en comparación con el grupo control en donde fueron en su mayoría primigestas. No se observaron diferencias significativas en las variables de peso y talla en ambos grupos. La prevalencia por índice de masa corporal (IMC) en el grupo de diabetes gestacional fue: 23.08% (n=3) normopeso, 15.38% (n=2) sobrepeso, 23.08% (n=3) obesidad grado I, 30.77% (n=4) obesidad grado II y 7.6% (n=1) obesidad grado III. En contraste, la prevalencia por IMC en el grupo control fue: 45.16% (n=28) normopeso, 30.64% (n=19) sobrepeso, 17.74% (n=11) obesidad grado I, 4.83% (n=3) obesidad grado II y 1.61 % (n=1) obesidad grado III.

Tabla 5: Características descriptivas de la muestra de estudio

	Grupo control (n=62)	Grupo diabetes gestacional (n=13)	Valor p
Edad (años)	25.94 (±5.2)	28.23 (±5.8)	0.509
Semanas de gestación	12.7 (±3.1)	12.5 (±3.5)	0.306
Prevalencia DG	-	17.3%	-
Paridad	1 (1-1)	3 (2-4)**	0.0001
Peso (kg)	66.02 (±13.85)	72.06 (±19.88)	0.081
Talla (m)	1.57 (±0.06)	1.53 (±0.07)	0.567
IMC gestacional (kg/m²)	26.68 (±5.16)	30.46 (±6.79)	0.159
• Normopeso (n(%))	28 (45.16)	3 (23.08)	1.000
• Sobrepeso (n(%))	19 (30.64)	2 (15.38)	1.000
• Obesidad I (n(%))	11 (17.74)	3 (23.08)	0.356
• Obesidad II (n(%))	3 (4.83)	4 (30.77)	0.013 ⁺ , 0.021 ⁺⁺
• Obesidad III (n(%))	1 (1.61)	1 (7.6)	0.231

**p<0.0001, prueba U de Mann Whitney para muestras independientes. + vs IMC normopeso, ++ vs IMC sobrepeso; prueba exacta de Fisher.

Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7±3.1 SDG. Los resultados se muestran como media (±D.E.) para las variables paramétricas y como mediana (p25-p75) para las variables no paramétricas.

El análisis de los parámetros bioquímicos y hormonales se muestra en la tabla 6. La concentración de glucosa promedio en el grupo con diabetes gestacional fue de 4.47 mmol/L y en el grupo control fue de 4.52 mmol/L, esta diferencia no fue significativa. En cuanto a la concentración de triacilglicéridos se encontraron diferencias significativas; en donde el grupo con diabetes gestacional presentó concentraciones de 1.88 ± 0.74 mmol/L y el grupo control de 1.46 ± 0.44 . Respecto a las concentraciones de colesterol no se presentaron diferencias significativas entre ambos. La concentración promedio de β -hidroxibutirato en el grupo con diabetes gestacional fue de 48.99 ± 25.04 μ mol/L en comparación con el grupo control que presentó una concentración media de 42.46 ± 26.49 μ mol/L sin encontrarse diferencias significativas. El grupo con diabetes gestacional presentó menor concentración de insulina 34.72 pmol/L en comparación con el grupo control quien tuvo una media de 53.46 pmol/L; sin encontrarse diferencias significativas. En cuanto al índice HOMA-IR se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio, en donde, el grupo con diabetes gestacional presentó menor índice HOMA (0.91 ± 0.51) en comparación con el grupo control que presentó un índice de 1.47 ± 1.02 . Por otra parte, se observaron diferencias significativas en cuanto al índice HOMA-% β , en donde, el grupo que desarrolla diabetes gestacional presentó un índice de 56.75, en comparación con el grupo control que presentó un índice de 129.99.

Tabla 6: Análisis de química sanguínea

	Grupo control (n=62)	Grupo diabetes gestacional (n=13)	Valor p
Glucosa (mmol/L)	4.52 (± 0.56)	4.47 (± 0.55)	0.660
Triacilglicéridos (mmol/L)	1.46 (± 0.44)	1.88 (± 0.74)*	0.025
Colesterol total (mmol/L)	4.51 (± 0.80)	4.60 (± 0.56)	0.477
β-hidroxibutirato (μmol/L)	42.46 (± 26.49)	48.99 (± 25.04)	0.376
Insulina (pmol/L)	53.46 (± 38.10)	34.72 (± 22.56)	0.213
HOMA-IR	1.47 (± 1.02)	0.91 (± 0.51)*	0.049
HOMA-%β	129.99 (78.56-196.61)	56.75 (29.91-196.90) [†]	0.041

*p<0.05, prueba T de student para muestras independientes. [†]p<0.05, prueba U de Mann Whitney para muestras independientes.

Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7 ± 3.1 SDG.

Los resultados se muestran como media (\pm D.E.) para las variables paramétricas.

Para evaluar el perfil metabólico de las mujeres embarazadas en las etapas tempranas de la gestación, se realizó un análisis de metabólica dirigida, en donde se evaluaron especies de acilcarnitinas y de aminoácidos.

Las concentraciones de acilcarnitinas se describen en la tabla 7. Estas diferencias observadas entre ambos grupos de estudio fueron estadísticamente significativas y el incremento en las concentraciones de las distintas especies evaluadas fue entre 10 a 20 veces superior en el grupo que desarrolla diabetes gestacional. En lo que respecta a las acilcarnitinas de cadena corta, se observó disminución en la concentración de acetilcarnitina (C2) en el grupo de diabetes gestacional ($0.42 \pm 0.17 \mu\text{mol/L}$ contra $0.78 \pm 0.48 \mu\text{mol/L}$ grupo control) e incremento en las concentraciones de propionilcarnitina (C3), butilcarnitina (C4), isovalerilcarnitina (C5) e tiglilcarnitina (C5:1) en el grupo de diabetes gestacional. En el grupo de acilcarnitinas de cadena media se encontraron diferencias significativas en hexanoilcarnitina (C6), octanoilcarnitina (C8), octenoilcarnitina (C8:1), decanoilcarnitina (C10), decenoilcarnitina (C10:1), dodecanoilcarnitina (C12) y decenoilcarnitina (C12:1) donde las concentraciones de estas acilcarnitinas fueron mayores en el grupo de diabetes gestacional en comparación con el grupo control. Por último, las concentraciones de acilcarnitinas de cadena larga (miristoilcarnitina (C14), tetradecenoilcarnitina (C14:1), tetradecadienoilcarnitina (C14:2), palmitoilcarnitina (C16), hexadecenoilcarnitina (C16:1), estearoilcarnitina (C18), oleilcarnitina (C18:1) y linoleilcarnitina (C18:2)) fueron mayores en el grupo de diabetes gestacional en comparación con el grupo control.

Tabla 7: Perfil de acilcarnitinas

	Acilcarnitinas ($\mu\text{mol/L}$)	Grupo control (n=62)	Grupo diabetes Gestacional (n=13)	Valor <i>p</i>
	Carnitina libre (C0)	7.21 (6.39-9.23)	8.39 (7.09-11.50)*	0.047
Corta	Acetilcarnitina (C2)	0.92 (0.36-1.22)	0.39 (0.32-0.50)*	0.013
	Propionilcarnitina (C3)	0.08 (0.06-0.09)	0.14 (0.11-0.30)**	0.0001
	Butilcarnitina (C4)	0.05 (0.04-0.07)	0.18 (0.12-0.20)**	0.0001
	Isovalerilcarnitina (C5)	0.03 (0.03-0.04)	0.15 (0.10-0.30)**	0.0001
	Tiglilcarnitina (C5:1)	0.02 (0.02-0.03)	0.15 (0.10-0.20)**	0.0001
Media	Hexanoilcarnitina (C6)	0.02 (0.02-0.03)	0.13 (0.08-0.30)**	0.0001
	Octanoilcarnitina (C8)	0.04 (0.04-0.05)	0.13 (0.07-0.20)**	0.0001
	Octenoilcarnitina (C8:1)	0.07 (0.05-0.08)	0.12 (0.08-0.30)**	0.0001
	Decanoilcarnitina (C10)	0.06 (0.05-0.09)	0.20 (0.15-0.20)**	0.0001
	Decenoilcarnitina (C10:1)	0.05 (0.05-0.11)	0.14 (0.11-0.20)**	0.0001
	Decadienoilcarnitina (C10:2)	0.02 (0.02-0.04)	0.10 (0.05-0.20)**	0.0001
	Dodecanoilcarnitina (C12)	0.02 (0.02-0.07)	0.08 (0.06-0.20)**	0.0001
	Dodecenoilcarnitina (C12:1)	0.04 (0.03-0.07)	0.10 (0.08-0.20)**	0.0001

Larga	Tetradecanoilcarnitina (Miristoilcarnitina) (C14)	0.02 (0.01-0.02)	0.04 (0.04-0.20)**	0.0001
	Tetradecenoilcarnitina (C14:1)	0.03 (0.03-0.06)	0.08 (0.07-0.20)**	0.0001
	Tetradecadienoilcarnitina (C14:2)	0.02 (0.01-0.02)	0.05 (0.04-0.20)**	0.0001
	Hexadecanoilcarnitina (Palmitoilcarnitina) (C16)	0.03 (0.03-0.04)	0.08 (0.07-0.10)**	0.0001
	Hexadecenoilcarnitina (C16:1)	0.01 (0.01-0.03)	0.07 (0.05-0.10)**	0.0001
	Octadecanoilcarnitina (Estearoilcarnitina) (C18)	0.02 (0.01-0.02)	0.03 (0.02-0.10)**	0.0001
	Octadecenoilcarnitina (Oleilcarnitina)(C18:1)	0.03 (0.03-0.04)	0.06 (0.03-0.20)*	0.001
	Octadecadienoilcarnitina (Linoleilcarnitina) (C18:2)	0.02 (0.01-0.02)	0.03 (0.02-0.10)**	0.0001

*p<0.05, **p<0.0001 prueba U de Mann Whitney para muestras independientes.

Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7±3.1 SDG.

Los resultados se muestran como media (±D.E.) para las variables paramétricas y como mediana (p25-p75) para las variables no paramétricas.

Los análisis de las concentraciones de aminoácidos evaluados se muestran en la tabla 8. El grupo con diabetes gestacional presentó mayor concentración de glicina, alanina, valina y prolina en comparación con el grupo control; mientras que las concentraciones de arginina y metionina fueron inferiores en este grupo en comparación con el grupo control y no fueron estadísticamente significativas. También se observó disminución en la concentración de leucina en el grupo de diabetes gestacional con una media de 44.33±8.45µmol/L mientras que el grupo control presentó una concentración promedio de 51.10±17.17µmol/L; sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa. En cuanto a la concentración de fenilalanina y tirosina no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio. Finalmente, respecto a los aminoácidos pertenecientes al ciclo de la urea, se observaron diferencias significativas en donde el grupo de diabetes gestacional presentó mayor concentración de citrulina 17.53 (9.10-39.10)µmol/L en comparación con el grupo control 7.35 (6.52-8.32)µmol/L; y disminución en la concentración de ornitina 10.74 (6.68-25.55)µmol/L en comparación con el grupo control que presentó concentración de 81.86 (9.94-104.83)µmol/L.

Tabla 8: Perfil de aminoácidos

Aminoácidos (µmol/L)	Grupo control (n=62)	Grupo diabetes gestacional (n=13)	Valor p
Arginina (Arg)	28.48 (±20.93)	17.45 (±4.35) ⁺	0.001
Glicina (Gly)	132.65 (95.43-141.28)	141.06 (91.86-291.45)	0.170
Alanina (Ala)	101.24 (±24.71)	127.38 (±21.24)	0.523
Metionina (Met)	7.58 (4.76-10.01)	7.18 (5.24-23.70)	0.115
Valina (Val)	34.73 (±19.38)	52.12 (±9.21) ⁺⁺	0.0001
Prolina (Pro)	48.64 (±12.61)	59.04 (±12.07)	0.945
Leucina (Leu)	51.10 (±17.17)	44.33 (±8.45)	0.078
Fenilalanina (Phe)	23.12 (17.73-33.47)	18.20 (17.27-29.40)	0.287
Tirosina (Tyr)	26.77 (19.01-39.54)	24.43 (17.97-46.30)	0.967
Citrulina (Cit)	7.35 (6.52-8.32)	17.53 (9.10-39.10) ^{**}	0.0001
Ornitina (Orn)	81.86 (9.94-104.83)	10.74 (6.68-25.55) [*]	0.003

+p<0.001, ++p<0.0001 prueba T de student para muestras independientes.*p<0.05, **p<0.0001 prueba U de Mann Whitney para muestras independientes

Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7±.3.1 SDG.

Los resultados se muestran como media (±D.E.) para las variables paramétricas y como mediana (p25-p75) para las variables no paramétricas.

Para evaluar la relación entre las variables metabólicas y el desarrollo de diabetes gestacional se realizó el análisis de árboles de decisión Random Forest, en donde se analizaron todas las variables para generar el máximo de combinaciones posibles y así obtener distintos modelos. En la figura 2 se muestran los modelos con el número de variables y la predicción de exactitud que cada modelo tiene para discriminar los casos de diabetes gestacional de los controles. El modelo que presenta un porcentaje mayor de precisión de predicción (82.6%) fue el modelo compuesto por diez variables metabólicas, sin embargo, debido al limitado número de casos de diabetes gestacional incluidos en el estudio (n=13) no resulta estadísticamente significativo. El modelo compuesto por dos variables brinda una precisión de predicción del 81.4%, resulta estadísticamente significativo y se ajusta al número de casos de diabetes gestacional considerados en este estudio.

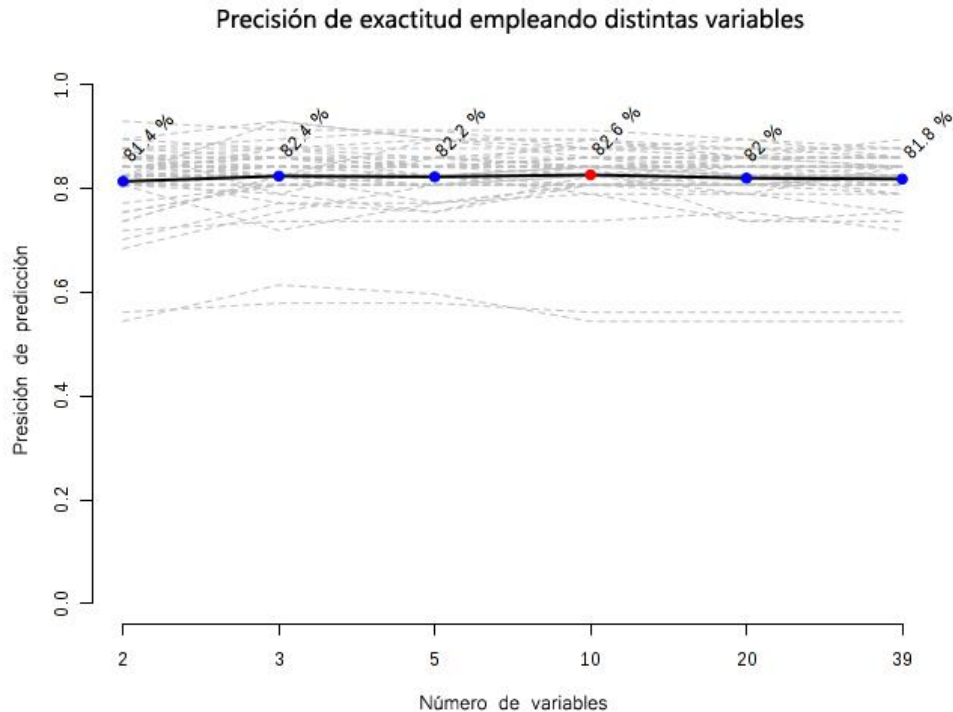


Figura 2. Gráfica de precisión de predicción de los diversos modelos propuestos mediante análisis de árboles de decisión random Forest. Para evaluar las asociaciones entre las variables metabólicas estudiadas y el desarrollo de diabetes gestacional se realizaron análisis de árboles de decisión random Forest. Este análisis permite generar modelos compuestos por cierto número de variables y analizar la precisión de cada modelo para discriminar los casos de los controles. En esta gráfica se muestra que el mejor modelo para discriminar los casos de diabetes gestacional es el que se compone de 10 variables, presentando una precisión de predicción de 82.6%, sin embargo, por el número de casos de diabetes gestacional incluidos en el estudio no es estadísticamente significativo. El único modelo que se ajusta a la muestra de casos considerados en el estudio es el modelo con dos variables, el cual presenta una precisión de predicción de 81.4% estadísticamente significativa. Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7 ± 3.1 SDG.

Así mismo, se seleccionaron los metabolitos candidatos para conformar el modelo de identificación temprana mediante dos criterios empleando análisis de árboles de decisión Random Forest: por selección de frecuencia y por importancia media. En la figura 3 se muestran los metabolitos con mayor poder de identificación (figura 3.A) y con mayor importancia media (figura 3.B) para discriminar al grupo de diabetes gestacional. De acuerdo con los criterios de selección de frecuencia se incluyeron dos acilcarnitinas para la generación del modelo de identificación: isovalerilcarnitina (C5) y tigililcarnitina (C5:1). De

igual manera, de acuerdo con los criterios de importancia media se seleccionaron dos metabolitos para la conformación del modelo: isovalerilcarnitina (C5) y butilcarnitina (C4).

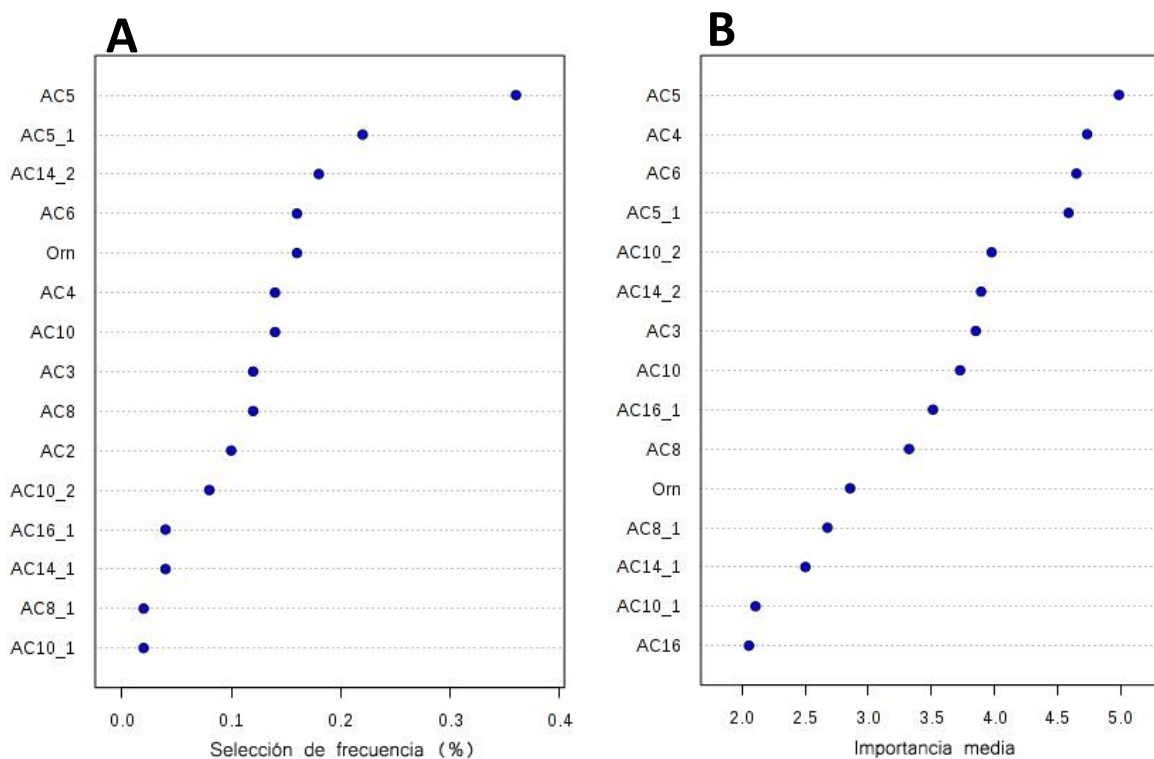


Figura 3. Gráfica de selección de los metabolitos por análisis de random Forest. Mediante un análisis de random Forest, se seleccionaron los metabolitos candidato para la generación del modelo de identificación temprana de diabetes gestacional. En la figura 3A se muestra una gráfica de los 15 metabolitos con mayor selección de frecuencia. En la figura 3B se muestra una gráfica de los 15 metabolitos con mayor importancia media. Para la generación de los modelos se incluyeron los dos primeros metabolitos de acuerdo con los distintos criterios de selección: por selección de frecuencia (isovalerilcarnitina y tiglilcarnitina) y por importancia media (isovalerilcarnitina y butilcarnitina). AC2: acetilcarnitina, AC3: propionilcarnitina, AC4: butilcarnitina, AC5: isovalerilcarnitina, AC5:1: tiglilcarnitina, AC6: hexanoilcarnitina, AC8: octanoilcarnitina, AC8:1: octenoilcarnitina, AC10: decanoilcarnitina, AC10:1: decenoilcarnitina, AC10:2: decadienoilcarnitina, AC14:1: tetradecenoilcarnitina, AC14:2: tetradecadienoilcarnitina, AC16: palmitoilcarnitina, AC16:1: hexadecenoilcarnitina. Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7 ± 3.1 SDG.

Con base en los criterios antes mencionados se construyeron dos modelos. El modelo 1 (empleando el criterio de selección de frecuencia) se compuso por dos acilcarnitinas de cadena corta: isovalerilcarnitina (C5) y tiglilcarnitina (C5:1); se ajustó este modelo por edad, paridad e IMC. El modelo 2 (empleando el criterio de importancia media) se

conformó por dos acilcarnitinas de cadena corta: butilcarnitina (C4) e isovalerilcarnitina (C5); ajustando este modelo por edad, paridad e IMC.

Se sometió el modelo 1 a análisis de respuesta a curvas ROC (receiver operating characteristic por sus siglas en inglés), obteniendo un área bajo la curva (AUC) de 0.93 (0.869-0.991, IC 95%), la cual se muestra en la figura 4. Se realizó la tabla de contingencia del modelo 1 correspondiente para la evaluación de los casos clasificados y mal clasificados de ambos grupos de estudio, la cual se muestra en la tabla 9. Como se puede observar en la tabla de contingencia, el modelo 1 logró clasificar correctamente a la totalidad de casos con diabetes gestacional, mientras que mal clasificó a 10 controles como del grupo de diabetes gestacional (ver Anexo IV). También se realizó un análisis para establecer las concentraciones de las acilcarnitinas que conforman el modelo 1 para la identificación del grupo de diabetes gestacional; obteniendo concentraciones de isovalerilcarnitina en un rango de 0.015-0.25 $\mu\text{mol/L}$ y de tiglilcarnitina con rango de 0.015-0.19 $\mu\text{mol/L}$, las cuales se muestran en la tabla 10.

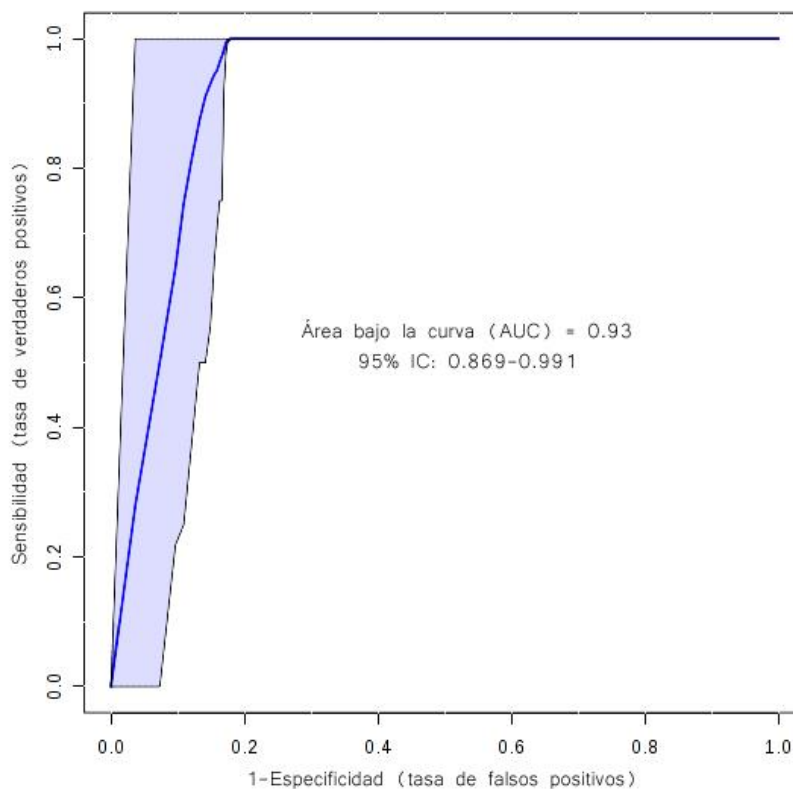


Figura 4. Curva ROC del modelo 1 para identificación de diabetes gestacional. Se muestra una gráfica de respuesta a curvas ROC para el modelo 1 (isovalerilcarnitina y tiglilcarnitina) ajustado por edad, paridad e IMC. Se obtuvo un AUC de 0.93 (0.869-0.991, IC 95%). Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7 ± 3.1 SDG.

Tabla 9: Tabla de contingencia modelo 1 en mujer embarazada mexicana

Diagnóstico	Clasificación sano	Clasificación diabetes gestacional	Total
Sano	52	10	62
Diabetes gestacional	0	13	13
Total	52	23	75

Tabla 10: Rango de concentraciones de los metabolitos empleados en la construcción del modelo 1 en mujer embarazada mexicana

Metabolito	Rango de concentración (µmol/L)
Isovalericarnitina (C5)	0.015-0.25
Tiglicarnitina (C5:1)	0.015-0.19

Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7±.3.1 SDG.

Se realizó un análisis de respuesta a curvas ROC en el modelo 2 en donde se obtuvo un AUC de 0.913 (0.856-0.959, IC 95%), la cual se muestra en la figura 5. Así mismo, se realizó una tabla de contingencia para la clasificación de los casos de diabetes gestacional y controles bien y mal clasificados; en donde se observó que el modelo 2 clasifica a la totalidad de los casos de diabetes gestacional (n=13) mientras que mal clasifica a 10 de los controles (ver Anexo IV). La tabla de contingencia del modelo 2 se muestra en la tabla 11. Se obtuvo también el rango de concentración de los metabolitos empleados para la generación del modelo 2, obteniendo concentraciones de butilcarnitina (C4) de 0.025-0.29 µmol/L y de isovalericarnitina (C5) entre 0.015-0.25 µmol/L; las cuales se describen en la tabla 12.

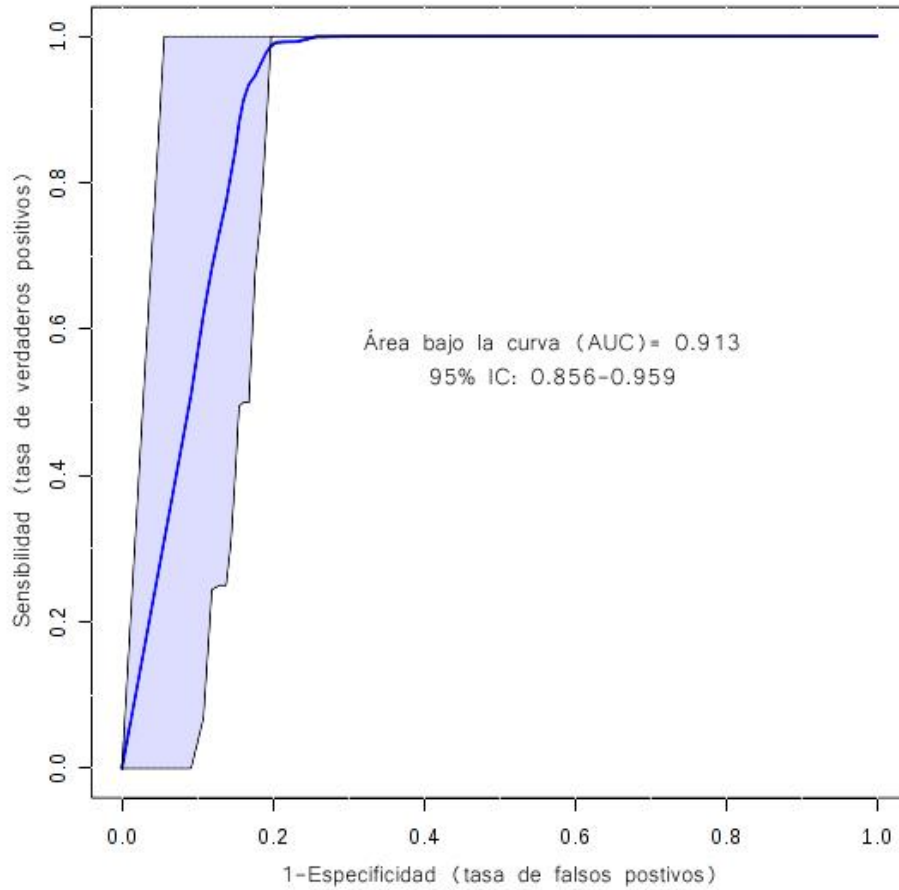


Figura 5. Curva ROC del modelo 2 para identificación de diabetes gestacional. Se muestra una gráfica de respuesta a curvas ROC para el modelo 2 (butilcarnitina e isovalericarnitina) ajustado por edad, paridad e IMC. Se obtuvo un AUC de 0.913 (0.856-0.959, IC 95%). Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7 ± 3.1 SDG.

Tabla 11: Tabla de contingencia modelo 2 en mujer embarazada mexicana

Diagnóstico	Clasificación sano	Clasificación diabetes gestacional	Total
Sano	52	10	62
Diabetes gestacional	0	13	13
Total	52	23	75

Tabla 12: Rango de concentraciones de los metabolitos empleados en la construcción del modelo 2 en mujer embarazada mexicana

Metabolito	Rango de concentración (μmol/L)
Butilcarnitina (C4)	0.025-0.29
Isovalerilcarnitina (C5)	0.015-0.25

Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7 ± 3.1 SDG.

Para evaluar la correlación entre los metabolitos y la resistencia a la insulina se realizó un análisis de correlación en donde se consideró la concentración de acilcarnitinas de cadena corta (butilcarnitina, isovalerilcarnitina y tiglilcarnitina) como variables independientes y al índice HOMA como variable dependiente. Se compararon ambos grupos de estudio, las gráficas de correlación se muestran en la figura 6. En el grupo control, únicamente se encontró una correlación negativa significativa entre tiglilcarnitina y el índice HOMA obteniendo un coeficiente de correlación de -0.3093 (figura 6C). En el grupo de diabetes gestacional se observaron correlaciones positivas significativas en las tres acilcarnitinas de cadena corta evaluadas y el índice HOMA. La correlación entre la concentración de butilcarnitina y el índice HOMA para el grupo con diabetes gestacional fue positiva con un coeficiente de correlación de 0.76 (figura 6D). La correlación entre la concentración de isovalerilcarnitina y el índice HOMA en el grupo de diabetes gestacional fue positiva con un coeficiente de correlación de 0.84 (figura 6E). La correlación entre la concentración de tiglilcarnitina y el índice HOMA en el grupo de diabetes gestacional fue positiva con un coeficiente de correlación de 0.74 (figura 6F)

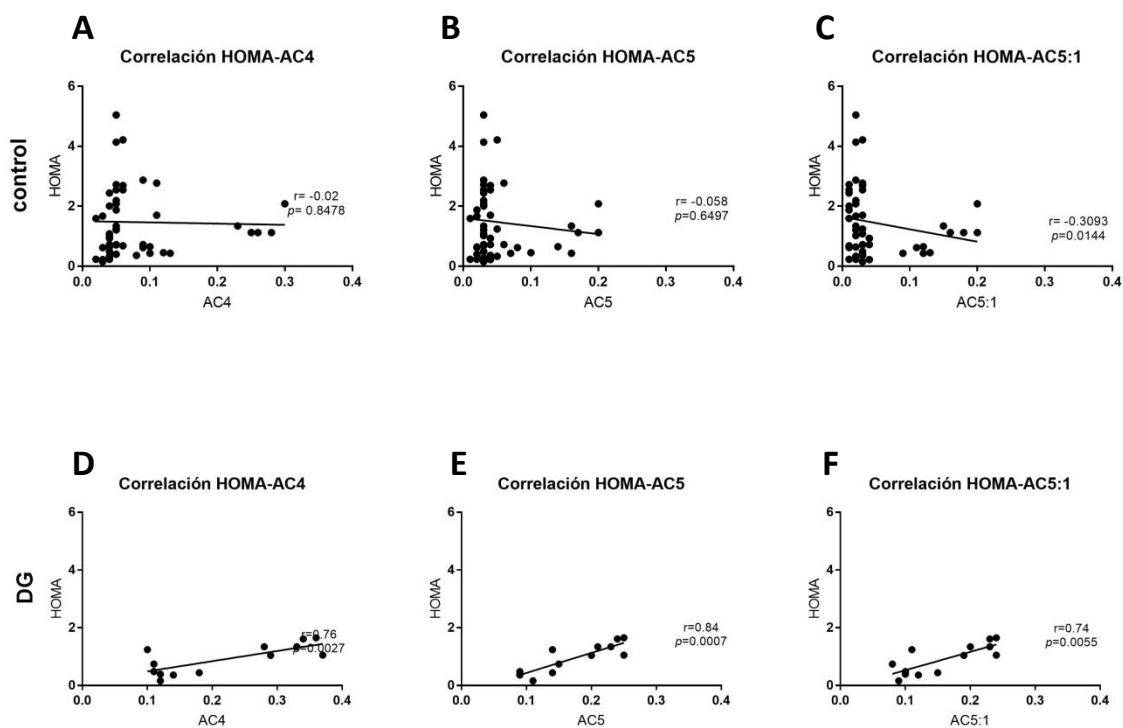


Figura 6. Correlación de los metabolitos seleccionados para la generación de los modelos de identificación temprana de diabetes gestacional y el índice de resistencia a la insulina HOMA. Se muestran las correlaciones entre las acilcarnitinas de cadena corta empleadas para la construcción de los dos modelos de identificación temprana (butilcarnitina, isovalerilcarnitina y tiglilcarnitina). En las figuras 6A-6C se muestran las gráficas de correlación en el grupo control y en las figuras 6D-6F las gráficas de correlación en el grupo con diabetes gestacional; ambos con su coeficiente de correlación (r) y significancia (p). AC4: butilcarnitina, AC5: isovalerilcarnitina, AC5:1: tiglilcarnitina, HOMA: modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina. Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7 ± 3.1 SDG.

Finalmente, se evaluó la correlación entre las acilcarnitinas de cadena corta butilcarnitina e isovalerilcarnitina y el aminoácido de cadena ramificada valina y leucina respectivamente (figura 7). En el grupo control se observó una correlación positiva entre butilcarnitina y valina con un coeficiente de correlación de 0.2361 (figura 7A); mientras que se observó una correlación negativa entre isovalerilcarnitina y leucina con un coeficiente de correlación de -0.1978 (figura 7B). Sin embargo, las correlaciones no fueron significativas. En el grupo de diabetes gestacional se observó una correlación negativa entre butilcarnitina y valina con un coeficiente de correlación nula (figura 7C); la correlación entre isovalerilcarnitina y leucina fue positiva con un coeficiente de correlación de 0.493 (figura 7D); sin embargo, ninguno de los dos análisis de correlación fue estadísticamente significativo.

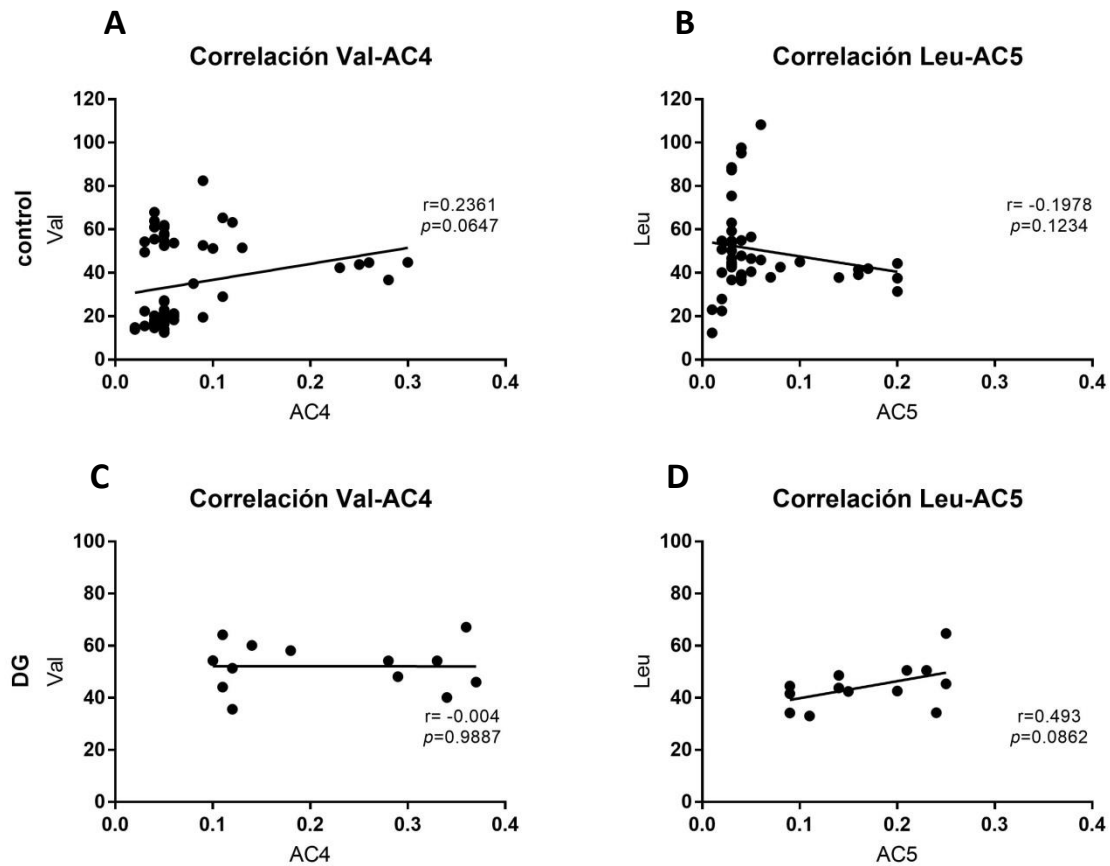


Figura 7. Correlación de los metabolitos seleccionados para la generación de los modelos de identificación temprana de diabetes gestacional y su aminoácido de cadena ramificada. Se muestran las correlaciones entre las acilcarnitinas de cadena corta empleadas para la construcción de los dos modelos de identificación temprana (Butilcarnitina e isovalerilcarnitina). En las figuras 7A-7B se muestran las gráficas de correlación en el grupo control y en las figuras 7C-7D las gráficas de correlación en el grupo con diabetes gestacional; ambos con su coeficiente de correlación (r) y significancia (p). AC4: butilcarnitina, AC5: isovalerilcarnitina, Val: valina, Leu: leucina. Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7 ± 3.1 SDG.

Discusión

El embarazo representa un estado en donde ocurren cambios fisiológicos que son coordinados mediante diversas adaptaciones fisiológicas tanto maternas como de la unidad feto-placentaria en donde la madre necesita suministrar los nutrientes necesarios para asegurar un adecuado crecimiento y desarrollo fetal (16). En especial estas adaptaciones están dirigidas a mantener la homeostasis de la glucosa en las dos fases del embarazo (16-18). Cuando ocurre una alteración en estas adaptaciones, es entonces cuando puede desarrollarse diabetes gestacional (15).

La diabetes gestacional representa la principal alteración metabólica en el embarazo (2, 37) y en nuestro país, la prevalencia de diabetes gestacional se reporta entre el 8.7 al 17.7% (3). En este estudio la prevalencia de diabetes gestacional fue del 17.3% lo cual concuerda con la prevalencia previamente reportada a nivel nacional.

El promedio de evaluación de la población de estudio fue de 12.6 semanas de gestación, y la diferencia entre los grupos de estudio no resultó estadísticamente significativa, lo que indica que ambos grupos de estudio se evaluaron en promedio en el mismo período y las diferencias observadas en el presente estudio no se debieron a cambios en la edad gestacional de las mujeres. Es importante mencionar, que el período gestacional evaluado es relevante para la generación de un modelo de identificación temprana de diabetes gestacional; lo cual se abordará más a detalle en otras secciones de esta discusión.

El estudio HAPO (Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcomes) (91, 92), permitió evaluar las complicaciones maternas y perinatales que la hiperglucemia prenatal conlleva, así como postular factores de riesgo para el desarrollo de diabetes gestacional. La edad fue considerada un factor de riesgo para el desarrollo de diabetes gestacional, y se consideró de alto riesgo una edad superior a los 25 años (3, 6, 38, 92). En nuestro estudio la edad promedio en el grupo control fue de 25.9 años, mientras que en el grupo de diabetes gestacional fue de 28.2 años.

El índice de masa corporal (IMC) es otro factor de riesgo establecido para el desarrollo de diabetes gestacional (38, 92). Se ha reportado en diversos estudios (4, 6, 38, 93, 94) que un IMC elevado, principalmente diversos grados de obesidad, confieren un riesgo mayor para el desarrollo de diabetes gestacional. En este estudio el grupo que desarrolló diabetes gestacional se conformó en 61.45% de diversos grados de obesidad, demostrando que las mujeres que presentan obesidad son más propensas a desarrollar

DG que aquellas que tienen un IMC normal. Diversas guías de práctica clínica (3, 94) recomiendan que se realice un control prenatal más estricto en aquellas mujeres que presentan sobrepeso y obesidad, con la finalidad de descartar el diagnóstico de diabetes gestacional. En la población de estudio se observó que un 15.38% de las mujeres que desarrolló diabetes gestacional tenían sobrepeso. Además, según la ENSANUT de Medio Camino de 2016 (5), el 75.6% de la población en edad reproductiva presentan sobrepeso u obesidad; motivo por el cual la mujer mexicana que se embaraza tiene un riesgo más alto de desarrollar diabetes gestacional. Sin embargo, al realizar el análisis de comparación de IMC entre ambos grupos de estudio evaluados no se observó diferencia significativa para esta variable y sólo se observó diferencia significativa entre el grupo de obesidad I vs el grupo normopeso.

Otro factor de riesgo relacionado con el desarrollo de diabetes gestacional es el número de gestas previas, en donde estudios señalan que a mayor número de gestas se incrementa el riesgo de desarrollar diabetes gestacional (2, 4, 12, 36, 92, 94). Lo anterior concuerda con lo observado en el estudio puesto que el grupo que desarrolló diabetes gestacional presentó mayor número de gestas, con una mediana de 3 gestas en comparación con el grupo control que se caracterizó por ser en su mayoría primigestas; siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

Como se mencionó anteriormente, el embarazo se caracteriza por un proceso adaptativo complejo en donde existen adaptaciones endócrino-metabólicas; dentro de las cuales incluyen: aumento en la respuesta de la célula β pancreática, elevación en la concentración de glucosa de forma moderada particularmente posterior al ayuno y cambios en la concentración de ácidos grasos libres, triacilglicéridos, colesterol y fosfolípidos (95). Estas adaptaciones no reflejan una condición patológica, pues son necesarios para suplir las necesidades energéticas y nutrimentales del feto, así como preparar al organismo de la madre para el trabajo de parto y la lactancia (16, 95). Durante el primer trimestre de la gestación la sensibilidad a la insulina se observa en valores normales o un poco más elevados de lo normal (96); así mismo, la secreción de insulina se incrementa de forma estable desde el primer trimestre de gestación, alcanzando un pico máximo en el tercer trimestre (que es en donde se presenta una resistencia a la insulina fisiológica) (97, 98). Esto concuerda con lo observado en nuestro estudio, en donde ambos grupos presentaron normoglucemia y un índice HOMA-IR normal.

El índice HOMA- β es un indicador para estimar la función de la célula β -pancreática con base en las concentraciones de glucosa e insulina en ayuno; donde un valor del 100% se

considera normal. La relación entre la glucosa y la insulina en el estado basal reflejan el balance entre la producción de glucosa hepática y la secreción de insulina, lo cual es mantenido mediante retroalimentación entre el hígado y las células β pancreáticas (81, 99). Este índice tiene un coeficiente de correlación de 0.87 con respecto al clamp hiperglucémico y al modelo de evaluación de infusión de glucosa continua (CIGMA por sus siglas en inglés), los cuales son estándares de referencia para evaluación de la función de la célula β pancreática (81, 100). Con respecto al índice HOMA-% β en este estudio, el grupo que desarrolla diabetes gestacional presenta un índice HOMA-% β menor en comparación con el grupo control (56.75 vs 129.99). La relación entre el HOMA-% β se ha estudiado poco en relación con el desarrollo de diabetes gestacional. Sin embargo, un estudio realizado por Endo y colaboradores en población japonesa (población considerada como de alto riesgo para desarrollo de diabetes gestacional), se evaluó longitudinalmente el HOMA-% β en los tres trimestres del embarazo. En dicho estudio, se observó que las mujeres que desarrollan diabetes gestacional presentan menor índice HOMA-% β promedio en el primer trimestre de gestación en comparación con los controles independientemente de su IMC (101). Esto sugiere que las mujeres que desarrollan diabetes gestacional presentan en su primer trimestre de gestación una menor respuesta por parte de la célula β pancreática y cuando se presenta la etapa de resistencia a la insulina fisiológica (final del segundo e inicios del tercer trimestre) no son capaces de compensar estas adaptaciones.

Sin embargo, resulta interesante mencionar que el grupo que desarrolló diabetes gestacional presentó menor concentración de glucosa que el grupo control (4.47 vs 4.52 mmol/L) así como un menor índice HOMA-IR (0.91 vs 1.47); lo cual sugiere que el grupo que desarrolla diabetes gestacional presenta mayor sensibilidad a la insulina que el grupo control en el primer trimestre del embarazo. Un estudio realizado por Endo et al, en población japonesa (grupo considerado con alto riesgo de desarrollo de diabetes gestacional), observó que las mujeres embarazadas que desarrollan diabetes gestacional presentan menor índice HOMA-IR en el primer trimestre de gestación que las controles con un IMC de sobrepeso que no desarrollaron esta patología (101), sin embargo, estas diferencias no fueron significativas y el índice HOMA-IR evaluado fue superior a lo observado en nuestro estudio (2.3 vs 0.91 en nuestra población evaluada). Por otro lado, Catalano et al (97, 102) demostraron que en el primer trimestre de gestación se presenta incremento en la tasa insulina/glucosa durante una curva de tolerancia oral a la glucosa, demostrando aumento de la secreción de insulina durante las etapas tempranas del embarazo (incremento aproximado del 120% en la primera fase de respuesta a la insulina

posterior a la curva de tolerancia a la glucosa entre las semanas 12-14 de gestación). También demostraron (97, 102) que durante las etapas tempranas de la gestación, la primera fase de secreción de insulina estimulada por glucosa se encuentra aumentada, y observaron que la tolerancia a la glucosa era normal o ligeramente mejor y que tanto la sensibilidad a la insulina periférica y hepática se mantenía sin cambios. En el presente estudio pudimos observar que el grupo que desarrolló diabetes gestacional presentó menores concentraciones de glucosa y menor índice HOMA; sugiriendo que pudiera existir una mayor contribución endocrina (por parte de la unidad feto-placentaria debido a la producción de lactógeno placentario) y/o metabólica (metabolismo lipídico y de aminoácidos) en las pacientes que desarrollan diabetes gestacional.

Respecto a las aportaciones endocrinas que ocurren durante el embarazo, es importante recordar que las adaptaciones de la célula β pancreática ocurren paralelamente con el desarrollo de la unidad feto-placentaria y con la síntesis de hormonas tales como: estrógenos, progesterona, cortisol, lactógeno placentario (hPL), prolactina (PRL) y hormona del crecimiento (95). En particular en el primer trimestre de gestación destaca el aporte de dos hormonas: estrógenos y lactógeno placentario. La concentración de estrógenos se incrementa en las etapas tempranas del embarazo y su efecto es sobre el metabolismo de la glucosa materna, así como aumento en la secreción y sensibilidad de la insulina. El lactógeno placentario es secretado hacia la circulación materna y fetal posterior a la semana seis de gestación, alcanzando un pico a finales del segundo trimestre; esta hormona promueve la síntesis materna de factor de crecimiento similar a la insulina (IGFs) y regula el metabolismo intermediario para que los sustratos energéticos sean principalmente aprovechados por la unidad feto-placentaria (95) y ayuda a promover la hiperplasia en las células β pancreáticas (103).

En este estudio no se evaluaron las concentraciones de dichas hormonas que nos podrían ayudar a elucidar las diferencias en ambos grupos de estudio, sin embargo, probablemente las mujeres del grupo que desarrolla diabetes gestacional tienden a presentar estas adaptaciones a menor semana de gestación y cuando llegan al pico máximo de resistencia a la insulina fisiológica (24-28 semanas de gestación) no son capaces de compensar estos cambios y es entonces cuando se desarrolla diabetes gestacional, sin embargo, lo anterior es sólo una hipótesis.

Con lo que respecta al metabolismo de lípidos durante la gestación, varias de las adaptaciones metabólicas que ocurren en el hígado y el tejido adiposo tienen un impacto en las concentraciones de triacilglicéridos, ácidos grasos, colesterol y fosfolípidos. En las

primeras ocho semanas de embarazo las concentraciones de estos lípidos tienden a disminuir, pero conforme avanza la gestación se incrementan progresivamente dichas concentraciones (95) lo cual caracteriza la hiperlipidemia que se observa en la mujer embarazada. Durante la fase anabólica de la gestación, la síntesis de ácidos grasos y glicerol se incrementa, así como la actividad de la lipoprotein lipasa (LPL) lo que promueve la distribución de lípidos hidrolizando tanto a los quilomicrones (los cuales son ricos en triacilglicéridos) y a las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDLs); estos ácidos grasos son captados por el tejido adiposo promoviendo la síntesis de triacilglicéridos y su acumulación en dicho tejido (20, 21), los ácidos grasos y el glicerol son también captados por el hígado para la nueva síntesis de VLDL. En nuestro estudio, el grupo que desarrolló diabetes gestacional presentó diferencias significativas en la concentración de triacilglicéridos en comparación con el grupo control (1.88 ± 0.74 vs 1.46 ± 0.44 mmol/L). Las concentraciones bajas de insulina (como se observa en el grupo control) disminuyen la actividad de la LPL, la hidrólisis de los triacilglicéridos en los quilomicrones y en las VLDL por lo tanto disminuye y entonces da como resultado hipertrigliceridemia (96, 104).

Los cuerpos cetónicos son sustratos oxidativos esenciales los cuales pueden ser empleados como sustrato energético del metabolismo materno/fetal (16). Cuando ocurre el cambio de la fase anabólica a la fase catabólica, se promueve el metabolismo de lípidos y cuerpos cetónicos (lipólisis y cetogénesis aumentada) como fuente energética, preservando así la glucosa y los aminoácidos para sustrato energético fetal (16, 96). El acetato y el β -hidroxibutirato pueden oxidarse en la mayoría de los tejidos con la finalidad de obtener acetil-CoA para la obtención de energía (17, 96, 105). Factores que regulan la síntesis de cuerpos cetónicos son el incremento en el suministro de ácidos grasos por parte de la hidrólisis de triacilglicéridos, descenso del índice insulina/glucagón (inhibe la acetil-CoA carboxilasa inhibiendo la CPTI por las concentraciones de malonil-CoA), incremento en la síntesis de ATP (incremento de la β -oxidación que aporta NADH y FAD(2H) reducidos, los cuales son usados en la fosforilación oxidativa, conforme incrementa la cantidad de ATP se oxida menos NADH y se incrementa el índice NADH/NAD⁺), y el desvío del acetil-CoA (producto de la β -oxidación) del ácido tricarbóxico hacia la cetogénesis (106).

Diversos estudios han reportado que el β -hidroxibutirato es un biomarcador predictivo relevante de alteraciones glicémicas en estudios de diabetes tipo 2 (107-110). En mujeres con diabetes gestacional evaluadas en el segundo trimestre de gestación se identificó al β -hidroxibutirato como metabolito característico de esta patología sugiriendo que funge

como intermediario entre el cambio a la preferencia de la oxidación de los ácidos grasos, en donde la concentración elevada de este metabolito refleja el estado de esta vía metabólica (111, 112). En nuestra población de estudio no se observaron diferencias significativas entre el grupo que desarrolló diabetes gestacional del grupo control, sin embargo, el grupo que desarrolló diabetes gestacional presenta un incremento en las concentraciones de este metabolito en las etapas tempranas de la gestación.

En este estudio se realizó un análisis de metabolómica dirigida en donde se evaluaron 22 especies de acilcarnitinas y 11 aminoácidos. Dentro del perfil de acilcarnitinas evaluado se observó que el grupo que desarrolla diabetes gestacional (ver tabla 7) presenta mayor concentración de prácticamente todas las especies de acilcarnitinas evaluadas con excepción de acetilcarnitina en donde la concentración de esta acilcarnitina disminuye en este grupo en comparación con el grupo control. Estas diferencias observadas entre ambos grupos de estudio fueron estadísticamente significativas (con excepción de carnitina libre y butilcarnitina) y el incremento en las concentraciones de las distintas especies evaluadas fue entre 10 a 20 veces superior en el grupo que desarrolla diabetes gestacional. Los resultados observados reflejan que en el grupo de estudio que desarrolla diabetes gestacional existe una alteración en la oxidación de ácidos grasos, aminoácidos y glucosa dentro de las etapas tempranas de la gestación, lo que pudiera sugerir que estas alteraciones son el reflejo de una disfunción mitocondrial aún en etapas tempranas de la gestación.

Durante el embarazo, la concentración de aminoácidos circulantes tiende a disminuir tanto en el ayuno como en el postprandio (95). En respuesta al ayuno, los aminoácidos gluconeogénicos (Ala, Ser y Thr) disminuyen debido al incremento de su captación hepática para la síntesis de *glucosa de novo*. Del mismo modo, el incremento en el uso de aminoácidos por parte de tejidos maternos y fetales contribuye a la hipoaminoacidemia característica del embarazo. En nuestro estudio, las concentraciones de aminoácidos gluconeogénicos (Gly, Ala, Val y Pro) se incrementaron en el grupo de estudio que desarrolla diabetes gestacional, sugiriendo que el metabolismo de éstos se ve alterado y/o que son captados parcialmente por el hígado para la gluconeogénesis lo cual se refleja en menor concentración de glucosa sérica; en comparación con el grupo control que presenta menor concentración de estos aminoácidos, sugiriendo que el hígado los capta para la gluconeogénesis, reflejándose así en la concentración de glucosa sérica aumentada grupo en comparación con el que desarrolla diabetes gestacional.

El hígado es el sitio principal del metabolismo de aminoácidos y síntesis de urea en el cuerpo. Los hepatocitos oxidan parcialmente a la mayoría de los aminoácidos, convirtiendo la estructura carbonada en glucosa, cuerpos cetónicos o CO₂. Debido a que el amoníaco resulta tóxico para el organismo, el hígado convierte la mayor parte del nitrógeno de la degradación de aminoácidos en urea, que es excretada en la orina. En el embarazo, en la etapa catabólica se caracteriza por presentar un balance de nitrógeno positivo. Estudios han demostrado una disponibilidad mayor de nitrógeno, particularmente durante la segunda mitad de la gestación (113). La síntesis de urea disminuye en un 30% durante el primer trimestre de la gestación y se incrementa hasta en un 45% en el último trimestre (95, 113). En estados de resistencia a la insulina, como diabetes tipo 2, existe una alteración en el metabolismo de estos aminoácidos debido principalmente a un balance de nitrógeno negativo (el catabolismo de los aminoácidos se encuentra incrementado y la captura de estos aminoácidos en los tejidos es reducida). Estudios han reportado que concentraciones incrementadas de urea están asociadas al desarrollo de diabetes tipo 2 y síndrome metabólico (114-116). La urea se sintetiza principalmente en el ciclo de la urea en el hígado y sus metabolitos relacionados con estados de resistencia a la insulina incluyen arginina, citrulina y ornitina. Este ciclo se ve regulado por las concentraciones de insulina, en donde esta hormona regula la actividad de la arginasa (enzima clave en el ciclo de la urea) y de la óxido nítrico sintasa (NOS) y alteraciones en estas enzimas así como en las concentraciones de sus metabolitos han sido relacionadas como marcadores de resistencia a la insulina hepática en etapas tempranas a su desarrollo (117, 118). En este estudio, en el grupo que desarrolla diabetes gestacional, las concentraciones de arginina y citrulina fueron superiores a las del grupo control, así como la concentración de ornitina fue menor en este grupo en comparación con el grupo control (ver tabla 8). En comparación con los estudios realizados en pacientes con diagnóstico de diabetes gestacional, los resultados observados en nuestro estudio difieren, principalmente debido a las semanas de gestación en donde se realizó el estudio, puesto que los pocos estudios que evalúan el perfil de aminoácidos en la diabetes gestacional se realizaron entre las semanas en donde se establece el diagnóstico y no en las etapas tempranas de la gestación (119, 120). Scholtens et al (120) identificó el perfil de aminoácidos del ciclo de la urea asociados a hiperglicemia entre las semanas 24-28 de gestación presente en la cohorte del estudio HAPO. El perfil de aminoácidos del ciclo de la urea identificados por Scholtens et al (120) se caracteriza por incremento en la concentración de arginina y citrulina; y por disminución en la concentración de ornitina. En un estudio longitudinal realizado por Lindsay et al (27), con la finalidad de caracterizar

el perfil de aminoácidos a lo largo de un embarazo normoevolutivo, se identificó que en el primer trimestre de gestación, las mujeres que no desarrollan diabetes gestacional presentan concentraciones elevadas de arginina y ornitina y disminución en la concentración de citrulina como lo observado en nuestro grupo control. El perfil de estos aminoácidos presentes en nuestro grupo que desarrolla diabetes gestacional concuerda con perfiles evaluados en estados de resistencia a la insulina con obesidad y síndrome metabólico (115), y diabetes tipo 2 en población asiática (considerada como alto riesgo de desarrollo de diabetes) (121). Los resultados observados en nuestro estudio sugieren que el metabolismo del ciclo de la urea hepático se pudiera encontrar alterado ya desde etapas tempranas de la gestación en comparación con el grupo control. La disminución en las concentraciones de arginina, como se observa en el grupo que desarrolla diabetes gestacional en nuestro estudio, pueden deberse a un incremento en la síntesis de urea y/o a la síntesis de óxido nítrico (NO) (por medio del ciclo citrulina-NO) (122); así mismo se pudiera deber a una baja síntesis de arginina a partir de la citrulina (por alguna alteración en argininosuccinato sintetasa o en la argininosuccinato liasa), por lo tanto los intermediarios acumulados del ciclo de la urea se distribuyen entre el argininosuccinato y la citrulina, manifestándose como una concentración baja de arginina y una concentración elevada de citrulina (121), como se observa en el grupo que desarrolla diabetes gestacional en este estudio.

Los aminoácidos de cadena ramificada (BCAAs; Leu, Ile y Val) son aminoácidos esenciales los cuales, así como aminoácidos aromáticos (AAAs; Phe y Tyr) se han identificado y asociado como potenciales biomarcadores predictivos del desarrollo de resistencia a la insulina y diabetes tipo 2; incluso 12 años antes de su diagnóstico mediante las pruebas estándar de referencia y criterios clínicos empleados actualmente (123). Sin embargo, en diabetes gestacional los resultados son inconsistentes, pues en algunos estudios asocian la concentración de dichos aminoácidos con el desarrollo de esta patología, mientras que otros estudios no encuentran diferencia significativa en su población estudiada y en las semanas de gestación evaluada (123, 124). En nuestro estudio la concentración de BCAAs únicamente fue significativa para Val en donde el grupo que desarrolla diabetes gestacional presenta en etapas tempranas de la gestación mayor concentración de este aminoácido en comparación con el grupo control (52.12 vs 34.73 μ mol/L), la concentración de Leu fue menor en el grupo que desarrolla diabetes gestacional sin encontrarse significancia entre ambos grupos de nuestra población estudiada. La Leucina es un aminoácido estrictamente cetogénico (productos de degradación son el acetato y acetil-CoA), lo que sugiere que la disminución de este aminoácido observado en las pacientes

que desarrollan diabetes gestacional se ve reflejada en un incremento en la síntesis de β -hidroxibutirato y/o en la concentración de su acilcarnitina C5 (isovalerilcarnitina).

Existen dos mecanismos propuestos como agentes causales entre el incremento de las concentraciones de BCAAs y estados de resistencia a la insulina y/o diabetes tipo 2. El primer mecanismo radica en la activación persistente de la vía de señalización del complejo 1 de la diana de rapamicina en células de mamífero (mTORC1), en donde se fosforila la subunidad 1 del receptor de la insulina (IRS1_{Ser307}), lo cual desencadena resistencia a la insulina (125). El segundo mecanismo propuesto recae en un metabolismo anormal de los BCAAs resulta en una acumulación de metabolitos intermediarios potencialmente tóxicos y que a su vez desencadenan disfunción mitocondrial y estrés oxidativo, asociado al desarrollo de resistencia a la insulina y a diabetes tipo 2 (46, 58, 125). En relación con los metabolitos derivados del metabolismo de los BCAAs, en nuestro grupo de estudio se observaron diferencias significativas en las acilcarnitinas de cadena corta C3 (propionilcarnitina), C4 (butilcarnitina), C5 (isovalerilcarnitina) y C5:1 (Tigililcarnitina) (ver tabla 7); en donde el grupo que desarrolla diabetes gestacional presenta incremento en estos metabolitos derivados del metabolismo de Val, Leu e Ile. Este incremento de concentración de acilcarnitinas en estas pacientes que desarrollan diabetes gestacional sugiere que estos metabolitos intermedios pueden ser marcadores/predictores para el desarrollo de diabetes gestacional, aun cuando en el primer trimestre de gestación las mujeres presenten un índice HOMA-IR normal.

Este trabajo de investigación comprende la generación de un modelo de identificación temprana de aquellas mujeres que serán diagnosticadas con diabetes gestacional, mediante un análisis de metabolómica dirigida en donde al someterlo a un análisis de árboles de decisión de random forest se seleccionaron tres acilcarnitinas de cadena corta (butilcarnitina AC4, isovalerilcarnitina AC5 y tigililcarnitina AC5:1). Este estudio es el primer estudio que evalúa el perfil metabolómico en el primer trimestre de gestación de la mujer embarazada mexicana que desarrolla diabetes gestacional entre las semanas 24 a 28 de gestación.

Algunas acilcarnitinas y aminoácidos que se emplearon en el perfil de metabolómica dirigida han sido asociados en estados de obesidad (126), resistencia a la insulina (46, 58), diabetes tipo 2 (58, 126) y diabetes gestacional (78, 79). Las acilcarnitinas de cadena corta empleadas en la generación del modelo de identificación temprana provienen del metabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada (BCAAs); la butilcarnitina proviene del metabolismo de valina (acción de la isovaleril-CoA deshidrogenasa) así como de la β -oxidación; la isovalerilcarnitina proviene tanto del metabolismo de leucina e isoleucina

(acción de la isovaleril-CoA deshidrogenasa) y la tiglilcarnitina proviene del metabolismo de la isoleucina (acción de la acetoacetil-CoA tiolasa) (127).

En este estudio, las mujeres que desarrollan diabetes gestacional se caracterizan por presentar concentraciones de acilcarnitinas de cadena corta elevadas en el primer trimestre del embarazo. Diversos estudios han evaluado el papel de los BCAAs y sus metabolitos en la resistencia a la insulina y la progresión a diabetes tipo 2 (126), así como la progresión de diabetes gestacional al desarrollo de diabetes tipo 2 post-parto a largo plazo (42, 128). Un estudio realizado en mujeres embarazadas en el primer trimestre de gestación (47) no encontró diferencias significativas en las concentraciones de BCAAs en el primer trimestre; sin embargo, un estudio de casos y controles reciente (67) encontró elevación en las concentraciones de Val y Leu así como de sus acilcarnitinas AC3 (propionilcarnitina), AC4 (butilcarnitina), IsoC4 y C5 (isovalerilcarnitina); en las mujeres que desarrollan diabetes gestacional en comparación con el grupo control.

Una característica principal de la diabetes gestacional es la resistencia a la insulina acompañada por hiperlipidemia (principalmente por incremento de concentración de ácidos grasos), en donde Metzger (129) observó que en el tercer trimestre de gestación, las mujeres con diabetes gestacional presentaban mayores concentraciones de ácidos grasos libres en ayuno, sugiriendo que la resistencia a la insulina y alteraciones en el metabolismo de los ácidos grasos ocasionaba el fenotipo observado en esas pacientes. Por lo tanto, alteración en el metabolismo de ácidos grasos, como lo observado por Metzger et al., puede constituir un evento temprano que desencadena la patología de diabetes gestacional como lo sugieren las diferencias observadas de concentración de acilcarnitinas en nuestro estudio, en donde, el grupo con diabetes gestacional presenta elevación de todas las acilcarnitinas con excepción de acetilcarnitina (AC2); así como la contribución de las acilcarnitinas para la generación del modelo de identificación temprana. La glucosa es el sustrato con preferencia para la obtención de energía, pero cuando existen condiciones en donde este sustrato no está disponible para la generación de energía, como lo es en el caso de resistencia a la insulina, la célula emplea ácidos grasos libres y aminoácidos como sustratos alternativos, desencadenando una alteración en el balance entre las acilcarnitinas (oxidación de ácidos grasos y/o aminoácidos) y los aminoácidos (130). Estos cambios en las rutas metabólicas que conllevan a la acumulación de metabolitos intermediarios como lo son las acilcarnitinas, pudieran interferir con la sensibilidad a la insulina, ocasionando el desarrollo de resistencia a la insulina e incluso diabetes. Sin embargo, no está del todo claro si las concentraciones elevadas de acilcarnitinas y/o de BCAAs causan resistencia a la insulina o si son el reflejo de ésta (55, 131).

Una vez obtenido los modelos, se realizó un análisis de correlación entre los metabolitos empleados y el índice HOMA-IR para evaluar si existe alguna relación entre la resistencia a la insulina y los metabolitos en el primer trimestre empleados para la identificación de las mujeres que desarrollan diabetes gestacional. Únicamente se encontraron correlaciones significativas en el grupo que desarrolla diabetes gestacional en donde las correlaciones HOMA-AC4, HOMA-AC5, HOMA-AC5:1 fueron positivas; lo cual indicaría que a mayor concentración de estas acilcarnitinas de cadena corta se observa un HOMA-IR alto; sin embargo, cabe recalcar que las mujeres del grupo que desarrolla diabetes gestacional presentaron un índice HOMA-IR más bajo que las controles.

El índice HOMA-IR, propuesto por Matthews et al (81) se emplea para evaluar un estimado de la sensibilidad a la insulina y de la función de la célula β -pancreática a partir de las concentraciones en ayuno de insulina y glucosa. La relación entre la glucosa y la insulina en ayuno refleja el equilibrio que existe entre la producción hepática de glucosa y la secreción de insulina; la cual se mantiene mediante una retroalimentación entre el hígado y la célula β -pancreática (81, 99). La correlación observada entre las acilcarnitinas de cadena corta evaluadas que provienen del catabolismo de los BCAAs sugiere que estos metabolitos están relacionados con la sensibilidad/resistencia a la insulina en las etapas tempranas a la gestación únicamente en el grupo que desarrolla diabetes gestacional, puesto que en el grupo control no se encontró correlación entre el índice HOMA-IR y los metabolitos empleados en la generación de los modelos (ver figura 6). Esto sugiere que el índice que la correlación HOMA-IR y las acilcarnitinas únicamente es sensible en aquellas mujeres que desarrollan diabetes gestacional y que en las etapas tempranas de la gestación presentan rangos de concentración de estas acilcarnitinas de cadena corta (ver tabla 10 y 12); lo cual presenta un problema al momento de evaluar a la mujer embarazada, puesto que en el primer trimestre de gestación las mujeres que desarrollan diabetes gestacional presentan índice HOMA-IR bajo y dentro de parámetros normales y pudiera subestimarse por el profesional de la salud al momento del control prenatal en las etapas tempranas de la gestación.

Una alternativa a este índice y que pudiera ayudar a elucidar mejor la relación entre la resistencia/sensibilidad a la insulina es el índice Adipo-IR (132), el cual es específico para evaluar la sensibilidad a la insulina en el tejido adiposo. Estudios han observado que la resistencia a la insulina en el tejido adiposo puede ser considerada como un marcador temprano que precede a la resistencia a la insulina en músculo esquelético y en tejido hepático en el desarrollo de la resistencia a la insulina y diabetes tipo 2 (133). Debido a que la resistencia a la insulina en el tejido adiposo puede causar resistencia a la insulina hepática y en músculo esquelético por un excesivo aporte de ácidos grasos libres, es necesario evaluar específicamente la sensibilidad a la insulina en tejido adiposo y el índice

Adipo-IR permite evaluar la sensibilidad de este tejido con base en la concentración de ácidos grasos libres (FFAs) y la concentración de insulina en ayuno (132). Este índice de sensibilidad a la insulina del tejido adiposo tiene una correlación de 0.86 con el estándar de referencia para evaluar sensibilidad a la insulina (132); motivo por el cual resulta relevante contemplar su evaluación en este estudio para elucidar y poder correlacionar los metabolitos incluidos en la generación de los modelos y así evaluar efectivamente las diferencias de sensibilidad a la insulina en este tejido en etapas tempranas de la gestación entre los dos grupos de estudio incluidos en este trabajo.

También se evaluó la correlación entre las acilcarnitinas C4 (butilcarnitina) y C5 (isovalerilcarnitina) y su aminoácido de cadena ramificada correspondiente, es decir, Val y Leu; con la finalidad de evaluar si existe una relación entre su aminoácido y su metabolito; sin embargo, no se encontró una correlación aceptable ni significativa en ninguno de los grupos de estudio evaluados (ver figura 7). En el grupo que desarrolla diabetes gestacional la correlación Val-AC4 resultó prácticamente nula, sugiriendo que la síntesis de esta acilcarnitina no está regulada únicamente por este aminoácido, sino que también la β -oxidación desempeña un papel importante en su producción. En cuanto a la correlación de Leu-AC5 en el grupo que desarrolla diabetes gestacional se observó una correlación con $r=0.493$ (ver figura 7 D), sugiriendo que a mayor concentración de Leu, la síntesis de esta acilcarnitina se encuentra incrementada en este grupo de estudio; lo que pudiera sugerir que la enzima encargada de su catabolismo (isovaleril-CoA deshidrogenasa) se encuentre deficiente y entonces se genera esta acilcarnitina en concentración mayor en este grupo de estudio en comparación con las controles.

El conocimiento de la fisiopatología del desarrollo de la diabetes gestacional es limitado, pues se carece de estudios que evalúen el perfil metabólico a lo largo de la gestación, así como la evaluación de los efectos de las adaptaciones fisiológicas propias de esta etapa en donde se desarrolla progresivamente resistencia a la insulina, afectando el uso de sustratos energéticos (134). La limitante de este estudio es el número de casos de diabetes gestacional reportados que pudiera restringir la inclusión de otra variable metabólica para la generación de los modelos de identificación temprana, y así evitar el número de casos falsos positivos que presentan los modelos. Es necesario realizar estudios para la validación de este modelo de identificación temprana que evalúe su sensibilidad y especificidad; así como de metabólica no dirigida para evaluar y estudiar las rutas metabólicas involucradas en la patogénesis de la diabetes gestacional.

Las fortalezas de este estudio consisten en que se evaluó el perfil metabólico de la mujer embarazada que desarrolla diabetes gestacional en ayuno, controlando así la variación influenciada por los estados de postprandio para la determinación de

concentraciones de acilcarnitinas y aminoácidos. Así mismo, para la generación de los modelos metabólicos se controló por covariables como edad, paridad e IMC, demostrando que por sí solos estas acilcarnitinas de cadena corta permiten la identificación temprana de aquellas mujeres que desarrollan diabetes gestacional entre la semana 24 a 28 de gestación. En contraste, modelos en donde únicamente emplean variables clínicas alcanzan AUC en promedio de 0.70 (IC 95%) (70, 71); mientras que los modelos generados en este estudio únicamente con variables metabólicas alcanzan AUC en promedio de 0.91 (IC 95%); permitiendo así una mejor identificación de los casos de mujeres embarazadas que desarrollan diabetes gestacional.

Conclusiones

- El índice HOMA-IR en la gestación temprano no resulta útil para evaluar una posible resistencia a la insulina en las mujeres que desarrollan diabetes gestacional.
- El índice HOMA- β , fue menor en el grupo que desarrolla diabetes gestacional.
- El presente estudio demuestra que el metabolismo de lípidos y aminoácidos en las mujeres que desarrollan diabetes gestacional de forma independiente al IMC pregestacional se encuentra alterado en etapas tempranas de la gestación.
- Los modelos metabólicos generados permiten clasificar al 100% de los casos que desarrollan diabetes gestacional, independientemente del IMC pregestacional, edad y paridad; sin embargo, clasifican erróneamente al 20% de los controles.

Perspectivas

Las perspectivas del presente estudio recaen en la mejora de los modelos de identificación temprana (incluir mayor número de metabolitos y ampliar el número de casos de diabetes gestacional) para así poder ser validados posteriormente en una población mayor y calcular su sensibilidad y especificidad.

También es necesario evaluar el perfil hormonal tanto de hormonas maternas como las producidas por la unidad feto-placentaria para evaluar el aporte de dichas hormonas al desarrollo de diabetes gestacional (estrógenos, lactógeno placentario, leptina, glucagon).

Así mismo es necesario determinar la sensibilidad a la insulina del tejido adiposo mediante el índice Adipo-IR (medir concentración de ácidos grasos libres) para así evaluar si este

índice permite evidenciar resistencia a la insulina en este tejido en etapas tempranas de la gestación cuando la glucemia y el índice HOMA-IR son normales.

Con base en las concentraciones de acilcarnitinas de cadena corta empleados para la generación de este modelo se pueden diseñar estudios en modelos *in vitro* para evaluar los efectos de estas acilcarnitinas sobre tejidos sensibles a la insulina y poder elucidar el papel que desempeñan en el desarrollo de resistencia a la insulina y la progresión hacia diabetes gestacional.

Referencias

1. Abu Bakar MH, Sarmidi MR. Association of cultured myotubes and fasting plasma metabolite profiles with mitochondrial dysfunction in type 2 diabetes subjects. *Mol Biosyst.* 2017;13(9):1838-53.
2. American Diabetes A. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care.* 2018;41(Suppl 1):S13-S27.
3. Social IMdS. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes en el embarazo. México: Instituto Mexicano del Seguro Social; 2016.
4. American Diabetes A. Introduction: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care.* 2018;41(Suppl 1):S1-S2.
5. Hernández-Ávila M R-DJ, Shamah-Levy T, et al. . Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. Informe final de resultados. . In: Pública INdS, editor. México:2016. p. 149.
6. Lowe LP, Metzger BE, Dyer AR, Lowe J, McCance DR, Lappin TR, et al. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) Study: associations of maternal A1C and glucose with pregnancy outcomes. *Diabetes Care.* 2012;35(3):574-80.
7. Moon JH, Kwak SH, Jang HC. Prevention of type 2 diabetes mellitus in women with previous gestational diabetes mellitus. *Korean J Intern Med.* 2017;32(1):26-41.
8. Barker DJ, Eriksson JG, Forsen T, Osmond C. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *Int J Epidemiol.* 2002;31(6):1235-9.
9. Burton GJ, Fowden AL, Thornburg KL. Placental Origins of Chronic Disease. *Physiol Rev.* 2016;96(4):1509-65.
10. Dominguez-Vigo P D-SJ, Álvares-Silvares E, González-González A. . Implicaciones del diagnóstico de diabetes gestacional en la salud futura de la mujer (Implications for diagnosis of diabetes gestational health women's future.). *Ginecol Obstet Mex.* 2016;84(12):10.
11. Kim C. Maternal outcomes and follow-up after gestational diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2014;31(3):292-301.
12. American Diabetes A. Standards of Medical Care in Diabetes-2016: Summary of Revisions. *Diabetes Care.* 2016;39 Suppl 1:S4-5.
13. Gupta Y, Kalra B, Baruah MP, Singla R, Kalra S. Updated guidelines on screening for gestational diabetes. *Int J Womens Health.* 2015;7:539-50.
14. Mexicana NO. NOM-007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida. 2016.
15. Fanos V, Atzori L, Makarenko K, Melis GB, Ferrazzi E. Metabolomics application in maternal-fetal medicine. *Biomed Res Int.* 2013;2013:720514.
16. Zeng Z, Liu F, Li S. Metabolic Adaptations in Pregnancy: A Review. *Ann Nutr Metab.* 2017;70(1):59-65.
17. Herrera E. Lipid metabolism in pregnancy and its consequences in the fetus and newborn. *Endocrine.* 2002;19(1):43-55.
18. Murphy SP, Abrams BF. Changes in energy intakes during pregnancy and lactation in a national sample of US women. *Am J Public Health.* 1993;83(8):1161-3.
19. Villar J, Cogswell M, Kestler E, Castillo P, Menendez R, Repke JT. Effect of fat and fat-free mass deposition during pregnancy on birth weight. *Am J Obstet Gynecol.* 1992;167(5):1344-52.
20. Alvarez JJ, Montelongo A, Iglesias A, Lasuncion MA, Herrera E. Longitudinal study on lipoprotein profile, high density lipoprotein subclass, and postheparin lipases during gestation in women. *J Lipid Res.* 1996;37(2):299-308.

21. Palacin M, Lasuncion MA, Asuncion M, Herrera E. Circulating metabolite utilization by periuterine adipose tissue in situ in the pregnant rat. *Metabolism*. 1991;40(5):534-9.
22. Soma-Pillay P, Nelson-Piercy C, Tolppanen H, Mebazaa A. Physiological changes in pregnancy. *Cardiovasc J Afr*. 2016;27(2):89-94.
23. Angueira AR, Ludvik AE, Reddy TE, Wicksteed B, Lowe WL, Jr., Layden BT. New insights into gestational glucose metabolism: lessons learned from 21st century approaches. *Diabetes*. 2015;64(2):327-34.
24. Hadden DR, McLaughlin C. Normal and abnormal maternal metabolism during pregnancy. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2009;14(2):66-71.
25. van den Akker CH, Schierbeek H, Dorst KY, Schoonderwaldt EM, Vermes A, Duvekot JJ, et al. Human fetal amino acid metabolism at term gestation. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(1):153-60.
26. Delplancke TDJ, de Seymour JV, Tong C, Sulek K, Xia Y, Zhang H, et al. Analysis of sequential hair segments reflects changes in the metabolome across the trimesters of pregnancy. *Sci Rep*. 2018;8(1):36.
27. Lindsay KL, Hellmuth C, Uhl O, Buss C, Wadhwa PD, Koletzko B, et al. Longitudinal Metabolomic Profiling of Amino Acids and Lipids across Healthy Pregnancy. *PLoS One*. 2015;10(12):e0145794.
28. Brizzi P, Tonolo G, Esposito F, Puddu L, Dessole S, Maioli M, et al. Lipoprotein metabolism during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;181(2):430-4.
29. Mazaki-Tovi S, Kanety H, Pariente C, Hemi R, Yissachar E, Schiff E, et al. Insulin sensitivity in late gestation and early postpartum period: the role of circulating maternal adipokines. *Gynecol Endocrinol*. 2011;27(9):725-31.
30. Newbern D, Freemark M. Placental hormones and the control of maternal metabolism and fetal growth. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2011;18(6):409-16.
31. Pujol E, Proenza A, Llado I, Roca P. Pregnancy effects on rat adipose tissue lipolytic capacity are dependent on anatomical location. *Cell Physiol Biochem*. 2005;16(4-6):229-36.
32. Martineau MG, Raker C, Dixon PH, Chambers J, Machirori M, King NM, et al. The metabolic profile of intrahepatic cholestasis of pregnancy is associated with impaired glucose tolerance, dyslipidemia, and increased fetal growth. *Diabetes Care*. 2015;38(2):243-8.
33. Gu DS, Shambaugh GE, 3rd, Metzger BE, Unterman TG, Radosevich JA. Retardation of fetal brain cell growth during maternal starvation: circulating factors versus altered cellular response. *Neurochem Res*. 1992;17(6):529-37.
34. Zorzano A, Lasuncion MA, Herrera E. Role of the availability of substrates on hepatic and renal gluconeogenesis in the fasted late pregnant rat. *Metabolism*. 1986;35(4):297-303.
35. Whittaker PG, Lind T. The intravascular mass of albumin during human pregnancy: a serial study in normal and diabetic women. *Br J Obstet Gynaecol*. 1993;100(6):587-92.
36. American Diabetes A. Standards of Medical Care in Diabetes-2016 Abridged for Primary Care Providers. *Clin Diabetes*. 2016;34(1):3-21.
37. Agarwal MM. Gestational diabetes mellitus: An update on the current international diagnostic criteria. *World J Diabetes*. 2015;6(6):782-91.
38. Catalano PM, McIntyre HD, Cruickshank JK, McCance DR, Dyer AR, Metzger BE, et al. The hyperglycemia and adverse pregnancy outcome study: associations of GDM and obesity with pregnancy outcomes. *Diabetes Care*. 2012;35(4):780-6.
39. Mexicana NO. NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. 2010.
40. Barker DJ, Gluckman PD, Godfrey KM, Harding JE, Owens JA, Robinson JS. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet*. 1993;341(8850):938-41.

41. Barker DJ, Winter PD, Osmond C, Margetts B, Simmonds SJ. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet*. 1989;2(8663):577-80.
42. Andersson-Hall U, Gustavsson C, Pedersen A, Malmodin D, Joelsson L, Holmang A. Higher Concentrations of BCAAs and 3-HIB Are Associated with Insulin Resistance in the Transition from Gestational Diabetes to Type 2 Diabetes. *J Diabetes Res*. 2018;2018:4207067.
43. Floegel A, Stefan N, Yu Z, Muhlenbruch K, Drogan D, Joost HG, et al. Identification of serum metabolites associated with risk of type 2 diabetes using a targeted metabolomic approach. *Diabetes*. 2013;62(2):639-48.
44. Zheng Y, Hu FB. Comprehensive metabolomic profiling of type 2 diabetes. *Clin Chem*. 2015;61(3):453-5.
45. Drogan D, Dunn WB, Lin W, Buijsse B, Schulze MB, Langenberg C, et al. Untargeted metabolic profiling identifies altered serum metabolites of type 2 diabetes mellitus in a prospective, nested case control study. *Clin Chem*. 2015;61(3):487-97.
46. Newgard CB. Interplay between lipids and branched-chain amino acids in development of insulin resistance. *Cell Metab*. 2012;15(5):606-14.
47. Bentley-Lewis R, Huynh J, Xiong G, Lee H, Wenger J, Clish C, et al. Metabolomic profiling in the prediction of gestational diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2015;58(6):1329-32.
48. Dudzik D, Zorawski M, Skotnicki M, Zarzycki W, Garcia A, Angulo S, et al. GC-MS based Gestational Diabetes Mellitus longitudinal study: Identification of 2-and 3-hydroxybutyrate as potential prognostic biomarkers. *J Pharm Biomed Anal*. 2017;144:90-8.
49. Dudzik D, Zorawski M, Skotnicki M, Zarzycki W, Kozłowska G, Bibik-Malinowska K, et al. Metabolic fingerprint of Gestational Diabetes Mellitus. *J Proteomics*. 2014;103:57-71.
50. Law KP, Zhang H. The pathogenesis and pathophysiology of gestational diabetes mellitus: Deductions from a three-part longitudinal metabolomics study in China. *Clin Chim Acta*. 2017;468:60-70.
51. Pinto J, Almeida LM, Martins AS, Duarte D, Barros AS, Galhano E, et al. Prediction of Gestational Diabetes through NMR Metabolomics of Maternal Blood. *J Proteome Res*. 2015;14(6):2696-706.
52. Holland WL, Knotts TA, Chavez JA, Wang LP, Hoehn KL, Summers SA. Lipid mediators of insulin resistance. *Nutr Rev*. 2007;65(6 Pt 2):S39-46.
53. Law KP, Han TL, Mao X, Zhang H. Tryptophan and purine metabolites are consistently upregulated in the urinary metabolome of patients diagnosed with gestational diabetes mellitus throughout pregnancy: A longitudinal metabolomics study of Chinese pregnant women part 2. *Clin Chim Acta*. 2017;468:126-39.
54. Plows JF, Stanley JL, Baker PN, Reynolds CM, Vickers MH. The Pathophysiology of Gestational Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*. 2018;19(11).
55. Schooneman MG, Vaz FM, Houten SM, Soeters MR. Acylcarnitines: reflecting or inflicting insulin resistance? *Diabetes*. 2013;62(1):1-8.
56. Koves TR, Ussher JR, Noland RC, Slentz D, Mosedale M, Ilkayeva O, et al. Mitochondrial overload and incomplete fatty acid oxidation contribute to skeletal muscle insulin resistance. *Cell Metab*. 2008;7(1):45-56.
57. Muoio DM, Koves TR. Lipid-induced metabolic dysfunction in skeletal muscle. *Novartis Found Symp*. 2007;286:24-38; discussion -46, 162-3, 96-203.
58. Muoio DM, Neufer PD. Lipid-induced mitochondrial stress and insulin action in muscle. *Cell Metab*. 2012;15(5):595-605.
59. Violante S, Ijlst L, Te Brinke H, Koster J, Tavares de Almeida I, Wanders RJ, et al. Peroxisomes contribute to the acylcarnitine production when the carnitine shuttle is deficient. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1831(9):1467-74.

60. Zhang X, Zhang C, Chen L, Han X, Ji L. Human serum acylcarnitine profiles in different glucose tolerance states. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;104(3):376-82.
61. Bene J, Marton M, Mohas M, Bagosi Z, Bujtor Z, Oroszlan T, et al. Similarities in serum acylcarnitine patterns in type 1 and type 2 diabetes mellitus and in metabolic syndrome. *Ann Nutr Metab.* 2013;62(1):80-5.
62. Aichler M, Borgmann D, Krumsiek J, Buck A, MacDonald PE, Fox JEM, et al. N-acyl Taurines and Acylcarnitines Cause an Imbalance in Insulin Synthesis and Secretion Provoking beta Cell Dysfunction in Type 2 Diabetes. *Cell Metab.* 2017;25(6):1334-47 e4.
63. Sun L, Liang L, Gao X, Zhang H, Yao P, Hu Y, et al. Early Prediction of Developing Type 2 Diabetes by Plasma Acylcarnitines: A Population-Based Study. *Diabetes Care.* 2016;39(9):1563-70.
64. Batchuluun B, Al Rijjal D, Prentice KJ, Eversley JA, Burdett E, Mohan H, et al. Elevated Medium-Chain Acylcarnitines Are Associated With Gestational Diabetes Mellitus and Early Progression to Type 2 Diabetes and Induce Pancreatic beta-Cell Dysfunction. *Diabetes.* 2018;67(5):885-97.
65. Nevalainen J, Sairanen M, Appelblom H, Gissler M, Timonen S, Ryyanen M. First-Trimester Maternal Serum Amino Acids and Acylcarnitines Are Significant Predictors of Gestational Diabetes. *Rev Diabet Stud.* 2016;13(4):236-45.
66. Palacios-Gonzalez B A-LA, Meraz N et al. LONGITUDINAL METABOLOMIC EARLY CHANGES IN PREGNANT WOMEN WITH OBESITY DEVELOPING GESTATIONAL DIABETES. 2018.
67. Roy C, Tremblay PY, Anassour-Laouan-Sidi E, Lucas M, Forest JC, Giguere Y, et al. Risk of gestational diabetes mellitus in relation to plasma concentrations of amino acids and acylcarnitines: A nested case-control study. *Diabetes Res Clin Pract.* 2018;140:183-90.
68. Rinaldo P, Cowan TM, Matern D. Acylcarnitine profile analysis. *Genet Med.* 2008;10(2):151-6.
69. Naylor CD, Sermer M, Chen E, Farine D. Selective screening for gestational diabetes mellitus. Toronto Trihospital Gestational Diabetes Project Investigators. *N Engl J Med.* 1997;337(22):1591-6.
70. Caliskan E, Kayikcioglu F, Ozturk N, Koc S, Haberal A. A population-based risk factor scoring will decrease unnecessary testing for the diagnosis of gestational diabetes mellitus. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2004;83(6):524-30.
71. van Leeuwen M, Opmeer BC, Zweers EJ, van Ballegooie E, ter Brugge HG, de Valk HW, et al. Estimating the risk of gestational diabetes mellitus: a clinical prediction model based on patient characteristics and medical history. *BJOG.* 2010;117(1):69-75.
72. Teede HJ, Harrison CL, Teh WT, Paul E, Allan CA. Gestational diabetes: development of an early risk prediction tool to facilitate opportunities for prevention. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2011;51(6):499-504.
73. Lu L, Koulman A, Petry CJ, Jenkins B, Matthews L, Hughes IA, et al. An Unbiased Lipidomics Approach Identifies Early Second Trimester Lipids Predictive of Maternal Glycemic Traits and Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2016;39(12):2232-9.
74. Iliodromiti S, Sassarini J, Kelsey TW, Lindsay RS, Sattar N, Nelson SM. Accuracy of circulating adiponectin for predicting gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia.* 2016;59(4):692-9.
75. Benaiges D, Flores-Le Roux JA, Marcelo I, Mane L, Rodriguez M, Navarro X, et al. Is first-trimester HbA1c useful in the diagnosis of gestational diabetes? *Diabetes Res Clin Pract.* 2017;133:85-91.
76. Renz PB, Cavagnolli G, Weinert LS, Silveiro SP, Camargo JL. HbA1c Test as a Tool in the Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus. *PLoS One.* 2015;10(8):e0135989.

77. Liu Z, Ao D, Yang H, Wang Y. Gestational weight gain and risk of gestational diabetes mellitus among Chinese women. *Chin Med J (Engl)*. 2014;127(7):1255-60.
78. White SL, Lawlor DA, Briley AL, Godfrey KM, Nelson SM, Oteng-Ntim E, et al. Early Antenatal Prediction of Gestational Diabetes in Obese Women: Development of Prediction Tools for Targeted Intervention. *PLoS One*. 2016;11(12):e0167846.
79. Enquobahrie DA, Denis M, Tadesse MG, Gelaye B, Ressom HW, Williams MA. Maternal Early Pregnancy Serum Metabolites and Risk of Gestational Diabetes Mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(11):4348-56.
80. Mexicana NO. NOM-004-SSA3-2012, Del expediente clínico. 2012.
81. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):412-9.
82. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud. Diario Oficial de la Federación 1984.
83. PL. L. The Helsinki Declaration of the World Medical Association (WMA). Ethical principles of medical research involving human subjects. 2014.
84. International ethical guidelines for biomedical research involving human subjects. Council for International Organizations of Medical S.; 2002.
85. Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares. Diario Oficial de la Federación; 2010.
86. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Prestación de Servicios de Atención Médica. Diario Oficial de la Federación; 2014.
87. Mexicana NO. NOM-018-STPS-2000. Sistema para la identificación y comunicación de peligros y riesgos por sustancias químicas peligrosas en los centros de trabajo. 2000.
88. Mexicana NO. NOM-087-ECOL-SSA1-2002. Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo. 2001.
89. Reyes Grajeda J. Manejo de Residuos Peligrosos Biológicos-Infecciosos en el INMEGEN. INMEGEN. 2009.
90. Mexicana NO. NOM-052-SEMARNAT-2005. Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos. 1993.
91. Group HSCR. The Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) Study. *Int J Gynaecol Obstet*. 2002;78(1):69-77.
92. Group HSCR, Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, Chaovarindr U, et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med*. 2008;358(19):1991-2002.
93. Chiefari E, Arcidiacono B, Foti D, Brunetti A. Gestational diabetes mellitus: an updated overview. *J Endocrinol Invest*. 2017;40(9):899-909.
94. NICE NifHaCE. Diabetes in Pregnancy: Management of Diabetes and Its Complications from Preconception to the Postnatal Period. London, UK2015.
95. Di Cianni G, Miccoli R, Volpe L, Lencioni C, Del Prato S. Intermediate metabolism in normal pregnancy and in gestational diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2003;19(4):259-70.
96. Butte NF. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*. 2000;71(5 Suppl):1256S-61S.
97. Catalano PM, Tyzbir ED, Wolfe RR, Calles J, Roman NM, Amini SB, et al. Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subjects and women with gestational diabetes. *Am J Physiol*. 1993;264(1 Pt 1):E60-7.
98. Sivan E, Chen X, Homko CJ, Reece EA, Boden G. Longitudinal study of carbohydrate metabolism in healthy obese pregnant women. *Diabetes Care*. 1997;20(9):1470-5.

99. Wallace TM, Levy JC, Matthews DR. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care*. 2004;27(6):1487-95.
100. Hosker JP, Matthews DR, Rudenski AS, Burnett MA, Darling P, Bown EG, et al. Continuous infusion of glucose with model assessment: measurement of insulin resistance and beta-cell function in man. *Diabetologia*. 1985;28(7):401-11.
101. Endo S, Maeda K, Suto M, Kaji T, Morine M, Kinoshita T, et al. Differences in insulin sensitivity in pregnant women with overweight and gestational diabetes mellitus. *Gynecol Endocrinol*. 2006;22(6):343-9.
102. Catalano PM, Tyzbir ED, Roman NM, Amini SB, Sims EA. Longitudinal changes in insulin release and insulin resistance in nonobese pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 1991;165(6 Pt 1):1667-72.
103. Karabulut AK, Layfield R, Pratten MK. Growth promoting effects of human placental lactogen during early organogenesis: a link to insulin-like growth factors. *J Anat*. 2001;198(Pt 6):651-62.
104. Anderson SG, Dunn WB, Banerjee M, Brown M, Broadhurst DI, Goodacre R, et al. Evidence that multiple defects in lipid regulation occur before hyperglycemia during the prodrome of type-2 diabetes. *PLoS One*. 2014;9(9):e103217.
105. Herrera E, Ortega-Senovilla H. Lipid metabolism during pregnancy and its implications for fetal growth. *Curr Pharm Biotechnol*. 2014;15(1):24-31.
106. Puchalska P, Crawford PA. Multi-dimensional Roles of Ketone Bodies in Fuel Metabolism, Signaling, and Therapeutics. *Cell Metab*. 2017;25(2):262-84.
107. Menni C, Fauman E, Erte I, Perry JR, Kastenmuller G, Shin SY, et al. Biomarkers for type 2 diabetes and impaired fasting glucose using a nontargeted metabolomics approach. *Diabetes*. 2013;62(12):4270-6.
108. Padberg I, Peter E, Gonzalez-Maldonado S, Witt H, Mueller M, Weis T, et al. A new metabolomic signature in type-2 diabetes mellitus and its pathophysiology. *PLoS One*. 2014;9(1):e85082.
109. Salek RM, Maguire ML, Bentley E, Rubtsov DV, Hough T, Cheeseman M, et al. A metabolomic comparison of urinary changes in type 2 diabetes in mouse, rat, and human. *Physiol Genomics*. 2007;29(2):99-108.
110. Xu F, Tavintharan S, Sum CF, Woon K, Lim SC, Ong CN. Metabolic signature shift in type 2 diabetes mellitus revealed by mass spectrometry-based metabolomics. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(6):E1060-5.
111. Klein MS, Shearer J. Metabolomics and Type 2 Diabetes: Translating Basic Research into Clinical Application. *J Diabetes Res*. 2016;2016:3898502.
112. Montelongo A, Lasuncion MA, Pallardo LF, Herrera E. Longitudinal study of plasma lipoproteins and hormones during pregnancy in normal and diabetic women. *Diabetes*. 1992;41(12):1651-9.
113. Kalhan SC, Tserng KY, Gilfillan C, Dierker LJ. Metabolism of urea and glucose in normal and diabetic pregnancy. *Metabolism*. 1982;31(8):824-33.
114. Koppe L, Nyam E, Vivot K, Manning Fox JE, Dai XQ, Nguyen BN, et al. Urea impairs beta cell glycolysis and insulin secretion in chronic kidney disease. *J Clin Invest*. 2016;126(9):3598-612.
115. Sailer M, Dahlhoff C, Giesbertz P, Eidens MK, de Wit N, Rubio-Aliaga I, et al. Increased plasma citrulline in mice marks diet-induced obesity and may predict the development of the metabolic syndrome. *PLoS One*. 2013;8(5):e63950.
116. Xie Y, Bowe B, Li T, Xian H, Yan Y, Al-Aly Z. Higher blood urea nitrogen is associated with increased risk of incident diabetes mellitus. *Kidney Int*. 2018;93(3):741-52.

117. Kashyap SR, Roman LJ, Lamont J, Masters BS, Bajaj M, Suraamornkul S, et al. Insulin resistance is associated with impaired nitric oxide synthase activity in skeletal muscle of type 2 diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(2):1100-5.
118. Li LO, Hu YF, Wang L, Mitchell M, Berger A, Coleman RA. Early hepatic insulin resistance in mice: a metabolomics analysis. *Mol Endocrinol.* 2010;24(3):657-66.
119. Rahimi N, Razi F, Nasli-Esfahani E, Qorbani M, Shirzad N, Larijani B. Amino acid profiling in the gestational diabetes mellitus. *J Diabetes Metab Disord.* 2017;16:13.
120. Scholtens DM, Muehlbauer MJ, Daya NR, Stevens RD, Dyer AR, Lowe LP, et al. Metabolomics reveals broad-scale metabolic perturbations in hyperglycemic mothers during pregnancy. *Diabetes Care.* 2014;37(1):158-66.
121. Cao YF, Li J, Zhang Z, Liu J, Sun XY, Feng XF, et al. Plasma Levels of Amino Acids Related to Urea Cycle and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus in Chinese Adults. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:50.
122. Morris SM, Jr. Regulation of enzymes of the urea cycle and arginine metabolism. *Annu Rev Nutr.* 2002;22:87-105.
123. Wang TJ, Larson MG, Vasan RS, Cheng S, Rhee EP, McCabe E, et al. Metabolite profiles and the risk of developing diabetes. *Nat Med.* 2011;17(4):448-53.
124. Huynh J, Xiong G, Bentley-Lewis R. A systematic review of metabolite profiling in gestational diabetes mellitus. *Diabetologia.* 2014;57(12):2453-64.
125. Newgard CB, An J, Bain JR, Muehlbauer MJ, Stevens RD, Lien LF, et al. A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metab.* 2009;9(4):311-26.
126. Newgard CB. Metabolomics and Metabolic Diseases: Where Do We Stand? *Cell Metab.* 2017;25(1):43-56.
127. Brosnan JT, Brosnan ME. Branched-chain amino acids: enzyme and substrate regulation. *J Nutr.* 2006;136(1 Suppl):207S-11S.
128. Chorell E, Hall UA, Gustavsson C, Berntorp K, Puhkala J, Luoto R, et al. Pregnancy to postpartum transition of serum metabolites in women with gestational diabetes. *Metabolism.* 2017;72:27-36.
129. Metzger BE, Phelps RL, Freinkel N, Navickas IA. Effects of gestational diabetes on diurnal profiles of plasma glucose, lipids, and individual amino acids. *Diabetes Care.* 1980;3(3):402-9.
130. Houten SM, Wanders RJ. A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid beta-oxidation. *J Inher Metab Dis.* 2010;33(5):469-77.
131. Lynch CJ, Adams SH. Branched-chain amino acids in metabolic signalling and insulin resistance. *Nat Rev Endocrinol.* 2014;10(12):723-36.
132. Sondergaard E, Espinosa De Ycaza AE, Morgan-Bathke M, Jensen MD. How to Measure Adipose Tissue Insulin Sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(4):1193-9.
133. Shulman GI. Ectopic fat in insulin resistance, dyslipidemia, and cardiometabolic disease. *N Engl J Med.* 2014;371(23):2237-8.
134. Pappa KI, Vlachos G, Theodora M, Roubelaki M, Angelidou K, Antsaklis A. Intermediate metabolism in association with the amino acid profile during the third trimester of normal pregnancy and diet-controlled gestational diabetes. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(1):65 e1-5.
135. Chace DH, Kalas TA. A biochemical perspective on the use of tandem mass spectrometry for newborn screening and clinical testing. *Clin Biochem.* 2005;38(4):296-309.
136. Matern D, Magera MJ. Mass spectrometry methods for metabolic and health assessment. *J Nutr.* 2001;131(5):1615S-20S.

137. Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. The application of tandem mass spectrometry to neonatal screening for inherited disorders of intermediary metabolism. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2002;3:17-45.
138. Griffiths WJ, Jonsson AP, Liu S, Rai DK, Wang Y. Electrospray and tandem mass spectrometry in biochemistry. *Biochem J.* 2001;355(Pt 3):545-61.
139. Fernández-Lainez C V-AM, Ibarra-González I. Espectrometría de masas en tándem: una nueva herramienta para el estudio de la metabolómica en pediatría. *Acta Pediatr Mex.* 2009;30(5):258-63.
140. Niessen W. MS-MS and MSn. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry.* Third Edition ed. Oxford: Academic Press; 2017.

Anexos

ANEXO I: Espectrometría de masas

La espectrometría de masas (MS) es una técnica que permite la separación, cuantificación e identificación de las moléculas a analizar con base en su relación masa/carga (m/z) (135, 136).

Composición del espectrómetro de masas:

Un equipo básico de espectrometría de masas consta de cinco secciones fundamentales:

1. Un sistema de introducción de la muestra (métodos cromatográficos: líquido de alta resolución (HPLC) y gases (GC)) (137).
2. Una fuente de ionización (generación de iones mediante distintas técnicas de ionización: ionización química, ionización por impacto eléctrico, ionización por electrospray (ESI), ionización por bombardeo rápido de átomos (FAB), ionización por desorción asistida por láser (MALDI)) (138).
3. Un analizador de masas (cuadrupolo (Q), tiempo de vuelo (TOF), orbitrap, transformada de Fourier (FTMS)) (139).
4. Un detector (registro y amplificación de la señal proveniente del analizador de masas, varios tipos: electromultiplicador y fotomultiplicador) (140).
5. Un procesador de datos (registro de la señal en forma de espectro de masas: se obtiene el espectro de masas del ion molecular, el de los productos iónicos o ambos) (138).

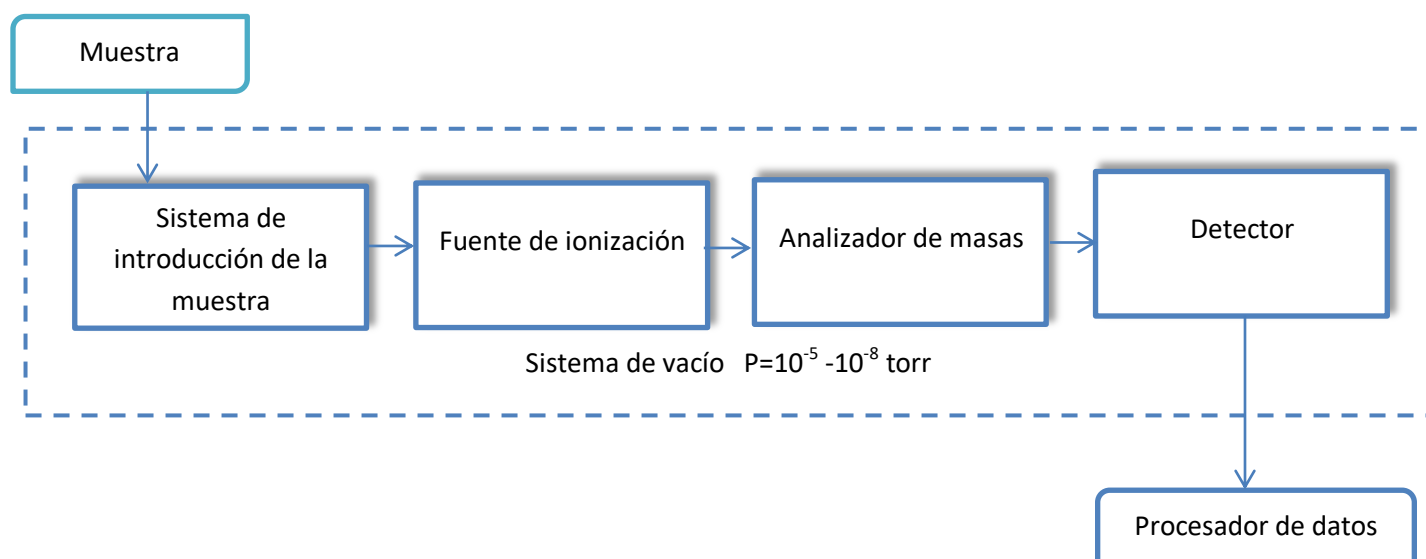
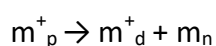


Figura I.1 Componentes de un espectrómetro de masas simple

Principio espectrometría de masas en tándem:

Un equipo básico de espectrometría de masas en tándem (MS-MS) consiste en una combinación de dos analizadores de masas con una zona de reacción (cámara/celda de colisión) entre ellos (136). Se pueden emplear una gran variedad de configuraciones en la espectrometría de masas en tándem, existe un principio básico siempre presente: en la detección de los iones por su relación m/z antes y después de la reacción en el espectrómetro de masas, la reacción involucra siempre un cambio en la masa, que puede ser representada como:



en donde m_p^+ es el ión precursor, m_d^+ es el ión producto y m_n representa uno (o más) especies neutras. En la espectrometría de masas en tándem se selecciona el ión precursor en la primera etapa del análisis (MS1), la fragmentación del ión precursor en la zona reacción (mediante ion metaestable o por disociación colisión inducida CID) y el análisis de masas de los iones producto en la segunda etapa del análisis (MS2) también conocido como análisis de ión-producto (140).

La fragmentación del ión precursor depende de la reacción de la barrera de activación. La energía que se requiere para vencer esta barrera se debe al exceso de energía que se ejerce sobre el ión precursor durante el proceso de ionización y la transferencia al primer analizador de masas (140).

Un espectrómetro de masas en tándem consta de siete secciones:

1. Sistema de introducción de muestra (cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía de gases (GC)) (139, 140).
2. Fuente de ionización (ionización por electrospray (ESI), ionización por desorción asistida por láser (MALDI), ionización química (CI), ionización química por presión atmosférica (APCI), impacto de electrón (EI), bombardeo rápido de átomos (FAB), Campo desorción/campo ionización (FD/FI), ionización por termospray (TSP)) (139, 140).
3. Primer analizador de masas- MS1 (cuadrupolo (Q), tiempo de vuelo (TOF), sector magnético (MS), sector electrónico (ES), transformada de Fourier (FT-ICR)) (139, 140).
4. Cámara/celda de colisión (generación de fragmentos) (139, 140).

5. Segundo analizador de masas- MS2 (cuadrupolo (Q), tiempo de vuelo (TOF), sector magnético (MS), sector electrónico (ES), transformada de Fourier (FT-ICR)) (139, 140).
6. Detector (fotomultiplicador (PM), electromultiplicador (EM), placa de microcanal (MP)) (139, 140).
7. Procesador de datos (registro de la señal en forma de espectro de masas: se obtiene el espectro de masas del ion molecular, el de los productos iónicos o ambos) (138-140).

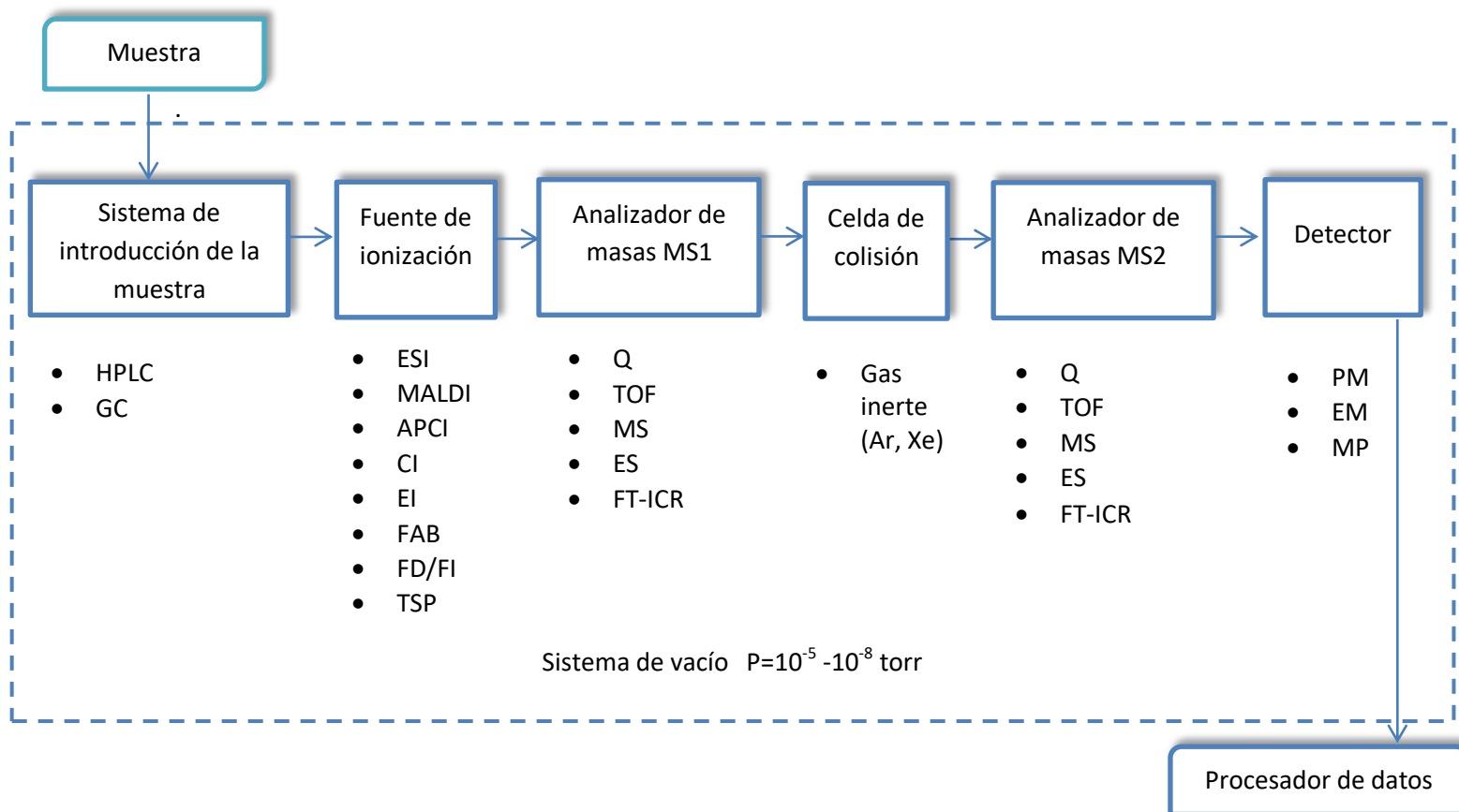


Figura I.2 Componentes de un espectrómetro de masas en tándem MS-MS



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Ciudad de México, a

Día	Mes	Año

A quien corresponda:

Yo _____ declaro libre y voluntariamente que acepto participar en el estudio de **“Uso de una huella metabólica antes de la semana 18 de gestación para la detección de mujeres embarazadas que desarrollarán diabetes gestacional”**, que se realiza en el centro de salud **CST III Dr. Gabriel Garzón Cossa y el Instituto Nacional de Medicina Genómica** y cuyo objetivo general consiste en: Emplear una huella metabólica antes de la semana 18 de gestación en mujeres embarazadas que asisten al **CST III Dr. Gabriel Garzón Cossa adscrito a la Jurisdicción Gustavo A. Madero** que permita identificar aquellas mujeres embarazadas que serán diagnosticadas entre las semanas 24 a 28 de gestación con diabetes gestacional mediante el estándar de oro (curva de tolerancia a la glucosa, utilizando los criterios que establece la NOM-007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida).

Estoy consciente de que los procedimientos y pruebas para lograr el objetivo consisten en:

1. Permitir el acceso a mi expediente clínico con la finalidad de conocer mi estado de salud durante el embarazo; el cual será tratado siempre bajo estricta confidencialidad y respeto a mis datos personales.
2. Permitir que se me realice un ultrasonido para conocer de forma exacta cuántos meses tengo de embarazo.
3. Asistir en estado de ayuno (no haber consumido ningún tipo de alimento o bebida) de mínimo 8 horas y máximo de 12 horas antes de las dos visitas programadas.
 - a. Primera visita (antes de los 4 meses de embarazo): Se me tomará una muestra de sangre equivalente a 1 cucharada sopera (5 ml) y se me realizará un breve cuestionario y mediciones de mi cuerpo (peso y talla).
 - b. Segunda visita (entre los 6 y 7 meses de embarazo): Se me realizará una curva de tolerancia a la glucosa, la cual consiste en una toma de muestra de sangre venosa en ayuno (no haber consumido ningún tipo de alimento o bebida) de mínimo 8 horas y máximo de 12 horas. Posteriormente se me solicitará que consuma una bebida que contiene el equivalente de azúcar de una lata de 355 ml de un refresco. Después de consumir la bebida se me realizarán dos tomas de sangre cada hora, hasta completar dos horas.

También sé que entre los posibles riesgos y efectos para mi persona pueden estar:

1. Todas las muestras serán tomadas por personal de salud capacitado. Sin embargo algunas personas cuando le sacan sangre del brazo experimentan dolor y se les hace un moretón en el sitio del piquete y en raras ocasiones algunas personas presentan náusea y/o vómito y/o mareo e incluso algunas se desmayan.
2. Cuando consuma la bebida con azúcar usted podrá experimentar náusea y/o vómito y/o mareo e incluso en raras ocasiones algunas personas se desmayan.

Entiendo que del presente estudio se derivarán los siguientes beneficios.

1. El grupo de investigación se compromete entregar todos los resultados de mis pruebas de sangre a mi médico tratante. Esta información será útil para mi tratamiento y toma de decisiones sobre mi embarazo de mi médico.
2. Este estudio permitirá que en un futuro otras pacientes puedan beneficiarse del conocimiento obtenido.

El presente estudio no representa ningún riesgo para la salud de mi embarazo y de mi bebé. Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme de esta investigación en el momento que yo así lo desee. En caso de que decidiera retirarme, la atención que como paciente recibo en este centro de salud CST III Dr. Gabriel Garzon Cossa no se verá afectada. Estoy consciente de que los procedimientos y pruebas realizados en este estudio son gratuitos y que no habrá ningún pago por mi participación en este estudio. Todas las muestras de sangre que se obtengan serán utilizadas sólo y exclusivamente para este estudio y posteriormente serán destruidas.

Entiendo que mi información personal será manejada con las reservas que establece la normatividad vigente en materia de protección de datos personales.

Así mismo, cualquier trastorno, duda o pregunta relacionada con esta investigación con esta investigación podré consultarla con el Dr Rafael Figueroa Escobar al Teléfono: 50-38-17-00 ext 7020 localizado en Calle Nte 72-A 3541, Col. Las Joya CP. 07890 Del. Gustavo A. Madero, quien comunicará el evento a la Dirección de Educación e Investigación de la SSDF, en donde se decidirá la necesidad de convocar al investigador principal y al Cuerpo Colegiado competente para su resolución. Usted deberá cubrir los demás procedimientos relacionados con la resolución de su embarazo en la institución de salud participante, como cualquier otra paciente perteneciente al mismo.

Nombre de la participante:		Firma:
Domicilio.	Teléfono	
Nombre y firma del testigo o cónyuge		Firma:
Domicilio.	Teléfono	
Nombre y firma del testigo o cónyuge.		Firma.
Domicilio.	Teléfono	
Nombre y firma del Investigador responsable. Dra. Berenice Palacios González		Firma.
Domicilio. Periférico Sur 4809 Col Arenal Tepepan, Delg. Tlalpan CP 14610, CDMX	Teléfono	53501900 ext 1220

c. c. p. Paciente o familiar

c. c. p. Investigador (conservar en el expediente de la investigación)



EL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN DEL INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA

Con fundamento en lo dispuesto por los artículos 41 Bis, 98 y 100 de la Ley General de Salud; 14 fracción VII, 98-112 del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud; 37 del Estatuto Orgánico del INMEGEN y de conformidad a su propio Manual de Funcionamiento, emite el presente documento:

<i>Título del Proyecto:</i>	ENSAYO CLÍNICO DE UNA HUELLA METABOLÓMICA COMO HERRAMIENTAS DIAGNÓSTICA TEMPRANA DE DIABETES GESTACIONAL.
<i>Dirigido al Investigador Responsable:</i>	DRA. BERENICE PALACIOS GONZÁLEZ
<i>Objetivo del Proyecto:</i>	Evaluar la capacidad diagnóstica de un perfil metabólico realizado entre las semanas 12 a 18 de gestación para identificar mujeres que desarrollarán diabetes gestacional.
<i>Documentos sometidos a Revisión:</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Protocolo: versión 2. • Carta de Consentimiento: versión 2 • Respuesta de la investigadora responsable
<i>No. de Dictamen:</i>	CEI 2016/04
<i>Fecha de elaboración del dictamen:</i>	6 de abril de 2016
<i>Tipo de Documento:</i>	Dictamen Aprobatorio

CONSIDERACIONES DE LOS INTEGRANTES DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN (CEI-INMEGEN)

En seguimiento al documento emitido por el CEI-INMEGEN el 20 de agosto de 2015 y a la respuesta que Usted dio al mismo en diciembre del mismo año, atendiendo las observaciones y recomendaciones; los integrantes del CEI-INMEGEN después de revisar los cambios, emiten el presente **Dictamen Aprobatorio**, el cual tendrá validez de un año a partir de la fecha en que es entregado al Investigador responsable, debiéndose solicitar una prórroga un mes antes de su vencimiento. El CEI-INMEGEN se reserva el derecho de hacer revisiones periódicas cuando así lo estime pertinente, para salvaguardar los derechos de los participantes.

Atentamente,

PRESIDENTE DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN DEL INMEGEN

Saruwatari

Mtra. Garbiñe Saruwatari Zavala



C.c.p.: -Dr. Juan Enrique Morett Sánchez – Presidente del Comité de Investigación del INMEGEN. Presente.
 -Lic. Teresa García de la Torre – Secretaria Técnica del Comité de Investigación del INMEGEN. Presente.

Ciudad de México, 28 de mayo de 2018.
Oficio No. SSDF/DGPCS/DEI/SECI/JUDI/1018/17.
ASUNTO: Registro de protocolo de investigación.

Dra. Berenice Palacios González
Doctora en Ciencias Bioquímicas
Investigador en Ciencias Médicas "C" Instituto Nacional de Medicina Genómica.
Unidad de Vinculación Científica de la Facultad de Medicina en INMEGEN
PRESENTE

Con relación al proyecto de investigación titulado: **"Uso de una huella metabólica antes de la semana 18 de gestación para la detección de mujeres embarazadas que desarrollarán diabetes gestacional"**, que remite para evaluación de procedencia, le comunico que el Comité de Ética en Investigación de la Secretaría de Salud de la Ciudad de México, con registro CONBIOÉTICA-09-CEI-004-20180213 ante la Comisión Nacional de Bioética lo considera de información relevante y **con riesgo mínimo**, toda vez que de acuerdo con la normatividad vigente en materia de protección de datos personales, **"la información identificatoria (personal) se encuentra desvinculada de la información sustantiva para el estudio y solo se requiere para validar la información"**, amén de las normas éticas, morales y los acuerdos internacionales que se aplican a la discreción y secrecía en el ejercicio de la profesión médica, así como la seguridad de la información genética. Por lo anterior, ha dictaminado la **aprobación con observaciones**, asignándole el número de registro: **102-010-02-18**.

En ese sentido y con el propósito de brindar un mejor apoyo a sus actividades, debo señalarles que los apoyos que solicitan para su proyecto, deben ser gestionados directamente en la Unidad de Atención que se requiera, ante el titular que corresponda, quién decidirá libremente la participación de su unidad, de la misma manera que el personal operativo que desee involucrarse, considerando como prioridad el servicio y la atención a los usuarios.

ATENTAMENTE.



M. EN ISS, CAROLINA SALINAS OVIEDO

PRESIDENTE DEL COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



SECRETARÍA DE SALUD
SEDESA
CIUDAD DE MÉXICO
DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN
E INVESTIGACIÓN

c.c.p. Archivo

Dr. Jorge Pérez Vias.- Médico responsable del CST III Dr. Gerardo Varela Mariscal, Jurisdicción Tlalpan.
Dr. José Antonio Reyes Garduño.-Médico responsable del CST III San Miguel Topilejo, Jurisdicción Tlalpan.

SECRETARÍA DE SALUD
Dirección de Educación e Investigación
Subdirección de Educación Continua e Investigación
Jefatura de Unidad Departamental de Investigación

Alfaro 11, 23 de Febrero, México, D.F. 06702
Tel: 5623 4144 Fax: 5623 4145

Anexo IV: Gráfica con los casos mal clasificados con base en los dos modelos metabólicos propuestos

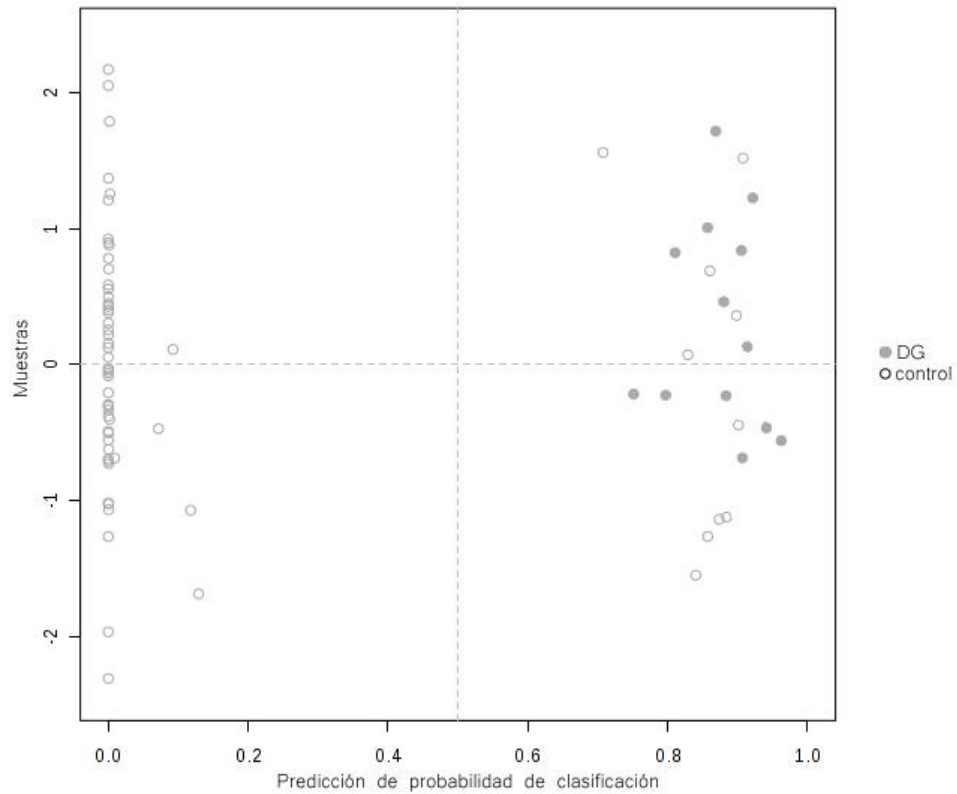


Figura II.1 Gráfica de predicción de probabilidad de clasificación para el modelo 1. Se muestra una gráfica de predicción de probabilidad de clasificación de casos vs controles empleando el modelo 1 compuesto por dos acilcarnitinas de cadena corta (isovalerilcarnitina y tigililcarnitina). En la parte derecha se observan todos los casos de diabetes gestacional totalmente clasificados (color gris, n=13) mientras que se pueden observar aquellos casos del grupo control (color blanco, n=10) que el modelo mal clasifica como casos de diabetes gestacional. En la parte izquierda se puede observar los casos del grupo control (n=52) que el modelo 1 clasifica acertadamente como casos control. Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7 ± 3.1 SDG.

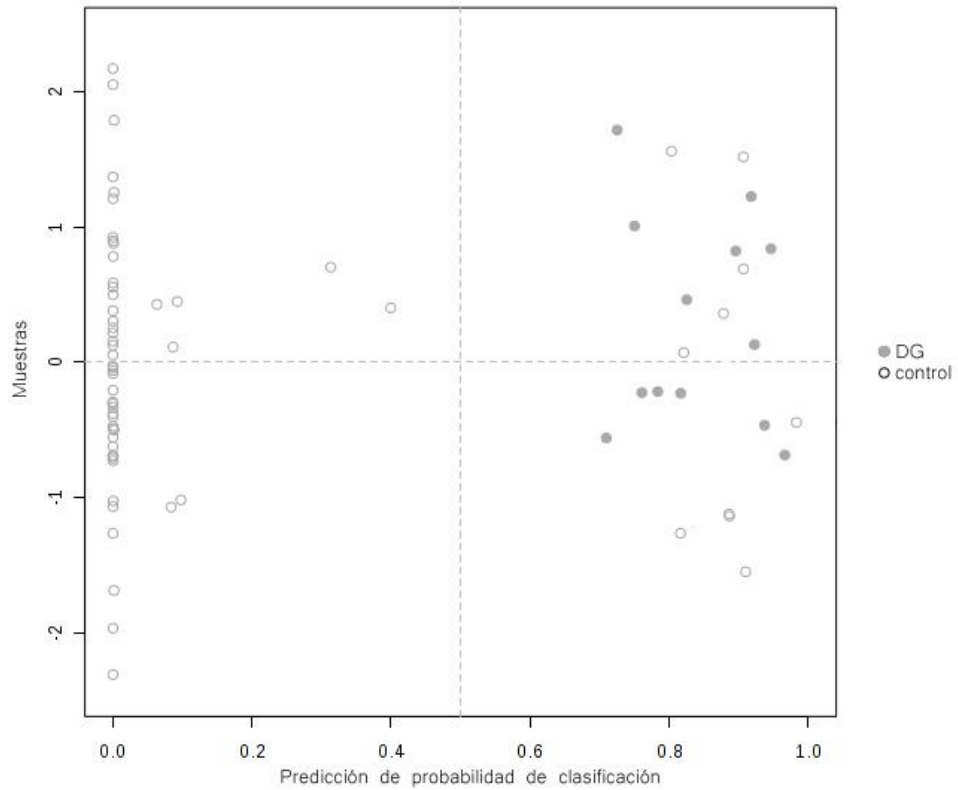


Figura II.2 Gráfica de predicción de probabilidad de clasificación para el modelo 2. Se muestra una gráfica de predicción de probabilidad de clasificación de casos vs controles empleando el modelo 2 compuesto por dos acilcarnitinas de cadena corta (butilcarnitina e isovalerilcarnitina). En la parte derecha se observan todos los casos de diabetes gestacional totalmente clasificados (color gris, n=13) mientras que se pueden observar aquellos casos del grupo control (color blanco, n=10) que el modelo mal clasifica como casos de diabetes gestacional. En la parte izquierda se puede observar los casos del grupo control (n=52) que el modelo 1 clasifica acertadamente como casos control. Análisis realizados en el primer trimestre de la gestación 12.7 ± 3.1 SDG.