



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Medicina
Departamento de Estudios Avanzados
Maestría en Ciencias de la Salud

“Modificación de los marcadores inflamatorios en crías de ratonas con diabetes *mellitus* gestacional, con exposición *in utero* de altas concentraciones de sacarosa”

TESIS

Presenta:

Efrén Aguilar Rodríguez

Comité de Tutores

Dra. IM. Beatriz Elina Martínez Carrillo. Directora

Dra. Roxana Valdés Ramos. Codirectora

Dr. Aldo Arturo Reséndiz Albor. Asesor

Toluca, Estado de México

2023

INDICE

	No. página
Resumen	4
Abstract	5
1. Marco teórico	
1.1. <i>Diabetes Mellitus Gestacional</i>	6
1.1.1. <i>Definición y epidemiología de la enfermedad</i>	6
1.1.2. <i>Fisiopatología de la DMG</i>	6
1.1.3. <i>Factores de riesgo para el desarrollo de la DMG</i>	8
1.1.4. <i>Tratamiento nutricional de la DMG</i>	9
1.1.5. <i>Complicaciones de la DMG</i>	10
1.1.5.1. <i>Complicaciones en la madre</i>	10
1.1.5.2. <i>Complicaciones en el hijo</i>	11
1.2. <i>Sacarosa</i>	13
1.2.1. <i>Definición y características</i>	13
1.2.2. <i>Digestión y absorción de la sacarosa</i>	13
1.2.3. <i>Metabolismo de la sacarosa</i>	13
1.3. <i>Estado inflamatorio asociado al consumo de sacarosa</i>	14
1.3.1. <i>Estado inflamatorio</i>	14
1.3.2. <i>Estrés oxidante</i>	16
1.3.3. <i>Alteraciones en el estado inflamatorio y oxidante durante la DMG y su relación con el consumo de sacarosa.</i>	17

2.	Planteamiento del Problema	20
3.	Hipótesis	22
4.	Objetivos	23
5.	Justificación	24
6.	Material y Métodos	25
	6.1. Diseño de estudio	25
	6.2. Procedimientos	25
	6.3. Variables de Estudio	29
	6.4. Implicaciones Bioéticas	38
	6.5. Recolección de Datos	38
	6.6. Análisis Estadístico	38
7.	Resultados	39
8.	Discusión	44
9.	Conclusión	46
10.	Referencias Bibliográficas	47

Resumen. La diabetes *mellitus* gestacional (DMG) es el padecimiento que puede suceder en el embarazo y se caracteriza por estados de hiperglicemia junto con resistencia a la insulina. Una alimentación inadecuada en la gestación puede generar complicaciones a la madre y el hijo; por ejemplo, el consumo excesivo de sacarosa favorece la alteración en ciertos marcadores de la inflamación que, aunados al proceso patológico de la DMG, podría ser un factor de riesgo para enfermedades crónicas en el hijo. Actualmente, se desconocen los efectos en marcadores inflamatorios del hijo por el consumo excesivo de sacarosa de la madre con DMG. Esta propuesta de investigación tuvo como objetivo analizar los efectos de la suplementación con sacarosa en ratonas con DMG, a través de la cuantificación de marcadores inflamatorios en la sangre de las crías. Se conformaron 4 grupos: (a) ratonas sin DMG, sin suplementación de sacarosa, (b) ratonas sin DMG, con suplementación de sacarosa, (c) ratonas con DMG, sin suplementación de sacarosa, (d) ratonas con DMG, con suplementación de sacarosa. Se suplementó a partir del momento del diagnóstico de DMG. Terminada la gestación de las ratonas, las crías que nacieron se separaron y se sacrificaron, obteniéndose de ellas suero y células del bazo. Con las muestras biológicas anteriores se midieron concentraciones de glucosa, insulina, leptina, adiponectina, IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ , glutatión reducido, catalasa, superóxido dismutasa, capacidad antioxidante total, TBARS, proteínas carboniladas, IgA e IgG. Para esto se utilizaron los métodos de ELISA y citometría de flujo. Para el análisis estadístico se usó ANOVA de una vía junto con la prueba *post hoc* de Tukey para determinar entre si grupos existió diferencia. Se encontró en esta investigación que las crías nacidas de las ratonas con suplementación de sacarosa presentan mayor concentración de adiponectina, mayor porcentaje de IL-1 β e IL-6; por su lado, las crías nacidas de ratonas con DMG presentaron el menor peso corporal entre todos los grupos y la mayor concentración de proteínas carboniladas y finalmente las crías de ratonas DMG y suplementación de sacarosa presentaron mayor porcentaje de citocinas proinflamatorias, así como de población de linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺, en comparación con las crías control; además de tener mayor concentración de catalasa y glutatión reducido. Por lo anterior, se concluye que el consumo de sacarosa, la presencia de DMG y la conjunción de estas dos circunstancias alteran el metabolismo y la actividad hormonal, favorecen un estado proinflamatorio, así como un desequilibrio de la actividad redox en los recién nacidos.

Abstract. Gestational diabetes mellitus (GDM) is the disease that may occur during pregnancy, characterized by hyperglycemia and insulin resistance. Inadequate nutrition during pregnancy may cause complications to mother and child; for example, excessive consumption of sucrose causes alterations in certain biomarkers of inflammation which, along with the pathophysiology of GDM, could be a risk factor for chronic diseases in the child. Currently, the effects on inflammatory biomarkers in the newborn due to excessive sucrose consumption by the mother with GDM are unknown. This research proposal aimed to analyze the effects of sucrose supplementation in female mice with GDM, through quantification of inflammatory biomarkers in the offspring's blood. Four groups were created: (a) mice without GDM, without sucrose supplementation, (b) mice without GDM, with sucrose supplementation, (c) GDM mice, without sucrose supplementation, (d) GDM mice, with sucrose supplementation. The mice were supplemented from the moment of GDM diagnosis. Once the gestation of the mice was completed, all the newborns were separated and sacrificed, obtaining serum and spleen cells from them. With the previous biological samples concentrations of glucose, insulin, leptin, adiponectin, IL-1B, IL-6, TNF- α , IFN- γ , reduced glutathione, catalase, superoxide dismutase, total antioxidant capacity, TBARS, carbonylated proteins, IgA and IgG were measured. ELISA and flow cytometry methods were used for this purpose. One way ANOVA and Tukey's *post hoc* test used for statistical analysis. It was found in this research that the pups born to mice with sucrose supplementation have a higher concentration of adiponectin, a higher percentage of IL-1 β and IL-6; For their part, the offspring born to mice with GDM had the lowest body weight among all groups and the highest concentration of carbonylated proteins, and finally the offspring of GDM mice with sucrose supplementation presented a higher percentage of proinflammatory cytokines, as well as a population of CD4 $^{+}$ and CD8 $^{+}$ T lymphocytes, compared to control pups; in addition to having a higher concentration of catalase and reduced glutathione. In conclusion, the consumption of sucrose, the presence of DMG and the conjunction of these two circumstances alter metabolism and hormonal activity, favor a pro-inflammatory state, as well as an imbalance of redox activity in the newborn.

1. Marco teórico

1.1. Diabetes *mellitus* gestacional

1.1.1 Definición y epidemiología de la enfermedad.

La diabetes *mellitus* gestacional (DMG) consiste en una condición anormal de la embarazada que se manifiesta con glicemias elevadas y una baja o poca tolerancia a la glucosa¹; que se diagnóstica, comúnmente, durante el segundo trimestre del embarazo². Esta condición puede derivar en problemas perinatales tanto para la madre como para el hijo.

Según lo reportado en el 2016 por la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud en el documento “Hiperglucemia y embarazo en las Américas. Informe final de la Conferencia Panamericana sobre Diabetes y Embarazo”, la prevalencia de DMG en el mundo es aproximadamente del 30% y se considera que pudiera ser aún más elevada por falta de un diagnóstico oportuno de esta condición³.

La Federación Internacional de Diabetes ha proyectado para el 2030 cerca de 18.5 millones de nacidos vivos que habrán tenido repercusiones por glicemias elevadas de la madre en el embarazo, correspondiendo un 83.6% de estos casos a la presencia de DMG⁴.

Por otro lado, en México, hay estadísticas que mencionan que este padecimiento puede alcanzar cerca del 18% de los embarazos⁵. Todo lo anterior, permite inferir que esto es un problema de salud pública y que se debe atender de manera integral e interdisciplinaria por profesionales de la salud.

1.1.2 Fisiopatología de la DMG.

Es importante mencionar que el embarazo por sí mismo genera diversos cambios en la madre, que se consideran normales o habituales, a nivel anatómico y fisiológico, social, emocional y psicológico; los cuáles varían y se presentan paulatinamente conforme avanza el periodo de gestación, para ir adaptando a la mujer a esta situación fisiológica normal y que serán influenciados por factores internos y externos de la embarazada⁶.

Dentro de los cambios sistémicos normales que suceden se encuentra la hipervolemia, es decir, el aumento en el volumen de sangre total en la madre, que implica un gasto cardíaco aumentado, lo que va a permitir una buena circulación para la madre y para la irrigación placentaria. Existen

también cambios a nivel renal y urinario, como el aumento en la tasa de filtrado glomerular, con una presencia normal de glucosa y proteínas en orina; cambios en el sistema digestivo que habitualmente se presentan al principio del embarazo y en forma de náuseas o vómitos, reflujo gastroesofágico y estreñimiento, derivados de los cambios hormonales y de posición de los órganos digestivos^{6,7}.

Existen cambios metabólicos, como el aumento en el anabolismo al principio del embarazo por una mayor sensibilidad a la insulina en la madre, el cual cambia por un estado catabólico al final del embarazo, que puede estar acompañado e influido por un aumento en la secreción de hormonas como la insulina, lactógeno placentario, cortisol, progesterona y prolactina^{6,7,8}.

El desarrollo de la DMG tiene su punto central en el metabolismo de los hidratos de carbono, específicamente la glucosa. Al existir una sensibilidad disminuida a la insulina, hay mayor producción de glucosa en el hígado para cubrir las demandas energéticas, aumentando la glicemia en la madre, la lipólisis, la concentración de ácidos grasos libres y de triacilglicéridos en sangre, como se vio en un estudio hecho en 250 mujeres españolas con una prevalencia de casi el 40% de esta condición⁹. Estos cambios se dan para que la madre obtenga energía a partir de la oxidación de ácidos grasos, propiciando aún más resistencia a la insulina en la madre,

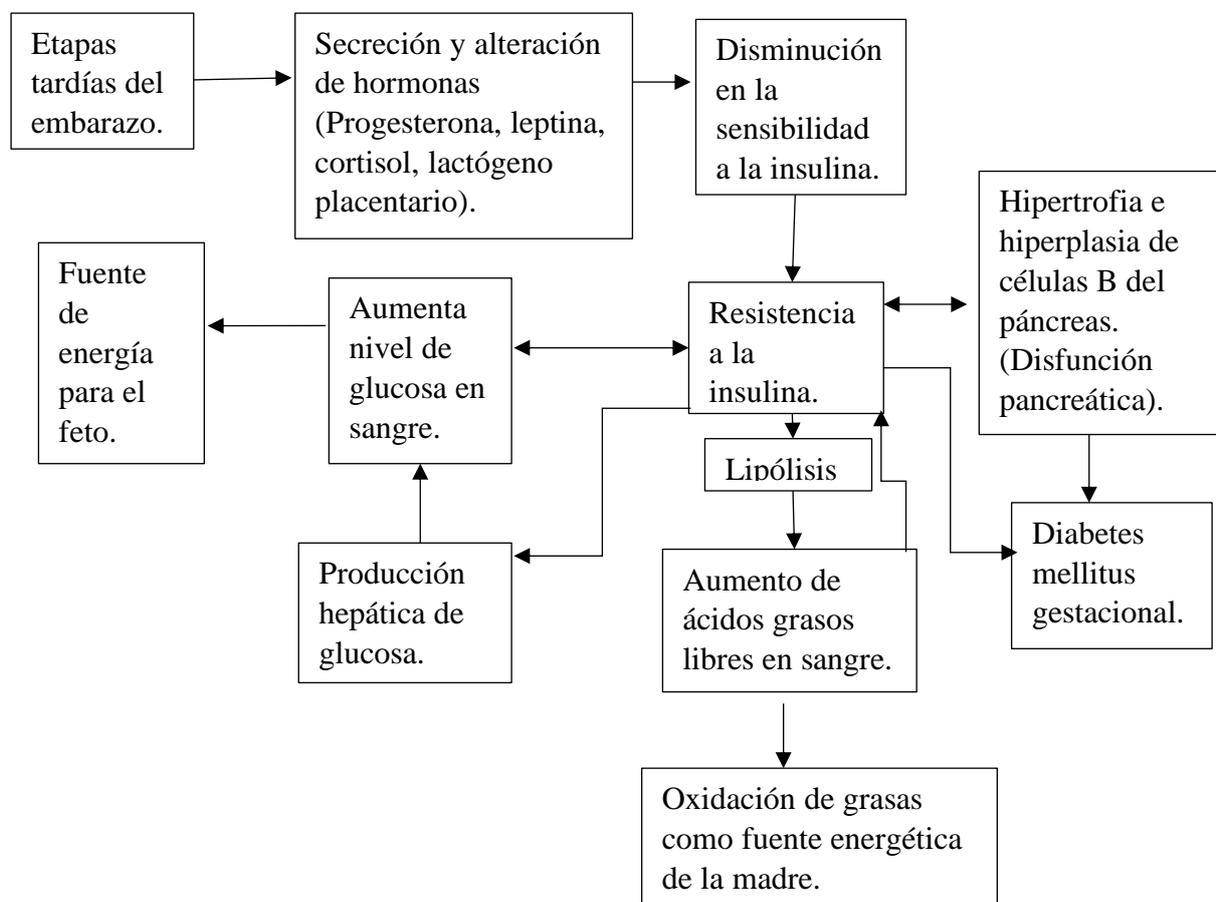


Figura 1. Fisiopatología de la DMG. Fuente: Elaboración propia

debido a un proceso de hiperplasia e hipertrofia de las células β del páncreas, que conlleva una disfunción endócrina pancreática (Ver figura 1)., dando como resultado el desarrollo de DMG^{7,10}

Una señalización inadecuada en las redes neurológicas y hormonales puede alterar el control del hambre y saciedad en la embarazada, modificando así el aprovechamiento de los sustratos y el consumo de alimentos⁷. De igual forma, señales inadecuadas dentro del tejido adiposo podrían favorecer una constante resistencia a la insulina, que puede incrementarse cuando además de la DMG, la mujer presenta obesidad¹¹.

En el tejido adiposo se secretan adipocinas que participan en la regulación del hambre y la saciedad. La leptina es una adipocina que se dirige a lugares específicos en el cerebro, dando la señal de disminuir el apetito, provocando una disminución en el consumo de alimentos, aumentando la producción y utilización de energía en el cuerpo¹². Sin embargo, en el embarazo existe cierta resistencia a la leptina, que en la DMG puede estar aumentada, derivando en un mal control del hambre y también en un estado de hiperleptinemia⁷.

La adiponectina, que es otra adipocina; de manera normal tiene funciones antiinflamatorias, de protección al corazón y como promotora de la secreción de y sensibilización a la insulina¹³. Esta adipocina se ha vinculado con la resistencia a la insulina a través de una interrupción en la señalización y recepción celular de la insulina en tejidos, por alteraciones genéticas en la expresión de la adiponectina, relacionándose con una baja tolerancia a la glucosa^{7,14}.

La DMG también puede desarrollar alteraciones en el aprovechamiento de ciertos sustratos, específicamente los aminoácidos (como los de cadena ramificada) y lípidos (triacilglicéridos en especial), con efectos en el metabolismo de hidratos de carbono, lo que podría propiciar aún más, un estado constante y agravado de la enfermedad¹⁵.

1.1.3 Factores de riesgo para el desarrollo de la DMG.

Dentro de los factores de riesgo que se han descrito en la literatura para la DMG^{16,17}, se encuentran los siguientes:

- Antecedente de embarazos con DMG
- Antecedentes de familiares directos con DMG2.
- Sobrepeso u obesidad: IMC por encima de 25 kg/m².
- Edad mayor a 35 años.
- Síndrome de ovario poliquístico.

- Mayor ganancia de peso durante la gestación.

Algunos estudios han concluido que ciertas variaciones genéticas, mutaciones o polimorfismos pueden ser un factor de riesgo en la aparición de DMG⁸, a través de una expresión inadecuada de genes para el metabolismo de glucosa y lípidos, la producción y secreción de insulina, receptores de hormonas reguladoras de la glucosa, así como genes involucrados en la resistencia a la insulina e inflamación^{14,18}.

1.1.4. Tratamiento nutricional de la DMG.

Actualmente, se han implementado diferentes estrategias para cuidar y adecuar la alimentación de las embarazadas con DMG, a través de planes de alimentación: con bajo índice glicémico; la dieta DASH (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*); dietas con bajo contenido de hidratos de carbono; con alto contenido en fibra; dietas modificadas en grasas o con restricción energética. En un metaanálisis se encontró que estas dietas en casos de DMG mejoraban las glicemias, tenían una menor necesidad de medicamentos y sus hijos no presentaban macrosomía al nacer¹⁹.

Una investigación que recopiló las recomendaciones generales de alimentación y nutrición en DMG de diversos organismos e instituciones describe lo siguiente:

1. Según la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia, los requerimientos energéticos deben ser calculados con base en el peso pregestacional y la ganancia esperada de peso, con un límite del 45% proveniente de hidratos de carbono y como mínimo 175 gr en la dieta²⁰.
2. La Sociedad de Endocrinología de la Universidad de Oxford por su lado, menciona que el tratamiento dietético debe ir encaminado a lograr un objetivo de glicemias adecuado para cada embarazada y también menciona un límite superior del 45% de la energía proveniente de hidratos de carbono²¹.
3. El Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos hace referencia a los tiempos de comida, indicando 3 comidas principales más 2 colaciones para un aumento saludable de peso. No realiza una recomendación porcentual de hidratos de carbono en la dieta; sin embargo, sugiere un mayor consumo de hidratos de carbono complejos, pues previenen picos de glucosa y pueden ayudar a la prevención de resistencia a la insulina²².
4. Las Guías del Instituto Nacional para la Salud y Cuidado de Excelencia de Reino Unido recomiendan que todas las mujeres con DMG visiten a un especialista de la

alimentación, además de sugerir el consumo de alimentos con un índice glicémico bajo, en lugar de aquellos con alto índice²³.

5. La Asociación Canadiense de Diabetes hace la recomendación de la importancia de un plan estructurado que es primordial durante el embarazo y que ellas deberían comer al menos 175 gr de hidratos de carbono al día, distribuidos en 5 comidas al día y de preferencia con alimentos de índice glicémico bajo²⁴.
6. La Academia de Nutrición y Dietética de EE. UU. considera que un dietista registrado debe ser el encargado del tratamiento médico nutricional para todas las mujeres con DMG, con recomendaciones que incluyan cerca de 160 gr de hidratos de carbono al día y cerca de 30 gr de fibra²⁵.
7. La Asociación Americana de Diabetes hace la recomendación de seguir lo establecido en los datos del consumo dietético de referencia, incluyendo el consumo de 175 gr de hidratos de carbono y la misma cantidad de fibra que la Academia de Nutrición y Dietética de EE. UU. recomienda²⁶.

Por otro lado, se ha estudiado el uso de suplementos nutricionales con bajo índice glicémico e hidratos de carbono de lenta digestión. La evidencia muestra buenos resultados en el control de la glucosa en sangre, reducción del porcentaje de hemoglobina glicosilada y disminución del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. También se han visto beneficios para el hijo, como menor riesgo de neumonía y de presentar bajo peso al nacimiento¹⁰.

Independientemente del tipo de alimentación que se sugiera a la embarazada, es importante considerar la posibilidad de que las mujeres no sigan el tratamiento nutricional, derivado de la ansiedad y el miedo producidos por el diagnóstico de DMG. Por esto, será necesario adecuar la dieta sin ser demasiado estrictos o restrictivos, siendo flexibles en la elección y consumo de ciertos alimentos; puesto que se ha asociado con mejores resultados en el control de la glicemia, mayor confianza en la madre y más compromiso en el cumplimiento del tratamiento²⁷.

1.1.5 Complicaciones de la DMG.

1.1.5.1. Complicaciones en la madre.

La DMG es la principal causa de eventos adversos perinatales para el binomio madre-hijo^{14,28,29}. Se pueden encontrar alteraciones metabólicas en la madre como: aumento de la glucosa en sangre y resistencia a la insulina; así como, alteraciones en concentraciones de colesterol, triacilglicéridos y colesterol HDL¹⁷. La hipertriacilgliceridemia se ha relacionado con concentraciones elevadas de glucosa, HbA1C y resultados elevados en las pruebas orales de

tolerancia a la glucosa a los 3 meses después del parto. Las mujeres con DMG pueden presentar concentraciones bajas de colesterol HDL, incluso un año después del parto cuando se ha parido a un niño con macrosomía⁹.

Una de las complicaciones asociadas es la hipertensión arterial y el consecuente riesgo de sufrir preeclampsia^{1,10}; que aumentaría el riesgo de necesitar cesárea en el trabajo de parto³⁰; además de un doble riesgo de enfermedades cardiovasculares, independientemente del desarrollo de DMT2 en la madre después del parto³¹.

Se pueden presentar problemas cardíacos como hipertrofia, derivados de la hiperglucemia, la hiperlipidemia o resistencia a la insulina en la madre; que podrían estar relacionados con la macrosomía del feto. El riesgo de parir un niño muerto es cuatro veces mayor que en aquellas mujeres que cursaron un embarazo normal⁸.

En un estudio se encontró que las mujeres con DMG pueden tener concentraciones elevadas de ciertas moléculas proinflamatorias como la PCR, la IL-1 y la IL-6¹; mientras que en otro estudio se encontró un aumento de células cooperadoras Th2, Th17 y Tregs durante el embarazo³². Todo lo anterior podría favorecer un estado inflamatorio crónico leve, aumentando la probabilidad de desarrollar enfermedades metabólicas y cardiovasculares crónicas. Esto se traduce en un riesgo 7 a 10 veces mayor de desarrollar DMT2^{1,31} en los 5 a 10 años siguientes al embarazo. Por otro lado, aumenta 3 veces el riesgo de desarrollar síndrome metabólico en las mujeres con DMG¹, en comparación con las que llevaron un embarazo sin enfermedades⁸.

La literatura también muestra que puede existir una regulación disminuida del metabolismo de esfingolípidos, lo que también podría favorecer la aparición de DMT2 a largo plazo; por una alteración en la función de tejidos como el adiposo, que tiene una participación considerable en la actividad de y sensibilidad a la insulina³³.

1.1.5.2. Complicaciones en el hijo.

Es importante mencionar, que los efectos o las complicaciones en hijos derivadas de un mal control de la DMG en la madre, van a variar conforme la edad del hijo. El hecho de que se evite una complicación no implica que se eviten todas las demás complicaciones.

De manera general, en los recién nacidos se incluyen complicaciones como macrosomía¹⁰, partos por cesárea, afecciones al hombro del feto por el canal de parto, hipoxia neonatal, seguida de elevación de eritrocitos en sangre² y bilirrubina aumentada³⁴. Los hijos de madres con DMG, tienen mayor probabilidad de requerir atención y hospitalización al nacimiento, comparado con

los hijos de madres sin DMG¹⁷, que podría estar asociada con el mayor riesgo o desarrollo de infecciones neonatales derivadas de la DMG³⁴.

Las alteraciones también pueden ser metabólicas, ya que, al existir una alteración en el aprovechamiento de glucosa por parte de la madre, esa glucosa se transfiere directamente al hijo³³. Cuando el recién nacido se encuentra en el exterior del vientre puede experimentar en las primeras horas hipoglicemia neonatal, derivada de un estado de hiperinsulinemia que le provocó la sobrecarga de glucosa derivado de la hiperglicemia materna^{2,8}.

En una revisión sistemática y metaanálisis de 35 estudios observacionales, se encontró que los hijos de madres con diabetes presentaron más masa grasa que los hijos de madres sin DMG. Además, los hijos de madres con diabetes presentaron un valor mayor en pliegues subcutáneos como el tricipital y subescapular; explicando, en parte, la macrosomía del recién nacido y una mayor adiposidad en los primeros años de vida del hijo³⁵.

En una investigación se encontró que a los 6 meses posparto existía una mayor prevalencia de enfermedades alérgicas en hijos de madres con DMG, que en hijos de madres sin DMG³².

Dentro de las complicaciones en etapas tardías del crecimiento del infante se pueden encontrar las siguientes: alteraciones endoteliales crónicas, enfermedades cardiovasculares³⁶, sobrepeso, enfermedades metabólicas como DMT2¹⁷ y síndrome metabólico^{10,36}. Además, se ha encontrado que la DMG favorece la aparición de problemas psicológicos y alteraciones del desarrollo neurológico normal, riesgo de trastornos como los del espectro autista² y esquizofrenia³⁸, así como problemas en la movilidad y comportamiento por posibles alteraciones en la expresión de genes de la corteza frontal del cerebro³⁷.

El desarrollo de algún trastorno del espectro autista o problemas en el neurodesarrollo sensorial en el hijo pueden deberse a procesos de metilación de DNA, que generan cambios en la expresión de ciertos genes, causados por la DMG de la madre^{14,39}.

La obesidad es otra de las complicaciones frecuentes derivadas de la DMG, que puede aparecer en diversas etapas de la vida del hijo². Puede ir acompañada de circunferencia de cintura elevada, mayor adiposidad³⁶, mayor riesgo de alteraciones en el aprovechamiento de la glucosa y respuesta disminuida a la insulina en un lapso de 10 años en promedio⁴⁰.

También se ha encontrado en algunos estudios la predisposición de las hijas de madres con DMG a padecer esta enfermedad en sus propios embarazos, perpetuando un círculo vicioso de la enfermedad⁸.

En un estudio en ratones se encontró que la DMG aumenta la degradación del quiste de células germinales y altera la formación de folículos primordiales en recién nacidos; lo que a largo plazo podría generar una menor cantidad de óvulos o espermatozoides en los hijos e influir negativamente en su proceso reproductivo⁴¹.

1.2 Sacarosa.

1.2.1 Definición y características.

También conocida como azúcar de mesa, la sacarosa es una sustancia sólida, cristalina, con sabor dulce que se puede obtener del procesamiento de alimentos como la caña de azúcar⁴², compuesta por dos monosacáridos: glucosa y fructosa⁴³.

1.2.2 Digestión y absorción de la sacarosa.

La digestión de este hidrato de carbono inicia desde la boca, a través de enzimas como la amilasa de la saliva⁴³ y continúa en el intestino delgado, donde enzimas como las disacaridasas, en este caso, la sacarasa, rompe los enlaces del disacárido liberando una molécula de glucosa y una de fructosa⁴⁴.

Los monosacáridos en el intestino se pueden absorber gracias a la acción de moléculas como los transportadores de glucosa dependientes de sodio (SGLT, por sus siglas en inglés) o transportadores facilitadores de glucosa (GLUT, por sus siglas en inglés)⁴⁵; la fructosa, por ejemplo, utiliza GLUT-2, 5⁴⁶, 8 y 11, mientras que la glucosa utiliza SGLT-1 o GLUT-2⁴⁷.

1.2.3 Metabolismo de la sacarosa.

El hígado es el principal órgano encargado del metabolismo de las moléculas que se absorben en el intestino. En el caso de la glucosa, puede liberar ésta hacia la periferia para ser aprovechado por diferentes tejidos, con ayuda de la insulina en el proceso de entrada de la glucosa a las células (principalmente musculares y tejido adiposo), aunque también, un aumento de la glucosa en sangre puede favorecer la glucogénesis hepática y la lipogénesis en los adipocitos⁴².

La glucosa en la célula se puede utilizar para la producción de energía en la mayoría de los tejidos, gracias a los intermediarios creados en el ciclo de Krebs⁴⁵. Este sustrato se controla por 3 vías diferentes: 1) absorción posprandial, 2) producción hepática de la glucosa y 3) aprovechamiento extrahepático de la glucosa⁴⁷.

La glucosa se convierte en primer lugar en glucosa-6-fosfato por acción de la hexocinasa o glucocinasa, después se transforma en diversas moléculas gracias a la acción de varias enzimas, para crear al final dos moléculas de piruvato que pueden entrar en el ciclo de Krebs. Por otro lado, la glucosa se puede aprovechar para la síntesis de glucógeno en el hígado por medio de la conversión a glucosa-1-fosfato o en su defecto se utiliza la glucosa para la ruta de las pentosas fosfato⁴⁸.

La fructosa, por su parte, no tiene las mismas rutas metabólicas que la glucosa, aunque sí pueden converger en algunos puntos. La fructosa habitualmente se almacena en el hígado, ya que no se utiliza como fuente directa para la producción de energía⁴². Otra ruta metabólica de la fructosa se dirige a la conversión de ésta en fructosa-1-fosfato, a través de la desfosforilación de un ATP, que se convierte en ADP y posteriormente en AMP, para convertirse al final en ácido úrico⁴⁹.

La fructosa puede entrar a otras rutas para la producción de energía. Esto sucede cuando la fructosa es fosforilada por la enzima fructoquinasa o fructocinasa, generando cambios químicos y estructurales que la convierten en gliceraldehído fosfato; pudiendo así seguir la ruta de glucólisis para la producción de ATP. Se considera que cerca del 50% de la fructosa absorbida se transforma en intermediarios de la glucosa, un 15% se usa para la síntesis de glucógeno, cerca del 20% se transforma en lactato y un porcentaje bajo puede ir a la síntesis de lípidos conocida como lipogénesis *de novo*⁴⁹.

1.3 Estado inflamatorio asociado al consumo de sacarosa.

1.3.1 Estado inflamatorio.

La inflamación es una respuesta innata del organismo ante ciertos estímulos externos o internos⁵⁰, con o sin la participación de la respuesta adaptativa⁵¹ y que implica el reclutamiento de diversos leucocitos y proteínas plasmáticas en el sitio de daño o infección⁵².

El desarrollo de un proceso inflamatorio depende del tipo de tejido u órgano que esté dañado o alterado y de esto dependerán las diferentes señalizaciones y secreciones celulares que se darán en los tejidos, así como su desenlace. Por ejemplo, los linfocitos T pueden crecer y replicarse de más cuando se conjuntan constantemente con un mismo antígeno, lo que puede generar estados agudos y luego crónicos de inflamación, por una alteración en la producción de mediadores inflamatorios de estas células⁵².

Los mediadores de la inflamación son diversos, de diferentes orígenes y con diferentes funciones como moléculas activadoras del endotelio, citocinas, moléculas quimioatrayentes,

anticuerpos, moléculas del complemento, etc⁴³. Existen diversas citocinas cuya presencia en el organismo puede indicar un estado proinflamatorio, tal es el caso de la interleucina 1 beta (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α , por sus siglas en inglés) e interferón gamma (IFN- γ).

La IL-1 β es una citocina de la familia de la IL-1 de linaje mielóide del sistema inmunitario que participa en la inmunidad innata o adaptativa (Th1, Th2, Th17). Su participación incluye procesos inflamatorios agudos o crónicos, en respuesta a ciertos agentes biológicos o señales celulares de daño, a través de la activación de células innatas (como macrófagos) o linfocitos⁵³. Esta citocina estimula la producción y secreción del óxido nítrico que permite degradar o destruir agentes fagocitados y, por otro lado, puede activar a otras células como los neutrófilos y favorecer su reclutamiento a sitio de inflamación o infección⁵⁰.

La IL-6 es una citocina que se considera proinflamatoria. Es secretada por diversas células inmunitarias promoviendo la activación de factores de transcripción celulares⁵⁴. Participa en el proceso inflamatorio ayudando en la generación de diversas células inmunitarias; por ejemplo, contribuye y regula la producción de anticuerpos por los linfocitos B. Tiene, además, funciones específicas en los sistemas endócrino y nervioso⁵⁵.

El TNF- α es una citocina secretada por diversas células inmunológicas como los macrófagos. Tiene diversas funciones en la inmunidad innata y adaptativa, entre las que destacan la eliminación de células dañadas (como las cancerígenas), induciendo apoptosis a través de señales celulares específicas; la activación de células fagocíticas o citolíticas; la modificación vascular en procesos de angiogénesis; el reclutamiento de células mieloides al sitio de inflamación o infección y favoreciendo la actividad de los macrófagos M1⁵⁶.

Por su parte, el IFN- γ es secretado por células linfoides como las T y células innatas como las *natural killer* o NK, cuando se presentan procesos inflamatorios y puede actuar sobre estas mismas, aumentando su actividad inmunológica⁵⁷. Esta citocina tiene funciones similares a la IL-1 β ⁵⁰, aunque también tiene funciones más específicas como la muerte celular programada y la necrosis programada en algunos tipos de cáncer, evitando así la proliferación de células malignas⁵⁷. También actúa aumentando la expresión de moléculas presentadoras de antígeno como el MHC-I⁵⁸, por lo que es una citocina esencial en la actividad inmunológica contra patógenos⁵⁹.

Como se mencionó anteriormente, el proceso inflamatorio puede tener una participación de la inmunidad adaptativa dependiendo del agente causante de la inflamación. Esta inmunidad

puede estar mediada por inmunoglobulinas como la A y la G, que cumplen diversas funciones en el organismo para mantener la homeostasis en éste⁶⁰.

La inmunoglobulina A (IgA) que se encuentra principalmente en mucosas, como el tejido linfoide asociado a intestino (GALT, por sus siglas en inglés), tiene funciones en la protección del organismo como el recubrir a los patógenos para poder ser más fácilmente fagocitados, inmovilizados o neutralizados⁶¹.

La inmunoglobulina G (IgG) también tiene diversas funciones en el organismo para mantener la homeostasis en él, entre las que destacan la citotoxicidad mediada por anticuerpos, la activación del sistema del complemento y la fagocitosis mediada por anticuerpos. Esta última se da gracias al proceso de opsonización de microorganismos que favorece su fagocitosis⁶².

1.3.2 Estrés oxidante.

Se conoce como estrés oxidante al desequilibrio que existe entre factores antioxidantes y oxidantes que pueden provocar lesiones potenciales; en donde participan especies reactivas que crean alteraciones en la señalización celular^{63,64}. Por ejemplo, las especies reactivas de oxígeno (EROs) pueden alterar el funcionamiento de los linfocitos T cuando se exponen en demasía a estas especies, modificando su activación y proliferación⁵².

Dentro de las moléculas que actúan como enzimas antioxidantes para las células tenemos la glutatión peroxidasa y la catalasa; que van a actuar protegiendo o previniendo el daño celular originado por las especies reactivas⁶⁴.

La glutatión peroxidasa es una molécula antioxidante con actividad enzimática reductiva. Actúa de diversas maneras en el organismo, siendo su principal acción el reducir EROs como el peróxido de hidrógeno o productos de desecho de la peroxidación lipídica, para crear moléculas de agua o alcoholes y evitar el daño celular por el estrés oxidante⁶⁵.

La catalasa es otra de las principales enzimas con actividad antioxidante en el organismo. Su actividad se basa en degradar moléculas de peróxido de hidrógeno a moléculas de oxígeno y agua, manteniendo así el equilibrio en el estado oxidación-antioxidación. Se ha visto que alteraciones en la actividad de esta enzima pueden influir en el desarrollo de enfermedades como la DMT2, cardiovasculares y neurológicas⁶⁶.

Por el lado de los factores oxidantes de la célula, existen moléculas como las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS, por sus siglas en inglés) y las proteínas carboniladas

Las TBARS son el producto de desecho de la peroxidación de los lípidos por agentes oxidantes, sobre todo de la membrana celular y en específico de ácidos grasos insaturados. Dentro de estas sustancias de desecho se encuentra el malonildialdehído (MDA) y el hexanal, que sirven como marcadores o indicadores del estado oxidación-antioxidación en el cuerpo⁶⁷.

Por su parte, las proteínas carboniladas también son un producto de desecho de procesos oxidativos en el organismo. Esto sucede gracias a que las especies reactivas de oxígeno actúan sobre los aminoácidos residuales de algunas proteínas, generando un grupo carbonilo, que sirve como un marcador de oxidación⁶⁷.

La relación que existe entre la inflamación y el estrés oxidante consiste en que ciertas citocinas que se producen en el proceso inflamatorio como la IL-17, favorecen la producción y actividad de otras citocinas como la IL-6 y el TNF- α , lo cual induce mayor actividad fagocítica de los neutrófilos y macrófagos. Esto genera mayor producción de especies reactivas de oxígeno por el sistema fagocítico de oxidasa, que es catalizado por el NADPH oxidasa. Cuando se activan los neutrófilos, pueden liberar estas especies reactivas, así como enzimas lisosomales que puede estimular aún más el proceso inflamatorio, convirtiéndolo con el tiempo en un círculo vicioso de estrés-inflamación^{68,69}.

1.3.3. Alteraciones en el estado inflamatorio y oxidante durante la DMG y su relación con el consumo de sacarosa.

La DMG genera un estado inflamatorio que puede ocurrir desde el inicio o al final del embarazo, caracterizado por una secreción elevada de ciertas citocinas como IL-1, IL-6¹, TNF- α ¹⁰, IL-34; lo que podría favorecer un estado de insulinoresistencia en la madre por disfunción pancreática⁷⁰.

Una investigación en ratas expuestas únicamente a la DMG encontró que esta condición clínica favorece la activación de la microglía, además de una mayor expresión en el cerebro de citocinas como IFN- γ , IL-1 α y TNF- α , entre otras. Se vio también que esta situación podía persistir en la vida adulta de las ratas⁷¹.

Por otro lado, la literatura indica que una dieta rica en azúcares simples puede tener efectos sobre ciertos parámetros bioquímicos, como el aumento en las concentraciones séricas de glucosa, triacilglicéridos, insulina o colesterol, debido al proceso metabólico intrínseco de estos nutrientes. Sin embargo, estos azúcares pueden tener un efecto más allá de los parámetros antes mencionados^{42,72}.

Un metaanálisis demostró que la presencia de inflamación subclínica medida por PCR no mostraba diferencias con base en el tipo de azúcar que lo provocaba, es decir, si era fructosa aislada, glucosa aislada, sacarosa o jarabe de maíz de alta fructosa⁷³. Sin embargo, la fructosa cuando es consumida en exceso sí puede favorecer mayor adiposidad, sobre todo del tejido blanco adiposo, por un mecanismo de resistencia a la leptina. También se ha visto que la fructosa puede favorecer la producción de especies reactivas de oxígeno, alterando el metabolismo en tejido adiposo⁷⁴.

Así mismo, se ha visto que la fructosa favorece la lipogénesis de ácidos grasos saturados en personas con obesidad e insulinoresistencia, perpetuando así el estado proinflamatorio de la persona, además de una ganancia de peso constante⁴². Aunque en menor medida, el metabolismo de la fructosa que se ha consumido excesivamente puede implicar un factor de riesgo cuando se transforma en ácido úrico y se acumula en tejidos como las articulaciones, pudiendo generar cristales de ácido úrico que se denominan gota^{49,75}.

Un estudio comparativo hecho en ratas que tenían una dieta alta en lípidos y sacarosa o una dieta alta en lípidos y fructosa con duración de medio año, encontró que la primera dieta predisponía a una mayor concentración de marcadores inflamatorios como TLR-4, NF- κ B, TNF- α , TNF- β , IL-1 β , IL-6 y proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1, por sus siglas en inglés)⁷².

También se ha encontrado que, tras una dieta rica en grasas y sacarosa, existían alteraciones en marcadores inflamatorios como el TNF- α , IL-6 y la leptina, que comenzaban a verse desde el tercer día de intervención y se sostenía el incremento hasta el día 28, mientras que, en la grasa corporal, los cambios se podían notar tras 7, 14 y 28 días de intervención en diferentes grupos⁷⁶. Esto se confirmó en otro estudio en ratas con duración de 12 semanas y con una dieta rica en grasa y sacarosa, encontrándose una elevación en la concentración de IL-1 β , IL-10, IL-18, TNF- α y un aumento significativo en las concentraciones de leptina⁷⁷.

La glicemia elevada favorece el desarrollo de EROs como el superóxido. Esto se da a través de mecanismos de unión a proteínas que alteran la permeabilidad del vaso sanguíneo, provocando una producción elevada de citocinas del tipo proinflamatorio, que mantienen constante esa permeabilidad vascular; relacionando así un estado inflamatorio constante y el estrés oxidante¹⁷.

Diversos estudios en animales han encontrado una variedad de problemas por el consumo de altas cantidades de azúcar, que puede favorecer el estado proinflamatorio y estrés oxidante en

el organismo. Uno de estos estudios encontró que el consumo, por parte de la madre, de grandes cantidades de azúcar junto con grasa puede favorecer en crías de ratas la producción de ceramidas; reduciendo la sensibilidad a la insulina, generando estrés oxidante e inflamación en el hígado; incluso padecimientos como hígado graso no alcohólico^{42,78}.

El consumo constante de sacarosa puede influir en el desequilibrio oxidativo en los organismos, como se demostró en un estudio en ratas tras 6 meses de suplementación con sacarosa en solución; encontrándose un aumento en las concentraciones de malondialdehído y una reducción de glutatión reducido, de glutatión oxidado y una reducción en la actividad propia de la superóxido dismutasa⁷⁹.

Un estudio comparativo en ratas con una dieta alta en lípidos y sacarosa o una dieta alta en lípidos y fructosa que duró 6 meses, demostró que ambas dietas aumentaban significativamente las concentraciones de EROs y malondialdehído; pero hubo un mayor efecto en la excreción urinaria de H₂O₂ en el grupo que tuvo la dieta alta en grasa y sacarosa. Además, en el grupo antes mencionado se encontró que la expresión de genes para la producción de enzimas antioxidantes como catalasa, glutatión peroxidasa y glutatión reductasa esta disminuida, lo que favorecía aún más el estrés oxidante en las ratas⁷².

La evidencia también ha mostrado que el consumo de azúcar a altas concentraciones durante el embarazo puede favorecer el desarrollo de enfermedades neurológicas como demencia, Alzheimer o Parkinson; por un aumento en la producción de EROs que alteran la funcionalidad del hipocampo en el cerebro⁸⁰.

Por último, son pocas las investigaciones que existen sobre el consumo de sacarosa en el embarazo y menos en DMG. Un estudio que investigó el impacto del consumo de azúcar en el embarazo y su efecto con la adiposidad y lipidemia encontró que hay mayor grasa visceral en las crías tras la exposición a la sacarosa; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en lípidos en sangre de las crías comparadas con los controles⁸¹.

2. Planteamiento del problema

La diabetes *mellitus* gestacional (DMG) es la condición clínica que sucede durante el embarazo derivada de una alteración en el metabolismo de hidratos de carbono, caracterizado por intolerancia a la glucosa e hiperglicemia¹⁶ y es una de las principales causas de complicaciones perinatales, tanto para la madre como para el hijo¹.

Según datos de la Organización Panamericana de la Salud, el 30% de los embarazos a nivel mundial podría cursar con esta enfermedad³; mientras en México la prevalencia de esta enfermedad puede alcanzar porcentajes del 8.7 al 17.7%⁵.

Esta enfermedad puede favorecer la aparición de procesos inflamatorios o degenerativos^{34,38}, lo que ocasionaría daños celulares, orgánicos o sistémicos en la madre y el hijo. Actualmente, los efectos de la DMG son más claros en la madre que en los hijos. Una investigación en Inglaterra en el 2008⁸², describió los efectos adversos de la DMG para la madre como muerte, eclampsia y partos por cesárea; mientras que para los hijos: macrosomía (peso al nacer mayor a 4 kg), distocia de hombro, prematuridad y malformaciones, implicando un factor de riesgo mayor para el desarrollo de sobrepeso u obesidad en edades tempranas, así como de diabetes mellitus⁷.

Algunas investigaciones mencionan la asociación directa DMG-inflamación, a través de la medición en las madres de ciertos marcadores como polimorfismos de nucleótidos únicos (SNP), metilación de DNA, micro RNA¹⁴, factores inflamatorios asociados al tejido adiposo y a placenta⁸, citocinas proinflamatorias³⁴, quimiocinas³⁸, células Th1, Th2, Th17, Treg³². Por otro lado, un estudio en hijos de madres con DMG, evaluando su perfil metabólico tras el parto, encontró alteraciones metabólicas en lípidos y aminoácidos¹⁵; también se han encontrado algunos marcadores de inflamación en sangre de cordón umbilical¹⁷. En otras investigaciones se encontraron probables efectos de la DMG y el riesgo de enfermedades para el neurodesarrollo del hijo como el trastorno de espectro autista, así como un efecto protector para el neurodesarrollo cuando la madre con DMG mantenía porcentajes menores al 6% de HbA1c³⁷.

Los procesos inflamatorios asociados a la presencia de esta enfermedad podrían verse aumentados ante la exposición o el consumo elevado de nutrientes como la sacarosa, por una inadecuada alimentación durante el embarazo¹. Tal es el caso de las mujeres que la consumen a través de alimentos como las frutas, alimentos procesados (galletas, panes, dulces, bebidas, etc.), como aditivo o en forma de azúcar de mesa. Esto deriva en alteraciones metabólicas de la glucosa, provocando intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina¹⁰.

La relación entre el consumo elevado de sacarosa y estados proinflamatorios se ha estudiado en diversas investigaciones, encontrándose un estado de inflamación crónica, manifestándose por la elevación de IL-1 α , IL-18 y TNF- α asociado a daño osteoarticular⁷⁷. Estudios en ratas han demostrado que hay un aumento de IL-6 y TNF- α tras apenas 3 días de una dieta alta en sacarosa y grasas, sosteniéndose el aumento hasta el día 28⁶⁷, así como elevación de NF-KB y TNF- α ⁷².

Debido a lo anterior, es importante identificar los efectos que tiene la DMG relacionada con una exposición elevada de sacarosa por parte de las madres, sobre marcadores inflamatorios en los hijos, puesto que no hay evidencia suficiente al respecto. Lo anterior, ayudaría a entender la posible relación entre estas dos variables (DMG y sacarosa) y el desarrollo de enfermedades crónicas por procesos inflamatorios en los hijos.

La propuesta de esta investigación es desarrollar un modelo experimental en ratonas con DMG a las cuales se les suplementa con una alta cantidad de sacarosa diariamente durante la gestación, para que, tras el parto, se realicen análisis de sangre en sus crías recién nacidas.

Pregunta de investigación

¿Cómo se modifican los marcadores inflamatorios en las crías de ratonas con DMG que son expuestas a altas concentraciones de sacarosa de intrauterinamente?

3. Hipótesis

Hipótesis nula: La exposición intrauterina a altas concentraciones de sacarosa no altera los marcadores inflamatorios en las crías de ratonas con DMG, comparadas con las crías de ratonas sin DMG

Hipótesis alterna: La exposición intrauterina a altas concentraciones de sacarosa altera los marcadores inflamatorios en las crías de ratonas con DMG, comparadas con las crías de ratonas sin DMG

4. Objetivos

General:

Analizar la modificación de los marcadores inflamatorios de crías de ratonas con DMG con exposición intrauterina a altas concentraciones de sacarosa.

Específicos:

- Cuantificar la glucemia en sangre periférica de las crías de ratonas expuestas a altas concentraciones de sacarosa con y sin DMG, para evaluar sus modificaciones.
- Identificar la concentración de citocinas (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IFN- γ), adipocinas (leptina y adiponectina) e insulina, en sangre periférica de las crías de ratonas expuestas a altas concentraciones de sacarosa con y sin DMG, para evaluar el estado inflamatorio.
- Desarrollar pruebas específicas (glutación reducido, TBARS, catalasa, superóxido dismutasa y proteínas carboniladas) en suero de las crías de ratonas expuestas a altas concentraciones de sacarosa con y sin DMG, para valorar estrés oxidante y función antioxidante.
- Estimar las concentraciones de IgA e IgG en plasma de crías de ratonas expuestas a altas concentraciones de sacarosa con y sin DMG, para evaluar cambios en la inmunidad humoral.
- Comparar los resultados de los grupos de crías de ratonas expuestas a altas concentraciones de sacarosa con y sin DMG, para determinar diferencias entre los grupos.

5. Justificación

La diabetes *mellitus* gestacional es un problema de salud pública, ya que, a nivel mundial, la OPS y OMS estiman que el 30% de todos los embarazos presenta esta patología³; por lo que es importante investigar más a fondo. A pesar de que se han evidenciado los daños a la madre (eclampsia, abortos y riesgo de DM, entre otros), no existe suficiente evidencia de los problemas a nivel biológico y metabólico que esta enfermedad ocasiona en los hijos.

La alimentación y sus efectos durante y después del embarazo, particularmente cuando se desarrolla DMG, debe ir orientada al buen desarrollo del feto y al mantenimiento del estado de nutrición de la madre. Modificaciones en la dieta pueden afectar el desarrollo y desenlace del embarazo, por lo que, la selección y consumo de los alimentos de la madre debe ser evaluada para determinar si es adecuada o no a su situación fisiológica.

Un ejemplo de alimentación no adecuada es el consumo elevado de azúcares simples en el embarazo, que se da cotidianamente y de manera excesiva a través de diversos alimentos y bebidas, que pueden ser elegidos y consumidos por razones como: las preferencias alimentarias, los bajos costos, un aporte energético rápido, sus sabores agradables o por cuestiones sociales. A pesar de que se ha establecido una recomendación general de consumo de azúcares simples del 5-10% del total de la energía diaria para una persona (aproximadamente 50-60 gramos al día), hoy en día no existen recomendaciones claras y específicas del consumo de azúcares simples para embarazadas y menos para embarazadas con DMG.

Dado que es escasa la evidencia científica sobre los efectos de una exposición elevada de sacarosa durante la DMG y sus efectos en la madre y el recién nacido, es importante realizar investigaciones que permitan conocer o describir los posibles alcances celulares, metabólicos o inmunológicos en estas circunstancias. Para lo anterior, sería útil la cuantificación de marcadores de la inflamación como citocinas proinflamatorias, enzimas antioxidantes, estrés oxidante e inmunoglobulinas, entre otros.

Esta propuesta de investigación, a través de un experimento en ratones, aportará información relevante de los efectos biológicos a una exposición elevada de sacarosa en recién nacidos de mujeres que cursan el embarazo con DMG. Por un lado, para entender mejor el desarrollo de las complicaciones de los hijos y, por otro lado, ofrecer información científica al personal de salud que permita generar estrategias de prevención oportuna de enfermedades crónicas en el hijo en etapas tempranas de la vida desde la etapa gestacional.

6. Material y métodos

6.1. Diseño de Estudio

Tipo de estudio: Experimental, prospectivo y transversal.

Universo: Crías de ratonas CD1.

6.2. Procedimientos

Cuidado y manejo de ratones.

El uso y manejo de las ratonas se realizó con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Se tomaron 24 ratonas CD1 del bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México para la investigación. Durante el desarrollo de la investigación, las ratonas se mantuvieron en alojamiento conjunto en pares por caja; se alimentaron con dieta normal estándar Rodent Laboratory Chow 5001 de Purina (3.02 Kcal/g), así como agua *ad libitum*; con ciclos de luz-oscuridad de 12/12 hrs, iniciando los ciclos a las 07 hrs y 19 hrs, respectivamente.

Grupos de estudio.

Se colocaron en apareamiento 2 hembras con un macho por jaula durante cinco días. Al quinto día, se verificó el estado gestacional mediante citología vaginal y presencia de tapón vaginal, para confirmar que las hembras estuvieran preñadas (1). Una vez confirmada la gestación, se realizó una distribución aleatoria de las 24 hembras, se formaron 4 grupos con una n = 6 para cada grupo

- A. Grupo A: sin Diabetes *mellitus* Gestacional, sin suplementación de sacarosa.
- B. Grupo B: sin Diabetes *mellitus* Gestacional, con suplementación de sacarosa.
- C. Grupo C: con Diabetes *mellitus* Gestacional, sin suplementación de sacarosa.
- D. Grupo D: con Diabetes *mellitus* Gestacional, con suplementación de sacarosa.

Inducción de la Diabetes mellitus gestacional (DMG) y suplementación con sacarosa

Una vez confirmada la gestación en las hembras, se procedió a inducir farmacológicamente la DMG. Para ello, a las hembras, se les administró una dosis única de estreptozotocina a razón de 230 mg / kg de peso, utilizando como diluyente una solución buffer de citrato por vía subcutánea. A partir del día de la inoculación, a las hembras se les realizó el registro de la glicemia durante cinco días consecutivos en horario matutino con un glucómetro portátil. Se confirmó la DMG cuando la hembra presentó una glicemia >200 mg/dL, de acuerdo con los

criterios establecidos por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2)

Para la suplementación con sacarosa de los grupos B y D se preparó una solución con agua purificada y sacarosa, a una concentración de 41.66 mg/mL, considerando las recomendaciones establecidas en la Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011 para producción y uso de bebidas endulzadas y saborizadas no alcohólicas. Una vez preparada la solución, se administraron 500 μ L de volumen por deposición oral diariamente a cada hembra, en un horario de 8 am durante todo el periodo de gestación a partir de la confirmación de la DMG.

Obtención de muestras sanguíneas

Una vez concluida la gestación, se retiraron las crías y fueron sacrificadas tanto hembras como crías dentro de las primeras 24 h de vida de las crías y de parto de las hembras. Previo a la eutanasia, se pesaron crías y hembras en una báscula para ratones (Modelo CS200-001, marca OHAUS, New Jersey, USA). En ambos casos, el sacrificio se realizó en cámara de éter. Las crías fueron decapitadas para la obtención de muestras sanguíneas. Debido al peso y tamaño de las crías recién nacidas, la muestra de sangre individual fue insuficiente (50 μ L por cría), por lo tanto, se realizó un *pool* de sangre por cada camada de una hembra (aproximadamente entre 8 y 12 crías por hembra). Una vez realizado el *pool*, se centrifugó la muestra a 2000 rpm durante 10 minutos para obtener suero. La muestra de sangre a las hembras se tomó por punción cardiaca (aproximadamente 500 μ L por hembra) para la cuantificación de inmunoglobulina A, G y M.

Procesamiento de muestras

Glicemia

Para la determinación de glicemia, se utilizó sangre total de las crías una vez realizada la decapitación, que se colocó para su medición en un glucómetro portátil One Touch[®] que utiliza una reacción enzimática en su interior para la cuantificación de glucosa en sangre expresada en mg/mL.

Perfil hormonal

Como parte del perfil hormonal se cuantificó: insulina (Elisa-Test, Número de Catálogo ENZ-KIT141-0001, marca Enzo, New York, USA), leptina (Elisa-Test, Número de Catálogo ADI-900-019A, marca Enzo, New York, USA) y adiponectina (Elisa-Test Número de Catálogo

KMP0041, marca Invitrogen, Viena, Austria). En todos los casos, se procesaron las muestras de acuerdo las recomendaciones del proveedor.

Perfil inmunológico

Para el perfil inmunológico se identificaron los linfocitos T con marcadores CD3⁺, CD4⁺, y CD8⁺, y las inmunoglobulinas IgA, IgG e IgM en muestras de sangre total y suero respectivamente. La cuantificación de los marcadores de superficie CD3⁺, CD4⁺, y CD8⁺ de los linfocitos T se realizó por citometría de flujo con los siguientes anticuerpos: anticuerpo para mouse anti-CD3e/PE (Número de catálogo: 553064, marca BD BioSciences, New Jersey, USA), PRCP CD4 anticuerpo anti-ratón CD4 (Número de catálogo: 100538, marca BioLegend, California, USA) y anticuerpo mouse anti-CD8a/APC (Número de catálogo: 553035, marca BD BioSciences, New Jersey, USA) Para la cuantificación de citocinas se utilizaron los siguientes anticuerpos: FITC anticuerpo anti-1b/II-1F2 (Número de catálogo: IC4013F, marca R&D Systems, Minnesota, USA), PE anticuerpo anti-ratón IL-6 (Número de catálogo: 504504, marca BioLegend, California, USA), PE anticuerpo anti-ratón TNF- α (Número de catálogo: 506306, marca BioLegend, California, USA), FITC anticuerpo anti-ratón IFN- γ (Número de catálogo: 505806, marca BioLegend, California, USA). La técnica para la determinación de marcadores de superficie y de citocinas por citometría de flujo se realizó de la siguiente manera: el *pool* de sangre obtenido se mezcló con solución fisiológica a una relación 1:1, pasando después a Ficoll en una relación 1:2. Se centrifugó la muestra 25 minutos a 1200 rpm para obtener un gradiente. Se obtuvo únicamente la banda de linfocitos de cada muestra con pipetas de transferencia y se depositaron en tubos de 15 mL, donde se les agregó 3 mL de medio Hank frío. Se volvió a centrifugar cada muestra por 5 minutos a 2000 rpm y después se decantó cada tubo para tirar el exceso y se agregó 1.5 mL de tampón de lisis con amoníaco-cloruro-potasio (ACK) a cada tubo. Se dejó enfriar la muestra por 2 minutos a 4°C. Se agregaron otros 3 mL de medio Hank frío a cada muestra. Se volvió a centrifugar 5 minutos a 2000 rpm. Se volvió a decantar cada tubo y se agregó 1 mL de medio Hank frío a cada muestra. Este lavado se realizó 2 veces más. Después, se repartió el volumen final en 4 alícuotas en tubos de 1.5 mL con el mismo volumen en cada tubo. Cada tubo se rotuló de acuerdo con la tinción correspondiente (tinción negativa, tinción 1, tinción 2 y tinción 3). Se centrifugaron los tubos por 5 minutos a 1500 rpm y se decantaron. A cada tubo de tinción negativa se le agregaron 500 μ L de paraformaldehído y se metió a refrigeración hasta su lectura en el citómetro. Mientras, a los tubos de la tinción 1 se les agregaron 10 μ L de los anticuerpos para CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ y a los tubos de la tinción 2 y 3 se les agregó únicamente el anticuerpo para CD4⁺. Se incubaron

los tubos por 20 minutos en condiciones de oscuridad cubiertos con papel aluminio. Pasada la incubación a los tubos de la tinción 1 se les pusieron 500 μ L de medio Hank frío y se centrifugaron por 5 minutos a 1500 rpm. Por otro lado, a los tubos de la tinción 2 y 3 se les agregaron 200 μ L de Citofix/CitoPerm y se incubaron por 20 minutos en condiciones de oscuridad cubiertos con papel aluminio. Tras la centrifugación de los tubos de la tinción 1, se decantó su contenido y se colocaron 500 μ L de paraformaldehído y se refrigeraron a hasta su lectura en el citómetro. Los tubos de tinción 2 y 3 se centrifugaron después de la incubación 5 minutos a 1500 rpm, se decantaron y se les agregaron 500 μ L de PermWash. Se volvieron a centrifugar por 5 minutos a 1500 rpm, se decantaron y se les agregaron 10 μ L de los anticuerpos correspondientes. Para tinción 2 se agregaron anticuerpos para IL-1 β e IL-6, mientras que para la tinción 3 se agregaron anticuerpos para TNF- α e IFN- γ . Se dejaron en incubación por 20 minutos en condiciones de oscuridad cubiertos con papel aluminio. Tras lo anterior se agregaron a cada tubo 300 μ L de PermWash y se pusieron a centrifugar los tubos 5 minutos a 1500 rpm. Se decantó su contenido y se agregaron a cada tubo 500 μ L de PermWash y se metieron a refrigeración hasta su lectura en el citómetro.

La determinación de IgA, IgG e IgM se realizó a través de la técnica de ELISA directa, utilizando los siguientes anticuerpos: Goat Anti-mouse IgA HRP (número de catálogo I1890-21, marca USbiological, Massachusetts, USA), Peroxidase-conjugated Goat IgG fraction to mouse IgG F(AB')₂ (Número de catálogo 55553, marca MP Biomedicals, California, USA) y Goat Anti-mouse IgM (número de catálogo A135PN, American Qualex, California, USA) y. La técnica se describe a continuación: Una placa de 96 pozos se dejó en incubación con la cantidad de suero necesaria para cada muestra en los pozos correspondientes durante toda la noche a 4° C. Al día siguiente se realizó un lavado de la placa con PBS-Tween con 200 μ L por pozo, se retiró el contenido volteando la placa en tarja y dando ligeros golpes en papel absorbente para retirar los restos del líquido. Este procedimiento se realizó 3 veces. Después, se hizo un lavado con PBS 1x con 200 μ L por pozo, se retiró el contenido volteando la placa en tarja y dando ligeros golpes en papel absorbente para retirar los restos. Se colocaron 200 μ L en cada pozo de solución de Svelty al 5% para bloqueo de la placa. Se puso la placa en la estufa a 37 °C por 1 hr a incubar, cubriendo la placa con papel aluminio. Pasada la incubación, se realizaron de nuevo 3 lavados con PBS-Tween (200 μ L/pozo) y 1 lavado con PBS 1 x (200 μ L/pozo) como se mencionó anteriormente. Se colocaron en cada pozo 200 μ L de anticuerpo correspondiente para cada inmunoglobulina a determinar diluido (1:3000) en Svelty al 5%. Se dejó incubar en estufa a 37 °C por 1 hr 37 min, cubriendo la placa con aluminio. Tras la incubación, se realizaron otros lavados como en pasos anteriores. Se colocó el sustrato de

ortofenilendiamina (OPD) con 200 µL por pozo. Se puso la placa en agitación y se observó si hubo cambios de color a los 5, 10 y 15 minutos. Pasado el tiempo, se agregó la solución de paro o *STOP* (ácido sulfúrico [H₂SO₄] al 98%) con 100 µL por pozo. Se llevó la placa a un lector de microplacas para su lectura a una longitud de onda de 492 nm.

Perfil de Actividad Redox

Este perfil se dividió en la cuantificación de marcadores de estrés oxidante y marcadores de actividad antioxidante. En el caso de los marcadores de estrés oxidante se cuantificó malondialdehído (MDA) (número de catálogo DTBA-100, marca BioAssay Systems, California, USA) y se midieron proteínas carboniladas con base en la técnica descrita por Martínez-Carrillo en el 2015(3). Esta técnica se basa en la técnica de Lowry para determinación de proteínas y en la determinación de carbonilos a través de una reacción con dinitrofenilhidrazina (DNPH). Para los marcadores de actividad antioxidante, se cuantificó superóxido dismutasa (Número de catálogo ESOD-100, marca BioAssay Systems, California, USA), catalasa (Número de catálogo ECAT-100, marca BioAssay Systems, California, USA), capacidad antioxidante total (Número de catálogo DTAC-100, marca BioAssay Systems, California, USA) y glutatión reducido (número de catálogo DIGT-250, marca BioAssay Systems, California, USA).

6.3. Variables de Estudio

<p>Grupos de asignación (4 grupos)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Crías de ratonas sin DMG, sin consumo de sacarosa - Crías de ratonas sin DMG, con consumo de sacarosa - Crías de ratonas con DMG, sin consumo de sacarosa - Crías de ratonas con DMG, con consumo de sacarosa 	<p>Dependientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Glicemia - Insulina - Leptina - Adiponectina - Interleucina 1β - Interleucina 6 - Factor de Necrosis Tumoral alfa - Interferón gamma - Glutatión reducido - Catalasa - Superóxido dismutasa - Capacidad antioxidante total - Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico
---	--

	<ul style="list-style-type: none">- Proteínas carboniladas- Inmunoglobulina A- Inmunoglobulina G
--	--

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de variable	Escala de medición	Análisis Estadísticos
Grupos de asignación	<p>Diabetes <i>Mellitus</i> Gestacional (DMG). Padecimiento de la mujer caracterizado por intolerancia a los carbohidratos, que resulta en hiperglucemia de severidad variable, que se inicia y reconoce durante el embarazo.</p> <p>Consumo de sacarosa: ingestión del disacárido compuesto por fructosa y glucosa.</p>	Las ratonas se dividieron con base en la presencia de DMG o no y la administración de sacarosa o no.	Cualitativa Nominal	<p>Crías de ratonas sin DMG, sin consumo de sacarosa.</p> <p>Crías de ratonas sin DMG, con consumo de sacarosa.</p> <p>Crías de ratonas con DMG, sin consumo de sacarosa.</p> <p>Crías de ratonas con DMG, con consumo de sacarosa.</p>	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey
Glicemia	Presencia de glucosa en sangre.	Concentración de glucosa en sangre, que puede estar elevada o disminuida con base en el grupo control.	Cuantitativa Continua	mg/dL	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey

		Instrumento de medición: Glucómetro One Touch®.			
Insulina	Hormona secretada por las células de los islotes beta del páncreas en respuesta a un incremento de la concentración de glucosa en la sangre porta.	Concentración sérica de insulina, que puede estar elevada o disminuida, en comparación con grupos control. Instrumento de medición: método ELISA.	Cuantitativa Continua	pg/mL	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey
Leptina	Hormona del tejido adiposo que transmite al cerebro la señal del estado nutricional del individuo para regular la ingestión y el gasto de energía.	Concentración sérica de leptina, que forma parte del perfil interno de adipocinas y que se comparó con las concentraciones del grupo control. Instrumento de medición: método ELISA.	Cuantitativa Continua	pg/mL	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey
Adiponectina	Hormona del tejido adiposo que modula el metabolismo de glucosa y de lípidos en el músculo y el hígado.	Concentración sérica de adiponectina, que forma parte del perfil interno de adipocinas; que se comparó con las concentraciones del grupo control.	Cuantitativa Continua	µg/mL	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey

		Instrumento de medición: método ELISA.			
Interleucina 1 β (IL-1 β)	Citocina producida por células inmunitarias y no inmunitarias con función proinflamatoria en diversos células y órganos.	Porcentaje de IL-1 β en sangre y componente del perfil de inflamación interno, considerada proinflamatoria, que se comparó con el grupo control. Instrumento de medición: citometría de flujo.	Cuantitativa Continua	Porcentaje (%)	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey.
Interleucina 6 (IL-6)	Citocina de la respuesta inflamatoria aguda que tiene efectos locales y sistémicos.	Porcentaje de IL-6 en sangre y componente del perfil de inflamación interno, considerada proinflamatoria, que se comparó con el grupo control para medir aumento o disminución. Instrumento de medición: citometría de flujo.	Cuantitativa Continua	Porcentaje (%)	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey
Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)	Mediador de la respuesta inflamatoria aguda a las bacterias y otros microbios infecciosos.	Porcentaje de TNF- α en sangre y componente del perfil de inflamación interno, considerado como	Cuantitativa Continua	Porcentaje (%)	ANOVA de una vía

		<p>proinflamatoria; que se comparó con los valores del grupo control.</p> <p>Instrumento de medición: citometría de flujo.</p>			Prueba <i>post hoc</i> de Tukey
Interferón gamma (IFN- γ)	Principal citocina activadora del macrófago, con funciones en la inmunidad contra microbios intracelulares.	<p>Porcentaje de IFN-γ en sangre y componente del perfil de inflamación interno, considerado proinflamatoria; que se comparó con los valores del grupo control.</p> <p>Instrumento de medición: citometría de flujo.</p>	Cuantitativa Continua	Porcentaje (%)	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey
Glutación reducido (GSH)	Tripéptido que se encuentra presente en elevadas concentraciones dentro del eritrocito. Su función fundamental es proteger a la célula contra la acción de agentes oxidantes endógenos y exógenos, así como	<p>Molécula desarrollada en presencia de estrés oxidante, cuya concentración en suero puede variar en comparación con el grupo control.</p> <p>Instrumento de medición: método ELISA.</p>	Cuantitativa Continua	μM	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey

	mantener la estabilidad de la membrana.				
Catalasa (CAT)	Enzima que forma parte del sistema antioxidante, involucrada en la destrucción del H ₂ O ₂ generado durante el metabolismo celular.	Elemento desarrollado en presencia de estrés oxidante, cuya concentración en suero puede variar en comparación con el grupo control. Instrumento de medición: método ELISA.	Cuantitativa Continua	U/L	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey
Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)	Son el producto de la peroxidación de lípidos frecuentemente utilizado en la determinación del balance oxidación/anti-oxidación en los individuos diabéticos.	Compuesto desarrollado en presencia de estrés oxidante, cuya concentración en suero puede estar aumentada o disminuida en comparación con el grupo control. Instrumento de medición: método ELISA.	Cuantitativa Continua	μM	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey
Proteínas carboniladas	Son el producto directo de la acción de los radicales libres sobre las proteínas.	Compuesto desarrollado en presencia de estrés oxidativo y cuya concentración en suero se comparó con	Cuantitativa Continua	nmol/mg de proteína	ANOVA de una vía

		grupo control para determinar posibles diferencias. Instrumento de medición: determinación de proteínas carboniladas.			Prueba <i>post hoc</i> de Tukey
Superóxido dismutasa (SOD)	Enzima que cataliza la conversión del radical superóxido en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular.	Elemento desarrollado en presencia de estrés oxidante, cuya concentración en suero puede variar en comparación con el grupo control. Instrumento de medición: método ELISA.	Cuantitativa Continua	U/mL	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey
Capacidad antioxidante total (CAT)	Parámetro que puede ofrecer una idea de cómo se encuentra el conjunto de la respuesta antioxidante ante cada agresor oxidativo en cada sistema.	Elemento desarrollado en presencia de estrés oxidante, cuya concentración en suero puede variar en comparación con el grupo control. Instrumento de medición: método ELISA.	Cuantitativa Continua	μM eq. de Trolox	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey

Inmunoglobulina (IgA)	A	Isotipo de anticuerpo secretado en forma de dímero, con función inmunológica en mucosas.	Componente de perfil inmunológico humoral interno, cuyas concentraciones en suero se compararon con el grupo control. Instrumento de medición: método ELISA.	Cuantitativa Continua	D.O.	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey
Inmunoglobulina (IgG)	G	Isotipo de anticuerpo secretado en forma de monómero, con función de defensa contra parásitos helmintos e hipersensibilidad inmediata.	Componente de perfil inmunológico humoral interno, cuyas concentraciones en suero se compararon con el grupo control. Instrumento de medición: método ELISA.	Cuantitativa Continua	D.O.	ANOVA de una vía Prueba <i>post hoc</i> de Tukey

6.4 Implicaciones Bioéticas

Esta investigación se realizó basándose en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio; así como lo estipulado en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, Título Séptimo, Capítulo Único, Artículos 121, 122, 123, 124, 125 y 126; donde se menciona que durante la investigación se debe evitar al máximo el sufrimiento de los animales; cuando se proceda a sacrificar de igual forma deberá ser sin sufrimiento y su estancia en el bioterio deberá ser acorde a sus características y necesidades naturales.

6.5 Recolección de Datos

Los resultados obtenidos de los procedimientos en suero y sangre de las crías se registraron de manera digital mediante el programa informático SPSS versión 25, clasificando los datos por tipo de marcador y grupo de asignación. No se hizo distinción del sexo de las crías en el registro de los datos; únicamente se hizo la diferencia por grupos de asignación.

6.6 Análisis Estadísticos

Se realizó análisis de varianza (ANOVA) para los datos con distribución normal. Se realizó después la prueba *post-hoc* de Tukey para determinar entre qué grupos existió diferencia. Se consideró un valor de $P < 0.05$ para significancia estadística. El análisis se llevó a cabo a través del software estadístico SPSS versión 21 para Windows.

7. Resultados

GUÍA PARA LOS REVISORES

Nombre del revisor:	
Institución:	UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO
correo-e:	
Título del manuscrito:	EFFECTO INFLAMATORIO EN CRÍAS DE HEMBRAS CON DIABETES MELLITUS GESTACIONAL CON
Fecha de envío:	11/03/2023

Para garantizar la consistencia en la evaluación, se recomienda tomar en consideración el “Preparación del manuscrito”. Los comentarios y correcciones menores pueden indicarse directamente en el texto del artículo (resaltadas con la herramienta de control de cambios de Word).

COMENTARIOS POR SECCIÓN DEL MANUSCRITO

Indicar si el trabajo está en etapa preliminar en la obtención de resultados consistentes, para un aporte sólido a la ciencia. En caso contrario brindarnos su opinión sobre: la revisión bibliográfica y la metodología empleada. Si considera que los resultados fueron sometidos a un análisis adecuado y junto con las conclusiones son congruentes con los objetivos propuestos.

Comentario General	El trabajo en general brinda información objetiva cuantificable de los efectos metabólicos y celulares que
Resumen	Es precisa, concisa y clara, sin embargo, la conclusión debe de estar acorde con la original en la parte fin
Palabras clave	Para incrementar el potencial de lecturas, revisiones y citas, se sugiere que las palabras clave NO
Introducción:	Es adecuada y completa. Brinda un panorama general de la situación abordada.
Materiales y métodos	Es adecuada, bien descrita, sin embargo, con el objeto de mejorar el documento, es necesaria adiciona

Resultados	En esta sección se sugiere hacer una amplia revisión de la redacción, aprovechando al máximo las tablas
Discusión	Es adecuada, sin embargo, se sugiere una revisión a la redacción y hacer mención de cuál es la relación
Conclusiones	Considero que es apropiada con base en los alcances metodológicos y sugiero que se relacione con la
Literatura citada	Se sugiere revisar y hacer los cambios de redacción señalados en el documento y homologar el formato y
Otros	Es importante que la presente investigación cuente con un visto bueno y/o autorización por un Comité de

CALIFIQUE LOS SIGUIENTES ÍTEMS: (1= excelente, 2= bueno, 3=regular, 4= malo)

Originalidad

Contribución al campo

Calidad técnica

Claridad en la presentación

Profundidad en la investigación

SUGERENCIA DE ESTRUCTURA

Artículo científico

Comunicación corta

Artículo de revisión

DECISIÓN DEL REVISOR

Aceptar el trabajo como se envió

Requiere correcciones menores

Requiere una moderada revisión

Requiere una mayor revisión

Rechazar (Explicar):

No aplica

Favor indicar si está interesado a continuar colaborando como árbitro:

^{xx} _ Sí

_____ No

Efecto inflamatorio en crías de hembras con diabetes Mellitus gestacional con consumo elevado de sacarosa.

Aguilar-Rodríguez E.1, Martínez-Carrillo B.E.1*, Valdés-Ramos R.1, Reséndiz-Albor A.A.2, Rosales-Gómez C.A.1

RESUMEN. La diabetes mellitus gestacional (DMG) es una enfermedad que se presenta por causas multifactoriales. La alimentación saludable en este periodo es fundamental para conducirlo a un buen desarrollo y conclusión de este, motivo por el cual se debe cuidar la cantidad y calidad de nutrimentos que se consumen. La sacarosa se consume de forma habitual y en ocasiones con exceso. Se ha estudiado su efecto en diversas circunstancias, pero no su efecto en los marcadores inflamatorios de los hijos de madres con este padecimiento. Por lo tanto, el objetivo de este estudio experimental fue evaluar el efecto inflamatorio en las crías de ratonas con DMG con consumo elevado de sacarosa. Se utilizaron 24 ratones hembra de la cepa CD1, divididas en 4 tratamientos (n = 6 por tratamiento): A. Sin DMG, sin sacarosa, B. Sin DMG, con sacarosa, C. Con DMG, sin sacarosa y D. Con DMG, con sacarosa. La inducción de DMG se hizo al sexto día post-apareo, la suplementación con sacarosa se inició al día 12 post-apareo y duró hasta el final de la gestación. Las crías del tratamiento A presentaron un peso corporal mayor (1.74 g) que los otros tres tratamientos. Las crías del grupo D presentaron los valores más elevados de glucosa (106 mg/dL) en comparación con los otros tres tratamientos. En la mayoría de los casos, las crías de los tratamientos con suplementación de sacarosa (B y D) mostraron mayor concentración de citocinas proinflamatorias que su contraparte sin sacarosa. Se demuestra que la presencia de diabetes mellitus gestacional aunado con el consumo excesivo de sacarosa, son factores de riesgo que instauran un estado inflamatorio en el recién nacido.

Palabras clave: hiperglicemia en el embarazo, ingestión de azúcar, citocinas proinflamatorias.

ABSTRACT: Gestational diabetes mellitus (GDM) is a disease that occurs due to multifactorial causes. Healthy eating in this period is essential to lead to a good development and conclusion of this, which is why the quantity and quality of nutrients

that are consumed must be taken care of. Sucrose is consumed regularly and sometimes in excess. Its effect has been studied in various circumstances, but not its effect on the inflammatory markers of the children of mothers with this condition. Therefore, the objective of this experimental study was to evaluate the inflammatory effect in the offspring of GDM mice with high sucrose intake. Twenty-four female mice of the CD1 strain were used, divided into 4 treatments (n = 6 per treatment): A. Without DMG, without sucrose, B. Without DMG, with sucrose, C. With DMG, without sucrose, and D. With DMG, with sucrose. GDM induction was done on the sixth day post-mating, sucrose supplementation began on day 12 post-mating and lasted until the end of gestation. The offspring from treatment A had a higher body weight (1.74 g) than the other three treatments. The offspring of group D presented the highest glucose values (106 mg/dL) compared to the other three treatments. In most cases, the newborns from sucrose supplementation treatments (B and D) showed higher concentrations of proinflammatory cytokines than their counterparts without sucrose. It is shown that the presence of gestational diabetes mellitus together with the excessive consumption of sucrose are risk factors that establish an inflammatory state in the newborn.

Keywords: hyperglycemia in pregnancy, sugar ingestion, proinflammatory, Cytokines

Enlace: <http://www.reiagro.ugto.mx/vol-4-num-2>

Referencia estilo APA 7: Aguilar-Rodríguez, E., Martínez-Carrillo, B. E., Valdés-Ramos, R., Reséndiz-Albor, A. A., & Rosales-Gómez, C. Á. (2023). Efecto inflamatorio en crías de hembras con diabetes Mellitus gestacional con consumo elevado de sacarosa. *Ciencia e Innovación Agroalimentaria de la Universidad de Guanajuato*, 4(2), 10–24. <http://www.reiagro.ugto.mx/vol-4-num-2>.

Referencia estilo Vancouver: Aguilar-Rodríguez E, Martínez-Carrillo BE, Valdés-Ramos R, Reséndiz-Albor AA, Rosales-Gómez CÁ. Efecto inflamatorio en crías de hembras con diabetes Mellitus gestacional con consumo elevado de sacarosa. *Ciencia e Innovación Agroalimentaria de la Universidad de Guanajuato* [Internet]. 2023;4(2):10–24. Disponible en: <http://www.reiagro.ugto.mx/vol-4-num-2>.

8. Discusión

La investigación realizada arroja diversos resultados, que en ocasiones contraviene con lo establecido en la literatura respecto a las características generales de los hijos que nacen de madres que cursaron el embarazo con diabetes gestacional. Por ejemplo, se esperaba que las crías de ratonas con DMG presentaran mayor peso corporal como habitualmente ocurre en los humanos^{1,2}, pero ocurrió lo contrario, las crías de ese grupo presentaron el menor peso corporal en promedio de todos los grupos y las crías del grupo A presentaron el mayor peso corporal de todos los grupos. La explicación a lo anterior aún no se entiende del todo, pues se ha visto en otro estudio la misma situación de bajo peso al nacer por un retraso en el crecimiento intrauterino²⁹.

Por otro lado, las características hormonales de las crías recién nacidas son variadas, ya que por un lado el grupo que presentó mayor concentración de insulina fue el B, cuando la evidencia científica menciona que los recién nacidos podrían presentar una hiperinsulinemia neonatal debido a esa producción excesiva de insulina, dada la sobrecarga de glucosa que está recibiendo directamente de la madre, que de seguir con esas concentraciones aumentadas durante la vida podría favorecer el desarrollo de resistencia a la insulina en edades tempranas^{2, 15, 28}.

Un dato interesante es el obtenido en el índice HOMA-IR en donde se encuentra que el grupo D obtuvo el valor más alto de éste, por lo que se puede considerar que la DMG junto con un consumo de sacarosa sí pueden alterar cuestiones metabólicas en un corto plazo a la descendencia.

En cuanto a la hormona leptina, se observa que la concentración más alta se encuentra en el grupo B, situación que se reafirma en la evidencia científica donde existen estudios que marcan que un consumo excesivo de azúcares simples durante la gestación alteran la concentración de esta hormona, la cual puede ser un factor de riesgo para el aumento en etapas posteriores de la vida para resistencia a la insulina³⁶.

Respecto a las concentraciones de adiponectina, de nueva cuenta se encontró que el grupo B tuvo la mayor concentración de la hormona y la menor concentración de ésta se encontró en el grupo D. Esta hormona tiene un papel importante en la sensibilidad a la insulina, por lo

que se podría considerar que, al existir una menor concentración de adiponectina, se podría incrementar el riesgo de resistencia a la insulina, sin embargo, se necesita más evidencia del papel de esta hormona en los recién nacidos.

El perfil inflamatorio de las crías muestra que se genera una mayor inflamación en el grupo D cuando de poblaciones de linfocitos T se trata, pues este grupo tuvo el mayor porcentaje de células CD4 y CD8. Sin embargo, esto no implicó que la producción de citocinas proinflamatorias fuera mayor en este grupo de todas las citocinas medidas, ya que como se observa, el grupo B tiene mayor porcentaje de IL-1 β y de IL-6. Por lo anterior, es importante destacar el poder inflamatorio que tiene, por sí solo, el consumo de sacarosa durante el embarazo sobre la descendencia. Es poca la evidencia científica que se tiene respecto a los efectos de la diabetes gestacional sobre marcadores inflamatorios en los hijos o la descendencia; sin embargo, esa poca evidencia existente marca variedad de resultados con respecto a la presente investigación, ya que los grupos controles dentro de un estudio del 2016 encontró mayor inflamación en los grupos controles que en los grupos con presencia de DMG o con dietas altas en azúcares⁸⁵.

Otro de los aspectos a considerar dada la inflamación que se presenta por la propia diabetes gestacional es el estrés oxidante que ésta puede generar. Dentro de lo más destacado, se encuentra el aumento en la producción de productos de desecho del metabolismo de proteínas a través de la creación de proteínas carboniladas aumentada en el grupo C, pudiendo considerarse un aumento en la degradación de proteínas dentro de los recién nacidos. El malondialdehído se encontró con mayor concentración en el grupo A, que se podría considerar el grupo control, pero sin diferencias significativas con los demás grupos. Una situación interesante es observar que en el grupo D se encuentra la menor concentración de catalasa y a su vez la mayor concentración de glutatión, lo cual podría estar hablando de un desequilibrio o alteración de los mecanismos de actividad redox dentro del recién nacido; lo cual puede repercutir en estados de inflamación persistentes o crónicos.

Se requieren más estudios que puedan evaluar los efectos a mediano y largo plazo de estas dos variables de manera independiente y conjunta sobre la descendencia en lo metabólico, inflamatorio, hormonal y oxidante. Lo anterior, podrá dar pauta a prever posibles

enfermedades crónicas en etapas tempranas de la vida como en la adolescencia, favoreciendo así la prevención y atención oportuna para los hijos.

9. Conclusión

El presente trabajo demuestra que, de manera aislada, el consumo elevado de sacarosa durante la gestación tiene efectos nocivos sobre la descendencia, como el aumento en mayor medida en las concentraciones de insulina, así como de leptina y adiponectina y citocinas como IL-1 β e IL-6. Por su parte, la presencia de diabetes gestacional en la madre favorece alteraciones en el peso corporal del recién nacido, aumento en la producción de proteínas carboniladas que son un producto de desecho del metabolismo de las proteínas, así como de catalasa y un incremento en la actividad enzimática antioxidante. Por último, la conjunción del consumo elevado de sacarosa y la presencia de diabetes gestacional propiciarán en el recién nacido mayor producción de enzimas antioxidantes que podría derivar de un aumento en el estrés oxidativo por procesos proinflamatorios procedentes de la producción elevada de citocinas como TNF- α , IFN- γ , así como células linfocitarias de tipo CD4⁺ y CD8⁺. Se requieren mayores investigaciones, en modelos animales y humanos, sobre los efectos en la descendencia a corto, mediano y largo plazo de la diabetes gestacional junto con el consumo excesivo de sacarosa durante el embarazo, ya que este estudio es una primera aproximación de manera transversal al momento de nacer.

10. Referencias bibliográficas

1. Vigil-De Gracia P, Olmedo J. Diabetes gestacional: conceptos actuales. *Ginecol Obstet Mex.* 2017;85(6):380-390.
2. Szmuiłowicz ED, Josefson JL, Metzger BE. Gestational diabetes mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2019;48(3):479–93.
3. Organización Panamericana de la Salud. Hiperglucemia y embarazo en las Américas. Informe final de la Conferencia Panamericana sobre Diabetes y Embarazos. Washington D.C.; 2016. 76 p. NLM: WQ248.
4. Federación Internacional de Diabetes. Atlas de la Diabetes de la FID. 9a ed.: Federación Internacional de Diabetes; 2019. 180 p.
5. Instituto Mexicano del Seguro Social. IMSS-320-10. Guía de Práctica Clínica. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes en el embarazo. México: IMSS; 2016. 68 p.
6. Carrillo-Mora P, García-Franco A, Soto-Lara M, Rodríguez-Vásquez G, Pérez-Villalobos J, Martínez-Torres D. Cambios fisiológicos durante el embarazo normal. *Rev Fac Med UNAM*;64(1):39-48.
7. Plows JF, Stanley JL, Baker PN, Reynolds CM, Vickers MH. The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11):3342.
8. Lorenzo-Almorós A, Hang T, Peiró C, Soriano-Guillén L, Egido J, Tuñón J, et al. Predictive and diagnostic biomarkers for gestational diabetes and its associated metabolic and cardiovascular diseases. *Cardiovasc Diabetol.* 2019;18(1):140.
9. Herrera-Martínez A, Palomares-Ortega R, Bahamondes-Opazo R, Moreno-Moreno P, Molina-Puerta M^a. J, Gálvez-Moreno MA. Hyperlipidemia during gestational diabetes and its relation with maternal and offspring complications. *Nutr Hosp.* 2018;35(3):698–706.
10. Mustad VA, Huynh DTT, López-Pedrosa JM, Campoy C, Rueda R. The role of dietary carbohydrates in gestational diabetes. *Nutrients.* 2020;12(2):385.
11. Tumurbaatar B, Poole AT, Olson G, Makhlof M, Sallam HS, Thukuntla S, et al. Adipose tissue insulin resistance in gestational diabetes. *Metab Syndr Relat Discords.* 2017;15(2):86–92.

12. Basain-Valdés JM, Valdés-Alonso MD, Pérez-Martínez M, Jorge-Díaz MD, Linares-Valdés H. Papel de la leptina como señal aferente en la regulación de la homeostasis energética. *Rev Cubana Pediatr.* 2016;88(1):74-80.
13. Gómez-Romero P, Alarcón-Sotelo A, Rodríguez-Weber F, Díaz-Greene E. La adiponectina como blanco terapéutico. *Med Int Mex.* 2017;33(6):770-777.
14. Dias S, Pheiffer C, Abrahams Y, Rheeder P, Adam S. Molecular biomarkers for gestational diabetes mellitus. *Int J Mol Sci.* 2018;19(10).
15. Chen Q, Francis E, Hu G, Chen L. Metabolomic profiling of women with gestational diabetes mellitus and their offspring: Review of metabolomics studies. *J Diabetes Complications.* 2018;32(5):512–23.
16. Font-López KC, Gutiérrez-Castañeda MR. Diagnóstico de diabetes gestacional en población mexicana. *Ginecol Obstet Mex.* 2017;85(2):116-124.
17. López-Morales CM, Brito-Zurita OR, González-Heredia R, Cruz López M, Méndez-Padrón A, Matute-Briseño JA. Aterosclerosis placentaria y marcadores de disfunción endotelial en neonatos hijos de madres con diabetes gestacional. *Med Clin.* 2016;147(3):95–100.
18. Wu L, Cui L, Tam WH, Ma RCW, Wang CC. Genetic variants associated with gestational diabetes mellitus: a meta-analysis and subgroup analysis. *Sci Rep.* 2016;6:30539.
19. Yamamoto JM, Kellett JE, Balsells M, García-Patterson A, Hadar E, Solà I, et al. Gestational diabetes mellitus and diet: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials examining the impact of modified dietary interventions on maternal glucose control and neonatal birth weight. *Diabetes Care.* 2018;41(7):1346–61.
20. Hod M, Kapur A, Sacks DA, Hadar E, Agarwal M, Di Renzo GC, et al. The International Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO) Initiative on gestational diabetes mellitus: A pragmatic guide for diagnosis, management, and care. *Int J Gynaecol Obstet.* 2015;131 Suppl 3:S173-211.
21. Blumer I, Hadar E, Hadden DR, Jovanović L, Mestman JH, Murad MH, et al. Diabetes and pregnancy: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(11):4227–49.

22. ACOG practice bulletin no. 190: Gestational diabetes mellitus: Gestational diabetes mellitus. *Obstet Gynecol.* 2018;131(2):e49–64.
23. Webber J, Charlton M, Johns N. Diabetes in pregnancy: management of diabetes and its complications from preconception to the postnatal period (NG3). *Br J Diabetes Vasc Dis.* 2015;15(3):107.
24. Feig DS, Berger H, Donovan L, et al. Diabetes and Pregnancy. Diabetes Canada 2018. Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada: Pharmacologic Glycemic Management of Type 2 Diabetes in Adults. *Can J Diabetes.* 2018;42(Suppl 1):S255-S282.
25. Duarte-Gardea MO, Gonzales-Pacheco DM, Reader DM, Thomas AM, Wang SR, Gregory RP, et al. Academy of nutrition and dietetics gestational diabetes evidence-based nutrition practice guideline. *J Acad Nutr Diet.* 2018;118(9):1719-1742
26. American Diabetes Association. Management of diabetes in pregnancy: Standards of Medical Care in Diabetes 2019. *Diabetes Care.* 2019;42(Suppl. 1):S165–S172
27. Hernández TL, Mande A, Barbour LA. Nutrition therapy within and beyond gestational diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2018;145:39–50.
28. Bianco ME, Josefson JL. Hyperglycemia during pregnancy and long-term offspring outcomes. *Curr Diab Rep.* 2019;19(12):143.
29. Tsai P-JS, Yamauchi Y, Riel JM, Ward MA. Pregnancy environment, and not preconception, leads to fetal growth restriction and congenital abnormalities associated with diabetes. *Sci Rep.* 2020;10(1):12254.
30. Berglund SK, García-Valdés L, Torres-Espínola FJ, Segura MT, Martínez-Zaldívar C, Aguilar MJ, et al. Maternal, fetal and perinatal alterations associated with obesity, overweight and gestational diabetes: an observational cohort study (PREOBE). *BMC Public Health.* 2016;16(1):207.
31. McIntyre HD, Kapur A, Divakar H, Hod M. Gestational diabetes mellitus-innovative approach to prediction, diagnosis, management, and prevention of future NCD-mother and offspring. *Front Endocrinol.* 2020;11:614533.
32. Sifnaios E, Mastorakos G, Psarra K, Panagopoulos N-D, Panoulis K, Vitoratos N, et al. Gestational diabetes and T-cell (Th1/Th2/Th17/Treg) immune profile. *In Vivo.* 2019;33(1):31–40.

33. Khan SR, Mohan H, Liu Y, Batchuluun B, Gohil H, Al Rijjal D, et al. The discovery of novel predictive biomarkers and early-stage pathophysiology for the transition from gestational diabetes to type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2019;62(4):687–703.
34. Li Y-X, Long D-L, Liu J, Qiu D, Wang J, Cheng X, et al. Gestational diabetes mellitus in women increased the risk of neonatal infection via inflammation and autophagy in the placenta. *Medicine*. 2020;99(40):e22152.
35. Logan KM, Gale C, Hyde MJ, Santhakumaran S, Modi N. Diabetes in pregnancy and infant adiposity: systematic review and meta-analysis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2017;102(1):65–72.
36. Kereliuk S, Brawerman G, Dolinsky V. Maternal macronutrient consumption and the developmental origins of metabolic disease in the offspring. *Int J Mol Sci*. 2017;18(7):1451.
37. Aviel-Shekler K, Hamshawi Y, Sirhan W, Getselter D, Srikanth KD, Malka A, et al. Gestational diabetes induces behavioral and brain gene transcription dysregulation in adult offspring. *Transl Psychiatry*. 2020;10(1):412.
38. Money KM, Barke TL, Serezani A, Gannon M, Garbett KA, Aronoff DM, et al. Gestational diabetes exacerbates maternal immune activation effects in the developing brain. *Mol Psychiatry*. 2018;23(9):1920–8.
39. Howe CG, Cox B, Fore R, Jungius J, Kvist T, Lent S, et al. Maternal gestational diabetes mellitus and newborn DNA methylation: Findings from the pregnancy and Childhood Epigenetics consortium. *Diabetes Care*. 2020;43(1):98–105.
40. Nijs H, Benhalima K. Gestational diabetes mellitus and the long-term risk for glucose intolerance and overweight in the offspring: A narrative review. *J Clin Med*. 2020;9(2):599.
41. Xu J, Huang J, Pan Q, Du M, Li Z, Dong H. Gestational diabetes promotes germ cell cCyst breakdown and primordial follicle formation in newborn mice via the AKT signaling pathway. *PLoS One*. 2019;14(4):e0215007.
42. Vos MB, Kaar JL, Welsh JA, Van Horn LV, Feig DI, Anderson CAM, et al. Added sugars and cardiovascular disease risk in children: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2017;135(19):e1017–34.

43. Holesh JE, Aslam S, Martin A. Physiology, Carbohydrates [Internet]. Florida: StatPearls Publishing LLC; 2021 [Consultado: 1 de noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459280/>
44. Patricia JJ, Dhamoon AS. Physiology, Digestion [Internet]. Florida: StatPearls Publishing LLC; 2021 [Consultado: 1 de noviembre 2021]. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544242/#_NBK544242_pubdet_
45. Yang H. Glucose and amino acid in enterocyte absorption metabolism and maturation. *Front Biosci*. 2018;23(9):1721–39.
46. Ferraris RP, Choe J-Y, Patel CR. Intestinal absorption of fructose. *Annu Rev Nutr*. 2018;38(1):41–67.
47. Merino B, Fernández-Díaz CM, Cózar-Castellano I, Perdomo G. Intestinal fructose and glucose metabolism in health and disease. *Nutrients*. 2019;12(1):94.
48. Adeva-Andany MM, Pérez-Felpete N, Fernández-Fernández C, Donapetry-García C, Pazos-García C. Liver glucose metabolism in humans. *Biosci Rep*. 2016;36(6).
49. Rippe JM, Angelopoulos TJ. Sugars, obesity, and cardiovascular disease: results from recent randomized control trials. *Eur J Nutr*. 2016;55(Suppl 2):45–53.
50. González-Costa M, Padrón-González AA. La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. *Rev Haban Cienc Med*. 2018;18(1):30-40.
51. Recio-España FI, Pérez-Castro, Vázquez JA, Avelleyra-Calderón MK. Revisión de las bases fisiológicas de la inflamación. *Rev CONAMED*. 2017;22(1):48-51.
52. Moro-García MA, Mayo JC, Sainz RM, Alonso-Arias R. Influence of inflammation in the process of T lymphocyte differentiation: Proliferative, metabolic, and oxidative changes. *Front Immunol*. 2018;9:339.
53. Mantovani A, Dinarello CA, Molgora M, Garlanda C. Interleukin-1 and related cytokines in the regulation of inflammation and immunity. *Immunity*. 2019;50(4):778–95.
54. Salvatierra-Cáceres E, Salinas-Rodríguez J, Hidalgo-Rivas A, Sánchez-Astorga M. Capacidad diagnóstica de biomarcadores salivares interleucinas 6 y 8 para el diagnóstico de carcinoma de células escamosas de cavidad oral. *Av Odontostomatol*. 2017;33(2):67-75.

55. Murakami M, Kamimura D, Hirano T. Pleiotropy and specificity: Insights from the interleukin 6 family of cytokines. *Immunity*. 2019;50(4):812–31.
56. Josephs SF, Ichim TE, Prince SM, Kesari S, Marincola FM, Escobedo AR, et al. Unleashing endogenous TNF-alpha as a cancer immunotherapeutic. *J Transl Med*. 2018;16(1):242.
57. Ni L, Lu J. Interferon gamma in cancer immunotherapy. *Cancer Med*. 2018;7(9):4509–16.
58. Zaidi MR. The interferon-gamma paradox in cancer. *J Interferon Cytokine Res*. 2019;39(1):30–8.
59. Kak G, Raza M, Tiwari BK. Interferon-gamma (IFN- γ): Exploring its implications in infectious diseases. *Biomolecular Concepts*. 2018;9(1):64-79.
60. Maibom-Thomsen SL, Trier NH, Holm BE, Hansen KB, Rasmussen MI, Chailyan A, et al. Immunoglobulin G structure and rheumatoid factor epitopes. *PLoS One*. 2019;14(6):e0217624.
61. Bunker JJ, Bendelac A. IgA responses to Microbiota. *Immunity*. 2018;49(2):211–24.
62. Yu J, Song Y, Tian W. How to select IgG subclasses in developing anti-tumor therapeutic antibodies. *J Hematol Oncol*. 2020;13(1):45.
63. Chiarello DI, Abad C, Rojas D, Toledo F, Vázquez CM, Mate A, et al. Oxidative stress: Normal pregnancy versus preeclampsia. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020;1866(2):165354.
64. Costantini D. Understanding diversity in oxidative status and oxidative stress: the opportunities and challenges ahead. *J Exp Biol*. 2019;222(13):194688.
65. Zhang M-L, Wu H-T, Chen W-J, Xu Y, Ye Q-Q, Shen J-X, et al. Involvement of glutathione peroxidases in the occurrence and development of breast cancers. *J Transl Med*. 2020;18(1):247.
66. Nandi A, Yan L-J, Jana CK, Das N. Role of catalase in oxidative stress- and age-associated degenerative diseases. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:1-19.
67. Mañon-Rossi W, Garrido G, Núñez-Selles AJ. Biomarcadores del estrés oxidativo en terapia antioxidante. *J Pharm & Pharmacogn Res*. 2016;4(2):62-83.

68. González-Costa M, Padrón-González AA. La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. *Rev Haban Cienc Med.* 2018;18(1):30-40.
69. Tenório MB, Ferreira RC, Moura FA, Bueno NB, de Oliveira ACM, Goulart MOF. Cross-talk between oxidative stress and inflammation in preeclampsia. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:8238727.
70. Piao C, Wang X, Peng S, Guo X, Zhao H, He L, et al. IL-34 causes inflammation and beta cell apoptosis and dysfunction in gestational diabetes mellitus. *Endocr Connect.* 2019;8(11):1503–12.
71. Vuong B, Odero G, Rozbacher S, Stevenson M, Kereliuk SM, Pereira TJ, et al. Exposure to gestational diabetes mellitus induces neuroinflammation, derangement of hippocampal neurons, and cognitive changes in rat offspring. *J Neuroinflammation.* 2017;14(80).
72. Rosas-Villegas A, Sánchez-Tapia M, Avila-Nava A, Ramírez V, Tovar AR, Torres N. Differential effect of sucrose and fructose in combination with a high fat diet on intestinal Microbiota and kidney oxidative stress. *Nutrients.* 2017;9(4):393.
73. Della-Corte KW, Perrar I, Penczynski KJ, Schwingshackl L, Herder C, Buyken AE. Effect of dietary sugar intake on biomarkers of subclinical inflammation: A systematic review and meta-analysis of intervention studies. *Nutrients.* 2018;10(5):606.
74. Hernández-Díazcouder A, Romero-Nava R, Carbó R, Sánchez-Lozada LG, Sánchez-Muñoz F. High fructose intake and adipogenesis. *Int J Mol Sci.* 2019;20(11):2787.
75. Tappy L, Morio B, Azzout-Marniche D, Champ M, Gerber M, Houdart S, et al. French recommendations for sugar intake in adults: A novel approach chosen by ANSES. *Nutrients.* 2018;10(8).
76. Collins KH, Paul HA, Hart DA, Reimer RA, Smith IC, Rios JL, et al. A high-fat high-sucrose diet rapidly alters muscle integrity, inflammation, and gut Microbiota in male rats. *Sci Rep.* 2016;6(1):37278.
77. Collins KH, Hart DA, Seerattan RA, Reimer RA, Herzog W. High-fat/high-sucrose diet-induced obesity results in joint-specific development of osteoarthritis-like degeneration in a rat model. *Bone Joint Res.* 2018;7(4):274–81.

78. Ingvorsen C, Lelliott CJ, Brix S, Hellgren LI. Effects of maternal high-fat/high sucrose diet on hepatic lipid metabolism in rat offspring. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2020;48(1):86–95.
79. Souza-Cruz EM, Bitencourt-de Moraes JM, Dalto-da Rosa CV, da Silva-Simões M, Comar JF, de Almeida-Chuffa LG, et al. Long-term sucrose solution consumption causes metabolic alterations and affects hepatic oxidative stress in Wistar rats. *Biol Open.* 2020;9(3):047282.
80. He A, Zhang Y, Yang Y, Li L, Feng X, Wei B, et al. Prenatal high sucrose intake affected learning and memory of aged rat offspring with abnormal oxidative stress and NMDARs/Wnt signaling in the hippocampus. *Brain Res.* 2017;1669:114–21.
81. Toop CR, Muhlhausler BS, O’Dea K, Gentili S. Impact of perinatal exposure to sucrose or high fructose corn syrup (HFCS-55) on adiposity and hepatic lipid composition in rat offspring. *J Physiol.* 2017;595(13):4379–98.
82. 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.
83. Kc K, Shakya S, Zhang H. Gestational diabetes mellitus and macrosomia: a literature review. *Ann Nutr Metab.* 2015;66 Suppl 2(Suppl. 2):14–20.
84. Zhu Y, Olsen SF, Mendola P, Halldorsson TI, Rawal S, Hinkle SN, et al. Maternal consumption of artificially sweetened beverages during pregnancy, and offspring growth through 7 years of age: a prospective cohort study. *Int J Epidemiol.* 2017;46(5):1499–508.
85. Li Q, Pereira TJ, Moyce BL, Mahood TH, Doucette CA, Rempel J, et al. In utero exposure to gestational diabetes mellitus conditions TLR4 and TLR2 activated IL-1beta responses in spleen cells from rat offspring. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1862(11):2137–46.