



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

“Relación entre leptina y resistencia a la insulina en mujeres con diabetes mellitus gestacional”

TESIS

*QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO.*

PRESENTA:

Julio Tonatiuh Sánchez Montoya

Directora de tesis:
Dra. Renata Patricia Saucedo García

Asesor de tesis:
M. en C. Rosa Elba Galván Duarte



México, D.F.

Septiembre 2013

Contenido

Agradecimientos	4
Dedicatorias	5
Resumen	6
Abreviaturas	7
1. Introducción	8
2 .Marco Teórico	9
2.1. Cambios fisiológicos en el embarazo	9
2.2. Diabetes mellitus gestacional	10
2.2.1. Etiología y factores de riesgo	11
2.2.2. Detección y diagnóstico	12
2.2.3. Tratamiento.....	14
2.3. Tejido adiposo	14
2.4. Leptina	15
2.4.1. Señalización de la Leptina	20
2.4.1.1. El receptor de leptina	20
2.4.1.2. Mecanismo de señalización de la leptina	22
2.4.2. Ritmo circadiano de la leptina	23
2.4.3. Metabolismo de leptina	23
2.4.4. Funciones biológicas de leptina	24
2.4.5. Leptina en el embarazo	26
2.4.5.1. Leptina en la implantación.....	26
2.4.5.2. Expresión y regulación de la leptina en placenta.....	27
2.4.6. Leptina en DMG	27
3. Planteamiento del problema	30
4. Objetivo	30
5. Hipótesis del trabajo	30
6. Diseño experimental	31
6.1. Tipo y población de estudio, criterios de inclusión, exclusión y eliminación	31
6.2. Material y método	31
6.3. Diseño estadístico	33
7. Resultados	34

8. Discusión.....	41
9. Conclusiones	45
10. Propuestas y/o recomendaciones	46
11. Anexos	47
11.1. Procedimientos.....	47
11.2. Clasificación de recién nacidos.....	48
12. Referencias.....	49

Agradecimientos

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por todos los conocimientos que me brindó, pero sobre todo por haber desarrollado mi capacidad de conciencia, razonamiento y reflexión, ahora sé que puedo y debo de poner de mi parte para seguir cambiando el rumbo de este país.

Un maestro me mencionó alguna vez “En la UNAM encontrarás lo mejor y lo peor de México”; daré mi mayor esfuerzo para dejar en alto el nombre de esta casa de estudios.

Gracias.

Dedicatorias

Esta tesis va dedicada a:

Mis padres que han llenado mi vida de buenos momentos, gracias por haberme proporcionado todo lo necesario para que yo haya llegado hasta este punto, gracias a ti mamá por siempre darme la ayuda necesaria, por todos los regaños y consejos que me has dado; y gracias a ti papá por ser mi ejemplo a seguir, por siempre confiar y esperar lo mejor de mí. Lo que más quiero en la vida es que se sientan orgullosos de mí; espero nunca decepcionarlos. Simplemente los AMO.

A mi familia por haber creado un entorno al cual soy feliz de pertenecer.

A la doctora Renata Saucedo García que me ha enseñado que no es suficiente el destacar profesionalmente y que es más importante el destacar como ser humano. Muchas gracias por toda la paciencia que me ha tenido en este tiempo, no tengo palabras para expresarle mi gratitud por todo el tiempo y los conocimientos que me brindó; la admiro y estoy seguro que va a lograr cosas importantes, y yo como lo hago ahora, me sentiré orgulloso de haber podido ser alumno. GRACIAS.

A la persona que me ha estado a mi lado desde la preparatoria y que ha visto como he crecido y madurado, la persona que me apoyó durante toda mi carrera y la que me da motivos para sonreír todos los días gracias por todo, Pamela.

A la profesora Rosa Elba Galván Duarte por haberme recomendado para ocupar un lugar en este proyecto.

A la persona que se convirtió en mi hermana durante la carrera; que me ha acompañado y ayudado en múltiples travesías y que aún fuera de la escuela me sigue soportando y ayudando todos los días, gracias a ti Lucy. Te deseo el mejor de los éxitos.

A Toño, Jorge, Edith, Mary, Mario, Tere, Charly, Dra. Sara Vega, Dr. Marcelino, Dra. Basurto y cada una de las personas que conforman la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endocrinas, Diabetes y Metabolismo por compartirme sus conocimientos y haberme dado todas las facilidades para desarrollar esta tesis.

Por último a todas esas personas que no creyeron en mí, ya que me dieron un motivo para superarme.

Resumen

Introducción. La diabetes mellitus gestacional (DMG) se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa con inicio o primer reconocimiento durante el embarazo. Su prevalencia a nivel mundial se ha estimado en 7% y en México entre 3 y 19.6%. La DMG parece ser una manifestación temprana de diabetes mellitus 2 (DM2) por lo cual se considera un modelo excelente para estudios de prevención de DM2. Dentro de la fisiopatogenia de la DM2 juega un papel importante el tejido adiposo a través de la producción de adipocinas como la leptina. La leptina actúa a nivel intracelular bloqueando el efecto de la insulina. Se han realizado diversos estudios para evaluar la relación entre leptina y DMG, sin embargo los resultados son controversiales por lo que se evaluó la relación entre los niveles de leptina y resistencia a la insulina (RI) durante el embarazo y posparto en mujeres mexicanas con DMG en las que están presentes factores de riesgo como la carga genética y obesidad.

Metodología. Se realizó un estudio prospectivo comparativo a mujeres con DMG y embarazadas sanas en el periodo de 26-34 semanas de gestación. Se realizó una historia clínica y se obtuvo una muestra venosa para realizar los análisis bioquímicos pertinentes; el diagnóstico de DMG se realizó mediante una prueba de tolerancia oral a la glucosa de 2 h con 75 g de glucosa. Se les solicitó a las participantes que regresaran a una evaluación a las 6 semanas posparto.

Resultados y discusión. Durante el embarazo no se encontraron diferencias en los niveles de leptina entre ambos grupos. En la evaluación posparto las mujeres con DMG persistieron con mayor peso, índice de masa corporal (IMC) y niveles más altos de glucosa, triglicéridos, leptina, insulina y RI con respecto al grupo control. No obstante no se encontró asociación entre leptina y resistencia a la insulina en mujeres con DMG; esta asociación se encontró en el grupo control.

Discusión. El que no se encontrara diferencia en los niveles de leptina durante el embarazo concuerda con otros estudios aunque cabe mencionar que en nuestro estudio el grupo con DMG presentó un mayor IMC, sin embargo hay discrepancias con algunos otros artículos ya que también se han reportado niveles de leptina elevados e incluso niveles disminuidos. Las diferencias entre nuestro estudio y los previos pueden ser explicadas por el elevado IMC de las pacientes con DMG, edad, grupo étnico, tiempo de recolección de la muestra, método para la medición de leptina, número de pacientes analizados y el estilo de vida. La falta de asociación entre leptina y RI puede deberse a que en DMG hay una resistencia tanto a la leptina como a la insulina que lleva a una alteración en la regulación entre ambas hormonas.

Conclusiones. Los niveles de leptina son similares en ambos grupos durante el embarazo. Hay una relación entre leptina y RI únicamente en el posparto del grupo control.

Abreviaturas

aa.- Aminoácidos
ADA.- Asociación Americana de Diabetes (American Diabetes Association)
AEG.-Adecuado para su edad gestacional
AgRP.- Proteína relacionada con el agouti
ASP.- Proteína estimulante de la acilación
CART.- Transcriptor regulado por cocaína y anfetamina
Cys.- Cisteína
DM2.- Diabetes mellitus tipo2
DMG.- Diabetes mellitus gestacional
GEG.- Grande para su edad gestacional
GH.- Hormona de crecimiento
HGC.- Gonadotropina coriónica humana
HOMA.- Evaluación del modelo homeostático (Homeostasis model assessment)
HPL.- Hormona lactógeno placentaria
IL.- Interleucina
IMC.- Índice de masa corporal
JAK.- Janus cinasa
MSH.- Hormona estimulante de melanocitos
NOM.- Norma Oficial Mexicana
NPY.- Neuropeptido Y
Ob-Rb.- Receptor largo de leptina
Ob-Rc.- Receptor corto de leptina.
Ob-Re.- Receptor soluble de leptina
OMS.- Organización Mundial de Salud
PEG.- Pequeño para edad gestacional
POMC.- Proopiomelanocortina
PTP.- Proteína tirosín-fosfatasa
RI.- Resistencia a la insulina
RIA.- Radioinmunoanálisis
RN.- Recién nacidos
SDG.- Semana de gestación
SHP.- Proteína tirosin fosfatasa
SNC.- Sistema nervioso central
SOCS.- Supresor de la señalización de citocinas (Suppressor of cytokine signaling)
SRI.- Sustrato de receptor de insulina
STAT.- Transductor de señal y activador de la transcripción (Signal transducer and activator of transcription)
TNF.- Factor necrótico tumoral
Tyr.- Tirosina

1. Introducción

La diabetes mellitus gestacional (DMG) se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa con inicio o primer reconocimiento durante el embarazo^{1,2}. Su prevalencia a nivel mundial se ha estimado en 7%, en México, dependiendo de la prueba, los criterios diagnósticos utilizados y la población estudiada se ha reportado entre 3.0-19.6%³. Más del 90% de los casos de diabetes que complican un embarazo son casos de diabetes gestacional³, la presencia de obesidad en mujeres desde edades tempranas favorece el desarrollo de DMG.

La DMG parece ser una manifestación temprana de diabetes mellitus 2 (DM2). Su identificación temprana permite la valoración longitudinal de parámetros metabólicos que llevan a DM2 y se considera un modelo excelente para estudios de prevención de DM2. Se conoce que después de 10 años de concluido el embarazo, el 50% de las mujeres desarrollarán DM2⁴.

Se presenta sobre todo en mujeres con factores de riesgo fácilmente identificables como la obesidad, edad mayor a los 25 años, grupo étnico entre otros quienes por los cambios propios del embarazo elevan la resistencia a la insulina y sus cifras de glucosa, lo que repercute en el desarrollo del producto y puede ser causa de macrosomía⁴.

Los cambios en la fisiología materna durante la primera mitad del embarazo se deben al mayor almacenamiento de energía, lo cual es más evidente en el tejido graso, que a partir del final del segundo trimestre tiene ajustes para que esta energía sea liberada y pueda ser derivada al feto en formación. En este periodo se pueden identificar diversas sustancias producidas por el tejido adiposo y la placenta como la leptina, que actúan a nivel intracelular bloqueando el efecto de la insulina⁵.

2. Marco Teórico

2.1. Cambios fisiológicos en el embarazo

El embarazo se considera un estado diabetogénico o de resistencia progresiva a la insulina, debido a los cambios en el patrón de secreción de la insulina y a las modificaciones en la sensibilidad a la acción de la misma⁵. Durante el primer trimestre y las etapas iniciales del segundo se eleva la sensibilidad a la insulina, lo que se ha atribuido a las mayores concentraciones de estrógenos circulantes. Este fenómeno incrementa el depósito de energía, sobre todo en el tejido adiposo lo que conlleva a una expansión del mismo. El músculo esquelético, es el sitio principal para utilizar la glucosa, junto con el tejido adiposo empiezan a ser resistentes al efecto de la insulina a partir de la segunda mitad del embarazo (semana 24 a 28), la cual incluso puede llegar a igualar niveles observados en pacientes con DM2⁵.

La resistencia hormonal de la mujer embarazada parece deberse a una combinación de adiposidad materna y los efectos desensibilizadores de varias sustancias producidas por la placenta, lo que se evidencia por el rápido abatimiento de la resistencia casi a las 24 horas posteriores al parto⁵.

Además de los cambios en la distribución y volumen del tejido adiposo, la concentración de nutrientes aumenta gradualmente conforme progresa el embarazo, lo cual contribuye al desarrollo del feto. En consecuencia aumentan los niveles de glucosa, aminoácidos (aa), ácidos grasos, triglicéridos y los oligoelementos. Las células β del páncreas elevan la secreción de insulina en un intento de compensar la resistencia a la insulina del embarazo, incluso se han descrito incrementos en la secreción de insulina hasta de 200% para tratar de mantener euglucémica a la madre⁵.

Una gran cantidad de hormonas y citocinas producidas por la placenta y adipocitos (Tabla 1)⁵ reprograman la fisiología materna y causan este estado de resistencia a la insulina (RI) para dirigir los nutrientes hacia el feto en desarrollo.

Tabla 1. Hormonas y citocinas implicadas en la resistencia a la insulina en embarazo⁴⁻⁸

- Lactógeno placentario
- Hormona de crecimiento placentaria
- Prolactina
- Hormona liberadora de corticotropina-cortisol
- TNF- α
- Adipocinas (leptina, resistina, visfatina, adiponectina)

El lactógeno placentario se eleva hasta 30 veces durante la gestación⁵. Esta hormona pertenece al grupo de la hormona de crecimiento (GH) y antagoniza la acción de la insulina induciendo intolerancia materna a la glucosa. La hormona de crecimiento placentaria también se encuentra involucrada, esta hormona difiere de la GH en sólo 13 aa y se eleva entre 6-8 veces durante la gestación, parece que reemplaza a la GH hipofisiaria en la circulación materna alrededor de la semana 20 de gestación y contribuye a aumentar el grado de resistencia a la insulina⁵.

La prolactina favorece la disminución de la secreción de insulina⁶ y estimula la síntesis de leptina por los adipocitos fetales⁷. De igual forma se ha demostrado que el cortisol estimula la producción de leptina⁸ y también se caracteriza por su potente acción antiinsulínica⁴.

El factor de necrosis tumoral α (TNF- α) es una molécula pro inflamatoria que además impide una correcta señalización de la insulina⁴. Las adipocinas también participan en la RI, la resistina, que se expresa en la placenta, altera la tolerancia a la glucosa induciendo resistencia a la insulina⁹. La leptina a su vez tiene un efecto supresor sobre la insulina⁸. La visfatina tiene un efecto insulino-mimético mediado por la interacción sobre el propio receptor de insulina, lo que le concede un efecto regulador en la fosforilación del receptor y en la señalización intracelular¹⁰⁻¹². La adiponectina estimula la captación de glucosa en el músculo esquelético y reduce la producción de glucosa hepática⁹.

2.2. Diabetes mellitus gestacional

El embarazo confiere un estado de resistencia a insulina e hiperinsulinemia que puede predisponer a algunas mujeres a desarrollar diabetes⁷. La DMG ocurre cuando la función pancreática de la mujer no es adecuada para superar el ambiente diabetogénico de la concepción.

La diabetes gestacional se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa con inicio o primer reconocimiento durante el embarazo y generalmente desaparece al terminar el embarazo^{1,2}. La definición se aplica si la condición persiste aún después del embarazo y no excluye la posibilidad de que sea una intolerancia a la glucosa no reconocida antes del embarazo o que haya iniciado de manera concomitante con la gestación¹. La diabetes pregestacional o preexistente se refiere a pacientes conocidas con diabetes tipo 1 o 2 que se embarazan.

La diabetes preexistente o pregestacional expone al feto a concentraciones elevadas de glucosa durante el primer trimestre del embarazo, incrementando el riesgo de malformaciones congénitas (especialmente a nivel de sistema nervioso central, cardiovascular, renal y músculo-esqueléticas) y aborto espontáneo².

En el caso de mujeres con DMG la exposición del feto a concentraciones elevadas de glucosa plasmática de la madre durante el segundo y tercer trimestres resulta en crecimiento fetal excesivo. En el neonato hay hipoglucemia, ictericia, hipocalcemia, policitemia y enfermedad por deficiencia de surfactante pulmonar². Observaciones recientes también han señalado que los productos de tales embarazos tienen mayor riesgo de obesidad, diabetes y enfermedad cardiovascular.

La DMG es considerada como un excelente modelo para estudios de prevención de DM2 y constituye un riesgo para la madre después de la gestación. Los estudios de seguimiento han demostrado que 50% de estas mujeres desarrollarán diabetes mellitus 2 en un lapso de 6 a 10 años posteriores al evento obstétrico y, además, el 70% de las pacientes con DMG repiten el trastorno en el siguiente embarazo, por este motivo puede realizarse una valoración longitudinal de parámetros que conllevan a DM2 si hay una detección temprana de DMG⁴.

2.2.1. Etiología y factores de riesgo

La etiología de la DMG no se puede definir como una sola o como causas específicas y puntuales⁴ sino que se debe a la suma de varios factores desencadenantes que se originan como parte de los cambios fisiológicos del embarazo y a la predisposición genético-metabólica de la gestante.

Durante la segunda mitad de la gestación se requiere un estado fisiológico de resistencia a la insulina para dirigir los nutrientes almacenados en la madre hacia la unidad fetoplacentaria y dar un crecimiento adecuado al feto, sin embargo,

cuando las mujeres desarrollan diabetes mellitus gestacional, la RI es más acentuada, lo cual modifica el medio intrauterino y causa crecimiento acelerado del feto con riesgo elevado de macrosomía.

En la Tabla 2 se mencionan los factores de riesgo^{5,6}.

Tabla 2. Factores de riesgo para desarrollar DMG	
Mayor de 25 años	DMG previa
Índice de masa corporal (IMC) \geq a 25	Óbito previo
Grupo étnico afroamericano, mestizo, o asiático	Macrosomía fetal previa
Familiares de primer grado con DM2	Malformaciones fetales previas
Hipertensión arterial crónica	Abortos repetidos
Intolerancia a la glucosa previa	Glucosuria
Síndrome de ovario poliquístico	Ganancia >20 kg de peso en la gestación actual
Multiparidad	

A semejanza de lo que ocurre en la DM2, la frecuencia de DMG se incrementa con la edad y el IMC. Además es más probable que se presente en aquellas mujeres con historia familiar de diabetes, producto previo macrosómico y DMG previa. Se ha reportado que la tasa de recurrencia de DMG varía entre un 30 a 84%⁴.

2.2.2. Detección y diagnóstico

Según los criterios de la Asociación Americana de Diabetes (ADA), el riesgo de padecer DMG debe ser evaluado desde la primera visita prenatal^{1,2,13}. Las mujeres con características clínicas consistentes con DMG (obesidad, DMG previa, glucosuria o familiares directos con historial de diabetes) deben someterse a una prueba de glucosa tan pronto como sea posible. Si no se encuentra alteración en la glucosa en la evaluación inicial deben de ser sometidas a otra evaluación entre la semana 24 y 28 de gestación. Una prueba rápida de glucosa con niveles mayores a 126 mg/dl o una prueba casual mayor a 200 mg/dl (11.1 mmol/l)² son niveles diagnósticos de diabetes si se comprueban en días subsecuentes e impiden la realización de cualquier prueba de estimulación con carga de glucosa¹.

En ausencia de ese grado de hiperglucemia, la evaluación para DMG puede ser mediante la prueba de un paso o de dos pasos. En la prueba de dos pasos primero se realiza una carga de 50g de glucosa a cualquier hora del día y se determina la glucemia una hora después, si el valor excede 140mg/dl se programa una carga de 75g y se toman mediciones una y dos horas después (criterio de la ADA) y en la de un paso se realiza una determinación de la glucosa en ayunas y a las dos horas después de una carga oral de glucosa de 75 g (criterio de la Organización Mundial de Salud [OMS]). En México, la Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010 indica que se debe realizar una prueba de detección en toda embarazada entre las semanas 24 y 28 de gestación, mediante una prueba capilar o casual, si la glucemia capilar es >100 mg/dl en ayuno o casual >140 mg/dl se procederá a la confirmación diagnóstica con una prueba de tolerancia a la glucosa en tres horas con una carga de 50 g de glucosa por vía oral, utilizando los puntos de corte que se muestran en la Tabla 3. La prueba debe hacerse en la mañana después de un ayuno de entre 8 y 14 horas y después de 3 días con una dieta mayor a 150g de carbohidratos por día así como actividad física normal^{1,4}.

Tabla 3. Diagnóstico de DMG con cargas de 75g de glucosa (OMS y ADA) y 50g (NOM)

	OMS	ADA	NOM
	mg/dl	mg/dl	mg/dl
Ayunas	110	92	95
1 hora	-	180	180
2 horas	140	153	155
3 horas	-	-	140

Para un diagnóstico positivo un valor debe de excederse (ADA), dos o más valores deben de excederse o igualarse (OMS).

La ADA recomienda hacer una evaluación de la glucosa a las 6 semanas posparto para iniciar un tratamiento en mujeres con alteraciones en el metabolismo de glucosa y poder tomar medidas preventivas en aquellas en que este problema todavía no se desarrolle^{1,2}. Aquellas mujeres con antecedentes de DMG deben realizarse revisiones al menos cada 3 años, para evaluar el desarrollo de diabetes o prediabetes^{2,13}.

2.2.3. Tratamiento

El objetivo fundamental del tratamiento es mantener la normoglucemia con una dieta adecuada, reduciendo el consumo de carbohidratos a 35-40% de la ingesta calórica total, de preferencia hidratos de carbono con un bajo índice glucémico. Las pacientes con IMC superior a 30 kg/m² deben disminuir su ingestión calórica en un 30 a 33% o alrededor de 25 kcal/kg de peso corporal. El peligro de la restricción calórica muy estricta en la embarazada es la producción de cetosis, que puede alterar el desarrollo psicomotor del feto. Además el ejercicio físico sistemático y adaptado a la mujer gestante es otro punto importante en el tratamiento de la diabetes, sin embargo si con la dieta y ejercicio no se obtiene un control adecuado, será necesario administrar insulina⁵.

2.3. Tejido adiposo

El tejido adiposo está conformado por adipocitos, una matriz de tejido conectivo (colágeno y fibras reticulares), nervios, estroma vascular, nódulos linfáticos, células inmunes (leucocitos, macrófagos), fibroblastos y preadipocitos, además, se observan numerosos receptores que le permiten responder a diversas señales aferentes desde varios sistemas hormonales y del sistema nervioso central (SNC)¹⁴.

Los adipocitos son células con capacidad de generar y recibir información de su medio e intervenir en el proceso inflamatorio crónico de baja intensidad, producto de la obesidad. Son células redondeadas que contienen una vacuola lipídica que representa el 95% de su peso celular y que desplaza al resto de los organelos hacia la periferia.

Existen dos tipos de tejido adiposo, y por lo tanto dos tipos de adipocitos diferentes: el tejido pardo o marrón que se encarga de la termogénesis y el tejido adiposo blanco que es el más abundante y por lo tanto el mayor reservorio energético. Además de ser un depósito de energía en la forma de triglicéridos, se manifiesta como órgano productor de sustancias con acción endocrina, paracrina y autocrina¹⁴. Este tejido libera productos de secreción (leptina, adiponectina, resistina, proteína estimulante de la acilación o [ASP]) que intervienen en la regulación de la ingesta, gasto energético, homeostasis glucídica, respuesta inmune-inflamatoria, función vascular, coagulación sanguínea, vía del complemento, angiogénesis, función reproductiva entre otras⁴.

2.4. Leptina

La leptina fue la primera adipocina descrita, lo cual revolucionó el concepto que se tenía del tejido adiposo; consolidándose la idea de que no sólo es un órgano que almacena y moviliza energía, sino que es un tejido dinámico y regulador central del metabolismo¹⁴.

La historia de la leptina inició en 1950 cuando se encontró una mutación en una cepa de ratones que ocasionaba obesidad masiva, hiperfagia, hiperinsulinemia, resistencia periférica a la insulina y esterilidad. A los ratones que padecían esta mutación se les denominó ratones ob/ob. Para 1965 apareció otra mutación que generaba obesidad y diabetes; a estos roedores se le denominó db/db^{15,16}. Ambas cepas de ratones eran fenotípicamente idénticas. En 1973 Douglas Coleman utilizó estas cepas para realizar experimentos de parabiosis junto con ratones normales, el resultado fue que en el ratón ob/ob desapareció la hiperfagia y la obesidad; sin embargo en el ratón db/db no se encontraron cambios. Se llegó a la conclusión de que en los ratones normales circulaba una molécula que regulaba el apetito y en consecuencia evitaba la obesidad¹⁶. Así, en la mutación ob/ob estaba ausente dicha molécula mientras que en la mutación db/db el defecto se encontraba en el receptor¹⁵⁻¹⁷ (Figura 1).

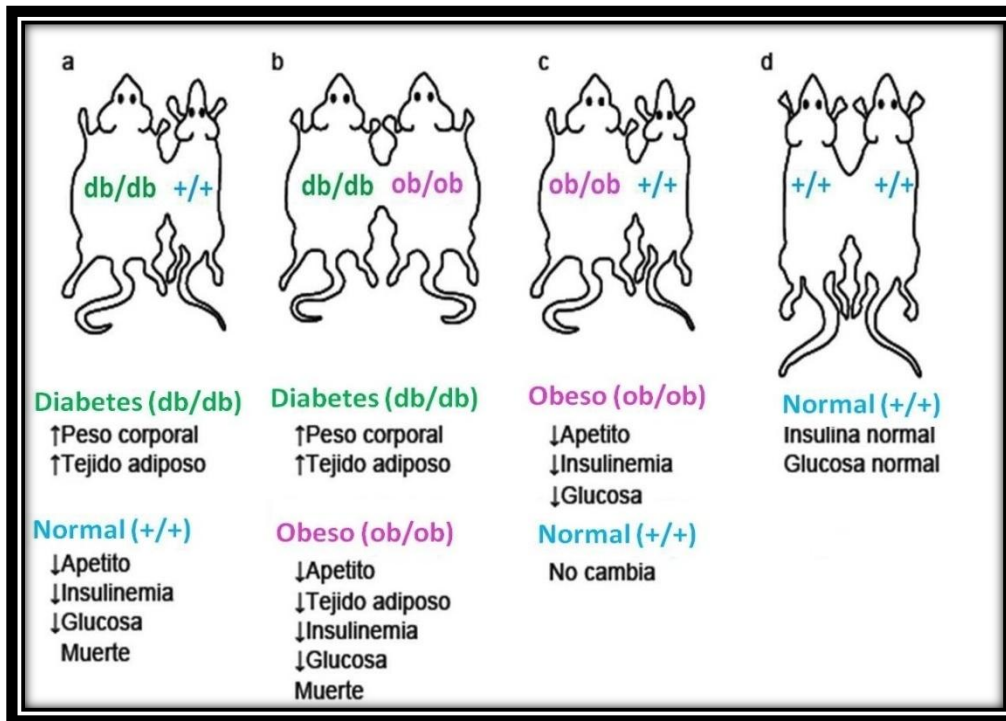


Figura 1. Estudios de parabiosis en ratones db/db y ob/ob.

En 1994 Jeffrey Friedman localizó la mutación ob/ob en el cromosoma 6 de ratón, el cual es homólogo al 7q del humano^{16,18}, esto permitió que Zhang y colaboradores clonaran y secuenciaron el gen de la leptina que también es llamado gen de la obesidad (ob)¹⁸⁻²⁰. En 1995 Tartaglia demostró que el fenotipo del ratón db/db podría atribuirse a que la mutación en el gen db (localizado en el cromosoma 4) codifica para una forma incompleta del receptor largo de leptina que es incapaz de transducir la señal intracelular.

El gen ob de 650kb consiste de tres exones separados por dos intrones; la región codificadora de la proteína se localiza en los exones 2 y 3 (Figura 2). Este gen codifica para una pro-hormona de 167 aa con una secuencia señal de 21 aa. Esta secuencia señal es removida antes de la liberación de la leptina de 146 aminoácidos a la circulación.

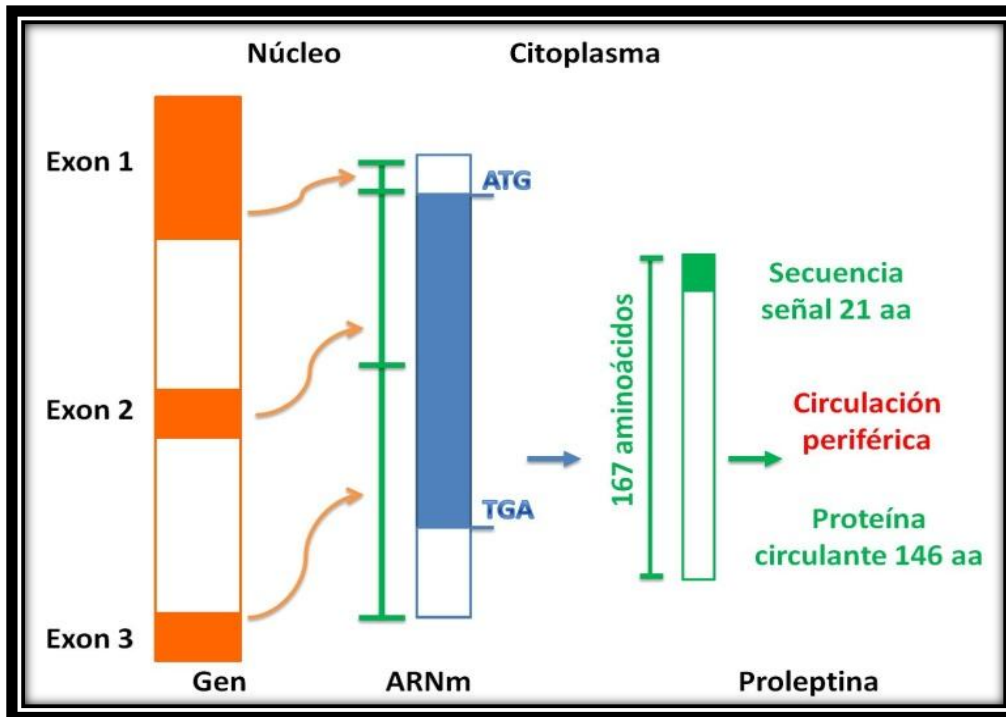


Figura 2 El gen de leptina se transcribe en un ARNm de 3.5kb (azul) que codifica una pro-hormona de 167 aa (verde). La secuencia señal de 21 aa es removida antes de la liberación de la leptina a circulación (rojo).

El nombre de leptina deriva de la raíz griega *leptos* cuyo significado es delgado. Se le dio ese nombre por su función en el control del peso corporal. Esta función fue descubierta cuando se administró leptina sintética a ratones *ob/ob* y se observó que sus alteraciones se corregían, lo cual llevó a la idea de que la leptina podría ser la "hormona antiobesidad", sin embargo, no hubo ningún cambio en los ratones *db/db* al administrarles esta hormona¹⁵⁻¹⁷ (Figura 3).

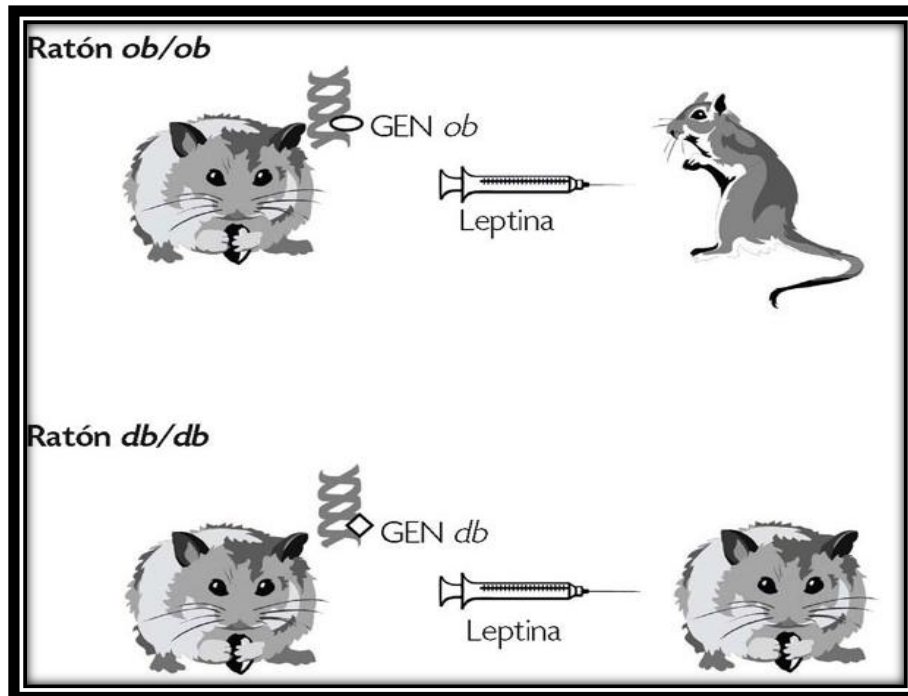


Figura 3. Efecto de leptina en ratones db/db y ob/ob

Hasta ahora los estudios clínicos no han mostrado que la leptina sea efectiva para el tratamiento de la obesidad debido a un estado patológico conocido como resistencia a la leptina en la que se pierde cierta sensibilidad agravando el padecimiento de la obesidad y aumentando el riesgo para presentar otras enfermedades metabólicas; sin embargo su administración es efectiva en casos excepcionales como familias que tienen una mutación genética similar a la encontrada en los roedores²².

La leptina tiene un peso molecular de 16 KD y su estructura terciaria tiene un conjunto de cuatro hélices alfa antiparalelas similar a las citocinas clase 1 unidas por dos enlaces largos entrecruzados y un bucle corto enrollado hacia la izquierda^{21,23}, cuatro giros beta y un enlace disulfuro entre los residuos de cisteína 96 y 146 del C-terminal de la leptina y el inicio de uno de los bucles (Figura 4). La estructura de la leptina revela una alta homología entre especies ya que posee 84% de homología con el ratón y 83% con la rata.

Los distintos fragmentos estructurales de la proteína afectan las actividades biológicas de la leptina *in vivo* y la unión al receptor *in vitro*⁷:

- **La secuencia aminoacídica NH₂-terminal**, es esencial para las acciones biológicas y para la unión al receptor
- **La secuencia aminoacídica C-terminal**, posee una estructura de lazo, encargada de aumentar los efectos activadores que residen en la región N-terminal. La actividad biológica de la proteína reside en los dominios 106-167 situados entre las regiones N y C-terminal.
- **El puente disulfuro C-terminal (Cys96-Cys146)**, es esencial para la adopción de la conformación proteica y para la interacción leptina-receptor. Una mutación en esta región ocasiona una proteína inactiva.

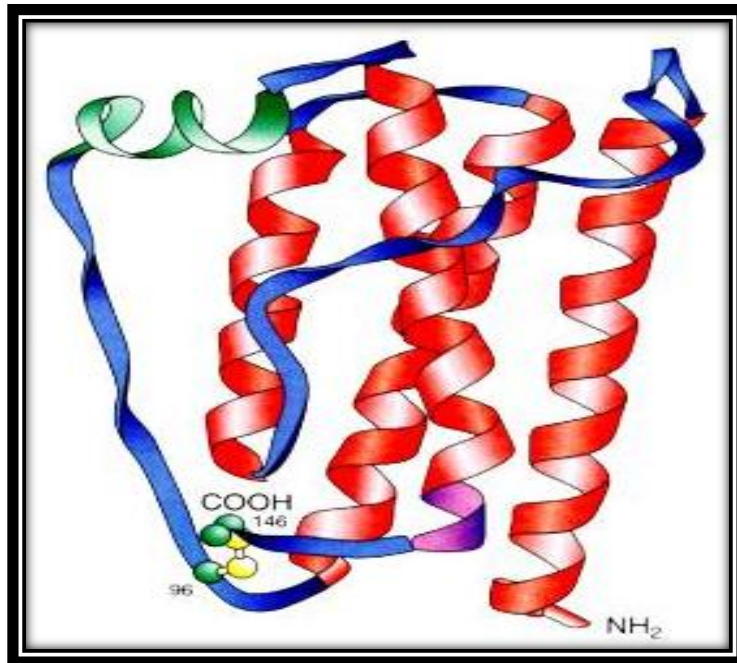


Figura 4. Estructura terciaria de la leptina

En 1995, utilizando la técnica de "Northern Blot", se demostró que la leptina es secretada principalmente por el tejido adiposo, en específico por los adipocitos, aunque también es secretada por otros tejidos como placenta y ovarios en menor proporción; también existe un factor sexual: dada la misma cantidad de grasa corporal, las mujeres secretan más del doble de leptina que los hombres, esto se puede explicar debido a la mayor proporción de grasa subcutánea y a los estrógenos²¹.

La secreción de leptina está regulada por diversos factores, los cuales se muestran en la Tabla 4²⁴.

Tabla 4. Factores que regulan los niveles circulantes de leptina

Promueven la secreción de leptina	Inhiben la secreción de la leptina
Exceso de energía almacenada como grasa	Niveles bajos de energía y depósitos de grasa
Sobrealimentación	Ayuno
Glucosa	Catecolaminas y agonistas adrenérgicos
Insulina, Glucocorticoides	Hormonas Tiroideas
Estrógenos	Andrógenos
Citocinas inflamatorias, TNF- α , IL-6 (efectos agudos)	Citocinas inflamatorias, TNF- α (efecto prolongado)

2.4.1. Señalización de la Leptina

2.4.1.1. El receptor de leptina

Los receptores de leptina localizados en el hipotálamo se encuentran codificados por el gen *db* y pertenecen al tipo de receptores de citocinas clase I. En ratones se han identificado seis isoformas llamados del Ob-Ra al Ob-Rf, en humanos las isoformas se pueden dividir en tres clases: largo, corto y soluble^{18,25}.

Todas las isoformas contienen un dominio extracelular idéntico de aproximadamente 800 aa, una región transmembranal de 34 aa y un dominio intracelular que varía en cada una de las isoformas (Figura 5)^{7,26}.

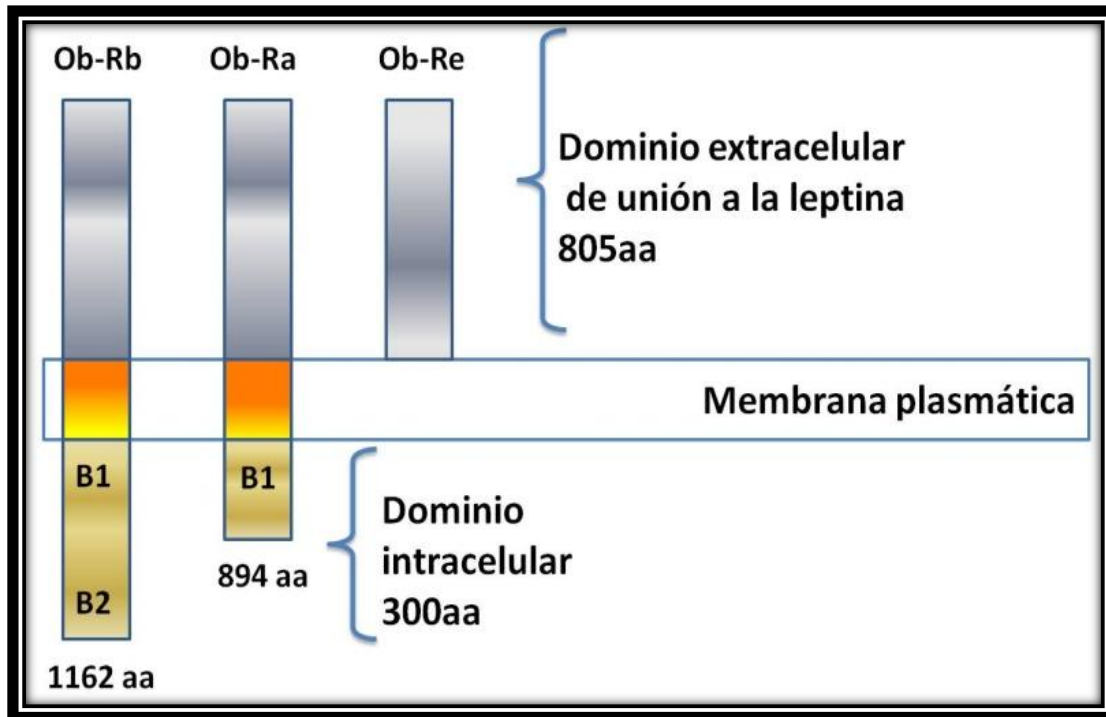


Figura 5. Isoformas larga (OB-Rb), corta (OB-Ra) y soluble (OB-Re) del receptor de leptina.

La forma larga del receptor (Ob-Rb) se expresa mayoritariamente en el hipotálamo y sus funciones consisten en mediar las acciones de la leptina a nivel del SNC. Fue inicialmente considerada como la isoforma funcional del receptor, porque es la única que posee una cola citoplasmática de 300 aminoácidos llamada box2, que permite la activación de vías de señalización, principalmente Janus cinasa (JAK)²⁷.

El receptor corto es capaz de activar cascadas de señalización, pero su función primordial es la es la internalización y degradación de la leptina^{18,27}.

La isoforma soluble también llamada “secretada” (OB-Re), la cual carece del dominio intracelular se desprende de la membrana y controla los niveles de leptina circulante ya que impide que se acople al receptor membranal.

Los receptores cortos y solubles al ser expresados en distintos tejidos al hipotálamo pudieran estar relacionados con eventos independientes del consumo de alimento²⁷.

2.4.1.2. Mecanismo de señalización de la leptina

La leptina se une a su receptor de membrana largo (Ob-Rb), el cual posee los motivos box 1 y box 2 que permiten la transducción de la señal de leptina de tal forma que activa principalmente la vía JAK/STAT (signal transducer and activator of transcription) que comprende una familia de cuatro tirosin-cinasas no receptores y siete factores de transcripción de 85-95kDa regulados por la fosforilación en residuos específicos de tirosina. Típicamente esta cascada de señales de transducción de JAK/STAT es activada también por interferón, interleucinas y otras citocinas cuyos receptores carecen de actividad intrínseca de cinasas^{20,28}.

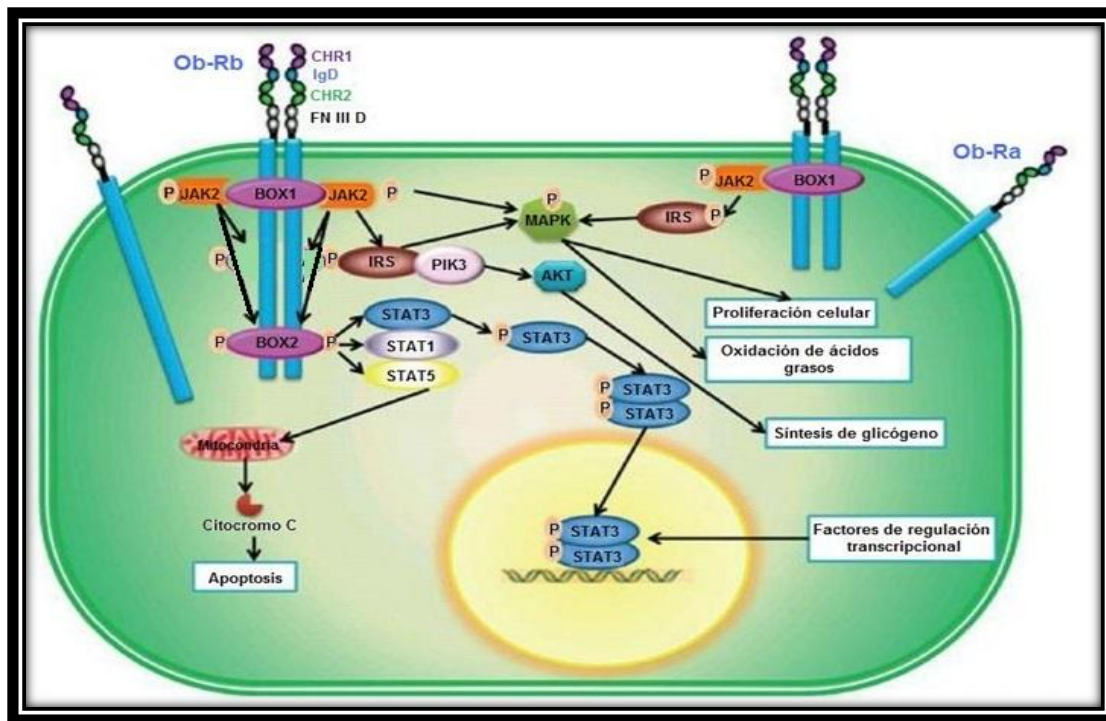


Figura 6. Señalización de la leptina

Ob-Rb señala asociándose de forma no covalente con JAK2, que se autofosforila en numerosos residuos tirosina, al mismo tiempo que fosforila residuos tirosina en el receptor. El dominio intracelular fosforilado del receptor provee un sitio de unión para proteínas STAT, que se activan y translocan al núcleo, estimulando la transcripción. La unión del ligando al receptor activa STAT1, STAT3 y STAT5. Asimismo, la proteína con un dominio de proteína tirosin fosfatasa (SHP-2), se une a una fosfotirosina del dominio intracelular del receptor, con la habilidad para

regular negativamente la fosforilación en tirosina dependiente de la señalización por leptina, como la activación de STAT3⁷.

Existe evidencia de que la vía de JAK/STAT se encuentra bajo el control por retroalimentación negativa de proteínas supresoras de la señalización por citocinas (SOCS3). La expresión endógena de SOCS3 inhibe la fosforilación de Ob-Rb, proveyendo de un importante mecanismo de control en la señalización del receptor. Sumado a ello, los cambios en la expresión de SOCS3 podrían estar involucrados en el fenómeno de resistencia a leptina. Otro regulador negativo de la señalización de leptina está representado por la proteína tirosín-fosfatasa 1B (PTP1B), que se ha visto que regula la señal de transducción de la leptina, *in vivo* e *in vitro*, vía desfosforilación de JAK2⁷.

2.4.2. Ritmo circadiano de la leptina

La concentración plasmática de leptina en humanos muestra una variación circadiana, con niveles bajos durante la mañana y mediodía, que se van incrementando durante la tarde hasta alcanzar su pico máximo entre la 1:00 am y 4:00 am. Luego de alcanzar este máximo, los niveles de leptina disminuyen gradualmente y por la mañana se detecta su concentración más baja. La duración del pulso de liberación de leptina es de 30 minutos, con una amplitud mayor en hombres que en mujeres, y una frecuencia similar. El pico máximo alcanzado es mayor en individuos obesos que en delgados y mayor en mujeres que en hombres⁷.

El ritmo circadiano de la leptina se modifica también según la edad del individuo. La leptinemia del recién nacido (RN) permanece alta durante las 6 horas posteriores al nacimiento, luego cae rápidamente hasta su concentración mínima en torno a las 12-16 horas de vida y permanece en este pico mínimo durante algunos días.

2.4.3. Metabolismo de leptina

La leptina humana posee un tiempo de vida media de 24.9 ± 4.4 minutos y es la misma en individuos obesos y de peso normal. El tiempo de vida corto de la leptina en circulación está principalmente determinado por su eliminación renal, mediada por la filtración glomerular, seguido por procesos de degradación

metabólica en los túbulos renales. El 97% de la leptina extraída es metabolizada por el riñón a nivel de los túbulos renales, no participa el pulmón ni el bazo en su eliminación⁷.

2.4.4. Funciones biológicas de leptina

El sistema nervioso central, específicamente el núcleo hipotalámico, es el blanco donde la leptina ejerce la mayor parte de sus efectos en el metabolismo energético. La leptina disminuye la ingesta de alimentos, aumenta el gasto de energía y disminuye la eficiencia del metabolismo. La hormona participa en un amplio espectro de funciones biológicas como el metabolismo de lípidos y glucosa, regulación de peso corporal, homeostasis energética, síntesis de glucocorticoides e insulina, proliferación de linfocitos T CD4, secreción de citocinas, fagocitosis y transmisión sináptica. Además regula el eje hipotalámico-hipofisarioadrenal, la formación de hueso, maduración del sistema reproductivo, la hematopoyesis, la angiogénesis y el desarrollo fetal⁷.

En el hipotálamo se encuentran núcleos que están implicados en la regulación de la ingesta de alimentos y regulación del peso corporal, estos núcleo son el núcleo arcuato, núcleo ventromedial y el dorsomedial. La leptina una vez que es producida esencialmente por los adipocitos es secretada y transportada en circulación periférica para ejercer su función principalmente sobre las neuronas del núcleo arcuato que además posee receptores para insulina, leptina, ghrelina, neuropéptido Y (NPY) y esteroides, entre otros. El paso de la leptina desde el torrente sanguíneo está facilitado por la gran permeabilidad de la barrera hematoencefálica en esta zona del SNC^{7,29}.

Existen dos vías implicadas en el control de la ingesta, la primera se denomina vía orexigénica (inductora del apetito) estimulada por la ghrelina y constituida por el neuropéptido Y junto con la proteína relacionada con el agouti (NPY/AgRP). La segunda vía es la anorexigénica (inductora de saciedad) que comprende la hormona estimuladora de melanocitos y el transcriptor regulado por cocaína y amfetamina (MSH/CART)^{10,23,29,30}.

El NPY se colocaliza con AgRP en neuronas del núcleo arcuato. El NPY es la molécula con mayor capacidad orexigénica conocida hasta el momento y existen 5 tipos de sus receptores localizados en el núcleo paraventricular, de los cuales el tipo Y1 es el que tiene una mayor relación con la inducción del apetito.

El péptido MSH proviene del precursor proopiomelanocortina (POMC) que también da lugar a otras melanocortinas además de la alfa, beta y la gamma MSH, de las cuales el péptido con mayor relación al control del comportamiento alimentario es la α -MSH. En el núcleo arcuato las neuronas de la POMC coexpresan el péptido relacionado con la cocaína y anfetaminas (CART) también un potente inhibidor de la ingesta de alimentos^{23,29,30}.

La acción de la leptina sobre el comportamiento alimentario consiste en la estimulación del complejo MSH/CART que provoca la liberación de α -MSH la cual se une al receptor MC4 de la melanocortina lo que conlleva a anorexia y un incremento en el gasto energético. Al mismo tiempo la leptina inhibe el complejo NPY/AgRP lo cual provoca que la AgRP sea incapaz de antagonizar los receptores MC3 y MC4 de la melanocortina, inhibiendo así su efecto orexigénico.

La ghrelina es la única hormona de origen gastrointestinal con efecto orexigénico, y la molécula con mayor potencia estimuladora del apetito que puede medirse en circulación periférica. En términos funcionales, la ghrelina antagoniza los efectos de leptina sobre el sistema NPY/AgRP²⁹.

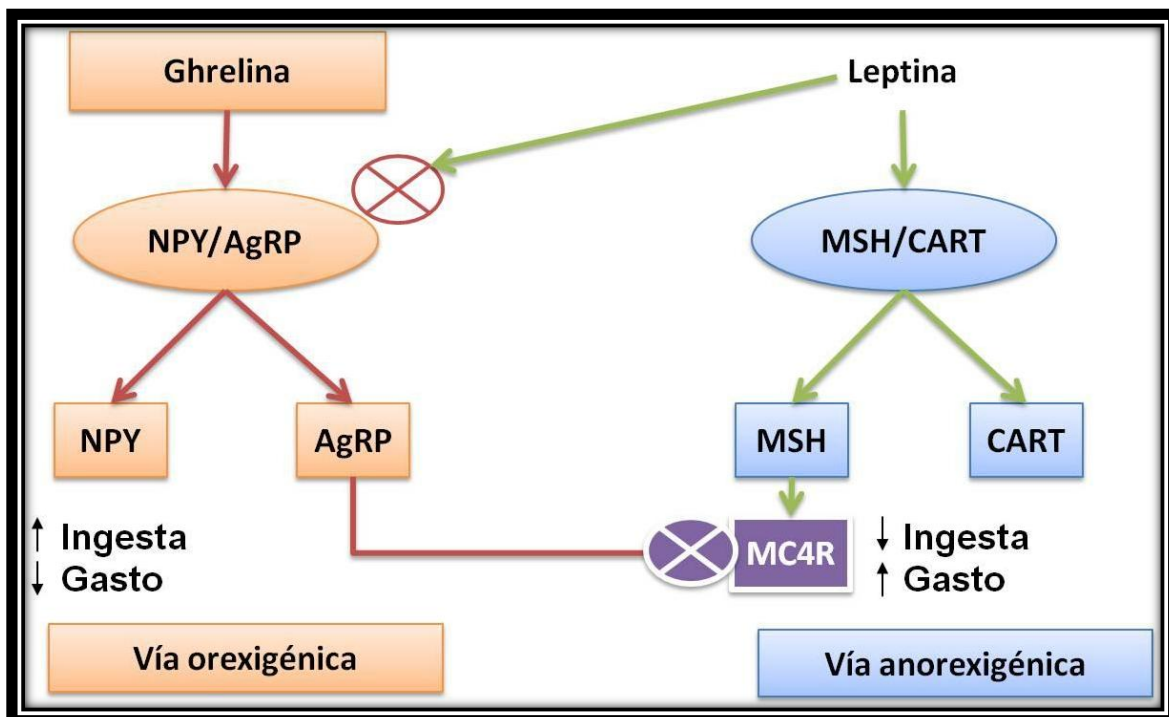


Figura 7. Vía orexigénica y anorexigénica reguladoras de la ingesta alimentaria

2.4.5. Leptina en el embarazo

En las etapas más tempranas del embarazo las concentraciones de leptina aumentan lo que indica que esas concentraciones no sólo se originan por la ganancia de peso. Los niveles circulantes de leptina se alcanzan a duplicar o triplicar en comparación con las no embarazadas, con un pico que ocurre alrededor de las 28 semanas de gestación y una disminución en el periodo pregrávido.

La leptina en el embarazo normal desempeña un papel funcional en la implantación, además induce la producción de gonadotropina coriónica humana (HGC) en células trofoblásticas, regula el crecimiento de la placenta, aumenta la mitogénesis y estimula el consumo de aminoácidos⁷.

Una de las posibles funciones de los niveles elevados de leptina en embarazadas, es permitir la movilización de las reservas de grasa de la madre y transferir sustratos de lípidos mediante la placenta. La concentración de leptina en el cordón umbilical está relacionado con el peso del recién nacido²¹. El tejido adiposo fetal produce leptina; sin embargo la disminución en los niveles neonatales luego del nacimiento denotan que la placenta cumple un rol fundamental como contribuyente a la leptina fetal

2.4.5.1. Leptina en la implantación

Los embriones humanos en preimplantación expresan ARNm de leptina exclusivamente en la fase de blastocisto, sin embargo los receptores de leptina se encuentran en el embrión a lo largo de todos los estadios preimplantatorios. El endometrio requiere de leptina para ser receptivo a la implantación de un blastocisto en la fase secretoria media. La expresión de ARNm de leptina en la fase de blastocisto del embrión en preimplantación y su efecto en la activación de la leptina endometrial, sugiere un papel de la leptina en el diálogo entre el blastocisto, el endometrio y la receptividad del mismo⁷.

2.4.5.2. Expresión y regulación de la leptina en placenta

La leptina es producida en placenta a niveles similares a los de tejido adiposo durante un embarazo normal. La expresión del gen de leptina puede ser detectada en placenta humana por northern blot. La leptina es expresada en los sincitiotrofoblastos que están expuestos a la sangre materna y en las células endoteliales vasculares fetales que están en contacto directo con la sangre fetal⁷.

La leptina que se sintetiza en placenta es liberada en circulación materna en un 95%, mientras que un 5% se libera en la circulación fetal. La tasa de liberación de leptina al lado fetal es mucho mayor que para otras hormonas derivadas de placenta como la hormona lactógeno placentaria (HPL) y la HGC⁷.

La presencia de leptina y de sus receptores en los tejidos placentarios indica que la hormona puede ejercer acciones biológicas localmente o en sitios adyacentes a su síntesis. Una vez unida a su receptor, la leptina desencadena efectos locales, o periféricos, opuestos a sus efectos centrales en el hipotálamo. Estos efectos están relacionados con la propiedad de leptina de regular el crecimiento placentario, lo cual podría llevar a hipertrofia placentaria en condiciones de sobreproducción de leptina. La leptina también estimula la angiogénesis en cultivos primarios de células endoteliales humanas⁷.

La leptina detectada en placenta humana se considera idéntica a la leptina de origen adiposo, en relación al tamaño, carga y la inmunoreactividad⁷.

2.4.6. Leptina en DMG

El embarazo es un estado progresivo de resistencia a la insulina. Esta resistencia a la insulina es el resultado de la combinación de una adiposidad materna elevada y los efectos desensibilizantes de hormonas placentarias como estrógenos y cortisol que estimulan la producción de leptina, este suceso se encuentra incrementado en DMG³¹.

Se sabe que hay un sistema de retroalimentación entre el tejido adiposo y las células β del páncreas a través de las hormonas leptina e insulina respectivamente. Entre la leptina y la insulina existe una perfecta homeostasis ya que se regulan mutuamente. Así, la leptina inhibe la producción de insulina en las células β del páncreas mientras que la insulina estimula la producción de leptina en el adipocito⁸. Sin embargo, en un estado de resistencia a leptina caracterizado

por hiperleptinemia, se pierde la homeostasis entre estas moléculas, de tal manera que la leptina deja de inhibir la producción de insulina en el páncreas, conduciendo a una fase de hiperinsulinemia, resistencia a esta hormona y una adiposidad en feto incrementada. Asimismo, se ha demostrado que la leptina puede ser capaz de producir resistencia a la insulina en el hígado. La leptina al encontrarse asociada con la hiperinsulinemia crónica a finales del segundo trimestre de la gestación sugiere que la leptina es primordialmente un señalador de la adiposidad a largo plazo y no una señal de saciedad a corto plazo^{31,32}.

La leptina puede actuar como un modulador de respuesta inmune, participa como citocina antiinflamatoria con efectos directos sobre los monocitos, al incrementar la expresión y liberación de la citocina antiinflamatoria IL1 β , y viceversa. La IL1 β disminuye la expresión de leptina tanto a nivel de ARNm como de proteína, manteniendo un equilibrio de marcadores inflamatorios en individuos sanos. Sin embargo, en ciertas ocasiones la leptina puede fungir como citocina proinflamatoria²². Este fenómeno se da cuando existe un estado de resistencia a la leptina, por lo que el equilibrio se pierde y la balanza se inclina hacia la generación de un estado inflamatorio crónico que aumenta la producción de leptina, las concentraciones de leptina elevadas, a su vez amplifican la inflamación, ya que los niveles de leptina elevados junto con la hiperglucemia en mujeres con DMG generan estrés oxidativo que provoca la liberación de mediadores inflamatorios^{9,14}. También se ha observado que en el tejido adiposo TNF α , estimula la expresión de la leptina y ésta a su vez retroalimenta la producción de TNF α , el cual estimula la producción de IL6 y la inhibición de PPAR γ , que es el regulador de adiponectina, produciendo un aumento en las citocinas proinflamatorias y un descenso en las antiinflamatorias. Las citocinas desreguladas por la leptina participan en la generación de resistencia a la insulina. Por ejemplo, TNF α produce una fosforilación en el receptor de insulina y en los sustratos de receptor de insulina (SRI), provocando alteraciones en la unión de insulina con su receptor y en la señalización que desencadena esta unión, concluyendo con resistencia a la insulina.

La elevación de leptina circulante durante el embarazo y en DMG podría explicarse ya sea por el aumento de la secreción de leptina a partir del tejido adiposo materno y/o la producción placentaria de leptina. Este suceso puede estar confirmado por la disminución de los niveles de leptina que hay después del parto³³, lo que indica que la producción placentaria de leptina es uno de los principales orígenes de la elevación de leptina circulante durante el embarazo. No se han encontrado motivos suficientes para pensar que el tejido adiposo fetal contribuya de manera significativa en el aumento de los niveles de leptina³⁴.

Hay controversia en la relación entre leptina y DMG ya que a pesar de que se han realizado varios estudios los resultados han sido diferentes. Mientras que muchos estudios han informado que los niveles de leptina antes del parto son mayores en las mujeres con DMG, otros no han encontrado diferencias e incluso algunos otros han reportado concentraciones de leptina disminuidas en las mujeres con DMG. Estas variaciones pueden ser debidas a que estos estudios se han limitado por 1) número de mujeres con DMG, 2) la heterogeneidad en el estado de tolerancia a la glucosa de los comparadores, y 3) diferentes grados de ajuste para posibles factores de confusión, 4) el momento de la recogida de sangre materna (edad gestacional) o 5) diferencias entre los grupos étnicos³⁵.

La leptina se encuentra persistentemente elevada en mujeres con DMG después del parto y se asocia con hiperglucemia, resistencia a la insulina y grasa corporal, por lo que se le ha propuesto como un biomarcador de riesgo de diabetes. A este respecto se ha reportado que las mujeres que amamantan tienen un menor riesgo de desarrollar DM2. El mecanismo para ejercer estos efectos aún se desconoce pero aparentemente la lactancia moviliza el tejido adiposo acumulado durante el embarazo y el alimentar con leche materna “restablece” el metabolismo materno después del embarazo. También se ha encontrado una relación positiva entre la duración de la lactancia y niveles de colesterol HDL, así como una relación negativa con el riesgo de hipertensión. Sin embargo no se ha encontrado relación entre la duración de la lactancia y niveles de leptina maternos³⁶.

3. Planteamiento del problema

La prevalencia de diabetes gestacional a nivel mundial se ha estimado en 7 %. En México, dependiendo de la prueba, los criterios diagnósticos utilizados y de la población estudiada se ha reportado entre 3% y 19.6%. Más del 90% de los casos de diabetes que complican a un embarazo son casos de diabetes gestacional². El padecimiento de obesidad en mujeres desde edades tempranas favorece el desarrollo de DMG.

Los datos de leptina en DMG han sido motivo de controversia. La mayoría de los estudios han encontrado elevadas concentraciones de leptina en DMG. Por otra parte, la hiperleptinemia en el embarazo temprano parece ser predictivo de un mayor riesgo de desarrollar DMG independientemente de la adiposidad materna, a su vez la DMG parece ser una manifestación temprana de DM2 pues estudios de seguimiento han demostrado que 50% de las mujeres con DMG desarrollan diabetes tipo 2 en un lapso de 10 años posteriores al evento obstétrico. La identificación temprana de este padecimiento permite la valoración longitudinal de parámetros metabólicos que conducen al desarrollo de DM2, por lo tanto se considera un modelo excelente para estudios de prevención de DM2.

Por eso se planea evaluar la relación entre los niveles de leptina en mujeres con DMG y la resistencia a la insulina, así como determinar si esta relación persiste en el posparto.

4. Objetivo

Evaluar la relación entre los niveles de leptina y resistencia a la insulina durante el embarazo y posparto en mujeres con diabetes mellitus gestacional.

5. Hipótesis del trabajo

Los niveles de leptina en mujeres con DMG se encontrarán elevados con respecto al grupo control, estos niveles estarán asociados con resistencia a la insulina y persistirán elevados en aquellas que presenten alteración en el metabolismo de glucosa en el posparto.

6. Diseño experimental

6.1. Tipo y población de estudio, criterios de inclusión, exclusión y eliminación.

Se realizó un estudio prospectivo comparativo, la población de estudio fueron mujeres mexicanas embarazadas; 50 mujeres con diabetes mellitus gestacional y 50 embarazadas sanas. Los criterios de inclusión para el grupo de estudio fueron: mujeres con diabetes mellitus gestacional diagnosticada por una prueba de tolerancia oral a la glucosa de 2 h con 75 g de glucosa a las 24-28 semanas de gestación. Los valores de corte fueron >110 mg/dl en ayunas y >140 mg/dl a las 2h^{1,2,13}.

El criterio de inclusión para el grupo control fueron mujeres con embarazo normotenso y euglucémico. Los criterios de exclusión fueron hipertensión arterial, enfermedad renal, enfermedad hepática, trastornos de la tiroides, o enfermedades crónicas, mientras que los criterios de eliminación fueron que la paciente no acudiera a sus evaluaciones programadas.

6.2. Material y método

Las muestras se obtuvieron de la Unidad de Alta Especialidad Hospital de Gineco-Obstetricia No.3 La Raza del IMSS y su procesamiento se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endocrinas, Diabetes y Metabolismo, CMN Siglo XXI IMSS. Se les tomó una muestra venosa en el periodo de 26-34 semanas de gestación (SDG), se evaluó la presión arterial y realizó una historia clínica para conocer si tenían familiares con diabetes, así como sus antecedentes obstétricos y médicos. Se les solicitó a las participantes del estudio que regresaran a una evaluación posparto a las 6 semanas del alumbramiento.

Se obtuvieron muestras de sangre venosa para los análisis bioquímicos; la medición de glucosa se realizó por el método de glucosa oxidasa, los triglicéridos y colesterol total se determinaron mediante método enzimático colorimétrico. El índice de masa corporal se calculó como el peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la talla en metros. El grado de resistencia a la insulina se estimó por medio del modelo homeostático para la evaluación de resistencia a la insulina

(HOMA-IR) con la fórmula: glucosa de ayuno (mmol/l) x insulina en ayuno (mU/l) / 22.5.

Las muestras para la determinación de leptina e insulina se conservaron a una temperatura de -70°C hasta el día de su procesamiento. Los niveles de insulina y leptina se determinaron por medio de radioinmunoanálisis (RIA).

En el radioinmunoanálisis se utiliza una hormona marcada con un isótopo radioactivo (Insulina o leptina + I¹²⁵) que esencialmente es idéntica a la hormona que se desea medir (insulina o leptina); se introduce una cantidad conocida de este antígeno marcado en una disolución que contenga un anticuerpo para el antígeno (anti-leptina, anti-insulina). A la vez, también se introduce una cantidad conocida del antígeno no marcado (muestra problema) en la disolución. Entonces se ha formado una disolución que contiene antígeno marcado, antígeno no marcado y anticuerpo. Las concentraciones del antígeno marcado y del anticuerpo son constantes, la única variable del sistema es la concentración de antígeno no marcado. La competencia de moléculas de hormona no marcadas con las marcadas radiactivamente por los mismos lugares de unión en el anticuerpo origina una disminución de la cantidad de material marcado unido en la disolución final. A medida que aumentan las cantidades de antígeno no marcado presente, los limitados lugares de unión del anticuerpo se van saturando progresivamente y en consecuencia se une menos antígeno marcado (Figura 8). Al centrifugar, la hormona libre queda en solución y la hormona unida al anticuerpo forma agregados fácilmente precipitables. Los resultados se obtienen al medir la radiactividad del complejo mediante un contador de centelleo, una vez medida la radiactividad, utilizando los calibradores de concentración conocida, se prepara una curva estándar a partir de la cual se interpola las cuentas obtenidas para obtener la concentración de antígeno en la muestra (Anexo1).

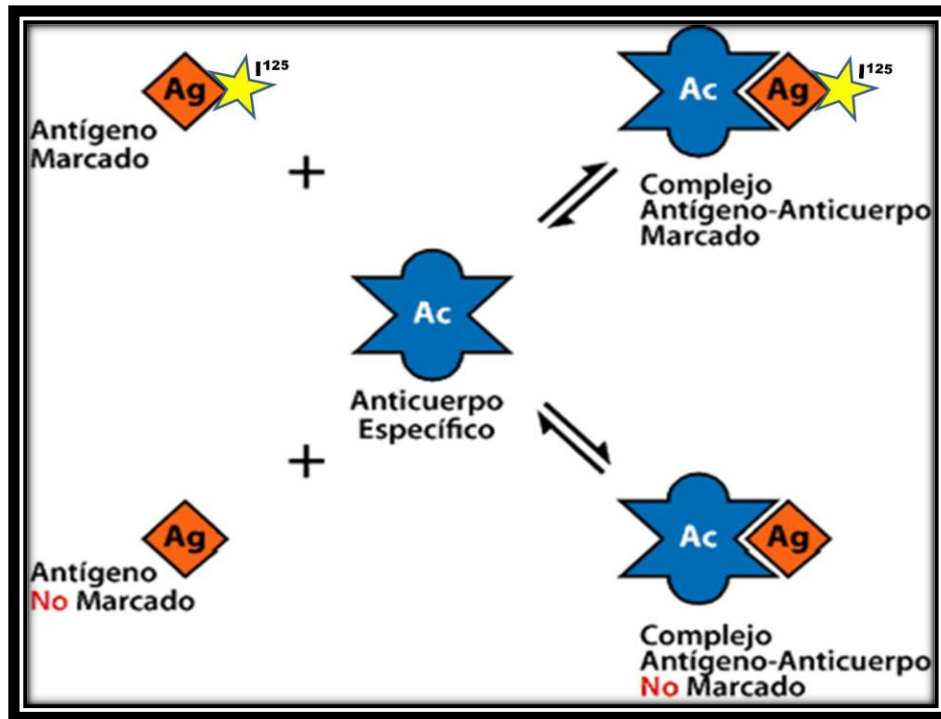


Figura 8. Competencia entre antígeno marcado y no marcado.

6.3. Diseño estadístico

Se describieron los datos mediante el promedio y desviación estándar ($\bar{X} \pm DE$). Se realizó la prueba de “t pareada” para saber si había diferencias intragrupal y la prueba de “t” para grupos independientes para saber si había diferencias intergrupales. Para correlacionar las variables se realizó la prueba de Pearson. Se utilizó la prueba de χ^2 para analizar diferencia entre proporciones.

7. Resultados

Se evaluaron 50 mujeres con DMG y 50 pacientes con embarazo normal (control) en el último trimestre de gestación (30 ± 3.6 SDG); sin embargo solo acudieron a sus evaluaciones posparto 33 pacientes con DMG y 34 con un embarazo normal por lo que se realizó el análisis únicamente en aquellas pacientes que tuvieron las dos evaluaciones. El 94% de las pacientes con DMG se sometieron a una dieta en promedio de 1641 Kcal/día y el 58% requirieron tratamiento con insulina. Las mujeres con DMG eran de mayor edad y peso previo a la gestación que el grupo control, asimismo presentaban una mayor proporción de familiares directos con DM2 (Tabla 5).

Tabla 5. Características previas y durante la gestación de las participantes.

	Control	DMG
<i>Previas a la gestación</i>		
n	34	33
Edad (años)	27.9 \pm 5.1	31.6 \pm 5.5*
Peso (kg)	56.6 \pm 9.4	72.0 \pm 14.4*
IMC (kg/m²)	23.7 \pm 3.5	30 \pm 5.3*
Familiares directos DM2 (%)	23.5	65.6*
DMG previa (%)	0	24.2*
Antecedente de hijo macrosómico (%)	2.9	9.4
Gestas previas (n)		
0	9	6
1	14	9
2	8	13
3	2	3
4	1	2
Partos (%)	50	36.5
Cesáreas (%)	27.5	42.3*
Abortos (%)	22.5	21.2
<i>Durante la gestación</i>		
n	34	33
Peso (kg)	65.3 \pm 9.5	78.6 \pm 13.1*
IMC (kg/m²)	27.6 \pm 3.9	32.9 \pm 4.8*
Ganancia de peso (kg)	8.5 \pm 3.8	6.6 \pm 6.7
Glucosa (mg/dl)	70.8 \pm 10.1	115.8 \pm 53.0*
Colesterol (mg/dl)	266.6 \pm 57.5	244.9 \pm 46.4
Triglicéridos (mg/dl)	247.4 \pm 89.4	296.4 \pm 116.0
Leptina (ng/ml)	23.3 \pm 11.7	20.2 \pm 6.1
Insulina (μU/ml)	9.9 \pm 10.2	49.9 \pm 68.6*
RI	1.8 \pm 2.0	15.4 \pm 20.6*

*p<0.05 Control-DMG

En cuanto a los marcadores bioquímicos los niveles de glucosa e insulina fueron más elevados en el grupo con DMG, sin embargo los niveles de leptina no presentaron una diferencia significativa. Además la resistencia a la insulina fue mayor en mujeres con DMG (Figura 9). No se encontró asociación entre leptina y resistencia a la insulina.

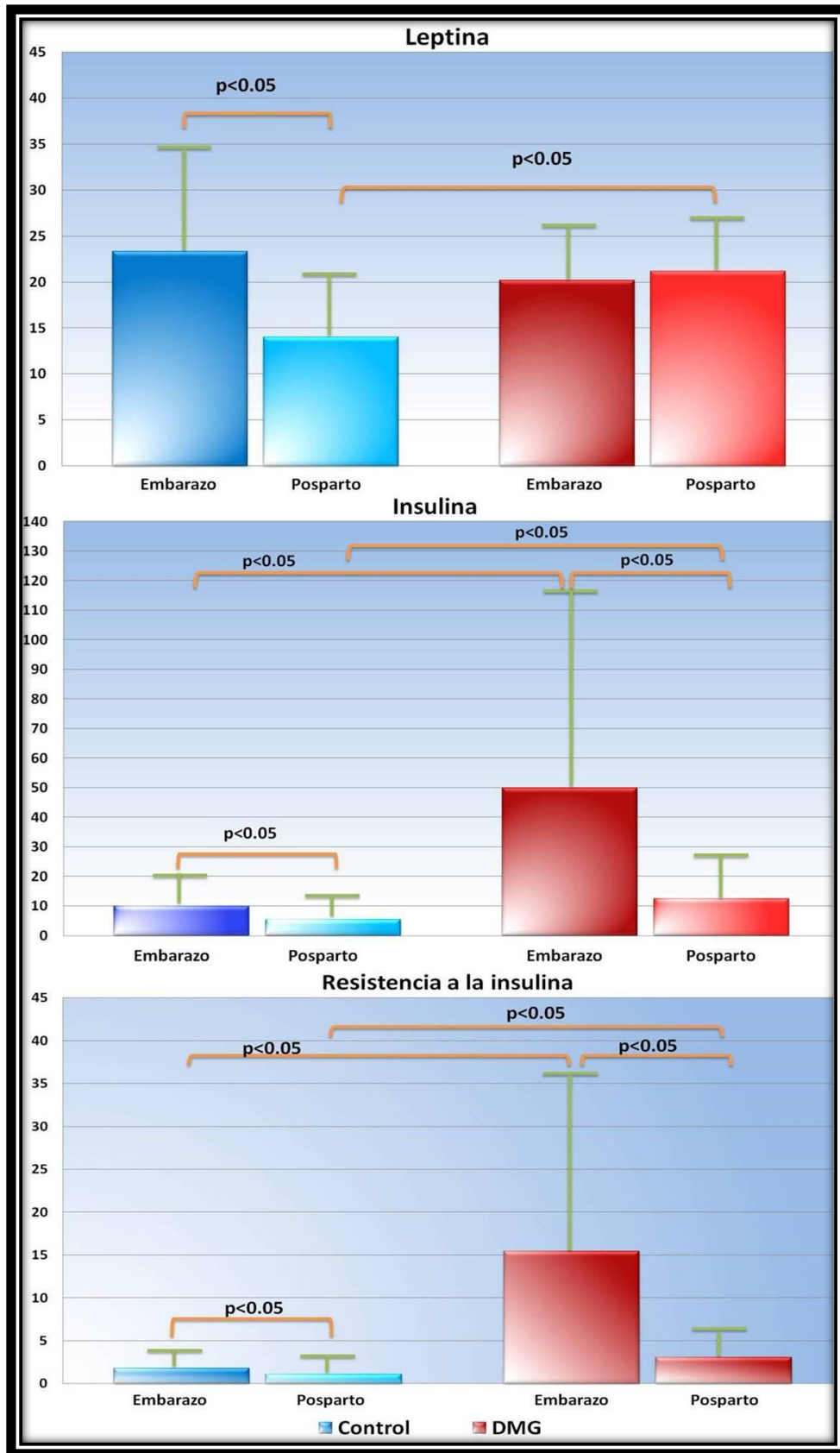


Figura 9. Niveles de leptina, insulina y resistencia a la insulina

Se invitó a las participantes a una evaluación posparto a las seis semanas concluida la gestación para determinar su metabolismo de glucosa mediante una prueba de glucosa en ayunas y las que dieron su consentimiento se les realizó una prueba de tolerancia a la glucosa. El 46% de las pacientes presentaron un metabolismo de glucosa normal, el 24% presentaron glucosa de ayuno alterada, el 18% intolerancia a la glucosa y el 12% DM2.

Los resultados de las pruebas realizadas a las seis semanas posparto se compararon con los del embarazo y se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Comparación entre las pruebas realizadas a las 6 semanas posparto y el embarazo

	Control		DMG	
	Embarazo	Posparto	Embarazo	Posparto
Peso (kg)	65.3 ± 9.5	59.3 ± 9.4*	78.6 ± 13.1 ■	71.1 ± 13.2* ■
IMC (kg/m²)	27.6 ± 3.9	25 ± 3.8*	32.9 ± 4.8 ■	29.7 ± 4.8 ■
Glucosa (mg/dl)	70.8 ± 10.1	77.2 ± 10.5*	115.8 ± 53.0 ■	88.4 ± 19.7 ■
Colesterol (mg/dl)	266.6 ± 57.5	230.5 ± 49.0*	244.9 ± 46.4	231.7 ± 50
Triglicéridos (mg/dl)	247.4 ± 89.4	153.5 ± 91.1*	296.4 ± 116	198.7 ± 86.1* ■
Leptina (ng/ml)	23.3 ± 11.7	14 ± 7.4*	20.2 ± 6.1	21.2 ± 6.0 ■
Insulina (μU/ml)	9.9 ± 10.2	5.4 ± 7.0*	49.9 ± 68.6 ■	12.4 ± 15.0* ■
RI	1.8 ± 2.0	1.1 ± 1.6*	15.4 ± 20.6 ■	3.1 ± 3.5* ■

* p<0.05 embarazo-posparto

■ p<0.05 control-DMG

En el grupo control todas las variables evaluadas a excepción de la glucosa disminuyeron una vez concluida la gestación, incluida la leptina; a diferencia de las mujeres con DMG que únicamente disminuyeron peso, triglicéridos, insulina y resistencia a la insulina. Las mujeres con DMG persistieron con mayor peso, IMC y niveles más altos de glucosa, triglicéridos, leptina, insulina, resistencia a la insulina que el grupo control.

Se encontraron asociaciones positivas de leptina con peso, IMC, insulina y resistencia a la insulina en el grupo control (Figura 10).

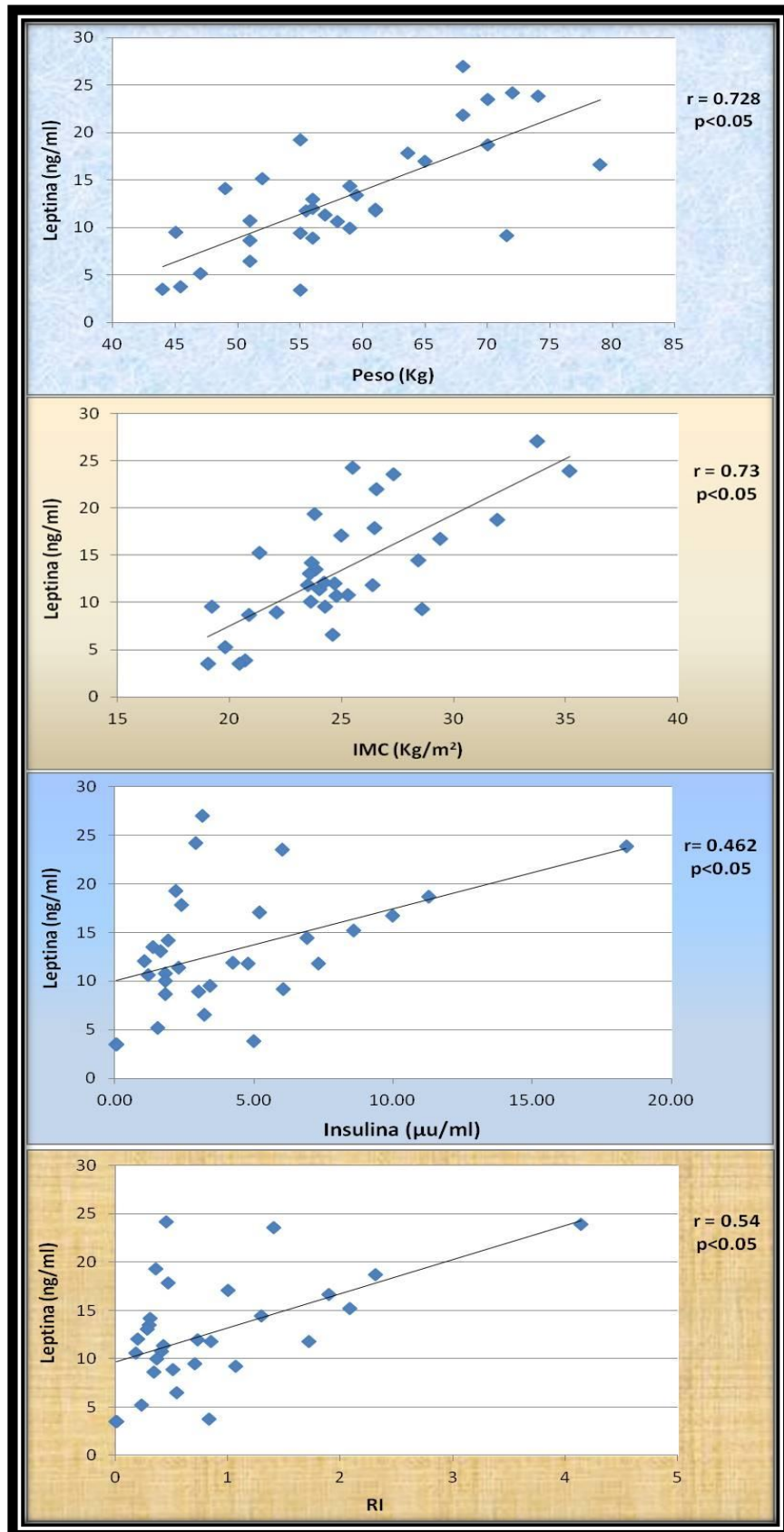


Figura 10. Relación de leptina con peso, IMC, insulina y RI en grupo control

Además de las características de la madre, se evaluaron características del recién nacido. Se clasificó a los recién nacidos de acuerdo a la relación entre el peso al nacimiento y su edad gestacional en grandes para su edad gestacional (GEG), adecuados para su edad gestacional (AEG) y pequeños para su edad gestacional (PEG) utilizando los criterios establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-1993³⁷ (Anexo2). Se observó que el mayor porcentaje de nacimientos pretérmino corresponden a los hijos de las mujeres con DMG. Lo mismo sucede con los RN grandes para su edad gestacional (Tabla 7).

Tabla 7. Características de los recién nacidos

	Control	DMG
N	34	34
Peso al nacer (kg)	3.0 ± 0.7	3.1 ± 0.7
Talla (cm)	50 ± 2.2	49.4 ± 4.4
Edad gestacional (semanas)	38.2 ± 2.3	36.4±1.9*
PEG (%)	2.9	9.4
AEG (%)	91.2	59.4*
GEG (%)	5.9	31.3*
Pretérmino (%)	14.7	45.2*
Termino (%)	85.3	54.8*
Postérmino (%)	0	0
Partos (%)	47.1	2.9*
Cesáreas (%)	52.9	97.1*

*p<0.05 controles-DMG

Asimismo se encontró que los RN del grupo control nacieron a una mayor edad gestacional y nacieron en mayor porcentaje por parto, mientras que los RN de madres con DMG nacieron principalmente por cesáreas.

Por otra parte se evaluó el efecto de la lactancia en el posparto; se observó que en el grupo control las mujeres que alimentaban con leche materna presentaban menores niveles de leptina, triglicéridos, insulina y resistencia a la insulina a diferencia del grupo con DMG en el que no se encontró efecto de la lactancia en ningún parámetro bioquímico (Tabla 8).

En el análisis intergrupar se encontraron menores niveles de los parámetros evaluados (a excepción del colesterol) en las pacientes del grupo control que amamantaban comparadas con las del grupo DMG que amamantaban.

Tabla 8. Características de las madres en relación a la lactancia.

	Controles		DMG	
	Sin lactancia materna	Lactancia materna	Sin lactancia materna	Lactancia materna
(%)	14.7	85.3	15.2	84.9
Peso (kg)	64.5 ± 11.8	58.4 ± 8.8	65.8 ± 6.9	72.0 ± 13.9 ■
IMC (kg/m²)	27.9 ± 4.3	24.5 ± 3.6	28.8 ± 3.0	29.9 ± 5.1 ■
Glucosa (mg/dl)	83.0 ± 12.3	76.2 ± 10.1	94.4 ± 8.4	100.3 ± 21 ■
Colesterol (mg/dl)	201.1 ± 32.8	235.5 ± 50	239.6 ± 57.2	230.2 ± 49.7
Triglicéridos (mg/dl)	242.2 ± 101.5	138.4 ± 81.6*	241.9 ± 99.5	191.0 ± 83.1 ■
Leptina (ng/ml)	21.9 ± 10.3	12.7 ± 6.1*	23.2 ± 5.3	20.8 ± 6.2 ■
Insulina (μU/ml)	14.9 ± 14.2	3.7 ± 2.9*	11.8 ± 5.3	12.5 ± 16.2 ■
RI	3.2 ± 3.2	0.7 ± 0.6*	2.9 ± 1.5	3.1 ± 3.8 ■

* p<0.05 Sin lactancia materna – lactancia materna

■ p<0.05 Control – DMG

8. Discusión

Como se esperaba, el grupo de mujeres que padecieron diabetes mellitus gestacional presentó varios factores de riesgo característicos de la enfermedad^{3,7} como es edad mayor a 25 años, familiares directos con diabetes, DMG previa, IMC mayor a 25, así como mayor número de cesáreas. Durante el embarazo también presentaron mayores niveles de glucosa, insulina y resistencia a la insulina. Esto es debido a que las células β del páncreas de mujeres con este padecimiento son incapaces de incrementar significativamente la secreción de insulina para compensar el estado progresivo de resistencia periférica a la insulina que se presenta a partir de la semana 24 de gestación y que tiene el propósito de dirigir los nutrientes hacia el feto en desarrollo³⁸.

Se ha encontrado que los niveles de leptina se incrementan durante el embarazo debido a un aumento en la secreción de leptina a partir del tejido adiposo materno y a la producción placentaria de esta hormona (se considera que la placenta contribuye con el 16% de la concentración materna de leptina circulante)³⁹. Además diversas hormonas placentarias como estrógenos y cortisol estimulan la producción de leptina.

En este estudio no se encontraron diferencias durante el embarazo en los niveles de leptina entre mujeres con DMG y mujeres con un metabolismo normal de glucosa; esto concuerda con algunos otros estudios^{32,40,41}. Sin embargo hay discrepancias respecto a otros artículos ya que también se han reportado niveles de leptina elevados^{31,35,42,43}, e incluso también se han reportado niveles de leptina disminuidos en las mujeres con DMG^{34,44}. Esto puede ser explicado por diferencias en nuestro grupo de estudio como el elevado IMC en las pacientes con DMG, mayor edad y peso, grupo étnico, el criterio utilizado para el diagnóstico de DMG, semana de gestación en que se recolectó la muestra, método de medición de leptina, número de pacientes analizadas y el estilo de vida. La mayoría de los estudios publicados antes de la realización de este proyecto fueron realizados en poblaciones europeas y asiáticas, las cuales por su origen étnico tienen una menor predisposición a padecer DMG y distan mucho de la composición física y costumbres alimenticias de nuestra población.

El tejido adiposo mantiene una retroalimentación con las células β del páncreas a través de la leptina e insulina respectivamente³⁴. La leptina inhibe la producción de insulina en las células β donde se encuentran presentes receptores de leptina funcionales, por lo tanto el efecto supresor que ejerce la leptina sobre la insulina pudiera estar mediado a través de esos receptores; mientras que la insulina

estimula la producción de leptina en el adipocito donde el metabolismo de la glucosa parece ser un determinante importante en la regulación de la expresión y secreción de leptina⁸. Sin embargo no se encontró asociación entre leptina e insulina en las pacientes con DMG, probablemente por un estado de resistencia a leptina, el cual podría estar causado por diversos factores como una saturación de su sistema de transporte a través de la barrera hematoencefálica, cambios en el patrón de expresión de las distintas isoformas de su receptor o a fallas en el mecanismo de señalización post-receptor⁴⁵. Esta resistencia a la leptina se caracteriza por una hiperleptinemia, la cual aunada al período de resistencia a la insulina propio del embarazo hace que se pierda la homeostasis entre la leptina e insulina, de tal manera que la leptina deja de inhibir la producción de insulina en el páncreas, conduciendo a una fase de hiperinsulinemia y RI periférica afectando principalmente a hígado, músculo esquelético y adipocitos ya que en estos tejidos se expresa el receptor de leptina y por consiguiente la leptina puede influir en la sensibilidad a la insulina en estos tejidos^{31,32}. Un dato que apoya esta teoría son los mayores niveles de insulina y RI que presentaron las mujeres con DMG. La falta de correlación entre leptina y RI pudo deberse a deficiencias propias del método utilizado para calcular la resistencia a la insulina, ya que el método HOMA refleja fundamentalmente la resistencia a nivel hepático que es la que predomina en ayunas, dejando de lado la RI muscular y del tejido adiposo; aunque habitualmente la resistencia hepática constituye una parte importante del total de la RI, este aspecto se debe tener en cuenta, dado que la fisiopatología de la intolerancia a la glucosa y la diabetes es heterogénea y el grado de participación de la resistencia hepática a la insulina no es el mismo en todos los individuos⁴⁶.

En relación al posparto, las mujeres con DMG persistieron con niveles de leptina elevados a diferencia del grupo control que presentó una disminución significativa de leptina. Las mujeres con DMG continuaron teniendo problemas de sobrepeso u obesidad, a diferencia del grupo control donde el 60% regreso a un peso normal. Los niveles de insulina y RI presentaron una disminución en ambos grupos, sin embargo estos parámetros permanecieron más altos en las mujeres con DMG lo que puede estar relacionado con la regulación que se mencionó previamente entre insulina y leptina.

Las asociaciones que se esperaban obtener no se identificaron en mujeres con DMG, únicamente se encontraron en el grupo control. Estas relaciones son leptina-peso de la madre, leptina-IMC, leptina-insulina y leptina-RI. En estas mujeres desaparece el estado fisiológico de resistencia a la insulina del embarazo por lo que se regresa a un estado "normal", a diferencia de las mujeres con DMG previa que persisten con resistencia a la insulina y a la leptina por lo que se pierde la regulación entre ambas hormonas.

En diversos estudios se ha descrito que la leptina materna se asocia con el peso del producto^{47,48}, por ello se decidió evaluar algunas características del recién nacido y determinar si la leptina se asociaba con alguna de ellas. Se observó que los hijos de mujeres con DMG nacieron principalmente por cesáreas y fueron en mayor proporción grandes para su edad gestacional, sin embargo no se encontró asociación entre los niveles de leptina circulante y el peso del producto. No obstante, se ha reportado que los niveles de leptina en cordón umbilical están relacionados positivamente con el peso, talla y niveles de insulina al momento del nacimiento⁴⁹.

La resistencia a la leptina materna se asocia con una mayor adiposidad en el feto. En este estudio se observó que los hijos de mujeres con DMG nacieron con el mismo peso que los hijos del grupo control, pero a una menor edad gestacional lo cual es perjudicial para la salud del recién nacido ya que presentan un mayor riesgo de morbi-mortalidad.

Por otra parte, se evaluó el efecto de la lactancia sobre algunas características de la madre, ya que se ha descrito que la lactancia además de ser benéfica para el recién nacido reduce el riesgo de la madre a desarrollar DM2⁵⁰. Se observó que en el grupo control las mujeres que alimentaban con leche materna presentaban menores niveles de leptina, triglicéridos, insulina y resistencia a la insulina esto puede deberse a que la lactancia ejerce algún efecto sobre el metabolismo del tejido adiposo mediante la movilización de los lípidos acumulados en hígado y músculo hacia la leche materna en lugar de redirigir los lípidos hacia los adipocitos que ya se encontraban agrandados; por consiguiente una mujer no lactante podría estar en mayor riesgo de almacenamiento de lípidos en tejido adiposo y no adiposo que resulta en un nuevo compromiso del equilibrio entre la secreción y sensibilidad a la insulina^{36,51}; sin embargo en el grupo con DMG no se encontró efecto de la lactancia en ningún parámetro bioquímico.

En el análisis intergrupar se encontraron menores niveles de IMC, glucosa, colesterol, triglicéridos, leptina, insulina, RI en las pacientes del grupo control que amamantaban comparadas con las del grupo DMG que amamantaban lo que sugiere que el alimentar con leche materna restablece el metabolismo materno después del embarazo únicamente en mujeres con metabolismo normal de glucosa.

Las pacientes con DMG tienen una mayor probabilidad de desarrollar DM2 terminada la gestación por lo que se sugiere evaluar su metabolismo de glucosa a las seis semanas posparto. En este estudio menos del 50% de las pacientes regresó a un metabolismo normal de glucosa, lo cual es un problema ya que a su

corta edad tienen mayor riesgo de desarrollar diversas complicaciones como retinopatías, insuficiencia renal, amputaciones, enfermedad coronaria y problemas en embarazos posteriores ya que están expuestas a los efectos de la hiperglucemia por períodos más prolongados, comparados con los sujetos que desarrollan la enfermedad después de la quinta o sexta década de vida⁵². Por tratarse de un padecimiento incurable, los pacientes deben recibir tratamiento durante toda su vida lo cual impacta en la economía del paciente y su familia, en la calidad de vida y en diversos ámbitos psicosociales. En el aspecto económico, la enfermedad también representa una fuerte inversión por parte de los sistemas de salud, en México los costos directos (tratamiento de la enfermedad y prevención de complicaciones) e indirectos (complicaciones crónicas, incapacidades, gastos por mortalidad) de la enfermedad ascienden respectivamente a 100 y 330 millones de dólares anuales^{52,53}.

Las consecuencias sociales de padecer esta enfermedad conllevan a un deterioro en las relaciones personales, el hecho de tener hábitos de alimentación distintos lleva a los pacientes a dejar de hacer ciertas actividades, mientras que en lo laboral puede afectar su rendimiento y desencadenar en ausentismo o renuncia, por lo tanto la aplicación de medidas de prevención en los niveles primarios y secundarios de salud son necesarias; la aproximación terapéutica en el tratamiento debe incluir la comprensión de sus ramificaciones sociales, psicológicas y psiquiátricas si se desea alcanzar el bienestar del paciente y la prevención de complicaciones. El seguimiento de estas pacientes no debe concluir al terminar la gestación ya que es prudente asesorarlas para adquirir un nuevo estilo de vida que impacte y concientice tanto a madres e hijos a sobrellevar y prevenir esta enfermedad ya que pertenecen a un grupo con mayor riesgo de morbi-mortalidad.

9. Conclusiones

El grupo de mujeres que padecieron diabetes mellitus gestacional presentó mayores niveles de glucosa, insulina y resistencia a la insulina durante el embarazo. Sin embargo los niveles de leptina fueron similares entre mujeres con DMG y mujeres embarazadas con tolerancia normal a la glucosa.

En el posparto las mujeres con DMG persistieron con resistencia a la insulina y con niveles de leptina elevados. En las mujeres del grupo control desapareció el estado fisiológico de resistencia a la insulina propio del embarazo; sus niveles de leptina disminuyeron y se asociaron con RI.

Los hijos de mujeres con DMG nacieron principalmente por cesáreas y fueron en mayor proporción GEG, sin embargo no se encontró asociación entre los niveles de leptina circulante y el peso del producto.

El alimentar con leche materna restablece el metabolismo materno después del embarazo únicamente en mujeres con metabolismo normal de glucosa.

10. Propuestas y/o recomendaciones

Si se desea tomar este trabajo como base para la realización de otro estudio, se recomienda: parear los grupos por edad y peso, evaluar a un mayor número de mujeres.

También es conveniente encontrar una forma de ayudar o motivar a las pacientes para que cumplan con sus evaluaciones programadas.

Se recomienda tomar acciones en conjunto entre las diversas especialidades del área de la salud y las pacientes, ya que se requiere una ayuda integral que incluya la participación de un médico obstetra que vigile el embarazo, junto con la colaboración de un nutriólogo que colabore con el control de la alimentación durante el embarazo, un químico que realice los análisis necesarios, psicólogos que le den un correcto enfoque al padecimiento de la paciente y un pediatra que monitorice la salud de los hijos de las pacientes. Además se requiere de la total cooperación de las pacientes y su pareja quienes deben ser los principales interesados en cuidar y preservar su salud; sin embargo la atención medica no debe de cesar con la etapa del alumbramiento, es muy importante que tanto a los hijos como a las madres se les realice un seguimiento continuo por que deben modificar su estilo de vida ya que ambos tienen un mayor riesgo de morbi-mortalidad.

11. Anexos

11.1. Procedimientos

Tabla 9 Procedimiento de radioinmunoensayo para determinación de Leptina.

Día 1					Día 2			Día 3
	Paso 1	Paso 2-3	Paso 4	Paso 5	Paso 6	Paso 7	Paso 8	Paso 9-12
Tubo	Agregar buffer de ensayo	Agregar estándar/controles	Agregar Anticuerpo anti-leptina	Vortex, cubrir e incubar de 20-24 horas a 4°C	Agregar leptina marcada ¹²⁵ I	Vortex, cubrir e incubar de 20-24 horas a 4°C	Agregar reactivo precipitante	Incubar 20 minutos a 4°C, centrifugar a 4°C por 20 minutos, decantar y contar
1-2	-	-	-		100µl		1 ml	
3-4	300µl	-	-		100µl		1 ml	
5-6	200µl	-	100µl		100µl		1 ml	
7-8	100µl	100µl de 1ng/ml	100µl		100µl		1 ml	
9-10	100µl	100µl de 2ng/ml	100µl		100µl		1 ml	
11-12	100µl	100µl de 5ng/ml	100µl		100µl		1 ml	
13-14	100µl	100µl de 10ng/ml	100µl		100µl		1 ml	
15-16	100µl	100µl de 20ng/ml	100µl		100µl		1 ml	
17-18	100µl	100µl de 50ng/ml	100µl		100µl		1 ml	
19-20	100µl	100µl control 1	100µl		100µl		1 ml	
21-22	100µl	100µl control 2	100µl		100µl		1 ml	
23-n	100µl	100µl de muestra desconocida	100µl		100µl		1 ml	

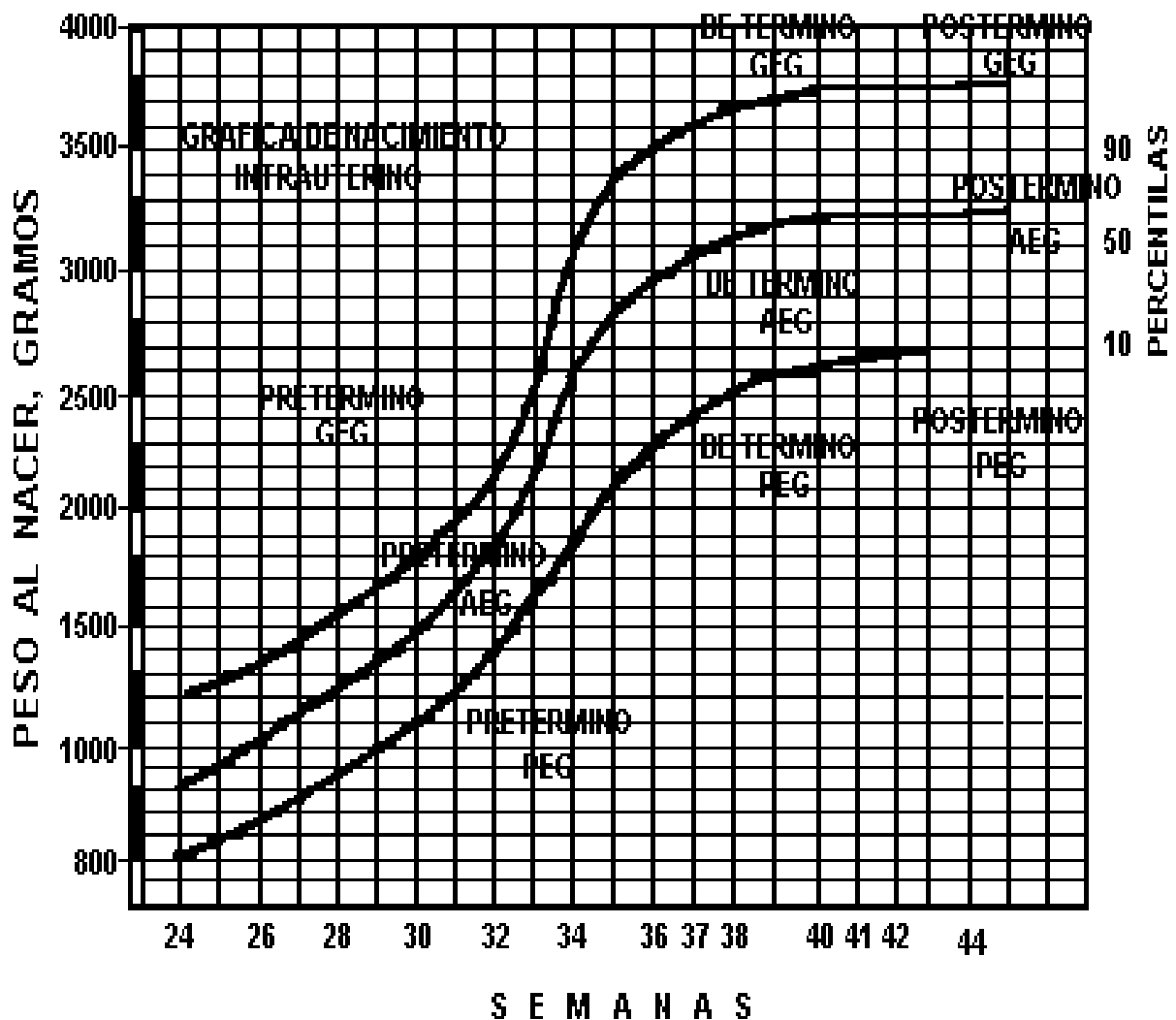
Tabla 10 Procedimiento de radioinmunoanálisis para determinación de Insulina humana

Día 1						Día 2		
	Paso 1	Paso 2-3	Paso 4	Paso 5	Paso 6	Paso 7	Paso 8	Paso 9-11
Tubo	Agregar buffer de ensayo	Agregar estándar/controles	Agregar Insulina marcada ¹²⁵ I	Agregar Anticuerpo anti-insulina	Vórtex, cubrir e incubar de 20-24 horas a temperatura ambiente	Agregar reactivo precipitante	Vórtex, incubar 20 minutos a 4°C	Centrifugara 4°C por 20 minutos, Decantar y contar.
1-2	-	-	100µl	100µl		-		
3-4	300µl	-	100µl	100µl		1 ml		
5-6	200µl	-	100µl	100µl		1 ml		
7-8	100µl	100µl de 3.125µU/ml	100µl	100µl		1 ml		
9-10	100µl	100µl de 6.25 µU /ml	100µl	100µl		1 ml		
11-12	100µl	100µl de 12.5 µU /ml	100µl	100µl		1 ml		
13-14	100µl	100µl de 25 µU /ml	100µl	100µl		1 ml		
15-16	100µl	100µl de 50 µU /ml	100µl	100µl		1 ml		
17-18	100µl	100µl de 100 µU /ml	100µl	100µl		1 ml		
19-20	100µl	100µl de 200 µU/ml	100µl	100µl		1 ml		
21-22	100µl	100µl de Control1	100µl	100µl		1 ml		
23-24	100µl	100µl de Control2	100µl	100µl		1 ml		
25-26	100µl	100µl muestra desconocida	100µl	100µl	1 ml			
27-n	100µl	100µl muestra desconocida	100µl	100µl	1 ml			

11.2. Clasificación de recién nacidos

PESO AL NACER EN RELACION CON LA EDAD GESTACIONAL

AMBOS SEXOS



PRETERMINO
 PEG- PEQUEÑO PARA EDAD GESTACIONAL
 AEG- ADECUADO PARA EDAD GESTACIONAL
 GEG- GRANDE PARA EDAD GESTACIONAL

TERMINO POSTERMINO

Dr. Jurado García

12. Referencias

1. American Diabetes Association. Gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* (Supplement 1). 2003; 26: S103-S105.
2. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2013. *Diabetes Care*. 2013; 36 Suppl 1:S4-10.
3. Guía de Práctica Clínica, Diagnóstico y tratamiento de la Diabetes en el Embarazo, México: Secretaria de salud; 2009.
4. Saucedo García R. La proteína de unión al retinol se asocia a la diabetes gestacional como un factor de riesgo directo para el desarrollo de diabetes 2 [tesis doctoral]. México, Universidad Nacional Autónoma de México; 2011.
5. García G. Diabetes mellitus gestacional. *Med Int Mex*. 2008; 24:148-56.
6. Castillo A. Diabetes mellitus gestacional: generalidades. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica*. 2011; LXVIII 109-113.
7. Maymó L. Regulación de la expresión de leptina y su acción en células placentarias [tesis doctoral], Argentina, Universidad de Buenos Aires; 2010.
8. Wauters M, Considine RV, Van Gaal LF. Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur J Endocrinol*. 2000;143:293-311.
9. Miehle K, Stepan H, Fasshauer M. Leptin, adiponectin and other adipokines in gestational diabetes mellitus and pre-eclampsia. *Clin Endocrinol*. 2012; 76:2-11.
10. Duarte M, Muñoz G, Rodríguez J, Escorza A. Prevalencia, detección y tratamiento de la diabetes gestacional. *RESPYN*. 2004; 5.
11. Moreno M, Lorente S, Pérez N, Hernández J. Visfatina, apelina y nuevas moléculas del síndrome metabólico. *Revista Española de Obesidad*. 2008; 6: 205-214
12. Rodriguez M, Miaello R, Vazquez M. Adipocitoquinas y síndrome metabólico: Rol de la visfatina en la patogenia de Enfermedad cardiovascular. *Revista Médica Universitaria*. 2011;7:1-26.
13. Donovan L, Hartling L, Muise M, Guthrie A, Vandermeer B, Dryden DM. Screening Tests for Gestational Diabetes: A systematic review for the U.S. Preventive services task force. *Ann Intern Med*. 2013;159:1-8.
14. Manzur F, Alvear C, Alayón AN. Adipocitos, obesidad visceral, inflamación y enfermedad cardiovascular. *Rev Colomb Cardiol*. 2010; 17: 207-213.
15. Coleman D. A historical perspective on leptin. *Nat Med*. 2010;16:1097-9.
16. Manuel L, Zárate A, Hernández-Valencia M. La leptina, hormona del adipocito, regula el apetito y el consumo de energía. Papel en la obesidad y dismetabolismo. *Acta Médica Grupo Ángeles*. 2012; 10, 154-157.
17. Zárate A, Basurto L, Ochoa R. Una nueva hormona: la leptina, resucita la teoría genética de la obesidad. *Ciencia*. 2000; 51: 5-11.
18. Frigolet V. Señalización de la leptina. *REB* 2006; 25: 50-54.

19. Puigdevall V, Laudo Pardos C, Ferrández Longas A. Leptina y pubertad. *An Esp Pediatr.* 1998; 49:561-567.
20. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994;372:425-32.
21. San Miguel A, Calvo B, Alonso N, Iglesias R, Mazón M. Leptina: implicaciones fisiológicas y clínicas. *Actualidades 2005 en el laboratorio clínico.* 2005; 79-88.
22. Almanza J, Blancas-Flores G, García-Macedo R, Alarcón-Aguilar FJ, Cruz M. Leptina y su relación con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2. *Gac Méd Méx* 2008;144:535-542.
23. García N. Leptina. *Revista de Endocrinología y Nutrición* 2007; 15: 132-37
24. Kelesidis T, Kelesidis I, Chou S, Mantzoros CS. Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. *Ann Intern Med.* 2010; 152:93-100.
25. Friedman J, Halaas J. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature.* 1998; 395:763-70.
26. Myers M, Cowley M, Münzberg H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annu Rev Physiol.* 2008; 70:537-56.
27. Fuentes T. Ejercicio físico y receptor muscular de leptina en humanos sanos y obesos [tesis doctoral]. España, Universidad De Las Palmas De Gran Canaria;2010.
28. Frühbeck G. Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochem J.* 2006; 393:7-20.
29. Salvador J, Frühbeck G. Regulación de la ingesta alimentaria: una perspectiva clínica. *Endocrinol Nutr.* 2005;52:404-30.
30. Froguel P, Blakemore AI. The power of the extreme in elucidating obesity. *N Engl J Med.* 2008;359:891-3.
31. Kautzky A, Pacini G, Tura A, Biegelmayer C, Schneider B, Ludvik B, Prager R, Waldhäusl W. Increased plasma leptin in gestational diabetes. *Diabetologia.* 2001; 44:164-72.
32. Simmons D, Breier B. Fetal overnutrition in polynesian pregnancies and in gestational diabetes may lead to dysregulation of the adipoinular axis in offspring. *Diabetes Care.* 2002; 25:1539-44.
33. Chen D, Xia G, Xu P, Dong M. Peripartum serum leptin and soluble leptin receptor levels in women with gestational diabetes. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2010;89:1595-9.
34. Festa A, Shnawa N, Krugluger W, Hopmeier P, Schernthaner G, Haffner SM. Relative hypoleptinaemia in women with mild gestational diabetes mellitus. *Diabet Med.* 1999; 16:656-62.
35. Atègbo J, Grissa O, Yessoufou A, Hichami A, Dramane K, Moutairou K, Miled A, Grissa A, Jerbi M, Tabka Z, Khan N. Modulation of adipokines and cytokines ingestational diabetes and macrosomia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:4137-43.

36. Stuebe A, Mantzoros C, Kleinman K, Gillman MW, Rifas S, Gunderson EP, Rich-Edwards J. Duration of lactation and maternal adipokines at 3 years postpartum. *Diabetes*. 2011;60:1277-85.
37. Secretaria de Salud. Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-1993, Atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio y del recién nacido. Criterios y procedimientos para la prestación del servicio. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 6 de enero de 1995.
38. Fabiana R, Molinuevo L, Roque A, Tula E. Insulina-resistencia y embarazo. *Revista de Endocrinología Ginecológica y Reproductiva*. 2008;15: 55-62.
39. Bouchard L, Thibault S, Guay S, Santure M, Monpetit A, St-Pierre J, Perron P, Brisson D. Leptin gene epigenetic adaptation to impaired glucose metabolism during pregnancy. *Diabetes Care*. 2010; 33:2436-41.
40. Choi S, Kwak S, Youn B, Lim S, Park Y, Lee H, Lee N, Cho Y, Lee H, Kim Y, Park K, Jang H. High plasma retinol binding protein-4 and low plasma adiponectin concentrations are associated with severity of glucose intolerance in women with previous gestational diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:3142-8.
41. Saucedo R, Zarate A, Basurto L, Hernandez M, Puello E, Galvan R, Campos S. Relationship between circulating adipokines and insulin resistance during pregnancy and postpartum in women with gestational diabetes. *Arch Med Res*. 2011;42:318-23.
42. Vrachnis N, Belitsos P, Sifakis S, Dafopoulos K, Siristatidis C, Pappa KI, Iliodromiti Z. Role of adipokines and other inflammatory mediators in gestational diabetes mellitus and previous gestational diabetes mellitus. *Int J Endocrinol*. 2012; 2012:549748.
43. Vitoratos N, Salamalekis E, Kassanos D, Loghis C, Panayotopoulos N, Kouskouni E, Creatsas G. Maternal plasma leptin levels and their relationship to insulin and glucose in gestational-onset diabetes. *Gynecol Obstet Invest*. 2001;51:17-21.
44. McLachlan K, O'Neal D, Jenkins A, Alford F. Do adiponectin, TNF α , leptin and CRP relate to insulin resistance in pregnancy? Studies in women with and without gestational diabetes, during and after pregnancy. *Diabetes Metab Res Rev*. 2006;22:131-8.
45. II Reunión internacional La alimentación y la nutrición En el siglo XXI. Baiona Galicia; 24-26 octubre 2002. Fundación Española de la Nutrición, 2003.
46. Pérez M, Montanya E. Técnicas para el estudio de la resistencia insulínica. Una valoración crítica. *Av. Diabetol*. 2001; 17:179-86.
47. Uysal F, Onal E, Aral Y, Adam B, Dilmen U, Ardiçolu Y. Breast milk leptin: its relationship to maternal and infant adiposity. *Clin Nutr*. 2002; 21:157-60.
48. Uçar B, Kirel B, Bör O, Kiliç FS, Doğruel N, Aydoğdu SD, Tekin N. Breast milk leptin concentrations in initial and terminal milk samples: relationships to maternal and infant plasma leptin concentrations, adiposity, serum glucose, insulin, lipid and lipoprotein levels. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2000; 13:149-56.

49. Jansson N, Greenwood S, Johansson B, Powell T, Jansson T. Leptin stimulates the activity of the system A amino acid transporter in human placental villous fragments. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:1205-11.
50. Gonzales M. La lactancia y la madre. *Méd. UIS.* 2012;25:55-62.
51. Chouinard S, Weisnagel S, Tchernof A, Robitaille J. Relationship between lactation duration and insulin and glucose response among women with prior gestational diabetes. *Eur J Endocrinol.* 2013;168:515-23.
52. López R, Ávalos M. Diabetes mellitus hacia una perspectiva social. *Rev Cubana Salud Pública [revista en Internet].* 2013 [citado 2013 Ago 18]; 39: 331-345. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662013000200013&lng=es.
53. Programa de acción: Diabetes mellitus, México: secretaría de salud;2001
54. Ruiz R. Eficacia de una prueba diagnóstica: parámetros utilizados en el estudio de un test. *JANO.* 2009; 1.736: 32-32
55. Donovan L, Hartling L, Muise M, Guthrie A, Vandermeer B, Dryden D. Screening tests for gestational diabetes: a systematic review for the u.s. Preventive services task force. *Ann Intern Med.* 2013; 159:115-22.
56. Maple-Brown L, Ye C, Hanley A, Connelly P, Sermer M, Zinman B, Retnakaran R. Maternal pregravid weight is the primary determinant of serum leptin and its metabolic associations in pregnancy, irrespective of gestational glucose tolerance status. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:4148-55.
57. Vrachnis N, Belitsos P, Sifakis S, Dafopoulos K, Siristatidis C, Pappa K, Iliodromiti Z. Role of adipokines and other inflammatory mediators in gestational diabetes mellitus and previous gestational diabetes mellitus. *Int J Endocrinol.* 2012; 2012:549748.
58. Denny M, Avalos G, O'Reilly M, O'Sullivan E, Gaffney G, Dunne F. ATLANTIC-DIP: raised maternal body mass index (BMI) adversely affects maternal and fetal outcomes in glucose-tolerant women according to International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups (IADPSG) criteria. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:E608-12.
59. Gillman M. Gestational weight gain: now and the future. *Circulation.* 2012;125:1339-40.
60. Ehrenberg H, Mercer B, Catalano P. The influence of obesity and diabetes on the prevalence of macrosomia. *Am J Obstet Gynecol.* 2004; 191:964-8.
61. Corcoy R, Lumbreras B, Bartha J, Ricart W; Grupo Español de Diabetes y Embarazo. [New diagnostic criteria for gestational diabetes mellitus after the HAPO study. ¿Are they valid in our environment?]. *Endocrinol Nutr.* 2010; 57:277-80.
62. Black M, Sacks D, Xiang A, Lawrence J. The relative contribution of prepregnancy overweight and obesity, gestational weight gain, and IADPSG-defined gestational diabetes mellitus to fetal overgrowth. *Diabetes Care.* 2013; 36:56-62.

63. Marroquí L, Gonzalez A, Ñeco P, Caballero-Garrido E, Vieira E, Ripoll C, Nadal A, Quesada I. Role of leptin in the pancreatic β -cell: effects and signaling pathways. *J Mol Endocrinol.* 2012; 49:R9-17.
64. Tébar F, Garaulet M, García Prieto D. Regulación del apetito: nuevos conceptos. *Rev Esp Obes* 2003; 1: 7-15.
65. Morales Clavijo M, Carvajal C. Obesidad y resistencia a la leptina. *Gaceta Médica Boliviana* 2010; 33:63-68.