

ARTÍCULOS ORIGINALES

TLR7, TLR9, MyD88, and NF- κ B role on platelet aggregation in Yucatecan with type 2 Diabetes **P. 37**

Comparación de factores y desenlaces entre diabetes gestacional y diabetes tipo 2 en México **P. 45**

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

Revisión sistemática: apoyo familiar y control glucémico en adultos con diabetes tipo 2 **P. 56**

Nuevos modelos de síndrome metabólico, obesidad y diabetes tipo 2 en invertebrados, peces y anfibios **P. 65**

ARTÍCULOS ORIGINALES

TLR7, TLR9, MyD88, and NF- κ B role on platelet aggregation in Yucatecan patients with type 2 diabetes 37

Papel de TLR7, TLR9, MyD88 y NF- κ B en la agregación plaquetaria de pacientes yucatecos con diabetes tipo 2

Lucía G. González-Espinosa, Irma G. Quintal-Ortiz, Yumi E. Nakazawa-Ueji, Juan D. Villarreal-Ku, Ligia G. Alonso-Salomón, Isaac A. López-Briceño, Nina Valadez-González and Guillermo Valencia-Pacheco

Comparación de factores y desenlaces entre diabetes gestacional y diabetes tipo 2 en México 45

Comparison of risk factors and outcomes between patients with gestational diabetes and patients with type 2 diabetes in Mexico

Rafael Violante-Ortiz, Claudio Requena-Rivera y Alejandra Tavera-Tapia

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

Revisión sistemática: apoyo familiar y control glucémico en adultos con diabetes tipo 2 56

Systematic review: family support and glycemic control in adults with type 2 diabetes

Cesia E. Rosas-Amaro, Patricia E. Miranda-Félix y Beatriz García-Solano

Nuevos modelos de síndrome metabólico, obesidad y diabetes tipo 2 en invertebrados, peces y anfibios 65

New models of metabolic syndrome, obesity and type 2 diabetes in invertebrates, fish and amphibian

Pedro I. Clavel-Pérez, Itzel J. Contreras-García, Juan F. Vázquez-Macías, Gustavo Hernández-Rosas, Bryan V. Phillips-Farfán y Karla Carvajal

La *Revista de la ALAD* es el órgano de difusión científica de la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD). Su función es publicar artículos relacionados con la diabetes y sus complicaciones en América Latina. Es una publicación trimestral, revisada por pares, de acceso gratuito a través de internet y dirigida a profesionales de la salud.

Los manuscritos para ser publicados deberán ser depositados, en versión electrónica, en la URL:

<http://publisher.alad.permanyer.com>.

Toda la correspondencia deberá ser dirigida a las oficinas de la ALAD (Asociación Latinoamericana de Diabetes).

Calle Francisco Prats Ramirez #55, Ensanche Piantini, Santo Domingo, República Dominicana.

ISSN: 2248-6518

<http://www.revistaalad.com>

Revista de la ALAD is the official journal of the *Asociación Latinoamericana de Diabetes* (ALAD, Latin-American Diabetes Association). Its aim is to publish articles related to diabetes and its complications in Latin America. It is a quarterly, peer reviewed, open access journal aimed to health professionals.

Manuscripts for publication should be submitted electronically at the website: <http://publisher.alad.permanyer.com>.

All correspondence must be addressed to the offices of ALAD (*Asociación Latinoamericana de Diabetes*).

Calle Francisco Prats Ramirez #55, Ensanche Piantini, Santo Domingo, República Dominicana.

ISSN: 2248-6518

<http://www.revistaalad.com>

Esta obra se presenta como un servicio a la profesión médica. El contenido de la misma refleja las opiniones, criterios y/o hallazgos propios y conclusiones de los autores, quienes son responsables de las afirmaciones. En esta publicación podrían citarse pautas posológicas distintas a las aprobadas en la Información Para Prescribir (IPP) correspondiente. Algunas de las referencias que, en su caso, se realicen sobre el uso y/o dispensación de los productos farmacéuticos pueden no ser acordes en su totalidad con las aprobadas por las Autoridades Sanitarias competentes, por lo que aconsejamos su consulta. El editor, el patrocinador y el distribuidor de la obra, recomiendan siempre la utilización de los productos de acuerdo con la IPP aprobada por las Autoridades Sanitarias.



© 2022 Permanyer
Mallorca, 310 – Barcelona (Cataluña), España
permanyer@permanyer.com

© 2022 Permanyer México
Temístocles, 315
Col. Polanco, Del. Miguel Hidalgo
11560 Ciudad de México
Tel.: (044) 55 2728 5183
mexico@permanyer.com



www.permanyer.com

ISSN: 2248-6518
Ref.: 6972AA212

Reproducciones con fines comerciales

Sin contar con el consentimiento previo por escrito del editor, no podrá reproducirse ninguna parte de esta publicación, ni almacenarse en un soporte recuperable ni transmitirse, de ninguna manera o procedimiento, sea de forma electrónica, mecánica, fotocopiando, grabando o cualquier otro modo, para fines comerciales.

La *Revista de la ALAD* es una publicación *open access* con licencia *Creative Commons* CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Las opiniones, hallazgos y conclusiones son las de los autores. Los editores y el editor no son responsables y no serán responsables por los contenidos publicados en la revista.

© 2022 Asociación Latinoamericana de Diabetes. Publicado por Permanyer.

COMITÉ EJECUTIVO ALAD 2019-2022

PRESIDENTE: Dr. José Esteban Costa Gil (Argentina)

VICEPRESIDENTA: Dra. Clara Eugenia Pérez Gualdrón (Colombia)

SECRETARIO: Dr. Cristian Suárez Cordo (Argentina)

TESORERO: Dr. Guillermo Alzueta (Argentina)

VOCALES:

Dra. Helen Barreto (Colombia)

Dra. Lizet Romero (Nicaragua)

Dra. Patricia Calero (Ecuador)

Dra. Susana Salzberg (Argentina)

Dr. Josué Salud (México)

PRESIDENTE ELECTO: Dr. Segundo Nicolas Seclen (Perú)

PRESIDENTE SALIENTE: Dr. José Mesa (México)

Coordinadores de regiones

REGIÓN ANDINA

Dra. Omidres Pérez de Carveli (Venezuela)

REGIÓN SUR

Dr. Enzo H. Pereyra (Uruguay)

REGIÓN NORTE

Dr. Antonio González Chávez (México)

Representante de regiones

CENTRO AMÉRICA

Dr. Rolando Caballero (Panamá)

Delegaciones

ARGENTINA

Delegada: Dra. Silvia Gorban de Lapertosa

Subdelegada: Dra. María Cristina Faingold

BOLIVIA

Delegado: Dr. Pablo Vergara Hanson

Subdelegado: Dr. Rodrigo Espinoza

BRASIL

COLOMBIA

Delegada: Dra. Patricia Villamil Molina

Subdelegada: Dra. Claudia Patricia Lenis Rendón

COSTA RICA

Delegada: Dra. Marlen Rosello.Araya

CUBA

Delegado: Dr. Jedou Cruz Hernández

Subdelegado: Dr. Neraldo Orlandi González

ECUADOR

Delegado: Dr. Gover Fabricio Loayza Toro

Subdelegada: Dra. Adriana Victoria González Neira

EL SALVADOR

Delegado: Dr. David Ernesto Chicas Nuñez

Subdelegado: Dr. Max MolinaBarriere

HONDURAS

Delegada: Dra. Sandra Raquel Rodríguez

Osorto

Subdelegada: Dra. Nubia Etelvina Díaz

Arrazola

MÉXICO

Delegado: Dr. Cuauhtémoc Matadamas Zárate

NICARAGUA

Delegado: Dr. Francisco Suazo Gómez

Subdelegada: Dra. Arlen Mercedes Reyes Ramirez

PARAGUAY

Delegada: Dra. Helen López

Subdelegada: Dra. Guiselda Sosa

PANAMÁ

Delegada: Dra. Guadalupe Lismeyers Pérez

Subdelegado: Dr. Antonio Alfredo Quirós Coronel

PERÚ

Delegado: Dr. Dante Gamarra González

Subdelegado: Dr. Juan Carlos Lizarzaburu

REPÚBLICA DOMINICANA

Delegado: Dra. Sherezade Hasbun

Subdelegado: Dr. Luis Bloise Polanco

URUGUAY

Delegada: Dra. Cristina Ferrand

Subdelegada: Dra. María Isabel Costa

VENEZUELA

Delegado: Dr. Roald Eduardo Gómez Pérez

Subdelegado: Dr. Paúl Camperos Sánchez

DIRECTORES EDITORES

Dr. Yulino Castillo-Núñez (República Dominicana)
Dr. Carlos Aguilar Salinas (México)

COMITÉ EDITORIAL

Carlos Olimpo Mendivil (Colombia)
Paloma Almeda (México)
Juan Eduardo García (México)
Chi Hao Chen Ku (Costa Rica)
Dr. Alfredo Reza (México)
Dr. Eduardo Cabrera-Rode (Cuba)
Dr. Ruy Lyra (Brasil)

DIRECTORES ASOCIADOS INTERNACIONALES

Dr. Alfredo Reza Albarrán (México)
Dr. Guillermo Umpierrez (Estados Unidos)
Dr. Kenneth Cusi (Estados Unidos)
Dr. Jorge Calles (Estados Unidos)
Dr. Jaime Davidson (Estados Unidos)
Dr. Ruy Lyra (Brasil)

REVISORES

Dra. Ruth Báez (República Dominicana)
Dra. Alicia Troncoso (República Dominicana)
Dra. Omidres Pérez (Venezuela)
Dra. Gabriela Vargas (Perú)
Dr. Luis Zapata Rincón (Perú)
Dr. Gustavo Márquez Salom (Colombia)
Dr. Alfredo Nasiff Hadad (Cuba)
Dr. Emilio Buchaca Faxas (Cuba)
Dr. Rafael Violante (México)
Dr. Jorge V. Yamamoto Cuevas (México)
Dr. Sergio Zúñiga-Guajardo (México)
Dr. Douglas Villarroel (Bolivia)
Dr. Gerardo Javiel (Uruguay)
Dr. Armando Pérez (Venezuela)
Dra. Ethel Codner (Chile)
Dra. María del Pilar Serra (Uruguay)
Dra. Isabel Eliana Cárdenas (Bolivia)
Dr. Jorge Tadeo Jimenez Gonzalez (Paraguay)
Dra. Concepción Mafalda Palacios Lugo (Paraguay)
Dr. Daniel Elias López (México)
Dr. Santiago Moreno Ortega (Colombia)
Dr. Carlos Alvayero (El Salvador)



ORIGINAL ARTICLE

TLR7, TLR9, MyD88, and NF- κ B role on platelet aggregation in Yucatecan patients with type 2 diabetes

Papel de TLR7, TLR9, MyD88 y NF- κ B en la agregación plaquetaria de pacientes yucatecos con diabetes tipo 2

Lucía G. González-Espinosa, Irma G. Quintal-Ortiz, Yumi E. Nakazawa-Ueji, Juan D. Villarreal-Ku, Ligia G. Alonso-Salomón, Isaac A. López-Briceño, Nina Valadez-González and Guillermo Valencia-Pacheco*

Hematology Laboratory, Unit of Biomedical Sciences, Regional Research Center "Dr. Hideyo Noguchi", Autonomous University of Yucatán, Yucatán, Mexico

ABSTRACT

Objective: To analyze the expression of TLR7, TLR9, and signaling proteins MyD88 and NF- κ B, and their relationship with platelet aggregation in Yucatecan patients with type 2 diabetes. **Material and methods:** Platelet aggregation was determined by light transmission and protein expression by flow cytometry in 31 patients and 29 controls from Yucatan. **Results:** A non-significant decrease in aggregation times (112.8 ± 87.36 vs 134.7 ± 87.03 seconds, $p = 0.2742$) and significantly lower expression of TLR9 (19.36 ± 20.92 vs 31.98 ± 20.19 , $p = 0.0240$) and NF- κ B (5.504 ± 6.457 vs 5.156 ± 4.060 , $p = 0.5766$) were observed in platelets in diabetic patients. Reduction in aggregation times and increase in platelet activation in diabetic women, as well as a correlation between aggregation times and MyD88 expression in patients and controls were found. Expression of TLR9 and MyD88 correlated with decreased platelet aggregation time in patients with type 2 diabetes. **Conclusion:** Our results suggest that the aggregation time trends to be shorter in Yucatecan patients with type 2 diabetes and that TLR9 may be participating in platelet aggregation.

Keywords: Signaling pathways. Toll-like receptors. Platelet aggregation. Diabetic Yucatecan.

RESUMEN

Objetivo: Analizar la expresión de TLR7, TLR9 y las proteínas de señalización MyD88 y NF- κ B y su relación con la agregación plaquetaria en pacientes yucatecos con diabetes tipo 2. **Material y métodos:** A partir de muestras sanguíneas de 31 pacientes y 29 controles de Yucatán, se determinó la agregación plaquetaria mediante transmisión de luz, así como la expresión de proteínas por citometría de flujo. **Resultados:** Se encontró una disminución no significativa en los tiempos de agregación (112.8 ± 87.36 vs 134.7 ± 87.03 seconds, $p = 0.2742$) y una expresión significativamente menor de TLR9 (19.36 ± 20.92 vs 31.98 ± 20.19 , $p = 0.0240$) y NF- κ B (5.504 ± 6.457 vs 5.156 ± 4.060 , $p = 0.5766$) en las plaquetas de pacientes diabéticos. Reducción en los tiempos de agregación y aumento en la activación plaquetaria en mujeres diabéticas, así como una correlación entre los tiempos de agregación y la expresión de MyD88 en pacientes y controles fueron observados. La expresión de TLR9 y MyD88 correlacionó con la disminución del tiempo de agregación plaquetaria en pacientes con diabetes tipo 2. **Conclusión:** Nuestros resultados sugieren que el tiempo de agregación tiende a ser más corto en pacientes yucatecos con diabetes tipo 2 y que el TLR9 podría estar participando en la agregación plaquetaria.

Palabras clave: Vía de señalización. Receptores tipo Toll. Agregación plaquetaria. Yucatecos diabéticos.

Correspondence:

*Guillermo Valencia-Pacheco
 E-mail: vpacheco@correo.uady.mx

Date of reception: 02-06-2022
 Date of acceptance: 29-09-2022
 DOI: 10.24875/ALAD.22000016

Disponible en internet: 07-11-2022
 Rev ALAD. 2022;12:37-44

INTRODUCTION

Type 2 diabetes (T2D) is a chronic inflammatory disease characterized by hyperglycemia caused by a deficiency in the secretion or action of insulin.¹⁻³ Adipose tissue contributes to chronic inflammation and oxidative stress generated by hyperglycemia, leading to endothelial dysfunction, platelet hyperactivity and thrombus formation to prevent bleeding.^{4,5} TLRs signaling pathway, including MyD88 and nuclear transcription factor NF- κ B activation proteins, as well as morphological change, aggregation, granules secretion and expression of P-selectin in platelets plasmatic membrane, are involved.⁶⁻¹² In this regard, CAPs [*carboxy (alkylpyrrole) protein adducts*], free radicals generated by polyunsaturated fatty acids oxidation derived from phospholipase C2 hydrolysis, induce platelet activation and aggregation *in vitro*, through TLR9, accelerating thrombosis *in vivo*.¹¹ Platelet stimulation mediated by TLR7, induces the formation of large platelet-neutrophil aggregates, release of α -granules, and translocation of P-selectin to the cell surface.¹³ Chronic inflammation and oxidative stress in T2D develop ulcers, chronic wounds, infections, and necrotic tissue, generating DAMPs [damage-associated molecular patterns], such as DNA and RNA, that could be recognized by platelet TLR7 and TLR9, respectively.^{14,15} However, how TLR7 and TLR9 induce intracellular signals contributing to platelet aggregation in T2D is unknown. The expression of TLR7, TLR9, MyD88, and NF- κ B and its correlation with platelet aggregation time were analyzed in platelets from Yucatecan with T2D.

METHODS

Subjects of study. Due to the health contingency caused by COVID-19, a convenience sampling was carried out. Thirty-one patients with T2D and

twenty-nine healthy individuals, all of them Yucatecan between 30 and 65 years old, who signed an informed consent letter, were included. Patients were recruited from Municipal Center for Nutritional Care and Diabetes of Yucatan and controls from the general population. The study was approved by Research Ethics Committee of the Regional Research Center “Dr. Hideyo Noguchi” from the Autonomous University of Yucatán (CEI-11-2019). Patients with autoimmune diseases or under treatment with anti-inflammatory drugs, corticosteroids, or anticoagulants, were excluded. Data as evolution time of T2D, hypertension, and treatment, were recorded.

Platelet-rich (PRP) and platelet-poor (PPP) plasma.

A blood sample (6 mL) was taken from patients and healthy controls by venipuncture, collected in two tubes, 1 with sodium citrate and another one without anticoagulant to obtain serum and determine fasting glycaemia levels. PRP was obtained by centrifugation of samples with sodium citrate at 900 rpm for 15 minutes and transferred to a new tube. Remaining blood sample was centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes to obtain PPP, used as a reference blank for platelet aggregation test. Hemolyzed and lipemic plasma were eliminated.

Platelet aggregation test. Platelet aggregation was determined using the PAP8E BIO/DATA aggregometer, following Chrono-Log, Bio/Data Corporation with modifications.¹⁶ Platelets from PRP were adjusted to a concentration of 250×10^3 platelets/ μ L, and ADP (1,000 μ M) was used as an agonist. A volume of 300 μ L of PPP were placed into a glass cell as sample blank, and 300 μ L of the patient or control PRP was placed into another cell with a stirring magnet. After 2 minutes at 37°C, 3 μ L of ADP solution (diluted 1: 4 with saline solution) were added to each tube. Percentage and time of platelet aggregation were determined according to the report generated by the equipment.

Expression of TLR7, TLR9, MyD88, and NF- κ B in platelets. Expression of platelet TLR7, TLR9, MyD88, and NF- κ B in PRP were conducted using specific monoclonal antibodies, following the protocol described by Valencia *et al.*¹⁷ Firstly, platelets were fixed with 10% paraformaldehyde, in a 1:1 ratio, incubating for 30 minutes at 4°C. Subsequently, two washes by centrifugation at 2,000 rpm for 10 minutes with PBS/1% FBS (phosphate-buffered saline, 1% fetal bovine serum) pH 7.3, were realized. Platelets and activated platelets were identified by membrane staining using anti-CD41/CD61-PE and anti-CD62-FITC monoclonal antibodies, respectively, incubating samples for 30 minutes at 4°C. After two washes by centrifugation, platelets were stained intracellularly adding 50 μ L of the permeabilization buffer and anti-TLR7-FITC, anti-TLR9-FITC, anti-MyD88-APC and anti-NF- κ B-PE monoclonal antibodies (Novus Biological), incubating for 30 minutes at 4°C. Finally, after washes by centrifugation with PBS/1% FBS, platelets were resuspended in 350 μ L of the wash buffer for analysis on the FACS-Calibur cytometer (BD Biosciences). The percentage of activated platelets expressing TLR7, TLR9, MyD88, and NF- κ B, as well its mean fluorescence intensity (MFI), was determined using the CELLQuest Program (BD Biosciences version 5.1).

Statistical analysis. Differences between the mean values of aggregation and expression of proteins were obtained using the two-tailed unpaired t-student test and Mann Whitney U. Data are presented as the mean \pm standard deviation. Correlation analysis was performed using the one-tailed Spearman test. Data were analyzed with the Prism 5 program (GraphPad Inc), and $p < 0.05$ was considered statistically significant.

RESULTS

Thirty-one patients with T2D (10 men and 21 women), and twenty-nine controls (10 men and 19 women),

with an average age of 52 and 45 years, respectively, were analyzed. Fasting glycaemia values were significantly elevated in patients compared to controls (204 ± 86.91 vs 90.81 ± 10.34 , $p = < 0.0001$). The average time of evolution of the disease was 10.01 ± 7.23 years, twenty-four of the patients were receiving metformin, four were under metformin and insulin treatment and nine manifested receiving losartan for hypertension. About habits, four consumed tobacco, twenty-five drink coffee and thirteen alcohol, but with moderation. Some of the manifestations in patients included headache (58 %), fatigue (58 %), polyuria (45 %), polydipsia (32 %), polyphagia (25 %), hands tingling (35 %), and tachycardia (25 %), none of the patients presented acanthosis nigricans. About comorbidities, obesity was present in 35 %, hypertension in 42 % and dyslipidemia in 35 % of the patients. All the patients have at least one relative with T2D. None of the participants reported receiving statins or antiplatelet agents at the time of study entry.

Platelet aggregation. Platelet aggregation percentages (90.10 ± 18.54 vs 91.48 ± 13.45 , $p = 0.8456$) and times (112.8 ± 87.36 vs 134.7 ± 87.03 seconds, $p = 0.2742$) did not show significant differences between patients and controls, respectively (Fig. 1A and B). However, considering only samples with 100% aggregation, aggregation time in patients was shorter compared to controls, but no significant (67.48 ± 47.80 vs 87.56 ± 56.89 seconds, $p = 0.1396$) (Fig. 1C).

Expression of TLR7, TLR9, MyD88, and NF- κ B in platelets. Firstly, activated platelets, determined by CD62 expression in patients and controls, did not show significant differences (4.763 ± 3.919 vs 5.348 ± 3.341 , $p = 0.3296$) and MFI (25.59 ± 7.258 vs 31.39 ± 15.68 , $p = 0.6595$) (Fig. 2A and B). Expression (18.55 ± 11.05 vs 17.26 ± 10.45 , $p = 0.7578$) and MFI (25.11 ± 6.836 vs 27.57 ± 10.91 , $p = 0.7439$) of TLR7

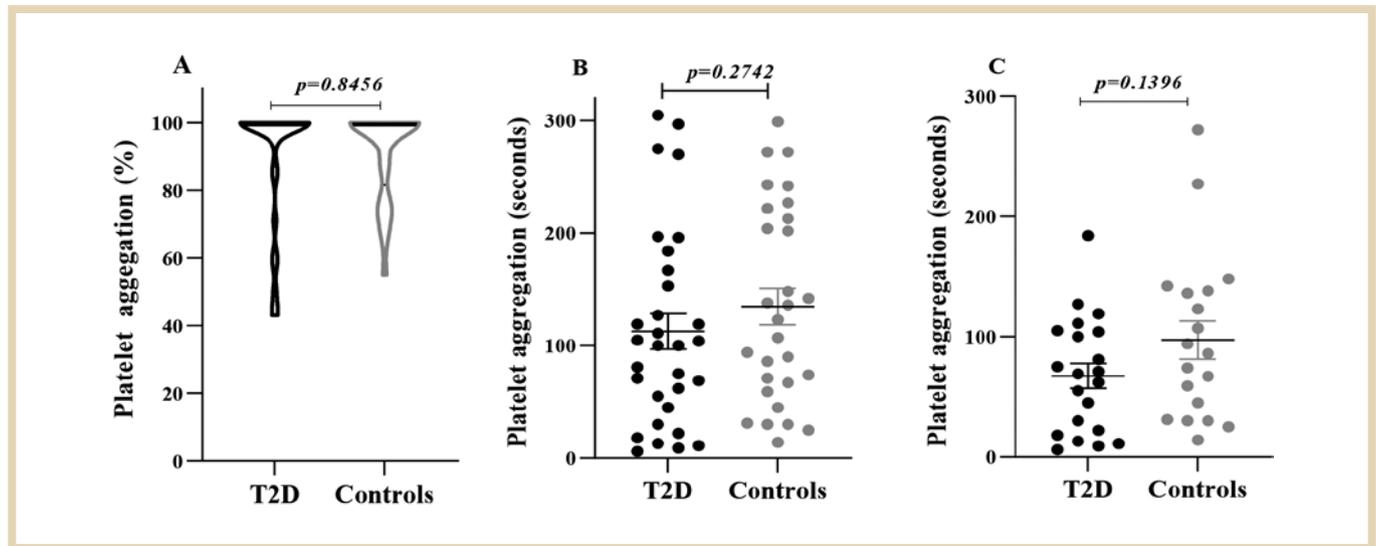


FIGURE 1. **A:** platelets percentage and **B:** aggregation times in patients (n = 31) and controls (n = 29), and **C:** patients (n = 21) and controls (n = 19) that reached 100% aggregation.

showed no difference between patients and controls, while expression and MFI of TLR9 (19.36 ± 20.92 vs 31.98 ± 20.19 , $p = 0.0240$; 53.60 ± 46.21 vs 65.07 ± 38.20 , $p = 0.0421$) was significantly decreased in patients (Fig. 2C and D). Higher expression and MFI of MyD88 (63.58 ± 29.78 vs 60.57 ± 31.26 , $p = 0.8949$; 85.15 ± 88.46 vs 102.9 ± 118.5 , $p = 0.5994$) and lower of NF- κ B (5.504 ± 6.457 vs 5.156 ± 4.060 , $p = 0.5766$; 21.59 ± 4.058 vs 23.04 ± 5.078 , $p = 0.2789$) were observed in both study groups, with no significant difference between them (Fig. 2E and F).

Using multivariate analysis, we did observe a significant negative correlation between the platelet aggregation time and the MFI of CD62 only in patients, a correlation with expression of MyD88 in patients and controls, and the MFI of MyD88 in controls. In addition, the expression and MFI of NF- κ B correlated negatively in both study groups (Table 1). Additionally, when correlating glycaemia of patients with platelet aggregation times and protein expression, we only observed negative correlation with MFI of TLR9 ($r = -0.335$, $p = 0.032$). To establish this correlation, patients (n = 27) with glucose values higher

than 110 mg/dL were selected, finding a trend towards decrease aggregation time with the MFI of TLR9 (Fig. 3).

On the other hand, even with the limitations of the sample size, we analyzed the possible influence of gender: glycaemia, aggregation times, and protein expression in platelets among diabetic women (n = 21) and men (n = 19), and controls (n = 19, n = 10) were compared. Only MFI of CD62 showed a significant increase in diabetic women group with respect to men (30.7 vs 24.1 , $p = 0.001$).

DISCUSSION

This is the first study, focused on analyzing the expression of platelet TLR7, TLR9, MyD88, and NF- κ B in patients with T2D and healthy controls from Yucatan, in order to determine their role in platelet hyperactivity. Platelet aggregation showed no differences between patients and controls; however, aggregation time in patient's samples with 100% of activity showed shorter aggregation time with a trend towards significance, compared to controls,

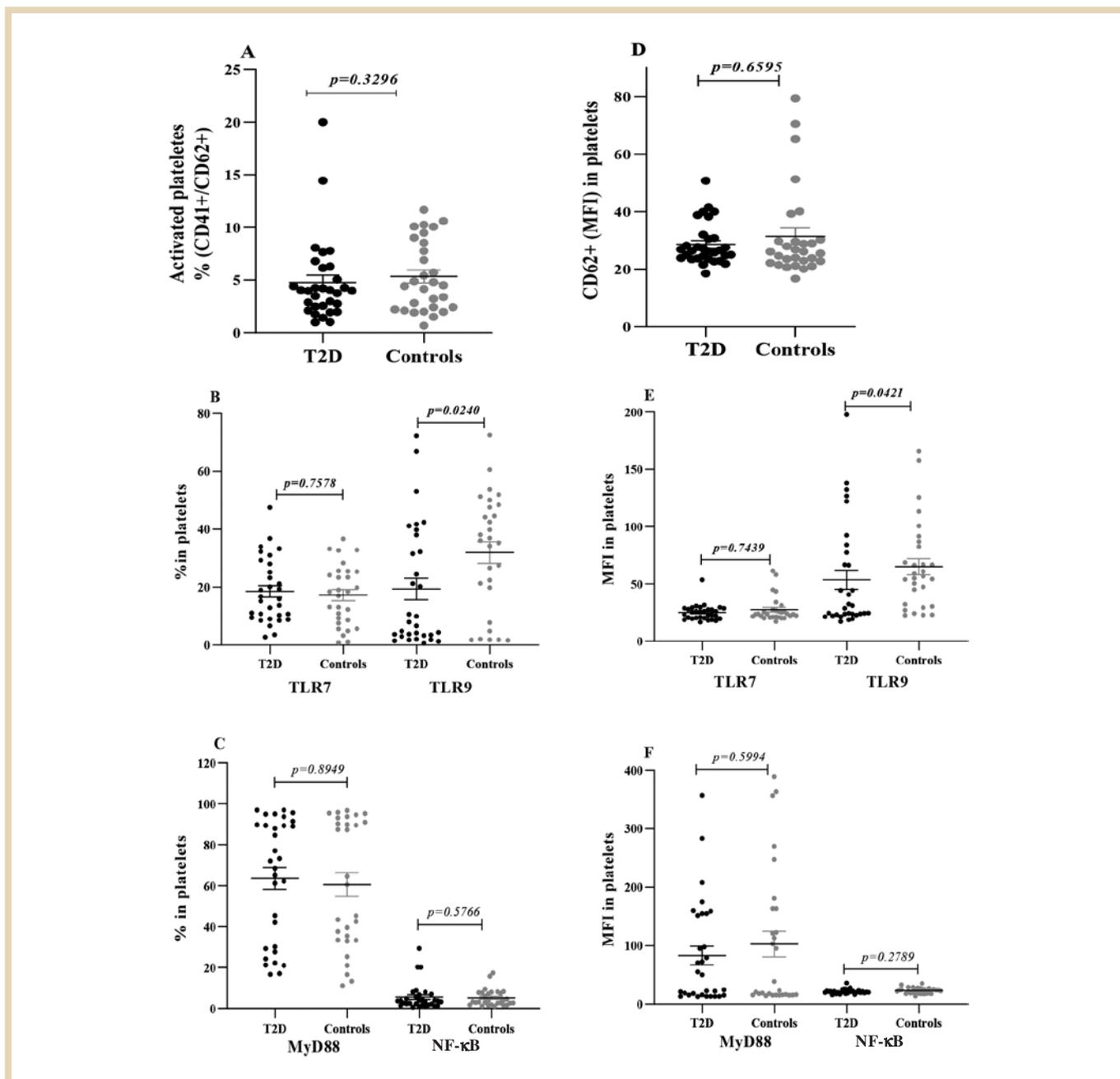


FIGURE 2. A-C: expression (%) and **D-F:** mean fluorescence intensity (MFI) of CD62, TLR7, TLR9, MyD88, and NF- κ B, in platelets of patients and controls.

suggesting platelet hyperactivity, probably due to oxidative stress, endothelial dysfunction, and chronic inflammation caused by hyperglycemia.¹⁸⁻²⁰ Higher fasting glycaemia was observed in our patients, suggesting a possible effect of glucose in platelet activity, but we did not observe an increase in CD62 in platelet plasmatic membrane. In the future, it will

be important to consider the analysis of CD62 levels in microparticles detached from platelets, since that has been reported are increased in plasma of patients with T2D.^{21,22}

Stimulation of TLR7 with viral RNA, or RNA from necrosis or cell death in atherogenesis, can activate

TABLE 1. Multivariate correlation analysis of platelet aggregation times with expression (%) and MFI of CD62, TLR7, TLR9, MyD88, and NF- κ B, in patients with T2D and controls

	Expression	T2D		Controls	
		r	p	r	p
Aggregation times (seconds)	CD62 (%)	-0.193	0.148	-0.279	0.142
	CD62 (MFI)	-0.425	0.008	-0.238	0.213
	TLR7 (%)	-0.178	0.168	0.012	0.949
	TLR7 (MFI)	-0.188	0.155	0.152	0.431
	TLR9 (%)	-0.016	0.465	0.023	0.903
	TLR9 (MFI)	0.023	0.450	0.293	0.122
	MyD88 (%)	0.396	0.013	0.372	0.046
	MyD88 (MFI)	0.284	0.060	0.537	0.002
	NF- κ B (%)	-0.312	0.046	-0.396	0.033
	NF- κ B (MFI)	-0.300	0.053	-0.367	0.049

r = Spearman correlation. MFI = mean fluorescence intensity.

platelets.¹³⁻¹⁵ We did not find a difference in TLR7 expression in patients' platelets versus controls, probably because none of them reported infectious or necrotic process in non-healing wounds that could release RNA. About TLR9, we observed higher expression in platelets from controls than patients. There are no previous studies of TLR7 and TLR9 expression in platelets of T2D patients or other chronic inflammatory diseases. However, it has been reported low expression on platelets of healthy individuals, and an increase of activated platelet in response to agonists such as TRAP (*thrombin receptor activating peptide*), ADP and CAPs, released by endothelial damage.^{10,23-25} It has been described that endosomal TLR9 expression in platelets from patients increases in response to ADP, and this could facilitate CAPs stimulation of TLR9 in plasma of patients, contributing to platelet activation and aggregation.¹⁰ We did not observe differences in the percentage of platelet aggregation between patients and controls; however, the decrease in expression of endosomal TLR9

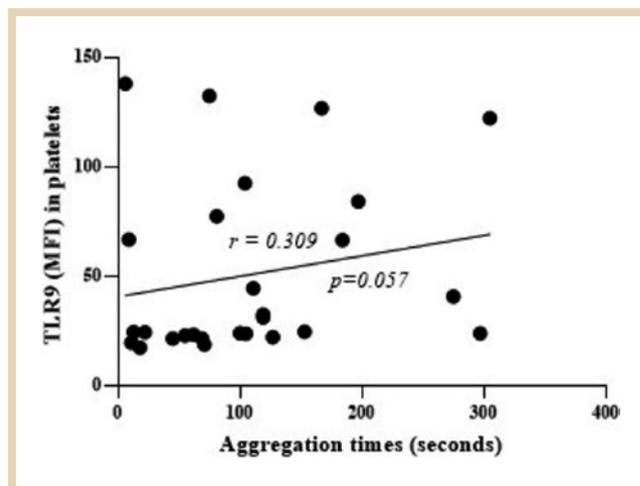


FIGURE 3. Correlation analysis of TLR9 MFI and platelet aggregation time in patients (n = 27) with glucose > 110 mg / dL.

suggests that this receptor could be participating in platelet activation, leading to a reduction of aggregation time.

About signaling proteins, there are no reports of MyD88 expression in platelets from patients with T2D, but there is some evidence about its role in platelet function.^{10,11,26} We did not observe differences in MyD88 expression in platelets from patients and controls, despite the differences in TLR9 expression, probably because its role in other TLR that activate the MyD88-dependent pathway. We did not find differences in NF- κ B expression in platelets; however, differences in its activation and function have been reported. Hu *et al.*²⁷ demonstrated that in hyperglycemia, reactive oxygen species activate the NF- κ Bp65 subunit to enter the nucleus of megakaryocytes and bind to the P2Y12 promoter region, increasing the expression of mRNA-P2Y12 and P2Y12 in megakaryocytes and platelets. Although we did not analyze NF- κ B activation in platelets, it is possible that TLR9 can be stimulated by CAPs and contribute to their activation.^{10,23}

We observed a correlation positive with MyD88 and suggests that its expression is related to an increase

in the aggregation time. The observed negative correlation of NF- κ B with aggregation time in patients suggests that the decrease in expression is related to an increase in aggregation times. In this regard, Malaver *et al.*⁹ demonstrated that the inhibition of NF- κ B in platelets stimulated with ADP decreases their aggregation, suggesting that this transcription factor contributes to platelet activation. When analyzing the influence of hyperglycemia, we observed a negative correlation with MFI of TLR9, indicating that the increase in fasting glycemia in patients seems to decrease the TLR9 expression in platelets.

Our results about gender suggest that the platelets of diabetic women present greater activation than those of men. In this regard, Verdoia *et al.*²⁸ reported no differences in platelet aggregation or CD62 expression, between men and women with T2D, before antiplatelet treatment for coronary syndrome acute. However, after 30-90 days with an ADP antagonist, inhibition of aggregation was observed in men compared to women. Even though the effect of antiplatelet agents in T2D was not the object of our study, we can suggest that the platelets of diabetic women are more resistant to these treatments, which could be related to differences in platelet activation for men. However, further studies and an increase of sample size are required to demonstrate this.

CONCLUSION

Our results suggest that the aggregation time tends to be shorter in patients with T2D, which is related to a decrease in the expression of TLR9, influenced by hyperglycemia. The correlation found in diabetic women between platelet activation and aggregation time is relevant. Although we did not observe differences in the expression of NF- κ B between patients and controls, its correlation with aggregation

time suggests a probable participation in platelet aggregation.

FUNDING

The authors declare that they have not received funding.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare no conflicts of interest.

ETHICAL DISCLOSURES

Protection of human and animal subjects. The authors declare that the procedures followed were in accordance with the regulations of the relevant clinical research ethics committee and with those of the Code of Ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki).

Confidentiality of data. The authors declare that no patient data appear in this article.

Right to privacy and informed consent. The authors declare that no patient data appear in this article.

REFERENCES

1. Guthrie RA, Guthrie DW. Pathophysiology of Diabetes Mellitus. *Critical Care Nursing Quarterly* 2004; 27(2): 113-125.
2. Organización Mundial de la Salud. *Informe Mundial Sobre la diabetes*. 2016.
3. Teo, A. K., Wagers, A. J., Kulkarni, R. N. New opportunities: Harnessing induced pluripotency for discovery in diabetes and metabolism. *Cell Metabolism*. 2013 Dec;18(6):775-91.
4. Matadamas-Zárate, C., Hernández-Jerónimo, Julia., Pérez-Campos, Eduardo., Majluf-Cruz, Abraham. Alteraciones plaquetarias en la diabetes mellitus tipo 2. *Arch Cardiol Mex* 2009; 79(2): 102-108.
5. Pretorius E. Platelets as Potent Signaling Entities in Type 2 Diabetes Mellitus. *Trends Endocrinol Metab* 2019; 30: 532-45.

6. Morrell CN, Aggrey AA, Chapman LM, Modjeski KL. Emerging roles for platelets as immune and inflammatory cells. *Blood*. 2014; 123(18):2759-67.
7. Cognasse F, Nguyen KA, Damien P, McNicol A, Pozzetto B, Hamzeh-Cognasse H, et al. The inflammatory role of platelets via their TLRs and Siglec receptors. *Front Immunol*. 2015, 6, 83.
8. D' Atri LP, Schattner M. Platelet toll-like receptors in thromboinflammation. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2017 Jun 1;22:1867-1883.
9. Malaver E, Romaniuk MA, D'atri LP, Pozner RG, Negrotto S, Benzadón R, et al. NF- κ B inhibitors impair platelet activation responses. *J Thromb Haemost* 2009; 7(8): 1333-1343.
10. Panigrahi S, Ma Y, Hong L, Gao D, West XZ, Salomon RG, et al. Engagement of platelet toll-like receptor 9 by novel endogenous ligands promotes platelet hyperreactivity and thrombosis. *Circ Res*. 2013 Jan 4;112(1):103-112.
11. Vallance TM, Zeuner MT, Williams HF, Widera D, Vaiyapuri S. Toll-Like Receptor 4 Signalling and Its Impact on Platelet Function, Thrombosis, and Haemostasis. *Mediators Inflamm*; 2017. [https://doi:10.1155/2017/9605894](https://doi.org/10.1155/2017/9605894).
12. Land WG. The role of damage-associated molecular patterns (DAMPs) in human diseases part II: DAMPs as diagnostics, prognostics, and therapeutics in clinical medicine. *Sultan Qaboos University Medical Journal* 2015; 15(2): e157-70.
13. Koupenova M, Vitseva O, MacKay CR, Beaulieu LM, Benjamin EJ, Micket E, et al. Platelet-TLR7 mediates host survival and platelet count during viral infection in the absence of platelet-dependent thrombosis. *Blood* 2014; 124(5): 791-802.
14. Salagianni M, Galani IE, Lundberg AM, Davos CH, Varela A, Gavriil A, et al. Toll-like receptor 7 protects from atherosclerosis by constraining inflammatory macrophage activation. *Circulation* 2012; 126(8): 952-962.
15. Lévigne D, Tobalem M, Modarressi A, Pittet-Cuénod B. Hyperglycemia increases susceptibility to ischemic necrosis. *Biomed Res Int*; 2013.
16. Chrono-Log Corporation. 2016; <http://www.chronolog.com/Resources/PdfAndPreview/R>.
17. Pacheco GV, Novelo Noh IB, Velasco Cárdenas RMH, Angulo Ramírez AV, López Villanueva RF, Quintal Ortiz IG, et al. Expression of TLR-7, MyD88, NF- κ B, and INF- α in B lymphocytes of Mayan women with systemic lupus erythematosus in Mexico. *Front Immunol* 2016; 7: 22.
18. Singh R, Devi S, Gollen R. Role of free radical in atherosclerosis, diabetes and dyslipidemia: larger-than-life. *Diabetes Metab Res Rev*. 2015 Feb;31(2):113-126.
19. Rosado-Pérez J, Mendoza-Núñez VM. Mini-revisión: Inflamación crónica y estrés oxidativo en la diabetes mellitus. *Bioquímica* 2007; 32(2): 58-69.
20. Hernández-Juárez J, Gallegos B, Pérez-Campos Mayoral E, Pérez-Campos E, Pina S, Hernández-Cruz P. Efecto de la hiperglucemia en la actividad plaquetaria. *Rev Educ Bioq (REB)*, 2017, pp. 55-64.
21. Fejes Z, Póliska S, Czimmerer Z, Káplár M, Penyige A, Gál Szabó G, et al. Hyperglycaemia suppresses microRNA expression in platelets to increase P2RY12 and SELP levels in type 2 diabetes mellitus. *Thromb Haemost*. 2017 Feb 28;117(3):529-542.
22. Mahmoodian R, Salimian M, Hamidpour M, Khadem-Maboudi AA, Gharehbaghian A. The effect of mild agonist stimulation on the platelet reactivity in patients with type 2 diabetes mellitus. *BMC Endocr Disord*. 2019 Jun 14;19(1):62.
23. Jerez-Dolz D, Torramade-Moix S, Palomo M, Moreno-Castaño A, Lopez-Vilchez I, Hernandez R, et al. Internalization of microparticles by platelets is partially mediated by toll-like receptor 4 and enhances platelet thrombogenicity. *Atherosclerosis*. 2020 Feb;294:17-24.
24. Provost P. The clinical significance of platelet microparticle-associated microRNAs. *Clin Chem Lab Med*. 2017 May 1;55(5):657-666.
25. Thon JN, Peters CG, Machlus KR, Aslam R, Rowley J, Macleod H, et al. T granules in human platelets function in TLR9 organization and signaling. *J Cell Biol*. 2012 Aug 20;198(4):561-74.
26. Aslam R, Speck ER, Kim M, Crow AR, Bang KW, Nestel FP, et al. Platelet Toll-like receptor expression modulates lipopolysaccharide-induced thrombocytopenia and tumor necrosis factor-alpha production in vivo. *Blood*. 2006 Jan 15;107(2):637-41.
27. Hu L, Chang L, Zhang Y, Zhai L, Zhang S, Qi S, et al. Platelets express activated P2Y12 receptor in patients with diabetes mellitus. *Circulation* 2017; 136(9): 817-833.
28. Verdoia M, Pergolini P, Nardin M, Rollab R, Negroa F, Gioscia R, et al. Gender Differences in Platelet Reactivity in Diabetic Patients Receiving Dual Antiplatelet Therapy. *Cardiovasc Revascularization Med*. 2020; 21: 1144-49.



ARTÍCULO ORIGINAL

Comparación de factores y desenlaces entre diabetes gestacional y diabetes tipo 2 en México

Comparison of risk factors and outcomes between patients with gestational diabetes and patients with type 2 diabetes in Mexico

Rafael Violante-Ortiz¹, Claudio Requena-Rivera² y Alejandra Tavera-Tapia^{1*}

¹División de Investigación, Facultad de Medicina Dr. Alberto Romo Caballero, Universidad Autónoma de Tamaulipas; ²Centro de Estudios de Investigaciones Cardiovasculares y Metabólicas. Tampico, Tamps., México

RESUMEN

Introducción: En México y en el mundo hacen falta estudios que analicen y comparen los factores de riesgo y los desenlaces entre pacientes con diabetes mellitus gestacional (DMG) vs. diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio prospectivo en la región noreste de México. Se reclutó a 1,012 mujeres embarazadas y se compararon los factores de riesgo y desenlaces entre DMG, DMT2 y gestantes sanas. Se analizaron de acuerdo con el trimestre de embarazo en que llegaron a primera consulta y para las DMT2, el efecto del tratamiento sobre los desenlaces. **Resultados:** En pacientes DMT2 hay un alarmante aumento en el índice de fatalidad como son los abortos tempranos, los óbitos y la mortalidad perinatal. Además dos desenlaces gravemente marcados incluyeron: requerimiento de hospitalización (*odds ratio* [OR]: 153.22; $p < 0.0001$; intervalo de confianza del 95% [IC95%]: 21.02-1118.6) y la presencia de malformaciones (OR: 71.49; $p < 0.0001$; IC95%: 9.25-529.3) con respecto a las DMG. **Conclusiones:** Este estudio demuestra claramente los efectos negativos sobre los desenlaces materno-fetales en mujeres embarazadas con DMT2 vs. DMG, dando énfasis a la importancia de la consejería pregestacional, al seguimiento y tratamiento adecuado, a fin de reducir la incidencia de desenlaces agravados en este grupo específico de pacientes.

Palabras clave: Diabetes gestacional. Diabetes tipo 2. Tratamiento farmacológico. Factores de riesgo. Desenlaces.

ABSTRACT

Introduction: In Mexico and in the world, there is a lack of studies that analyze the risk factors and the outcomes between patients with Gestational Diabetes Mellitus (GDM) vs. Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM). **Materials and methods:** A prospective study was conducted in the northeastern region of Mexico. 1012 pregnant women were recruited, risk factors and outcomes were compared between groups GDM, T2DM and healthy pregnant women. In addition, they were analyzed according to the trimester of pregnancy in which they arrived for the first consultation and in the case of T2DM, the effect of treatment on the outcomes. **Results:** In comparison with the GDM group, it was observed that T2DM patients had an alarming increase in the fatality index of outcomes as early abortions, stillbirths and perinatal mortality; including two severely flagged outcomes: requirement of hospitalization (OR: 153.22; $p < 0.0001$; CI95%: 21.02-1118.6) and presence of malformations (OR: 71.49; $p < 0.0001$; CI95%: 9.25-529.3). **Conclusions:** This study clearly demonstrates the negative effects on maternal-fetal outcomes in pregnant women with T2DM vs. GDM. Emphasizing the importance of pregestational counseling, follow-up and adequate treatment, in order to reduce the incidence of aggravated outcomes in this specific group of patients.

Keywords: Gestational diabetes. Type 2 diabetes. Drug treatment. Risk factors. Outcomes.

Correspondencia:

*Alejandra Tavera-Tapia
E-mail: ataveratapia@gmail.com

Fecha de recepción: 30-05-2022
Fecha de aceptación: 29-09-2022
DOI: 10.24875/ALAD.22000015

Disponible en internet: 07-11-2022
Rev ALAD. 2022;12:45-55

INTRODUCCIÓN

La hiperglucemia en el embarazo afecta a uno de cada seis embarazos según los datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS)¹. Si bien la diabetes gestacional (DMG) constituye el 90% de estos casos², la epidemia de obesidad y diabetes que afecta al mundo ha incrementado drásticamente el número de casos de mujeres con diabetes mellitus tipo 2 (DMT2). Los efectos de la hiperglucemia en el embarazo en estas pacientes han sido claramente relacionados con desenlaces adversos serios^{3,4}. La realización de una glucosa en ayunas (GPA) y una hemoglobina glucosilada (HbA1c) en la primera consulta del embarazo es fundamental para establecer el diagnóstico temprano, diferenciarlas de las pacientes con DMG e iniciar un manejo intensivo lo más pronto posible, lo cual ha sido recomendado por el *International Association Diabetes Pregnancy Study Group* (IADPSG)⁵. Dado el aumento en la prevalencia del problema y la severidad de los desenlaces materno-fetales, se analizó la diferencia en la incidencia, factores de riesgo y desenlaces materno-infantiles en pacientes con esta enfermedad vs. aquellas con DMG y gestantes sanas. Además, se observó la incidencia de desenlaces asociado al trimestre de embarazo en el cual se presentaron a su primera consulta y se estudiaron la diferencias entre los distintos tratamientos empleados para control de DMT2 en una cohorte perteneciente a la región noreste de México. La hipótesis del trabajo es que las mujeres embarazadas con diagnóstico de DMT2 tienen mayor presentación de complicaciones materno-fetales, incluyendo las de altísimo riesgo como son aborto, óbitos y malformaciones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio y cohorte

Se realizó un estudio de cohorte prospectivo en 1,012 pacientes atendidas en el Hospital General

Regional Lic. Ignacio García Téllez del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en la ciudad de Matamoros, Tamaulipas; en el periodo de enero de 2009 a diciembre de 2020. La cohorte se clasificó según el diagnóstico de DMG con 347 pacientes, DMT2 con 207 pacientes y gestantes sanas con 458 pacientes.

Diagnóstico de diabetes mellitus gestacional y curva de tolerancia a la glucosa

El diagnóstico de DMG se realizó según los criterios del IADPSG, con al menos un valor positivo de cualquiera de los siguientes: glucemia en ayunas ≥ 92 mg/dl, glucemia ≥ 180 mg/dl tras 1 h curva de tolerancia a la glucosa (CTOG) 75 g y ≥ 153 mg/dl después de 2 h. La CTOG se realizó con la ingestión de 75 g de glucosa anhidra en 377 cc de agua a temperatura ambiente e ingerida en no más de cinco minutos, tomando medidas de glucosa según el IADPSG. En el caso de las DMT2, el diagnóstico ya había sido preestablecido de manera pregestacional en la mayoría de ellas, y en otros casos se estableció con la determinación de una GPA ≥ 126 mg o una HbA1c $\geq 6.5\%$ en la primera consulta gestacional. En ellas el valor de 1 h se obtuvo mediante una glucosa posprandial (GPP), la mayoría de las veces posdesayuno. El comité de ética local aprobó el estudio y todas las pacientes firmaron un consentimiento informado para su inclusión en el estudio. Las gestantes sanas tuvieron diagnóstico negativo de DMG y DMT2, aunque esto no descarta otras comorbilidades. Las pacientes con diagnóstico de DMT1 y pacientes cuya historia clínica estaba incompleta fueron excluidas del estudio.

Variables evaluadas

Se analizaron las variables: edad, índice de masa corporal (IMC), semanas de gestación (SDG) y HbA1c. En

el caso de los recién nacidos, se evaluó talla, peso, SDG al nacer y días de hospitalización. Las pacientes fueron clasificadas según el IMC en peso normal (IMC < 24.99), sobrepeso (IMC de 25 a 29.9) y obesidad (IMC > 30). Se estudió la presencia de los factores de riesgo: edad > 30 años, pacientes con un IMC \geq 25 al comienzo del embarazo, antecedentes de diabetes mellitus, problemas obstétricos, presencia de acantosis y/o síndrome de ovario poliquístico (SOP), ganancia > 20 kg, hipertensión arterial, hiperlipidemia y multiparidad. Se analizaron los desenlaces: preeclampsia, cervicovaginitis, parto prematuro (< 37 semanas), parto muy prematuro (< 32 semanas), rotura prematura de membranas, inducción del trabajo de parto, parto eutócico o distócico, cesáreas, embarazo gemelar, hipoglucemia, síndrome de dificultad respiratoria, sufrimiento fetal agudo, requerimiento de oxígeno o intubación, ictericia, hidramnios, muerte fetal (óbito, malformaciones congénitas, aborto), hospitalización, muy bajo peso al nacer (\leq 2.5 kg) y macrosomía (\geq 4 kg). Se consideró la SDG en que fueron enviadas a consulta de ginecología de alto riesgo de embarazo o a la de endocrinología donde fueron captadas. Para determinar el trimestre de embarazo en el cual llegaron al estudio, se tomó en cuenta el número de SDG al momento de la primera cita, para lo cual fueron clasificadas en primer trimestre (\leq 12 SDG), segundo trimestre (entre 12.1 y 23.9 SDG) y tercer trimestre (\geq 24 SDG).

Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico SPSS (IBM, versión 20). Las variables se presentaron con estadística descriptiva como frecuencia, porcentaje, media, desviación estándar y rango. Las tasas de incidencia fueron calculadas usando el número de eventos divididos por el número total de embarazos en cada grupo. Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para evaluar la normalidad en variables continuas. En caso de

normalidad, se empleó la prueba t de Student; en ausencia, se aplicó la prueba de U Mann-Whitney. Se utilizaron tablas de contingencia, prueba exacta de Fisher y χ^2 para las variables discretas. Se calcularon los *odds ratios* (OR) y los intervalos de confianza del 95% (IC95%). Se consideró estadísticamente significativo un grado de significación (p) < 0.05. La construcción de gráficos y *heatmaps* se realizó con el programa GraphPad Prism versión 8.0.2.

RESULTADOS

Características de la cohorte

Las características de cada grupo (DMG, DMT2 y sanas) se muestran en la tabla 1. Las pacientes DMG y DMT2 presentaron una media de edad e IMC mayores al grupo de embarazadas sanas (p < 0.0001). Hubo predominio de obesidad en pacientes DMG (62%) y DMT2 (52%) y sobrepeso en ambos grupos (30-40%). La SDG de embarazadas sanas y DMG cuando llegaron a consulta tuvo una media similar (~ 24.7 semanas) que discrepó del valor de las DMT2, la cual fue menor (20.9 semanas). Dos características contrastantes entre grupos fueron los valores de glucosa en ayuno y CTOG, el grupo DMT2 mostró los valores más altos y graves. Los valores de HbA1c entre gestantes sanas y DMG tuvo un valor muy similar (~ 5.3 %), mientras que en DMT2 fue mucho mayor (7.4 %) (Fig. suplementaria 1). Se encontraron diferencias significativas (p < 0.0001) entre neonatos del grupo DMT2 y el resto de grupos en el índice ponderal, SDG al nacimiento y, de manera alarmante, en los días de hospitalización (Fig. suplementaria 2).

Análisis de factores de riesgo

Se encontraron diferencias significativas entre los grupos DMT2 y DMG en comparación con las

TABLA 1. Características de la cohorte en estudio

Características	Sanas			DMG				DMT2				DMT2 vs. DMG
	Media	DE	Rango	Media	DE	Rango	Valor p*	Media	DE	Rango	Valor p*	Valor p
Edad (años)	28.7	5.8	16-44	31.8	5.4	19-45	< 0.0001	31.5	5.8	17-44	< 0.0001	NS 0.68
IMC (kg/m ²)	29.4	6.2	14.1-52.5	31.9	5.4	18.9-50.2	< 0.0001	31.0	5.3	18.2-50.2	0.0002	NS 0.055
Peso (kg)	73.9	18.0	37.5-149	80.4	16.0	47.5-145	< 0.0001	77.5	15.0	42-127	0.0012	NS 0.064
Talla (cm)	158.0	0.1	138-180	158.0	0.1	140-180	NS 0.6	158.0	0.1	142-175	NS 0.6	NS 0.36
SDG (semanas)	24.7	7.0	3.1-40	25.5	6.7	6.4-38	0.03	20.9	9.4	6-39.5	< 0.0001	< 0.0001
Hemoglobina glucosilada (%)	5.2	0.2	4.7-5.5	5.5	0.3	4.8-6.2	< 0.0001	7.4	1.5	4.6-12	< 0.0001	< 0.0001
Glucosa ayuno (mg/dl)	80.7	6.4	63-94	100.9	15.3	72-163	< 0.0001	137.5	45.7	54-290	< 0.0001	< 0.0001
CTOG 1 h (mg/dl)	132.7	24.2	44-179	191.2	36.9	98-298	< 0.0001	188.9	53.8	79-349	< 0.0001	NS 0.17
CTOG 2 h (mg/dl)	113.9	19.4	58-154	162.0	38.6	75-336	< 0.0001	-	-	-	-	-
Peso neonato (kg)	3.2	0.5	1.1-4.7	3.2	0.5	0.8-4.9	NS 0.75	3.2	0.8	0.3-5.4	NS 0.79	NS 0.98
Talla neonato (cm)	49.7	2.7	35-63	49.7	3.0	31-74	NS 0.51	48.4	4.9	0-57	< 0.0001	0.001
Índice ponderal (g/cm ³)	2.7	0.3	1.2-3.6	2.6	0.3	0.66-3.8	NS 0.92	2.6	0.8	0-5.8	0.001	0.001
SDG al nacimiento (semanas)	38.4	2.5	0-42	37.9	1.6	28-42	< 0.0001	37.1	3.1	14-43	< 0.0001	0.004
Hospitalización (días)	0.02	0.3	0-7	0.03	0.3	0-6	NS 0.19	2.3	5.9	0-37	< 0.0001	< 0.0001

*Evaluado contra gestantes sanas.

-: no aplica; CTOG: curva de tolerancia a la glucosa; DE: desviación estándar; DMG: diabetes mellitus gestacional; DMT2: diabetes mellitus tipo 2; NS: no significativo; SDG: semanas de gestación.

gestantes sanas en factores como edad > 30, IMC > 25, herencia familiar, problemas obstétricos, presencia de acantosis y/o SOP y multiparidad (Tabla 2). En las pacientes con DMT2 se presentó la incidencia más alta de herencia familiar (90%; OR: 4.44; p < 0.0001; IC95%: 2.72 -7.26), problemas obstétricos (41%; OR: 1.83; p = 0.0005; IC95%: 1.30-2.59) y multiparidad (42.5%; OR: 1.71; p = 0.002; IC95%: 1.22-2.42) con respecto a las gestantes sanas. Las pacientes DMG presentaron la incidencia más alta de datos de presencia de acantosis y/o SOP (57%) en comparación con los otros grupos. En gestantes sanas la incidencia de cada factor de riesgo se mantuvo por debajo de las mostradas por los grupos DMG y DMT2, a excepción de la hiperlipidemia. El análisis de los factores de riesgo combinados indicó que en población sana hay solo un ~ 2% de mujeres sin factores de riesgo, un 25% de mujeres con uno o dos factores

de riesgo (antecedentes heredofamiliares y/o IMC > 25), un 67% con tres a seis factores de riesgo (incluyendo hiperlipidemia, edad > 30 años, multiparidad o presencia de acantosis y/o SOP) y un 5% presenta de siete a nueve factores de riesgo restantes. En los grupos DMG y DMT2 hay algunas diferencias vs. gestantes sanas: todas las mujeres con estas patologías presentaron al menos un factor de riesgo (antecedentes familiares o edad > 30 años), el 8-10% presentaron uno o dos factores de riesgo combinados, aproximadamente el 83% con tres a seis factores de riesgo, y el 7-9% de siete a nueve factores de riesgo para los grupos DMT2 y DMG, respectivamente. Aunque los factores de riesgo se comparten entre población sana y los grupos estudiados, se observa que hay más mujeres DMG y DMT2 con mayor número de factores combinados, lo cual está relacionado con desenlaces agravados (Fig. suplementaria 3).

TABLA 2. Incidencia de factores de riesgo

Factor de riesgo	Sanas		DMG			DMT2				DMT2 vs. DMG
	Incidencia n (%)	Incidencia n (%)	Valor p*	OR	IC95%	Incidencia n (%)	Valor p*	OR	IC95%	Valor p
Edad > 30	221 (48.3)	228 (65.7)	< 0.0001	2.05	1.54-2.74	133 (64.3)	< 0.0001	1.93	1.37-2.7	NS 0.73
IMC > 25	337 (73.6)	313 (90.2)	< 0.0001	3.31	2.19-4.98	187 (90.3)	< 0.0001	3.36	2.02-5.57	NS 0.96
Herencia familiar	305 (66.6)	272 (78.4)	0.0002	1.82	1.32-2.51	186 (89.9)	< 0.0001	4.44	2.72-7.26	0.0006
Problemas obstétricos	125 (27.3)	137 (39.5)	0.0003	1.74	1.29-2.34	85 (41.1)	0.0005	1.83	1.30-2.59	NS 0.71
Presencia de acantosis y/o SOP	179 (39.1)	196 (56.5)	< 0.0001	2.02	1.52-2.69	103 (49.8)	0.01	1.54	1.11-2.15	NS 0.12
Ganancia > 20 kg	44 (9.6)	43 (12.4)	NS 0.20	1.33	0.85-2.08	13 (6.3)	NS 0.156	0.63	0.33-1.20	0.02
Hipertensión	41 (9.0)	37 (10.7)	NS 0.42	1.21	0.76-1.94	25 (12.1)	NS 0.21	1.4	0.8-2.37	NS 0.61
Hiperlipidemia	243 (53.1)	199 (57.3)	NS 0.23	1.19	0.90-1.58	81 (39.1)	0.001	0.57	0.41-0.79	< 0.0001
Multiparidad	138 (30.1)	138 (39.8)	0.004	1.53	1.14-2.05	88 (42.5)	0.002	1.71	1.22-2.41	NS 0.52

*Evaluado contra gestantes sanas.

DMG: diabetes mellitus gestacional; DMT2: diabetes mellitus tipo 2; IC95%: intervalo de confianza del 95%; IMC: índice de masa corporal; NS: no significativo; OR: odds ratio; SOP: síndrome de ovario poliquístico.

Incidencia y desenlaces materno-infantiles

No hubo diferencias significativas en los desenlaces entre las gestantes sanas con las DMG salvo en el número de cesáreas y el síndrome de dificultad respiratoria, donde sí se observó diferencia significativa ($p < 0.05$). La mayoría de los desenlaces en el grupo DMT2 se presentaron mucho más agravados en comparación con los otros grupos. La incidencia de ciertos desenlaces en el grupo DMT2 duplicaba la reportada en el grupo DMG y triplicaba o cuadruplicaba la de gestantes sanas: cervicovaginitis (50%), preeclampsia (18%), partos prematuros (22%), síndrome de dificultad respiratoria (20%) y requerimiento de oxígeno (26%), entre otros. Dentro de los desenlaces más contrastantes en DMT2, se encuentra la muerte fetal (12%), incluyendo óbitos (8%), malformaciones congénitas (2.9%) y abortos (1.5%). Además, los neonatos requieren mayor cantidad de días en cuidados intensivos (25%), presentan más malformaciones (13%), bajo peso al nacer (16%) y mayores

tasas de macrosomía (16%) (Tabla 3). Al comparar con gestantes sanas, dos desenlaces agravados severamente fueron: requerimiento de hospitalización (OR: 153.22; $p < 0.0001$; IC95%: 21.02-1118.6) y presencia de malformaciones (OR: 71.49; $p < 0.0001$; IC95%: 9.25-529.3) (Fig. suplementaria 4). En los neonatos vivos de gestantes DMT2 (13%) se vio mayor incidencia de fetopatías congénitas (26%), cardiopatías congénitas (25%), defectos de tubo neural (incluyendo meningocele y mielomeningocele) (14.3%), criptorquidia (11%) y, en menor medida, hidrocele (7.5%), malformaciones de tubo digestivo (7.5%), síndrome de Down (7.5%) y otros, como paladar hendido (3.7%), hernias (3.7%) y defectos de formación de cráneo (3.7%). Además, el 37% de este grupo de neonatos presentó más de una malformación y el 11% fallecieron después del nacimiento. De manera alarmante, en el grupo de pacientes DMT2 con neonatos con malformaciones, los valores de HbA1c promedio de las gestantes fue del 8.4% y la glucosa en ayuno de 151.1 mg/dl, los cuales son mucho mayores que en el resto de pacientes DMT2. El índice

TABLA 3. Incidencia de desenlaces materno-infantiles asociados a diabetes mellitus gestacional (DMG) y diabetes mellitus tipo 2 (DMT2)

Desenlace	Sanas	DMG				DMT2				DMT2 vs. DMG
	Incidencia n (%)	Incidencia n (%)	Valor p [†]	OR	IC95%	Incidencia n (%)	Valor p [†]	OR	IC95%	Valor p
Preeclampsia	26 (5.7)	27 (7.8)	NS 0.23	1.4	0.80-2.45	38 (18.4)	< 0.0001	3.73	2.20-6.34	0.0002
Cervicovaginitis	152 (33.2)	129 (37.2)	NS 0.24	1.19	0.89-1.59	105 (50.7)	< 0.0001	2.11	1.51-2.95	0.0018
Parto prematuro (< 37 semanas)	43 (9.4)	37 (10.7)	NS 0.55	1.16	0.72-1.83	46 (22.2)	< 0.0001	2.76	1.75-4.34	0.0002
Parto muy prematuro (< 32 semanas)	3 (0.7)	3 (0.9)	NS 0.99	1.32	0.27-6.59	8 (3.9)	0.0052	6.1	1.60-23.22	0.02
Ruptura prematura de membranas	33 (7.2)	26 (7.5)	NS 0.88	1.04	0.61-1.78	16 (7.7)	NS 0.81	1.08	0.58-2	NS 0.92
Inducción de trabajo de parto	57 (12.4)	34 (9.8)	NS 0.24	0.76	0.49-1.2	25 (12.1)	NS 0.89	0.97	0.58-1.59	NS 0.40
Parto eutócico	153 (33.4)	52 (15)	< 0.0001	0.35	0.25-0.5	3 (1.4)	< 0.0001	0.03	0.01-0.09	< 0.0001
Parto distócico	15 (3.3)	12 (3.5)	NS 0.89	1.06	0.49-2.29	26 (12.6)	< 0.0001	4.24	2.2-8.2	< 0.0001
Cesárea	289 (63.1)	283 (81.6)	< 0.0001	2.59	1.86-3.6	174 (84.1)	< 0.0001	3.08	2.03-4.68	NS 0.45
Embarazo gemelar	5 (1.1)	4 (1.2)	NS 0.99	1.06	0.28-3.96	1 (0.5)	NS 0.67	0.44	0.05-3.79	NS 0.66
Hipoglucemia	2 (0.4)	2 (0.6)	NS 0.99	1.32	0.19-9.43	12 (5.8)	< 0.0001	14.23	3.15-64.20	0.0002
Síndrome de dificultad respiratoria	20 (4.4)	33 (9.5)	0.004	2.3	1.3-4.09	41 (19.8)	< 0.0001	5.5	3.13-9.67	0.0006
Sufrimiento fetal agudo	18 (3.9)	10 (2.9)	NS 0.42	0.73	0.33-1.59	16 (7.7)	0.04	2.05	1.02-4.10	0.0091
Requerimiento oxígeno	37 (8.1)	42 (12.1)	NS 0.06	1.56	0.98-2.5	53 (25.6)	< 0.0001	3.99	2.52-6.32	< 0.0001
Requerimiento intubación	4 (0.9)	9 (2.6)	NS 0.09	3.02	0.92-9.9	7 (3.4)	0.041	4.05	1.17-13.96	NS 0.6
Ictericia	3 (0.7)	8 (2.3)	NS 0.06	3.58	0.94-13.59	11 (5.3)	0.0003	8.68	2.39-31.46	NS 0.06
Hidramnios	17 (3.7)	11 (3.2)	NS 0.45	0.73	0.32-1.67	15 (7.2)	NS 0.09	1.87	0.88-3.98	0.027
Muerte fetal*	0 (0)	3 (0.9)	NS 0.08	-	-	25 (12.1)	< 0.0001	-	-	< 0.0001
Óbito	0 (0)	2 (0.6)	NS 0.18	-	-	16 (7.7)	< 0.0001	-	-	< 0.0001
Malformaciones congénitas	0 (0)	0 (0)	-	-	-	6 (2.9)	0.0009	-	-	0.0026
Aborto	0 (0)	1 (0.3)	NS 0.43	-	-	3 (1.4)	0.03	-	-	NS 0.14
Hospitalización	1 (0.2)	2 (0.6)	NS 0.58	2.65	0.24-29.46	52 (25.1)	< 0.0001	153.32	21.02-1118.4	< 0.0001
Presencia de malformaciones	1 (0.2)	3 (0.9)	NS 0.32	3.99	0.41-38.48	27 (13)	< 0.0001	71.49	9.25-529.3	< 0.0001
Muy bajo peso al nacer (\leq 2.5 kg)	26 (5.7)	27 (7.8)	NS 0.23	1.4	0.8-2.45	33 (15.9)	< 0.0001	3.15	1.83-5.43	0.0028
Macrosomía (\geq 4 kg)	30 (6.6)	21 (6.1)	NS 0.77	0.92	0.52-1.63	35 (16.9)	< 0.0001	2.9	1.73-4.88	< 0.0001

*Suma de óbitos, malformaciones congénitas y abortos.

†Evaluado contra gestantes sanas.

-: no aplica; IC95%: intervalo de confianza del 95%; NS: no significativo; OR: odds ratio.

de malformaciones aumenta si se toma en cuenta a los niños que murieron en el útero y que están clasificados dentro de las muertes fetales en mujeres con DMT2 (3%), ascendiendo al 16%.

Diferencias entre desenlaces según el trimestre de embarazo a primera consulta

Las gestantes sanas y las DMG se presentaron en su mayoría en el segundo (~ 27%) y tercer trimestre de embarazo (~ 67%). Las pacientes DMT2 se presentaron desde el primer (20%), segundo (43.5%) y tercer trimestre (37%) (Fig. suplementaria 5). Las pacientes sanas y DMG cuando se presentaban a primera consulta en primer trimestre presentaron nulos casos de muerte fetal (Tabla suplementaria 1). En pacientes DMT2 hubo mayor número de complicaciones si se presentaban a primera consulta en el segundo y tercer trimestre. Dos desenlaces que se presentaron con mayor incidencia en DMT2 que en DMG en todos los trimestres a primera consulta fueron hospitalización y macrosomía. Los desenlaces relacionados con muerte fetal aumentó de manera significativa cuando la primera consulta se realizaba en el tercer trimestre, sumado a diferencias significativas respecto al grupo DMG en desenlaces como: mayores casos de preeclampsia, cervicovaginitis, partos prematuros, hipoglucemia, síndrome de dificultad respiratoria y fetal agudo, requerimiento de oxígeno y malformaciones ($p < 0.05$) (Tablas suplementarias 2 y 3).

Diferencias entre desenlaces de acuerdo con el tratamiento para el grupo DMT2

Las pacientes DMT2 fueron tratadas de la siguiente manera: 1.4% solo con dieta, 17.9% solo con

metformina, 27.1% solo con insulina y 53.6% con esquemas mixtos de metformina + insulina. En el grupo de mujeres sanas, al 100% se le dieron recomendaciones dietéticas generales de un consumo bajo en azúcares simples y grasas y no requirieron tratamiento farmacológico; en el grupo DMG el 16% recibieron dieta, el 75% recibieron metformina y el 9% esquemas mixtos de metformina + insulina, ninguna requirió de esquema basado solo en insulina. El tratamiento de las pacientes fue elegido con base en los resultados iniciales de su glucosa en ayuno y a 1 h, ya fuera posdesayuno o posprandial, así como de su HbA1c en la primera consulta, de modo que las mujeres gestantes que tuvieron los niveles más bajos fueron tratadas inicialmente solo con dieta, aquellas con valores levemente elevados con metformina y aquellas con los valores más altos iniciados con insulina directamente. Las pacientes fueron progresadas de dieta a metformina o de metformina a insulina si no se lograban las metas de control establecidas. Eso explica por qué las pacientes tratadas solo con dieta presentan los valores más bajos de HbA1c, glucosa en ayuno y a 1 h. En tanto que los tratamientos de metformina + insulina y solo insulina presentan los valores más altos de HbA1c, siendo del 7.5 y 7.9% respectivamente. En los desenlaces se notó que los neonatos de mujeres tratadas con dieta presentaron talla, peso y SDG al nacimiento más elevados en comparación con el resto de tratamientos. Las pacientes que estuvieron en insulina observaron una diferencia significativa en los días de hospitalización, siendo los rangos más prolongados para los grupos con metformina + insulina (0-18 días) y solo insulina (0-37 días) con respecto a los otros que siguieron dieta o recibieron solo metformina. Los grupos que recibieron tratamiento farmacológico presentaron mayor incidencia de desenlaces adversos en comparación con el grupo de dieta, probablemente en relación con las cifras mayores de glucosa sérica en ayunas y posprandiales, así como mayores niveles de HbA1c (Tabla

suplementaria 4). Dentro del grupo farmacológico, el que recibió metformina presentó la menor incidencia de desenlaces adversos, seguido por los grupos metformina + insulina y finalmente aquellos esquemas de solo insulina. Este último presentó más casos de hospitalizaciones con estancia prolongada, mayor incidencia de malformaciones, neonatos de muy bajo peso, partos prematuros, ruptura prematura de membranas, inducción de trabajo de parto, síndrome de dificultad respiratoria, ictericia e hidramnios. El grupo de metformina + insulina presentó los porcentajes más elevados de partos muy prematuros, hipoglucemia y macrosomía. En el grupo de metformina hubo cantidades más elevadas de preeclampsia, síndrome de dificultad respiratoria y abortos; no obstante, la incidencia del resto de desenlaces se mantuvo por debajo de los otros grupos con tratamiento farmacológico (Tabla suplementaria 5).

DISCUSIÓN

Se demostró claramente una mayor incidencia de desenlaces adversos en mujeres con DMT2 vs. el grupo DMG y el grupo con embarazos normales, tal y como ha sido demostrado en diversas publicaciones y que parece tener relación lineal con los valores elevados de glucosa⁶. En un metaanálisis realizado para medir el efecto de la DMG sobre los desenlaces se informó una relación lineal entre los valores aumentados de glucosa y HbA1c con la presencia de desenlaces adversos, encontrando que la diabetes pregestacional incrementa desenlaces como mortalidad perinatal (OR: 3.39), preeclampsia (OR: 3.48) e hipoglucemia neonatal (OR: 26.62)⁷. Otros reportes encontraron cifras muy similares a las del presente trabajo^{8,9}: preeclampsia (OR: 3.73), bajo peso al nacer (OR: 3.15) partos muy prematuros (OR: 6.1), necesidad de intubación (OR: 4.05), hipoglucemia (OR: 14.23), hospitalización (OR:

153.52) y presencia de malformaciones (OR: 71.49), además de muertes fetales ($p < 0.0001$). Por otro lado, la semejanza entre desenlaces de gestantes sanas y DMG parece indicar que el valor del nivel de glucosa y HbA1c a primera consulta, así como un control de estos, son cruciales para evitar desenlaces agravados.

Las anomalías congénitas es el desenlace serio más frecuente y están también especialmente relacionadas con un pobre control glucémico en las mujeres con diabetes. Se ha encontrado mucha mayor incidencia de este desenlace en pacientes con diabetes pregestacional que en gestantes DMG, atribuyendo la embriopatía asociada a DMT2 a desórdenes metabólicos que se originan de señales de transducción y procesos morfogenéticos que probablemente se ven interrumpidos relacionados con niveles elevados de glucosa y HbA1c pregestacional¹⁰. También se ha reportado una incidencia del 9.8% y un riesgo de 11 veces más de malformaciones congénitas en un grupo de 182 mujeres con DMT2¹¹ y se encontró una OR para malformaciones mayores como cardiopatías congénitas y defectos de tubo neural que iba de 2.50 en mujeres con DMT2 con niveles de HbA1c del 7.5 a 9.4% a 7.75 en pacientes que tenían HbA1c > 11.5%¹². Nuestro estudio encontró una cifra aún mayor: OR 71.49 ($p < 0.0001$; IC95%: 9.25-529.3) y es de hacer notar que la incidencia fue del 0.2, 0.9 y 13.0% en mujeres sanas, con DMG y con DMT2. En cuanto a desenlaces maternos como preeclampsia, cervicovaginitis, parto prematuro y muy prematuro, llamó la atención en nuestro trabajo que no hubo diferencias significativas entre embarazadas sanas y DMG, solo elevándose en DMT2. Lo mismo fue observado para la mayoría de los desenlaces fetales como hipoglucemia, sufrimiento fetal agudo (SFA), requerimiento de O₂, intubación, ictericia y desenlaces más fatales como muerte fetal, óbito, hospitalización, malformaciones congénitas y macrosomía, los cuales estuvieron claramente aumentados en DMT2.

Diversos estudios han demostrado la seguridad de los tratamientos tanto orales como la metformina como inyectables como la insulina. Ambos han demostrado no aumentar el riesgo de pérdidas fetales o malformaciones congénitas^{6,13}. Más que el tipo de tratamiento, los desenlaces han demostrado estar en relación con los niveles progresivamente más altos tanto de glucosa como de HbA1c. Ello explica por qué las gestantes que estuvieron en tratamiento solo con dieta aun teniendo DMG presentan desenlaces parecidos a las embarazadas sanas, y el porqué las pacientes con DMT2 presentan aumento de desenlaces graves. Este fenómeno vuelve a observarse cuando la menor incidencia de desenlaces fue vista con metformina, seguido por la combinación metformina + insulina y después insulina, claramente en relación con el nivel progresivamente mayor de la GPA, la GPP y la HbA1c. En el grupo de metformina + insulina se detectaron más casos de muerte fetal. Se ha reportado en pacientes DMG menor presentación de desenlaces graves con metformina a diferencia de insulina, ya que en este último hubo desenlaces aumentados como cesáreas, preeclamsia, partos prematuros, muy prematuros y macrosomía¹⁴. Mientras que el grupo de metformina presentó menor incidencia de cesáreas y malformaciones congénitas y en general no estuvo asociado con otros desenlaces adversos. Se ha demostrado un aumento en el uso de metformina como alternativa para tratar la diabetes pregestacional, lo cual favorece un mejor control metabólico relacionado con una disminución de desenlaces graves, evitando algunos de los efectos secundarios de la insulina como aumento de peso y mayor tasa de hipoglucemias, y reduciendo de manera importante la macrosomía¹⁵.

El énfasis sobre la consejería pregestacional es de vital importancia a fin de lograr niveles adecuados de HbA1c y glucemia en etapas previas e iniciales del embarazo¹⁶. En mujeres DMT2 este control es vital,

ya que de no lograrse hay más probabilidad de malformaciones congénitas, complicaciones y muerte materno-infantil¹⁷. Un examen temprano en el primer trimestre por otra parte es fundamental para el diagnóstico diferencial entre DMT2 y DMG, así como para la elección del tratamiento inicial. Otro punto importante que deja este estudio es la necesidad de enviar lo más tempranamente posible a estas pacientes a control metabólico, ya que hay una mayor incidencia de complicaciones serias en pacientes que llegaron en el tercer trimestre a consulta.

A nivel nacional e internacional este es uno de los primeros reportes¹⁸ que compara factores de riesgo y desenlaces entre gestantes con DMT2, DMG y sanas, así como la incidencia de desenlaces de acuerdo con el tratamiento farmacológico recibido. A futuro sería interesante reunir información de múltiples centros hospitalarios, incrementar la cohorte y estudiar otras zonas geográficas. De igual manera, se podrían profundizar estos análisis de contar con más información sobre tipos y tiempos de tratamiento de DMT2 previo al embarazo; así como realizar un seguimiento tanto a la gestante como al neonato para estudiar desenlaces a largo plazo.

Las recomendaciones clínicas para las gestantes DMT2 incluyen una planeación anticipada del embarazo, lograr un control metabólico adecuado (meta HbA1c < 6.5%), monitorización escrupulosa, seguimiento de tratamientos, cambios de hábitos alimenticios y de ejercicio durante el embarazo¹⁹. Una intervención a tiempo reduce los desenlaces graves, incluyendo malformaciones congénitas y muerte. En México todos estos factores son vistos de manera alarmante en numerosas pacientes con DMT2, empezando por la ausencia casi total de una consultoría pregestacional, la elección del momento adecuado del embarazo, el diagnóstico temprano de las diabéticas no conocidas, así como el seguimiento y monitoreo estricto de estas mujeres durante el embarazo.

Una forma de conseguir un control en el diagnóstico de DMT2 y DMG es un esfuerzo desde el primer nivel de atención, la instauración de programas dirigidos específicamente a la planeación y monitoreo del embarazo, diagnóstico oportuno desde la primera consulta de embarazo independientemente de los factores de riesgo, así como insistir con toda gestante de realizarse revisiones desde el primer trimestre. El enfoque principalmente está sobre el bajo tamizaje de DMT2, por tanto también son necesarios estudios epidemiológicos actuales que informen sobre el estado de DMG y DMT2 en la población que ayuden a promover/instaurar medidas necesarias.

CONCLUSIONES

Este estudio demuestra notoriamente los efectos nocivos de la hiperglucemia sobre los desenlaces materno-fetales en mujeres embarazadas con DMT2, con un alarmante aumento en el índice de fatalidad como son los abortos tempranos, los óbitos, la mortalidad perinatal, la alta incidencia de malformaciones congénitas graves y un aumento en los días de hospitalización. Esto refleja la enorme necesidad de poner más énfasis en la consejería pregestacional centrada en una efectiva anticoncepción y el control óptimo adecuado, antes de intentar una gestación. La concienciación del problema tanto para el médico como para la paciente, así como la programación del embarazo de mujeres con DMT2 hasta que los niveles de HbA1c estén en meta de control, la realización de glucosa y HbA1c en la primera consulta del embarazo, así como el envío temprano a consulta de especialidad o de embarazo de alto riesgo, el seguimiento y tratamiento adecuado y ajustado con base en el monitoreo de glucosa estricto, son indispensables para lograr reducir las complicaciones materno-fetales encontradas muy frecuentemente en el presente trabajo.

MATERIAL SUPLEMENTARIO

El material suplementario se encuentra disponible en la Revista de la Asociación Latinoamericana de Diabetes con DOI: 10.24875/ALAD.22000015. Este material es provisto por el autor de correspondencia y publicado online para el beneficio del lector. El contenido del material suplementario es responsabilidad única de los autores.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Chávez R, Oviedo JC, Gutiérrez-Sánchez JM, Tabet-Sandoval MA, Reta-García RJ, Lozano-Guzmán I, Pancardo-Amador MJ, Múñiz-Reséndiz VR, Santos-Cruz del A y Martínez-Álvarez G por su contribución en la recolección y/o gestión de datos.

FINANCIAMIENTO

Los autores declaran no haber recibido financiación para este estudio.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

RESPONSABILIDADES ÉTICAS

Protección de personas y animales. Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. International Federation of Gynecology and Obstetrics. FIGO Global Declaration on Hyperglycaemia in Pregnancy [Internet]. International Federation of Gynecology and Obstetrics; 2018. Disponible en: <https://www.figo.org/FIGO-globaldeclaration-hip>
2. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Boletín No. 201: Pregestacional diabetes mellitus. *Obstet Gynecol.* 2018;132:e228-48.
3. McCance DR. Diabetes in pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2015;29:685-99.
4. Clausen TD, Mathiesen E, Ekblom P, Hellmuth E, Mandrup-Poulsen T, Damm P. Poor pregnancy outcome in women with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2005;28:323-8.
5. International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups. Recommendations on the Diagnosis and Classification of Hyperglycemia in Pregnancy. *Diabetes Care.* 2010;33:676-82.
6. Cea-Soriano L, García-Rodríguez La, Brodovicz KG, Masso-González E, Batels DB, Hernández-Díaz S. Safety of non-insulin glucose-lowering drugs in pregnant women with pre-gestational diabetes: A cohort study. *Diabetes Obes Metab.* 2018; 20:1642-51.
7. Balsells M, García-Patterson A, Gich I, Corcoy R. Maternal and fetal outcome in women with type 2 versus type 1 diabetes mellitus: a systematic review and metaanalysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94:4284-91.
8. Yu L, Zeng XL, Cheng ML, Yang GZ, Wang B, Xiao ZW, et al. Quantitative assessment of the effect of pre-gestational diabetes and risk of adverse maternal, perinatal and neonatal outcomes. *Oncotarget.* 2017;8:61048-56.
9. Hewapathirana NM, Murphy HR. Perinatal outcomes in type 2 diabetes. *Curr Diab Rep.* 2014;14:461.
10. Correa A, Gilboa SM, Besser LM, Botto LD, Moore CA, Hobbs CA, et al. Diabetes mellitus and birth defects. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;199:237. e1-9.
11. Dunne F, Brydon P, Smith K, Gee H. Pregnancy in women with type 2 diabetes: 12 years outcome data 1990-2002. *Diabet Med.* 2003;20: 734-8.
12. Dude AM, Badreldin N, Schieler A, Yee LM. Periconception glycemic control and congenital anomalies in women with pregestational diabetes. *BMJ Open Diabetes Res Care.* 2021;9:e001966.
13. Linday RS, Loeken MR. Metformin use in pregnancy: promises and uncertainties. *Diabetologia.* 2017;60:1612-19.
14. Lin SF, Chang SH, Kuo CF, Lin WT, Chiou MJ, Huang YT. Association of pregnancy outcomes in women with type 2 diabetes treated with metformin vs. insulin when becoming pregnant. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2020;20:512.
15. Moll U, Olsson ML, Nilsson C, Ursing D, Strevens H. Pregnancy outcome in women with gestational diabetes - A longitudinal study of changes in demography and treatment modalities. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020;99:333-40.
16. Ali DS, Davern R, Rutter E, Coveney C, Devine H, Walsh JM, et al. Pre-gestational diabetes and pregnancy outcomes. *Diabetes Ther.* 2020;11:2873-85.
17. Roman, MA. Preconception care for women with preexisting type 2 diabetes. *Clin Diab.* 2011;1:10-6.
18. Serehi AA, Ahmed AM, Shakeel F, Alkhatani K, El-Bakri NK, Buhari BAM et al. A comparison on the prevalence and outcomes of gestational vs. type 2 diabetes mellitus in 1718 Saudi pregnancies. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8:115027-7.
19. Davidson AJF, Park AL, Berger H, Aoyama K, Harel Z, Cook JL, et al. Risk of severe maternal morbidity or death in relation to elevated hemoglobin A1c preconception, and in early pregnancy: A population-based cohort study. *PLoS Med.* 2020;17:e1003104.



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Revisión sistemática: apoyo familiar y control glucémico en adultos con diabetes tipo 2

Systematic review: family support and glycemic control in adults with type 2 diabetes

Cesia E. Rosas-Amaro¹, Patricia E. Miranda-Félix^{2*} y Beatriz García-Solano¹

¹Facultad de Enfermería, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Pue.; ²Facultad de Enfermería Mochis, Universidad Autónoma de Sinaloa, Los Mochis, Sin. México

RESUMEN

Objetivo: Revisar la evidencia disponible sobre la relación que existe entre el apoyo social y el control glucémico en pacientes adultos con diabetes tipo 2.

Metodología: La búsqueda de literatura se realizó en Google Scholar, EBSCO, Cochrane, PubMed, BVS, Redalyc, y Scielo en idioma inglés y español. La lectura crítica de los estudios se realizó según la guía para estudios de relación del *Joanna Briggs Institute Critical Appraisal*. La síntesis de la literatura se realizó de acuerdo con el manual de Holly, Salmon y Saimbert.

Resultados: La revisión incluyó nueve artículos, los hallazgos muestran correlación positiva y negativa entre apoyo familiar y control adecuado de la glucosa en sangre por medio de la prueba de HbA_{1c}/GPA. **Conclusión:** Según la evidencia científica disponible el apoyo familiar es un pilar importante en el control glucémico de los pacientes con diabetes.

Palabras clave: Apoyo social. Apoyo familiar. Familia. Diabetes tipo 2. Control glucémico.

ABSTRACT

Objective: To review the available evidence on the relationship between Social Support and Glycemic Control in adult patients with Type 2 Diabetes.

Methodology: The literature search was carried out in Google Scholar, EBSCO, Cochrane, PubMed, BVS, Redalyc, Scielo in English and Spanish. The critical reading of the studies was carried out through the guide for relationship studies of the Joanna Briggs Institute Critical Appraisal. The synthesis of the literature was carried out according to the manual by Holly, Salmon and Saimbert.

Results: the review included 9 articles, the findings show a positive and negative correlation between family support and adequate control of blood glucose through the HbA_{1c}/GPA test. **Conclusion:** According to the available scientific evidence, family support is an important pillar in the glycemic control of patients with diabetes.

Keywords: Social support. Family support. Family. Type 2 diabetes. Glycemic control.

Correspondencia:

*Patricia E. Miranda-Félix
E-mail: mirandapaenmife@gmail.com

Fecha de recepción: 01-04-2022
Fecha de aceptación: 29-09-2022
DOI: 10.24875/ALAD.22000011

Disponible en internet: 07-11-2022
Rev ALAD. 2022;12:56-64

INTRODUCCIÓN

La diabetes representa un problema de salud emergente, actualmente se considera una enfermedad social, no solo por su alta incidencia, sino por el costo que representa en la persona que la padece, en la familia, instituciones de salud y para el gobierno. En el mundo 537 millones de personas viven con esta condición de salud¹, de los cuales el 90% de casos padecen diabetes tipo 2 (DT2), siendo así una de las diez principales causas de fallecimiento, y ha ocasionado un aumento en gastos de salud de 966 millones de dólares en los últimos 15 años. Además, se estima que para el año 2045 el número de personas con esta enfermedad crónica ascenderá a los 783 millones². En México el 10.3% de la población mayor de 20 años vive con diabetes, de los cuales el 87% recibe tratamiento y solo el 25% presenta buen control glucémico. En Sinaloa el 10.7% de la población la padece³.

La DT2 se asocia con disminución de la secreción de la insulina, la resistencia de esta o ambas. Es una enfermedad crónica compleja de etiología múltiple que requiere de atención médica continua con estrategias multifactoriales de reducción de riesgo⁴. La educación y el apoyo continuo para el autocontrol de la diabetes son fundamentales para reducir el riesgo de complicaciones. El tratamiento de la DT2 requiere de un abordaje interdisciplinario, un cambio en el estilo de vida, además del involucramiento de la familia. La familia juega un rol importante en el tratamiento del paciente con DT2, el entorno del paciente-familia brinda un soporte importante, siempre que ayude a reforzar los comportamientos que favorecen la adhesión al tratamiento. Se ha evidenciado que los pacientes que reciben apoyo por parte de la familia tienen 2.7 veces más probabilidades de lograr un buen control metabólico⁵.

El control de la DT2 requiere de un cambio en el estilo de vida, tanto de la persona que la padece como de la familia. Este cambio incluye cumplir con una alimentación adecuada saludable, ejercicio, monitoreo de glucosa y ajuste en la medicación, entre otras actividades que deben ser realizadas por el resto de su vida⁶, sin embargo el porcentaje de personas con diabetes tipo 2 con adecuado control es bajo, solamente el 25.5% presenta buen control (< 6.5%), lo cual sugiere que el cumplimiento del tratamiento es deficiente⁷.

Al respecto se han realizado numerosos estudios en relación con los factores que intervienen en el control de la diabetes, las investigaciones, que se han enfocado en determinar la relación existente entre apoyo social y control glucémico, mencionan que la red de apoyo social se encuentra constituida por la familia, amigos y personal de salud; pocos estudios abordan la relación entre el apoyo familiar y control glucémico, aunque es importante resaltar que en sus hallazgos reportan que dentro de los componentes de apoyo social han encontrado mayor relación en los miembros de la familia, hermanos, cónyuge e hijos^{8,9}. Asimismo, se ha encontrado mayor control glucémico en estos pacientes con DT2¹⁰. Lo anterior supone un vacío en la literatura científica del apoyo familiar relacionado con el control glucémico en adultos con DT2.

Por lo anterior, se realizó una revisión sistemática de la literatura, cuyo objetivo es analizar la información científica disponible sobre la relación que existe entre el apoyo familiar y el control glucémico en adultos con DT2.

MATERIALES Y MÉTODOS

La revisión fue realizada a partir de los pasos propuestos por el manual de Holly, Salmon y Saimbert¹¹,

que integra lo siguiente: 1) formular la pregunta de revisión sistemática; 2) establecer los criterios de inclusión y exclusión; 3) seleccionar las estrategias de búsqueda y llevar a cabo la búsqueda; 4) selección de los artículos potenciales que serán incluidos en la revisión; 5) extracción de los datos; 6) síntesis y análisis de los datos, y 7) discusión y conclusión de los hallazgos y recomendaciones para la práctica profesional y búsqueda futura.

Se realizó la pregunta de interés para la revisión sistemática utilizando el enfoque PEO para estudios del dominio etiológico, el cual se interpreta de la siguiente forma: P = población, E = exposición, O = resultado. ¿Cuál es la evidencia disponible sobre la relación que existe entre el apoyo familiar y el control glucémico?

El proceso de selección de estudios se realizó en dos etapas, la primera fue del año 2016 al 2021, al tener esta una literatura muy escasa, se amplió a una segunda etapa, entre el año 2011 y el 2016, en ambas búsquedas se incluyeron artículos originales, exploratorios, transversales, descriptivos y correlacionales que mostraran relación del apoyo familiar y control glucémico, publicados en bases reconocidas. Se excluyeron los estudios que presentaran apoyo de asociaciones y amigos, así como otro tipo de diabetes como el tipo 1 y la diabetes gestacional; la búsqueda de la literatura inició en junio y terminó en agosto del 2021.

La estrategia de búsqueda inició a partir de las herramientas de los descriptores *Medical Subject Headings* (MeSH) y *Descriptores en Ciencias de la Salud* (DeCS). Se consultaron siete bases de datos científicas: PubMed, Scielo, Redalyc, Google Académico, Scopus, Cochrane y BVS. Con ayuda de los descriptores y de los operadores booleanos AND y OR se realizaron las siguientes combinaciones: *social support* (este término debido a que los artículos

TABLA 1. Palabras clave utilizadas en idioma español, inglés y portugués por los descriptores MeSH y DeCS

Español	Inglés	Portugués
Apoyo Social	Social Support	Apoio social
Diabetes mellitus tipo 2	Diabetes mellitus, type 2	Diabetes mellitus tipo 2
Familia	Family	Familia
Control glucémico	Glycemic control	Controle glicêmico
Apoyo familiar	Family support	Apoio familia

encontrados estudiaban el apoyo familiar derivado del apoyo social) AND *diabetes mellitus, type 2; social support* AND *family* AND *glycemic control*, Familia AND Control glucémico, *social support* AND *diabetes* y *social support* OR *family support* AND *glycemic control*, *family support* AND *glycemic control* AND *diabetes mellitus, type 2* y *social support* OR *family support* AND *glycemic control* AND *diabetes mellitus, type 2*. Las palabras clave utilizadas en la revisión se tradujeron en tres idiomas (inglés, español y portugués) para ampliar la búsqueda (Tabla 1).

Para la selección de los estudios se utilizó el diagrama de flujo *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (Fig. 1). Se consideró la información científica que contaba con las variables e información de interés, a partir del resumen, introducción, objetivos, métodos, resultados, conclusiones y sus palabras clave; utilizando los descriptores anteriormente mencionados se identificaron un total de 1,433 estudios, de estos se seleccionaron 122 para lectura del *abstract*, una vez leído este, se eliminaron cuatro que estaban repetidos, se contemplaron 12 artículos para lectura completa, posterior a ello se eliminaron tres debido a que median apoyo familiar pero no con control glucémico, finalmente se incluyeron nueve artículos potenciales

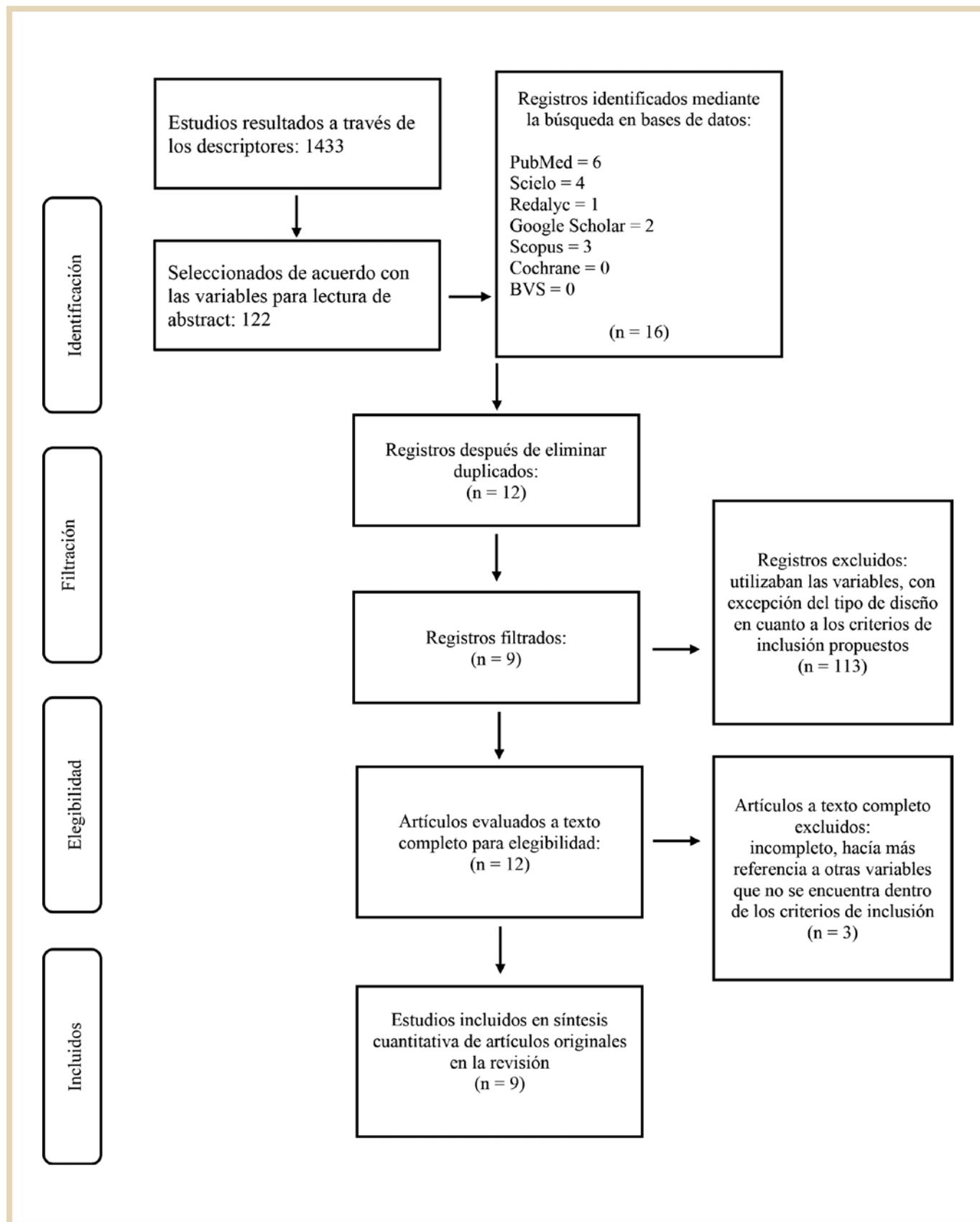


FIGURA 1. Diagrama de flujo PRISMA de la selección de artículos potenciales para la revisión sistemática.

para la revisión; por medio de un filtro de evaluación del manual del *Joanna Briggs Institute: Critical Appraisal Checklist for Studies Reporting Prevalence Data*, para el tipo de diseño de corte transversal con ocho reactivos (siete artículos), de cohorte con 11 reactivos (dos artículos) y para los ensayos clínicos aleatorizados con 25 reactivos del CONSORT 2010 (un artículo).

La extracción de los datos de los artículos seleccionados consistió en una lectura de cada uno de ellos, por lo que se identificó y se representó en tablas el autor, el año, el objetivo, la media de edad y desviación estándar, el tiempo de diagnóstico por DT2 de la muestra poblacional, país y el lugar de procedencia, la revista a la que pertenecen los artículos y su factor de impacto, el tipo de diseño, análisis estadísticos y la relación de las variables, además se mencionaron algunos hallazgos, sesgos presentados, implicaciones y comentarios de los autores. El procedimiento de síntesis de la literatura fue por medio de la identificación sobre la relación de las variables apoyo familiar y control glucémico.

RESULTADOS

Se incluyeron nueve estudios originales de la última década, publicados en inglés y español en revistas con factor de impacto entre 0.4 y 4.6 (por Scopus). Se identificaron muestras poblacionales de entre 77 y 345 participantes con DT2 y un rango de años de diagnóstico de seis meses hasta ocho años en algunos estudios, los artículos potenciales derivan de países como: México, Nigeria, Bangladesh, EE.UU., Irán y Malasia (Tabla 2).

Dentro de los estudios analizados se utilizaron instrumentos como: la *Perceived social support-Family scale*¹², el instrumento para evaluar apoyo familiar en la persona con diabetes tipo 2^{13,14}, *Diabetes care profile*¹⁴, *Social Support Appraisals Scale*¹⁵, *The*

*Multidimensional Scale of Perceived Support Scale*¹⁶, *Family Behavior Checklist*¹⁷, *Questions about perceived social support*¹⁸ y *The Social Support Survey-Medical Outcomes Study*¹⁹.

El 100% de los estudios mostraron correlación significativa ($p \leq 0.5$), de los cuales cinco reportaron análisis de correlación (r), dos utilizaron la prueba OR y dos χ^2 , dentro de los estudios mencionados con el estadístico r , dos presentaron correlación positiva y tres correlación negativa. Los resultados se explican a continuación.

Los hallazgos muestran correlación positiva ($r = 0.26$) entre el apoyo familiar y el control adecuado de la glucosa en sangre por medio de la prueba de hemoglobina glucosilada/glucemia plasmática en ayunas (HbA1c/GPA)^{14,17}, sin embargo, también se identificaron correlaciones negativas entre el apoyo familiar y niveles medios de HbA1c^{15,16,19}, donde en este orden los resultados son los siguientes: $r = -0.25$, $r = -0.041$ y $r = -0.48$ respectivamente. Esto debido a que el control glucémico se asoció con nuevas formas de apoyo familiar, este impacto solo se pudo explicar por la varianza de la HbA1c entre los pacientes con DT2.

Asimismo, se encontró asociación entre el apoyo familiar y el control glucémico ($\chi^2 = 82.6$ y $\chi^2 = 134.16$), demostrando que los pacientes adultos tienen un mejor control que los jóvenes^{12,18}. Por otra parte, los estudios muestran que un apoyo familiar global alto aumenta 3.08 y 2.70 veces la probabilidad de tener buen control glucémico en comparación con un apoyo familiar medio o bajo; cabe resaltar que no se demostró asociación con el control glucémico^{4,13} (Tabla 3).

DISCUSIÓN

El objetivo de esta revisión sistemática fue analizar la información científica disponible sobre el apoyo

TABLA 2. Características y resultados generales de los estudios seleccionados

Autor/año	Tipo de población	Características de la población	Variable de desenlace	Método de medición	Prueba estadística	Resultado	Variables confusoras
García et al., 2018 ¹³	690 individuos: 345 familiares de personas con diabetes y 345 pacientes con diabetes tipo 2, adscritos a la UMF 26 del IMSS, México	Media de edad: 61.5 Años de Dx: ≥ 1	Apoyo familia	*Instrumento Apoyo familiar al diabético tipo II $\alpha = 0.93$	Odds ratio (OR)	El apoyo familiar global aumenta 2.70 veces la probabilidad de tener un buen control glucémico	Tomar parámetro de control de la hemoglobina glucosilada en lugar de glucosa en ayuno
Osuji et al., 2018 ¹²	316 personas con DT2 de la Clínica Médica Ambulatoria/ Nigeria	Media de edad: 60.96 Años de Dx: ≥ 1	Apoyo familiar	Perceived Social Support - Family scale $\alpha = 0.88$	Chi cuadrada (χ^2)	Reportaron asociación entre el apoyo familiar y el control glucémico ($\chi^2 = 134.16$)	Estudio hospitalario, por lo cual no se pueden generalizar los resultados a las personas con DT2
Shawon et al., 2016 ¹⁴	144 pacientes con DT2 del departamento de medicina ambulatoria del Hospital Universitario Médico de Dhaka en Bangladesh (101 hombre/ 43 mujeres)	Media de edad: 45.62 Años de Dx: 45.62	Apoyo familiar	Diabetes Care Profile (DCP) $\alpha = 0.95$	Correlación (r)	Existe correlación positiva entre el apoyo familiar y el control glucémico (r = 0.26)	El plan de dieta generaba un control deficiente de la glucosa en sangre
Arigo et al., 2015 ¹⁵	185 pacientes con DT2 de EE.UU.	Media de edad: 49 Años de Dx: 4	Apoyo familiar	Social Support Appraisals Scale $\alpha = 0.95$	Correlación (r)	Se encontró correlación negativa (r = -0.25) y niveles medios de HbA1c	Comparación de apoyo social y apoyo familiar por el contexto social de la diabetes
Shayeghian et al., 2015 ¹⁶	100 adultos con DT2 (60 mujeres/ 40 hombres) de Irán	Media de edad: 55.4 Años de Dx: 4	Apoyo familiar	The Multidimensional Scale of Perceived Support Scale $\alpha = 0.85$	Correlación (r)	Se encontró correlación negativa (r = -0.25) y niveles medios de HbA1c	Factores psicosociales, actividades de cuidado de los niveles de HbA1c
Mayberry et al., 2014 ¹⁷	192 personas con DT2, de Nashville, EE.UU.	Media de edad: 51.6 Años de Dx: 7	Apoyo familiar	Family Behavior Checklist-II α no reportado	Correlación (r)	Existe correlación positiva entre el apoyo familiar y el control glucémico (r = 0.61)	Medidas subjetivas de actividades de cuidado

(Continúa)

TABLA 2. Características y resultados generales de los estudios seleccionados (*continuación*)

Autor/año	Tipo de población	Características de la población	Variable de desenlace	Método de medición	Prueba estadística	Resultado	Variables confusoras
Ahia et al., 2014 ¹⁸	205 personas con DT2, EE.UU.	Media de edad: 61 Años de Dx: No reportado	Apoyo familiar	Questions about perceived social support α no reportado	Chi cuadrada (χ^2)	Reportaron asociación entre el apoyo familiar y el control glucémico ($\chi^2 = 82.6$).	Pacientes que reportaron a un amigo o persona cerca como su mayor fuente de apoyo
Ávila et al., 2013 ⁴	81 personas con DT2 del Hospital General Regional de Medicina Familiar 1 del IMSS en Cuernavaca, Morelos	Media de edad: 53 Años de Dx: ≥ 1	Apoyo familiar	*Instrumento Apoyo familiar al diabético tipo II $\alpha = 0.93$	Odds ratio (OR)	El apoyo familiar global aumenta 3.08 veces la probabilidad de tener un buen control glucémico	El nivel de conocimientos sobre la diabetes no tuvo mucha variabilidad, por lo cual no se identificó la asociación esperada
Chew et al., 2015 ¹⁹	175 personas con DT2 mayores de 30 años de la Clínica Universitaria de Atención Primaria en Kuala Lumpur, Malasia	Media de edad: 62.7 Años de Dx: ≥ 1	Apoyo familiar	The Social Support Survey-Medical Outcomes Study (SS) $\alpha = 0.96$	Correlación (r)	Se encontró correlación negativa ($r = -0.041$) y niveles medios de HbA1c	La presencia de familiares durante la aplicación del instrumento

*Se usa la palabra diabético, ya que el instrumento es titulado así por los autores.
DT2: diabetes diabético tipo 2; Dx: diagnóstico; HbA1c: hemoglobina glucosilada.

familiar y el control glucémico en adultos con DT2. De acuerdo con la literatura analizada, hasta el momento se ha identificado la relación entre el apoyo familiar y el control glucémico en algunos países de América Latina, no obstante en México esta relación resulta poco clara en la utilidad de la práctica en el cuidado de enfermería, debido a que los hallazgos en los estudios presentan otras variables, como el conocimiento, la autoeficacia, el automanejo, autocuidado, el tipo de diabetes y la edad²⁰, las cuales demuestran relación con el control glucémico y donde el apoyo familiar toma un papel únicamente de mediación.

Otros estudios reportan correlaciones positivas entre el apoyo familiar y el control glucémico, la mayoría de los pacientes obtuvieron la mayor ayuda para el control de la diabetes de su cónyuge o

familiares¹⁴, a diferencia de aquellos estudios que reportaban a otra persona que no era su familiar como fuente de apoyo, ya que tuvieron un control glucémico bajo¹⁸. De esta manera, se pone en relieve la importancia de una red de apoyo familiar para el control de la enfermedad, esto de acuerdo con Arigo¹⁵, donde la comparación social vista desde un enfoque familiar puede generar mejores resultados para actividades en el cuidado de la diabetes y los niveles de HbA1c.

Se deduce que cuando los estudios que no arrojan correlación entre apoyo familiar y control glucémico, esto pudiera deberse a que las asociaciones son inconsistentes entre las variables y podría atribuirse a diferentes factores como: a) la edad, en donde la vejez es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas como la DM;

TABLA 3. Relación del apoyo familiar y el control glucémico

Autor/año	Apoyo familiar	Control glucémico	Análisis estadístico	Indicador glucémico	Diseño y muestra
Shawon et al., 2016 ¹⁴	x	x	r = 0.26 p = 0.01	HbA1c/GPA	Correlacional/transversal/144
Arigo et al., 2015 ¹⁵	x	x	r = -0.25 p = 0.01	HbA1c	Correlacional/transversal/185
Shayeghian et al., 2015 ¹⁶	x	x	r = -0.48 p ≤ 0.01	HbA1c	Correlacional/100
Mayberry et al., 2014 ¹⁷	x	x	r = 0.61 p = 0.001	HbA1c	Correlacional/transversal/192
Ahia et al., 2014 ¹⁸	x	x	p = 0.02 $\chi^2 = 82.6$	HbA1c	Correlacional/transversal/205
García et al., 2018 ¹³	x	x	OR = 2.70 p = 0.013	Glucosa en ayuno*	Correlacional/transversal/345
Osuji et al., 2018 ¹²	x	x	$\chi^2 = 134.16$ p = 0.01	HbA1c	Correlacional/transversal/316
Chew et al., 2015 ¹⁹	x	x	p = 0.58 r = -0.041	HbA1c	Correlacional/transversal/175
Ávila et al., 2013 ⁴	x	x	OR = 3.08 p = 0.04	HbA1c	Correlacional/transversal/81

*Control glucémico: contar con cifras de glucosa en ayuno ≤ 130 mg/dl, de acuerdo con lo establecido en la Guía de Práctica Clínica para el Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención.

GPA: glucemia plasmática en ayunas; HbA1c: hemoglobina glucosilada; OR: odds ratio.

b) prácticas de autocuidado, que requieren cambios de comportamiento en la salud por parte de todos los integrantes de la familia¹², y c) relaciones en la familia, ya que la asociación se lleva a cabo por parte del apoyo de los familiares, mas no en amigos¹⁸.

Se concluye que la información sobre este fenómeno no es amplia, ya que se ha investigado extensamente sobre el apoyo social en diferentes fuentes, sin embargo la familia se queda de lado al ser analizada desde el apoyo familiar, por ello es necesario que los estudios, intervenciones y programas puedan involucrar a la familia para el desarrollo de planes prácticos, donde los familiares puedan ser capacitados en la importancia y el impacto en la adopción de actitudes y respuestas que se tienen ante diversas enfermedades como la diabetes¹⁷. Se sugiere continuar realizando revisiones

sistemáticas que permitan identificar y evaluar estudios con estas variables y además agregar estudios que tomen en cuenta las características de los participantes o que muestren la influencia de otros factores en la asociación del apoyo familiar con el control glucémico.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo otorgado durante el curso de la Maestría en Enfermería. Los autores agradecen a la Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Enfermería Mochis, por todas las facilidades y a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por los vínculos creados con otras universidades para tener diferentes perspectivas de conocimiento sobre la disciplina.

FINANCIAMIENTO

Las autoras declaran no haber recibido financiación para este estudio.

CONFLICTO DE INTERESES

Las autoras declaran no tener conflicto de intereses.

RESPONSABILIDADES ÉTICAS

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- Federación Internacional de Diabetes. IDF Diabetes Atlas 10th edition [Internet]. Federación Internacional de Diabetes; 2021 [citado: 28 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>
- Organización Mundial de la Salud. Diabetes [Internet]. Organización Mundial de la Salud; 2019 [citado: 28 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/diabetes/global-report/es/>
- Association of Diabetes Care and Education Specialist [sede web]. Association of Diabetes Care and Education Specialist [citado: 28 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Ávila L, Cerón OD, Ramos RI, Velázquez L. Asociación del control glicémico con el apoyo familiar y el nivel de conocimientos en pacientes con diabetes tipo 2. *Rev Med Chil.* 2013;141(2):173-80. 2013;141(2):173-80.
- Barrera M, Sandler IN, Ramsay TB. Preliminary development of a scale of social support: Studies on college students. *Am J Commun Psychol.* 1981;9:435-47.
- Chapman Sánchez M, García Almaguer R, Caballero González G, Penque Caballero Y, Sablón Mariño A. Efectividad de intervención educativa en el conocimiento del paciente diabético sobre autocuidados. *Rev Cubana Enfermer.* 2016;32(1):49-59.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-2019. Resultados nacionales [Internet]. México: INEGI, Secretaría de Salud, Instituto Nacional de Salud Pública [citado: 28 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/informes.php>
- Ramkisson S, Pillay BJ, Sibanda W. Social support and coping in adults with type 2 diabetes. *Afr J Prim Health Care Fam Med.* 2017;9(1):e1-e8.
- Mohebi S, Parham M, Sharifirad G, Gharlipour Z, Mohammadbeigi A, Rajati, F. Relationship between perceived social support and self-care behavior in type 2 diabetics: A cross-sectional study. *J Educ Health Promot.* 2018;7:48.
- Gu L, Wu S, Zhao S, Zhou H, Zhang S, Gao M, et al. Association of social support and medication adherence in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Int J Environ Res Public Health.* 2017;14(12):1522.
- Holly C, Salmond SW, Saimbert M. Comprehensive systematic review for advanced practice nursing. Third ed. Springer Publishing Company; 2017.
- Osuji NA, Ojo OS, Sogunle PT, Egunjobi AO, Odeunmi OO. Relationship between glycemic control and perceived family support among people with type 2 diabetes mellitus seen in a rich kinship network in Southwest Nigeria. *Family Medicine and Community Health.* 2018; 6(4):168-77.
- García G, Rodríguez A, Garibo RE. Apoyo familiar y control glucémico en pacientes con diabetes tipo 2 en una unidad de medicina familiar de Acapulco, Guerrero, México. *Aten Fam.* 2018;25(1):27-31.
- Shawon MS, Hossain FB, Adhikary G, Gupta RD, Hashan MR, Rabbi MF, et al. Attitude towards diabetes and social and family support among type 2 diabetes patients attending a tertiary-care hospital in Bangladesh: a cross-sectional study. *BMC Res Notes.* 2016;9(1):286.
- Arigo D, Smyth JM, Haggerty K, Raggio GA. The social context of the relationship between glycemic control and depressive symptoms in type 2 diabetes. *Chronic Illn.* 2015;11(1):33-43.
- Shayeghian Z, Aguilar ME, Besharat MA, Amiri P, Parvin M, Gillani KR, et al. Self-care activities and glycated haemoglobin in Iranian patients with type 2 diabetes: can coping styles and social support have a buffering role? *Psychol Health.* 2015;30(2):153-64.
- Mayberry LS, Osborn CY. Family involvement is helpful and harmful to patients' self-care and glycemic control. *Patient Educ Couns.* 2014;97(3):418-25.
- Ahia CL, Holt EW, Krousel WM. Diabetes care and its association with glycosylated hemoglobin level. *Am J Med Sci.* 2014;347(3):245-7.
- Chew BH, Khoo EM, Chia YC. Social support and glycemic control in adult patients with type 2 diabetes mellitus. *Asia Pac J Public Health.* 2015;27(2):NP166-73.
- Shao Y, Liang L, Shi L, Wan C, Yu S. The effect of social support on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus: The mediating roles of self-efficacy and adherence. *J Diabetes Res.* 2017;2017: 2804178.



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Nuevos modelos de síndrome metabólico, obesidad y diabetes tipo 2 en invertebrados, peces y anfibios

New models of metabolic syndrome, obesity and type 2 diabetes in invertebrates, fish and amphibian

Pedro I. Clavel-Pérez¹, Itzel J. Contreras-García², Juan F. Vázquez-Macías³, Gustavo Hernández-Rosas⁴, Bryan V. Phillips-Farfán¹ y Karla Carvajal^{1*}

¹Laboratorio de Nutrición Experimental, Subdirección de Medicina Experimental, Instituto Nacional de Pediatría; ²Laboratorio de Fisiología, Escuela Militar de Graduados de Sanidad; ³Departamento de Biología, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad-Iztapalapa; ⁴Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México, México

RESUMEN

Actualmente existe una pandemia de sobrepeso y obesidad, que predisponen al desarrollo de enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus tipo 2, primeras causas mundiales de muerte. Se han usado pequeños mamíferos como modelos animales para estudiar estos padecimientos. Pero se busca reducir o evitar el dolor y sufrimiento de estos mamíferos, así como mejorar su bienestar y trato ético. Por eso, otros modelos han surgido o se han propuesto para investigar estas enfermedades. En general, estos modelos son más simples y tienen una alta capacidad reproductiva, además son más baratos y fáciles de mantener en el laboratorio. Los modelos establecidos incluyen: *Danio rerio*, *Drosophila melanogaster* y *Caenorhabditis elegans*. Los modelos propuestos incluyen: *Dictyostelium discoideum*, *Strongylocentrotus purpuratus* y *Ambystoma mexicanum*. Todos estos modelos poseen genes con una alta homología a aquellos presentes en los humanos y relacionados con el desarrollo de enfermedades metabólicas. Además, los mecanismos básicos de fisiología celular, tisular, de la ontogenia y relacionada con las enfermedades pueden estudiarse en estos modelos. En modelos establecidos existen dietas que generan cambios similares a los que suceden por sobrepeso y obesidad. Mientras que en los modelos propuestos se pueden investigar las vías metabólicas o de segundos mensajeros implicadas en el sobrepeso y obesidad.

Palabras clave: Síndrome metabólico. Obesidad. *Danio rerio*. *Drosophila melanogaster*. *Caenorhabditis elegans*.

ABSTRACT

Currently there is a pandemic of overweight and obesity, which predispose the development of cardiovascular diseases and type 2 diabetes mellitus, which are primary causes of death in western countries, including Mexico. Rodents have been used traditionally as animal models. But present aims seek to reduce or avoid pain and suffering in mammals, as well as to improve their welfare and ethical treatment. Thus, other models have emerged or have been proposed to investigate the aforementioned diseases. In general, these models are simpler and have high reproductive capacity, they are also cheaper and easier to maintain in the laboratory. Established models include: *Danio rerio*, *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. Proposed models include: *Dictyostelium discoideum*, *Ambystoma mexicanum* and *Strongylocentrotus purpuratus*. All these models possess genes with high homology to those present in humans and related to the development of metabolic diseases. In addition, the basic physiological mechanisms of cells, tissues, ontogeny and related to disease can be studied in any of the models mentioned. In established models, diets exist that generate changes similar to those that occur due to overweight and obesity. While metabolic pathways or second messengers involved in overweight and obesity can be investigated in the proposed models.

Keywords: Metabolic syndrome. Obesity. *Danio rerio*. *Drosophila melanogaster*. *Caenorhabditis elegans*.

Correspondencia:

*Karla Carvajal
E-mail: karla_ca@yahoo.com

Fecha de recepción: 10-05-2022
Fecha de aceptación: 23-07-2022
DOI: 10.24875/ALAD.22000014

Disponible en internet: 07-11-2022
Rev ALAD. 2022;12:65-76

INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico (SM) es un conjunto de alteraciones clínicas, metabólicas y bioquímicas que predisponen al desarrollo de diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) y enfermedades cardiovasculares¹. Para diagnosticar el SM, diversas organizaciones de salud coinciden en incluir la coexistencia de obesidad, resistencia a la insulina (RI), hiperglucemia e hipertrigliceridemia, entre otras alteraciones¹.

El sobrepeso u obesidad se han convertido en la principal pandemia de una enfermedad no transmisible. La atención a estos trastornos debe ser una prioridad de salud, dada la carga de enfermedad que conllevan. La Organización Mundial de la Salud define a la obesidad como la acumulación anormal o excesiva de grasa, la cual puede ser perjudicial para la salud. Existen varias formas de evaluar la obesidad, tales como medir la circunferencia de cintura, así como presencia central y periférica de grasa². En cualquier caso, la acumulación de tejido adiposo visceral es una alteración clave para el desarrollo de la obesidad². Los adipocitos capturan los ácidos grasos libres provenientes de la dieta. Esto permite almacenar energía como triglicéridos, cuando hay un balance energético positivo³. Cabe señalar que la adiposidad abdominal es un factor de riesgo para el desarrollo de SM². Por ello, el conocimiento a nivel bioquímico y celular resulta primordial en la generación de tácticas eficientes en el tratamiento y prevención de estos padecimientos.

Para estudiar la obesidad y el SM en el laboratorio de investigación básica se han usado principalmente modelos murinos, lagomorfos y pequeñas especies de cerdos y primates⁴, en los que se induce esta enfermedad mediante intervenciones farmacológicas, genéticas o nutrimentales⁵. La ventaja es que asemejan las alteraciones derivadas del SM en pocas semanas, así como el poder estudiar distintos

órganos o tejidos de forma individual. Dentro de las desventajas está la diferencia en la tasa metabólica basal de humanos y roedores, así como la falta de un criterio estandarizado para definir la obesidad en roedores⁴, entre otros.

El Centro Nacional para el Reemplazo, Refinamiento y Reducción de Animales en la Investigación (NC3Rs) propone usar modelos alternativos efectivos y reproducibles al uso de los modelos originados en mamíferos⁶. Con base en estos criterios, la presente revisión propone la migración de las investigaciones que buscan abordar la fisiología molecular de vías metabólicas, así como alteraciones relacionadas con estas vías en patologías como el SM, DM2 y obesidad, hacia otras especies como *Danio rerio*, *Drosophila melanogaster* y *Caenorhabditis elegans*. Esto con el fin de disminuir y/o evitar el dolor y sufrimiento de los animales experimentales, que es alto en especies de mamíferos, así como procurar adecuados niveles de bienestar y un buen trato ético. En los últimos años ha habido un incremento de publicaciones donde se utiliza a estos organismos como modelos para estudiar obesidad y SM (Fig. 1). Estos modelos se proponen por su «simplicidad» y dado que las vías involucradas en el metabolismo energético están conservadas. Adicionalmente, los modelos propuestos tienen una facilidad de manejo, tiempos cortos de maduración, de obtención de nuevas generaciones y en muchos casos, menores costos.

PEZ CEBRA (*DANIO RERIO*)

Este es un pequeño pez tropical de agua fresca. Por su alimentación se considera omnívoro⁷. El pez cebra posee ventajas para investigaciones acerca de la ontogenia, esto debido a su facilidad para tener cientos de embriones en una sola puesta, su alta fecundación, rápido crecimiento y la claridad óptica

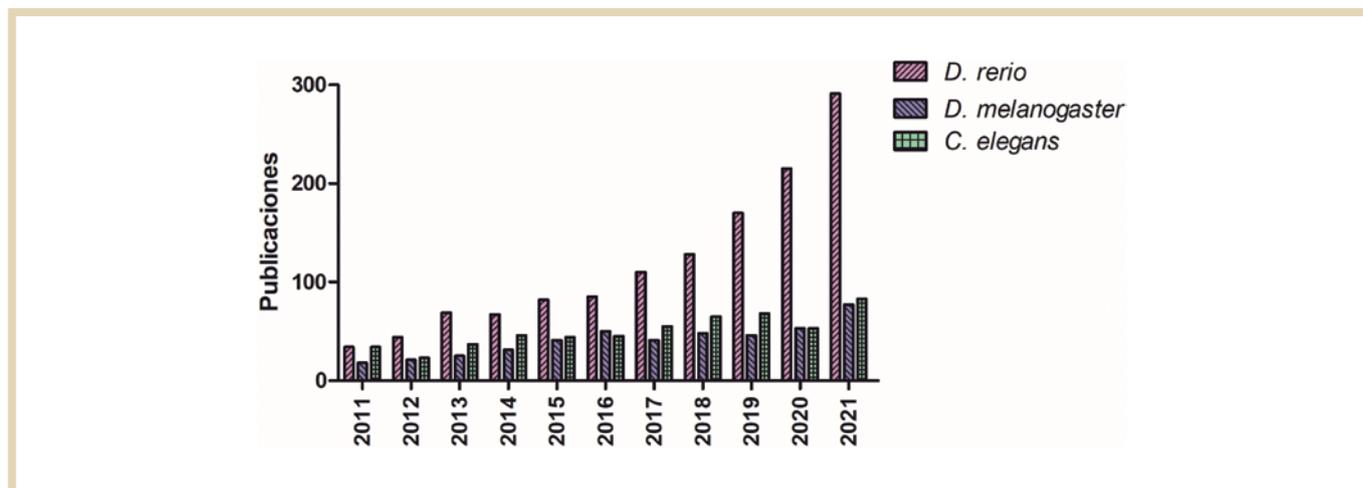


FIGURA 1. Incremento en el número de publicaciones originales en donde se utilizan modelos alternativos (*Danio rerio*, *Drosophila melanogaster* y *Caenorhabditis elegans*) para el estudio del síndrome metabólico y obesidad, desde el año 2011 hasta el 2021. Datos obtenidos desde el servidor Elsevier; se realizó una búsqueda rápida de artículos de investigación originales, excluyendo las revisiones. Las palabras utilizadas para la realización de la búsqueda consistieron en la especie de interés + obesidad y/o síndrome metabólico.

para ver al embrión⁸. Además, su mantenimiento es fácil y de poco costo para el laboratorio⁹.

Este organismo es popular para modelar la función de los genes de vertebrados. Tiene 26,206 genes codificantes de proteínas, el mayor número conocido para vertebrados. El 71.4% de los genes humanos tienen ortología con al menos un gen del pez cebra¹⁰.

El pez cebra tiene órganos y sistemas similares a los humanos, como: el sistema nervioso central y cardiovascular, páncreas, músculos, intestinos y riñones⁷. Presenta adipogénesis tardía, ya que los adipocitos aparecen en el día 8 postfecundación⁸. Después de la fecundación, el cigoto del pez cebra se alimenta de la yema, la cual está compuesta por lípidos y proteínas. Luego de la formación del intestino, la larva es capaz de alimentarse de forma exógena. Los componentes de su dieta incluyen lípidos complejos como triglicéridos, fosfolípidos y ésteres de colesterol¹¹.

En este organismo se ha logrado modelar *in vivo* distintas patologías humanas, entre las cuales

destacan la regeneración de tejidos tras una lesión, enfermedades gastrointestinales, interacciones microbios-hospederos y pruebas farmacológicas¹².

El pez cebra conserva los procesos involucrados en la homeostasis energética, como la regulación por insulina y acumulación de lípidos (Tabla 1 y Fig. 2). Por tanto, es posible hacer estudios de obesidad, SM y DM2 en este organismo⁷. En un modelo de obesidad inducida por la dieta se sobrealimenta al pez cebra con artemias, con lo cual desarrolla marcadores somatométricos y bioquímicos similares a los de la obesidad humana²¹ (Tabla 2).

Al igual que en los mamíferos, la manipulación de macronutrientes, específicamente carbohidratos o grasas, induce obesidad y SM en el pez cebra. Una dieta alta en grasas aumenta la acumulación de grasa visceral y subcutánea (Tabla 2)²⁴. En otro estudio, una dieta alta en grasas altera los niveles de glucosa, el perfil lipídico y composición del microbioma intestinal²⁵ (Tabla 2). La administración de una dieta alta en grasas por dos semanas aumenta el peso corporal y la circunferencia abdominal²⁶ (Tabla 2).

TABLA 1. Genes y homólogos en mamíferos que han sido estudiados en modelos de obesidad y síndrome metabólico en *Danio rerio*, *Drosophila melanogaster* y *Caenorhabditis elegans*

Especie	Tipo de modelo	Gen	Homólogo en humano	Características	Referencia
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Mutación dirigida	<i>nhr-49</i>	PPAR α	Metabolismo de grasas	13
		<i>daf-2</i>	INSR	Metabolismo, estrés	14
<i>Danio rerio</i>	Sobreexpresión	<i>agrp</i>	AGRP	Incremento de peso, adiposidad, hipertrigliceridemia	15
	Transgénico	<i>akt</i>	AKT	Obesidad, hiperplasia de adipocitos, intolerancia a la glucosa	16
	Knockout	<i>plxnd1</i>	PLXDN1	Protege de intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina e hipertrofia de adipocitos	17
	Knockout	<i>lepa</i>	LEP	Obesidad, hiperglucemia, deficiencia de la insulina	18
<i>Drosophila melanogaster</i>	Wild type	<i>tin</i>	NKX2.5	Desarrollo del corazón	19
	Knockdown	<i>itpr</i>	ITPR1	Incremento de triglicéridos, obesidad	20
		<i>dachsous</i>	DCHS1		
		<i>calpA</i>	CAPN8		
		<i>sdk</i>	SDK1		

nhr-49, PPAR α : receptor activado por proliferador peroxisomales α ; *daf-2*, INSR: receptor de insulina; AGRP: proteína relacionada con el aguti; AKT: proteína cinasa B; PLXDN1: plexina D1; *lepa*, LEP: leptina; *tin*, *Nkx2.5*: proteína Homeobox 2.5; *itpr*, ITPR1: receptor tipo 1 de inositol 1,4,5 trifosfato; *dachsous*, DCHS1: dachsous homólogo 1; *calpA*, CAPN8: calpaína 8; *sdk*, SDK1: molécula de adhesión celular Sidekick 1.

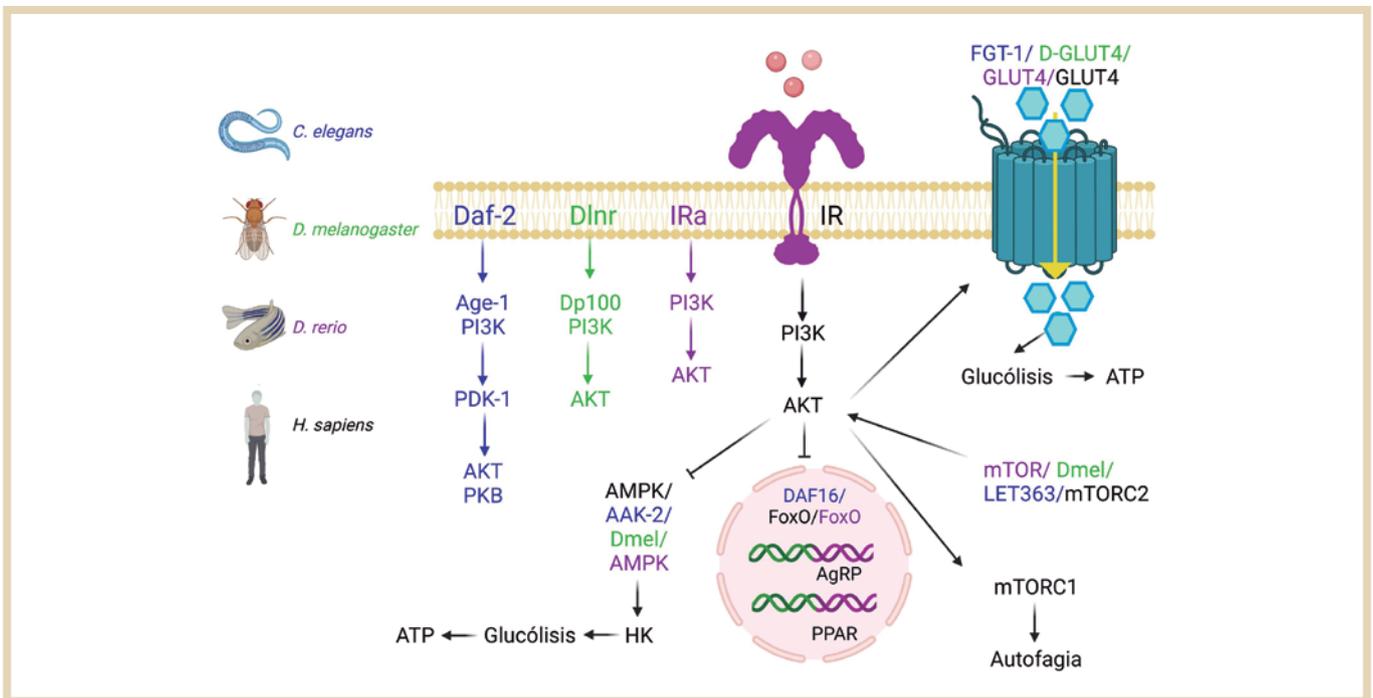


FIGURA 2. Principales vías y genes compartidos entre *Danio rerio*, *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans* y *Homo sapiens* de interés en el estudio de los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo de síndrome metabólico, obesidad y diabetes mellitus tipo 2.

TABLA 2. Recopilación de modelos utilizados para el estudio de alteraciones asociadas a obesidad y SM en *Danio rerio*, *Drosophila melanogaster* y *Caenorhabditis elegans*

Especie	Dieta	Fuente de nutrientes	Aporte calórico	Tiempo tratamiento	Resultados	Referencias
<i>Caenorhabditis elegans</i>	DAC	<i>E. coli</i> + fructosa	ND	3 días	Incremento de grasa, tamaño corporal, gotas lipídicas en el intestino y ectópicas	22
		Glucosa	ND	2, 12, 24, 36, 48 horas	Incremento de triglicéridos	23
<i>Danio rerio</i>	SA	Artemias	150 cal/día	8 semanas	Incremento de peso corporal, hipertrigliceridemia y esteatosis hepática	21
	DAG	Manteca, aceite de maíz	5,676 kcal/día	6 semanas	Incremento grasa visceral y subcutánea	24
		Manteca de cacao	ND	6 semanas	Hiperglucemia disbiosis intestinal	25
		Yema de huevo	73 cal	2 semanas	Incremento de peso y circunferencia abdominal	26
<i>Drosophila melanogaster</i>	DAC	Levadura, peptona, ácido propiónico, sacarosa	1,866 kcal	Hasta etapa L3	Hiperinsulinemia, hiperglucemia, resistencia a la insulina	27
		Aceite de coco	30% grasas saturadas	10 días	Obesidad, síndrome metabólico, lipotoxicidad cardiaca	28

DAC: dieta alta en carbohidratos; DAG: dieta alta en grasas; SA: sobrealimentación; DE: dieta estándar; ND: no determinado.

Las características de las dietas y tiempos de administración se encuentran en la tabla 2.

El alimento para peces disponible comercialmente no define claramente sus componentes nutricionales. Por esto algunos grupos de investigación han desarrollado dietas estandarizadas para larvas y peces adultos que inducen obesidad. Estas dietas son altas en grasas y azúcares⁷.

Se han generado modelos genéticos de obesidad en el pez cebra mediante la sobreexpresión, transgénesis o mutación de genes. La sobreexpresión del péptido relacionado a agouti (AgRP) (Tabla 1) causa un incremento del peso corporal, adiposidad (por hipertrofia e hiperplasia de adipocitos) e hipertrigliceridemia¹⁵ (Fig. 2). Un modelo transgénico de obesidad se obtiene por la sobreexpresión de la proteína AKT humana, en donde los peces adultos presentan obesidad, hiperplasia de adipocitos e

intolerancia a la glucosa¹⁶ (Tabla 1). El receptor transmembranal Plxnd1 promueve el crecimiento del tejido adiposo visceral y RI, tanto en el pez cebra como en humanos. Su deficiencia (plxnd1^{fov01b}) protege al pez cebra de desarrollar intolerancia a la glucosa, RI e hiperplasia de los adipocitos inducida por una dieta alta en grasas¹⁷ (Tabla 1). El *knockout* del gen *lepa* (que codifica para la hormona leptina) genera obesidad, aumentando el tamaño y peso corporal de este pez; además aumenta los niveles de glucosa y disminuye los de insulina¹⁸ (Tabla 1).

Una desventaja de utilizar el pez cebra es que, en comparación con los mamíferos, carece de tejido adiposo marrón. Al ser un organismo ectotérmico, su tasa metabólica no está determinada por la temperatura ambiental²⁹. Otra desventaja es la absorción aleatoria de los fármacos que se administran, ya sea por la piel o agallas, haciendo difícil su cuantificación dentro del pez³⁰.

MOSCA DE LA FRUTA (*DROSOPHILA MELANOGASTER*)

La mosca de la fruta mide 3 mm de largo en su forma adulta, tiene un ciclo de vida corto (60-80 días), y comparte rutas metabólicas y señales de transducción con otras especies (Fig. 2). También conserva la mayor parte de las vías que controlan el crecimiento celular en mamíferos y poseen órganos similares a estos últimos, tales como el corazón, pulmones, riñones, hígado y gónadas³¹. También la facilidad para hacer modificaciones genéticas en este modelo la hace ideal para el estudio y desarrollo de fármacos³². Además, los genes relacionados con enfermedades humanas tienen una ortología de ~75% en *D. melanogaster*³³. Entre las desventajas está el no compartir órganos o sistemas de neurotransmisores con los humanos³⁴.

D. melanogaster comparte varias rutas metabólicas con el humano (Fig. 2). El cerebro de la mosca tiene varios tipos de células secretoras que producen insulina y una sustancia homóloga al glucagón. Además, las células grasas de su tejido adiposo son reguladas por la insulina. Esto mediante mecanismos conservados del metabolismo y almacenamiento de triglicéridos o glucógeno³⁴ (Fig. 2).

La mosca de fruta posee un receptor a las sulfonilureas. Este, junto a un canal de potasio tipo Kir, forman un canal sensible al ATP regulado por la liberación de algunas hormonas. Por eso, la administración de fármacos antidiabéticos como las sulfonilureas afecta la homeostasis de la glucosa, demostrando la utilidad de este modelo para conocer el efecto de fármacos terapéuticos dirigidos contra alteraciones del metabolismo de este sustrato³⁴.

Se han generado modelos de obesidad, SM y DM2 cambiando la dieta de *D. melanogaster*. Una alimentación alta en carbohidratos causa hiperinsulinemia,

hiperglucemia y RI, así como mayor mortalidad, disfunción cardíaca y arritmias²⁷ (Tabla 2). En otro estudio, una dieta alta en grasas genera obesidad y SM (Tabla 2). Además, causa cambios en el corazón: lipotoxicidad, aumento de triglicéridos, alteraciones contráctiles progresivas, función sistólica disminuida por un menor diámetro sistólico, porciones no contráctiles del corazón, válvulas de entrada disfuncionales y mayor incidencia de bloqueos parciales de la conducción, así como defectos y desorganización en la estructura miofibrilar²⁸ (Tabla 2).

El gen *tin* (ortólogo de *Nkx2.5*) tiene un papel crucial en el desarrollo cardíaco de la mosca, ya que su eliminación causa una completa ausencia de células cardíacas (Tabla 1). Así mismo, en los humanos las mutaciones en *Nkx2.5* están asociadas con enfermedades cardíacas congénitas¹⁹. A pesar de que *D. melanogaster* puede ser muy útil en modelos de enfermedades cardíacas, es importante tener en cuenta que son patologías multifactoriales y complejas en los humanos. Otra limitación son las diferencias anatómicas de este órgano: el corazón de la mosca solo tiene una cámara cardíaca y no tiene arterias coronarias³⁴.

Al realizar *knockdown* de genes ortólogos (relacionados con obesidad mórbida) en *D. melanogaster* se encontró su asociación con el desarrollo de un fenotipo de obesidad y aumento de triglicéridos. Esto demuestra la utilidad de este organismo para hacer análisis funcionales de genes humanos que puedan estar involucrados en diversas patologías²⁰ (Tabla 1).

CAENORHABDITIS ELEGANS

Es un nemátodo terrestre de vida libre que se caracteriza por presentar un cuerpo cilíndrico transparente, con una longitud aproximada de 1 mm durante la etapa adulta. Presenta un número de células

constantes, que corresponden a 302 neuronas y 95 células musculares¹³. Dentro de las ventajas de *C. elegans* como modelo experimental se encuentran: a) su rápido y corto ciclo de vida compuesto por una etapa embrionaria, cuatro estadios larvarios y la etapa adulta, comienzan su ciclo reproductivo a partir de los tres días de vida, todas las etapas en conjunto tienen una duración aproximada de tres semanas; b) su fácil cultivo en el laboratorio y el bajo costo que se requiere para ello; c) la gran cantidad de organismos producidos por individuo (300-350 progenie/nemátodo) y por cultivo en placas (10,000 gusanos/placa a una temperatura de 20 °C); d) el cuerpo transparente del gusano permite generar imágenes no invasivas con el microscopio, y e) su genoma está completamente secuenciado, tiene 17,800 genes distintos que permiten una fácil manipulación genética^{13,14,35}.

Por otro lado, las desventajas que presenta *C. elegans* son que: a) no expresa citocinas, b) solo el 65% de sus genes son homólogos a los genes humanos y c) carece de algunos órganos y tejidos, tales como sangre y cerebro¹³. Sin embargo, a pesar de la baja homología que presenta con los humanos, *C. elegans* es un buen modelo, ya que los genes conservados están relacionados con enfermedades humanas. Estas incluyen desórdenes metabólicos y neurodegenerativos¹⁴. En este sentido, la generación de mutantes (~3,000 cepas) facilita el estudio de los mecanismos relacionados con el metabolismo energético³⁵.

Para un mejor entendimiento de los mecanismos involucrados en el desarrollo del SM, es importante conocer si las moléculas que regulan las vías metabólicas que controlan la homeostasis energética sufren alteraciones. Algunas de estas son las cinasas mTOR y AMPK, así como los factores de transcripción SREBP, PPAR y TFEB²² (Fig. 2). Esto permitiría abordar estrategias farmacológicas para el

tratamiento del SM y la DM2. En este sentido, *C. elegans* presenta los genes que codifican para todas las enzimas del metabolismo de ácidos grasos en mamíferos. Además, las enzimas del metabolismo de carbohidratos presentan una amplia homología con la de los humanos. Por lo tanto, se propone que este nemátodo es un buen modelo para el estudio a nivel molecular de la obesidad, SM y DM2 observadas en humanos.

Para poder estudiar la participación de factores relacionados con la obesidad, se cuantifica la grasa almacenada en forma de gotas dentro de las células intestinales e hipodérmicas del gusano^{13,14,35}. Con respecto a la dieta, la fuente de alimento estándar de *C. elegans* en el laboratorio consiste de cultivos frescos de *Escherichia coli* no patógena (*E. coli* OP50). Al nemátodo, la digestión de la bacteria le proporciona carbohidratos, proteínas, ácidos grasos saturados y monoinsaturados^{13,14}. Sin embargo, distintas cepas de *E. coli* pueden modificar la composición de ácidos grasos y grasa corporal¹⁴. Se ha reportado que una dieta alta en glucosa incrementa la acumulación de grasa^{22,23}, esto al inhibir los factores de transcripción DAF-16 y HSF-1¹³ (Tabla 2 y Fig. 2).

En humanos, los receptores activados por proliferadores peroxisomales (PPAR) controlan la expresión de genes que codifican para proteínas involucradas en el catabolismo de ácidos grasos. Los PPAR controlan los genes implicados en la diferenciación de los adipocitos y regulación de la vía metabólica de la glucosa. La delección del gen *NHR-49*, que codifica una proteína homóloga a uno de los PPAR humanos, aumenta la producción de grasa y glucógeno, factores que se han relacionado con un incremento en la RI (Tabla 1). Un efecto similar resulta de mutaciones en el gen *daf-2*, que codifica para una proteína homóloga al receptor de insulina humano¹⁴. Cabe destacar que la activación de este factor potencia el efecto de la insulina³⁶ (Tabla 1). Estos resultados

indican que *C. elegans* alimentado con altos niveles de glucosa funciona como un modelo de obesidad y RI¹⁴ (Tabla 2), dos de las características que predisponen a la generación del SM.

MODELOS INNOVATIVOS CON POSIBLE APLICACIÓN EN EL ESTUDIO DEL SM

En esta sección se presenta información de tres organismos alejados del árbol filogenético de los mamíferos pero que pudieran ser útiles para el estudio de enfermedades metabólicas, como la obesidad y SM, aprovechando el conocimiento tanto de su genoma como de las vías metabólicas que comparten con los humanos. Es importante mencionar que, aunque estos organismos pudieran no desarrollar obesidad o SM, en ocasiones solo se requiere estudiar el comportamiento de una vía metabólica o de señalización o algún gen o grupo de ellos que participan en el desarrollo de dicha enfermedad, por lo cual no necesitamos al organismo completo para su estudio y podemos aprovechar sistemas más sencillos que nos permitan explorar la «ventana biológica» que nos interesa, eliminando incluso la interferencia de otros componentes o factores que puedan afectar el fenómeno de interés (Fig. 3).

Ameba social (*Dictyostelium discoideum*)

D. discoideum es un protista ameboide conocido como ameba social, ya que puede agregarse para formar una colonia que forma un pseudoorganismo multicelular en forma de «babosa» de unos 2 mm de largo. Es un organismo de vida libre que forma parte de la microbiota de suelos superficiales. Tiene un genoma haploide que ha sido completamente secuenciado. El estudio de este genoma ha revelado

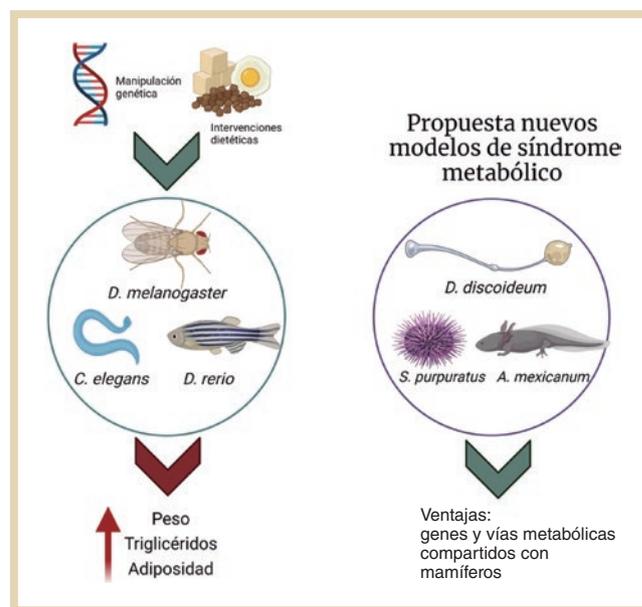


FIGURA 3. La manipulación genética y las intervenciones dietéticas en *Danio rerio*, *Drosophila melanogaster* y *Caenorhabditis elegans* permiten generar modelos de síndrome metabólico y obesidad.

muchas proteínas y procesos moleculares que previamente se creían presentes solamente en los metazoos³⁷. Por eso ha servido durante mucho tiempo como modelo para estudiar los procesos fundamentales de la biología celular y del desarrollo de organismos complejos como los mamíferos. Además, se ha observado que su genoma codifica homólogos de genes relacionados con enfermedades humanas, como los relacionados con el cáncer y las patologías neurodegenerativas³⁸. *D. discoideum* posee un ciclo de vida único compuesto por una fase de crecimiento unicelular y otra fase de desarrollo multicelular inducida por la inanición. Su ciclo de vida posee procesos celulares conservados que incluyen, pero no limitados a, la proliferación celular, fagocitosis y señalización intercelular, así como adhesión, motilidad/quimiotaxis y diferenciación celular³⁸.

D. discoideum tiene 24 clases de proteínas cinasas, aparentemente perdidas en el linaje que condujo a la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. La presencia de estas proteínas sugiere que se derivan de vías

ancestrales abandonadas por la adopción de la pared celular fúngica y estilo de vida inmóvil³⁶. Se logró la interrupción, con éxito, de 28 de los genes que codifican para estas proteínas, lo que está permitiendo conocer su posible función en ambas especies³⁷.

D. discoideum ha sido empleado en diversos estudios de SM. Utilizando este modelo se pudo dilucidar que el factor 1 inductor de la diferenciación (DIF-1) y su derivado DIF-1(3M) promueven el consumo de glucosa *in vitro* en células de mamíferos e *in vivo* en ratas diabéticas³⁹.

Avances recientes, utilizando *D. discoideum* como modelo, permitieron dilucidar la participación del ácido decanoico como mediador en los efectos en la dieta cetogénica, independientemente de la generación de cetonas. Este estudio demostró que el ácido decanoico reduce el recambio de fosfoinosítidos, la actividad del diacilglicerol cinasa y también inhibe el complejo 1 de mTOR⁴⁰.

Estudios iniciales sobre el metabolismo de fosfatos de inositol, molécula importante de señalización energética y funcional, fueron posibles gracias a este organismo⁴⁰. El hexakisfosfato de inositol (también conocido como ácido fítico) es abundante en *D. discoideum*. Esto permitió el descubrimiento de los pirofosfatos de inositol más polares, con uno o dos enlaces fosfoanhídrido de alta energía. Este organismo se usó para mostrar los efectos de la pérdida de la inositol-3-fosfato sintasa (Ino1) y agotamiento del inositol, mediante la creación de constructos *knockout* que resultaron de la amplificación de fragmentos 5' y 3' del gen *ino1* proveniente de cepas axénicas (AX2) de este organismo. La pérdida de *ino1* resulta en auxotrofia de inositol que es rescatada solo parcialmente por inositol exógeno. Si no se suplementa inositol al mutante de Ino1, se induce autofagia y se reduce tanto la citocinesis

como la adhesión al sustrato. El agotamiento del inositol causa una reducción general en los niveles de fosfoinosítidos, rescatada con suplementación de inositol. La pérdida de Ino1 desencadena amplios cambios metabólicos consistentes con la inducción de un estado catabólico, que no es rescatado por la suplementación con inositol. Los datos sugieren un papel metabólico para Ino1, independiente de la biosíntesis de inositol⁴¹.

Erizo de mar (*Strongylocentrotus purpuratus*)

El erizo de mar es un equinodermo invertebrado de vida marina. Tiene la ventaja de que los adultos pueden producir una gran cantidad de gametos (millones de ovocitos y espermatozoides) que son fáciles de recolectar en el laboratorio y los embriones son transparentes con estructura simple. Debido a su fácil manipulación génica se ha logrado la caracterización de ensamblajes genómicos pertenecientes a distintas especies de erizos⁴². Las desventajas de este modelo animal corresponden al espacio requerido para su mantenimiento, a la falta de cepas endogámicas y líneas celulares derivadas del tejido de erizo.

El tamaño del genoma de *S. purpuratus* corresponde a solo un 25% del genoma humano; sin embargo, ambos presentan un número similar de genes⁴². Su genoma contiene cerca de 400 genes altamente conservados, de particular interés aquellos involucrados en la regulación de la homeostasis celular. Presentan genes ortólogos asociados con enfermedades humanas, principalmente desórdenes neurodegenerativos como pérdida de memoria y demencia o procesos de génesis tumoral. Estos genes codifican para proteínas de las vías de señalización Notch, Wnt y Hedgehog, que están altamente conservadas en humanos⁴².

Se ha reportado que en el genoma de *S. purpuratus* hay dos genes (*Sp-IGF 1* y *2*) que codifican para miembros de la familia de la insulina⁴³. La estructura del gen *Sp-IGF1* es similar a la protoinsulina ancestral, mientras que *Sp-IGF2* es divergente. Las respectivas proteínas actúan mediante el receptor putativo *SpInsr*⁴⁴. De manera interesante, la expresión y localización de *Sp-IGF1* depende de la alimentación del erizo de mar⁴⁴. Por otro lado, este organismo comparte con el humano enzimas relacionadas con la glucólisis, como la glucosa fosforilasa, piruvato cinasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y aldolasas. Estas enzimas activan la glucólisis inducida por fertilización⁴⁵. Debido a estas características, se propone la implementación de *S. purpuratus* como modelo de las patologías relacionadas con el metabolismo de los lípidos y carbohidratos.

Ajolote (*Ambystoma mexicanum*)

El ajolote es un anfibio caudado de la familia de las salamandras, que permanece en estado larvario de forma natural, pudiendo reproducirse en este estadio, característica que se conoce como neotenia. Su hábitat es el agua poco profunda con abundante vegetación. Posee una capacidad de regeneración impactante, por lo que ha sido utilizado ampliamente en estudios de regeneración de extremidades, tejidos y órganos⁴⁶. El entendimiento de los mecanismos que participan y permiten esta capacidad regenerativa resulta de interés en el campo de estudio de enfermedades como SM y cardiovasculares. Esto porque pueden llegar a perderse miembros por degeneración vascular durante la DM2, o pérdida de la función en órganos como el páncreas por muerte de células beta, hígado y corazón.

Se ha determinado la presencia de proteínas similares a insulina humana en el páncreas del ajolote mexicano⁴⁷. Los factores de crecimiento similares a

insulina (IGF-I, IGF-II) y la insulina de humano estimulan el crecimiento de cartílago de ajolote *in vitro*⁴⁸. También hay estudios sobre el efecto de hormonas sobre la glucogenólisis en el hígado del ajolote *in vitro*. La administración de glucagón incrementa la tasa de glucogenólisis, mientras que la insulina impide este efecto⁴⁹.

A pesar de tener conocimiento de las vías del metabolismo de la glucosa en el ajolote, aún no se ha desarrollado un modelo de obesidad o SM en este anfibio. Si bien es cierto que el ajolote se considera como una especie amenazada, la reproducción autorizada en cautiverio ha sido exitosa⁵⁰. Las ventajas y propiedades regenerativas que presenta lo hacen un buen candidato para estudiar las alteraciones en vías de señalización implicadas en la regeneración de tejidos durante estas alteraciones metabólicas.

CONCLUSIONES

Los modelos mencionados se pueden usar para estudiar a nivel molecular vías metabólicas, de segundos mensajeros o la expresión de genes involucrados en el desarrollo de obesidad, SM o DM2. Esto es especialmente cierto cuando no se requiere toda la sintomatología, como ocurre en mamíferos superiores. Por lo tanto, estos modelos son una alternativa eficaz que evita el sufrimiento (conciencia de dolor). También se pueden utilizar como plataforma de escrutinio molecular de nuevos fármacos dirigidos a blancos específicos, antes de escalar a estudios preclínicos con modelos más complejos. Muchos de estos modelos además permiten la utilización de nutrientes específicos aislados de la dieta (Fig. 3). Sin embargo, se debe ampliar el estudio de las vías metabólicas y genes que comparten con humanos, así como la respuesta a estímulos que causan la aparición del SM, DM2 y otras enfermedades crónicas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad Autónoma Metropolitana y al programa PECEM de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México por las becas de estudio otorgadas a Juan F. Vázquez Macías y Gustavo Hernández Rosas, respectivamente.

FINANCIAMIENTO

Los autores declaran que el trabajo fue financiado por fondos federales programa E002 del Instituto Nacional de Pediatría.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Wilson PWF, D'Agostino RB, Parise H, Sullivan L, Meigs JB. Metabolic syndrome as a precursor of cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Circulation*. 2005;112(20):3066-72.
- Engin A. The definition and prevalence of obesity and metabolic syndrome. *Adv Exp Med Biol*. 2017;960:1-17.
- Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiol Rev*. 2018;98(4):2133-223.
- Rodríguez-Correa E, González-Pérez I, Clavel-Pérez PI, Contreras-Vargas Y, Carvajal K. Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: what is the best choice? *Nutr Diabetes*. 2020;10(1):1-15.
- Carvajal K, Camacho L, Phillips B, Martínez M. Modelos animales de síndrome metabólico y diabetes. En: Machado S, Barbosa N, Barciela A, Budde H, Murillo E, editores. *Temas selectos en neurobiología molecular e Integrativa*. Ciudad de México: Anáhuac Mayab; 2017. pp. 89-123.
- Burden N, Chapman K, Sewell F, Robinson V. Pioneering better science through the 3Rs: An introduction to the National Centre for the Replacement, Refinement, and Reduction of Animals in Research (NC3Rs). *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2015;54(2):198.
- Teame T, Zhang Z, Ran C, Zhang H, Yang Y, Ding Q, et al. The use of zebrafish (*Danio rerio*) as biomedical models. *Anim Front*. 2019;9(3):68-77.
- Choi TY, Choi TI, Lee YR, Choe SK, Kim CH. Zebrafish as an animal model for biomedical research. *Exp Mol Med*. 2021;53(3):310-7.
- Santoriello C, Zon LI. Hooked! Modeling human disease in zebrafish. *J Clin Invest*. 2012;122(7):2337-43.
- Howe K, Clark MD, Torroja CF, Torrance J, Berthelot C, Muffato M, et al. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nat*. 2013;496(7446):498-503.
- Quinlivan VH, Farber SA. Lipid uptake, metabolism, and transport in the larval zebrafish. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8(Nov):319.
- Goldsmith JR, Jobin C. Think small: Zebrafish as a model system of human pathology. *J Biomed Biotechnol*. 2012;2012:817341.
- Bouyanfif A, Jayarathne S, Koboziiev I, Moustaid-Moussa N. The nematode *Caenorhabditis elegans* as a model organism to study metabolic effects of ω -3 polyunsaturated fatty acids in obesity. *Adv Nutr*. 2019;10(1):165-78.
- Zheng J, Greenway FL. *Caenorhabditis elegans* as a model for obesity research. *Int J Obes (Lond)*. 2012;36(2):186-94.
- Song Y, Cone RD. Creation of a genetic model of obesity in a teleost. *FASEB J*. 2007;21(9):2042-9.
- Chu CY, Chen CF, Rajendran RS, Shen CN, Chen TH, Yen CC, et al. Overexpression of Akt1 enhances adipogenesis and leads to lipoma formation in zebrafish. *PLoS One*. 2012;7(5):e36474.
- Minchin JEN, Dahlman I, Harvey CJ, Mejhert N, Singh MK, Epstein JA, et al. Plexin D1 determines body fat distribution by regulating the type V collagen microenvironment in visceral adipose tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(14):4363-8.
- Audira G, Sarasamma S, Chen JR, Juniardi S, Sampurna BP, Liang ST, et al. Zebrafish mutants carrying leptin a (*lepa*) gene deficiency display obesity, anxiety, less aggression and fear, and circadian rhythm and color preference dysregulation. *Int J Mol Sci*. 2018;19(12):4038.
- Wolf MJ, Rockman HA. *Drosophila*, genetic screens, and cardiac function. *Circ Res*. 2011;109(7):794-806.
- Agrawal N, Lawler K, Davidson CM, Keogh JM, Legg R, Barroso I, et al. Predicting novel candidate human obesity genes and their site of action by systematic functional screening in *Drosophila*. *PLoS Biol*. 2021;19(11):e3001255.
- Oka T, Nishimura Y, Zang L, Hirano M, Shimada Y, Wang Z, et al. Diet-induced obesity in zebrafish shares common pathophysiological pathways with mammalian obesity. *BMC Physiol*. 2010;10(1):1-13.
- Ke W, Reed JN, Yang C, Higgason N, Rayyan L, Wählby C, et al. Genes in human obesity loci are causal obesity genes in *C. elegans*. *PLoS Genet*. 2021;17(9):e1009736.
- Moreno-Arriola E, El Hafidi M, Ortega-Cuellar D, Carvajal K. AMP-activated protein kinase regulates oxidative metabolism in *Caenorhabditis elegans* through the NHR-49 and MDT-15 transcriptional regulators. *PLoS One*. 2016;11(1):e0148089.
- Meguro S, Hasumura T, Hase T. Body fat accumulation in zebrafish is induced by a diet rich in fat and reduced by supplementation with green tea extract. *PLoS One*. 2015;10(3):e0120142.
- Arias-Jayo N, Abecia L, Lavín JL, Tueros I, Arranz S, Ramírez-García A, et al. Host-microbiome interactions in response to a high-saturated fat diet and fish-oil supplementation in zebrafish adult. *J Funct Foods*. 2019;60:103416.
- Picolo VL, Quadros VA, Canzian J, Grisolia CK, Goulart JT, Pantoja C, et al. Short-term high-fat diet induces cognitive decline, aggression, and anxiety-like behavior in adult zebrafish. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2021;110:110288.
- Musselman LP, Fink JL, Narzinski K, Ramachandran PV, Hathiramani SS, Cagan et al. A high-sugar diet produces obesity and insulin resistance in wild-type *Drosophila*. *Dis Model Mech*. 2011;4(6):842-9.
- Birse RT, Choi J, Reardon K, Rodriguez J, Graham S, Diop S, et al. High-fat-diet-induced obesity and heart dysfunction are regulated by the TOR pathway in *Drosophila*. *Cell Metab*. 2010;12(5):533-44.
- Zang L, Maddison LA, Chen W. Zebrafish as a model for obesity and diabetes. *Front Cell Dev Biol*. 2018;6(Aug):91.
- Saleem S, Kannan RR. Zebrafish: an emerging real-time model system to study Alzheimer's disease and neurospecific drug discovery. *Cell Death Discov*. 2018;4(1):1-13.

31. Staats S, Lüersen K, Wagner AE, Rimbach G. *Drosophila melanogaster* as a versatile model organism in food and nutrition research. *J Agric Food Chem.* 2018;66(15):3737-53.
32. Nichols CD. *Drosophila melanogaster* neurobiology, neuropharmacology, and how the fly can inform central nervous system drug discovery. *Pharmacol Ther.* 2006;112(3):677-700.
33. Yamamoto S, Jaiswal M, Charng WL, Gambin T, Karaca E, Mirzaa G, et al. A *Drosophila* genetic resource of mutants to study mechanisms underlying human genetic diseases. *Cell.* 2014;159(1):200-14.
34. Pandey UB, Nichols CD. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacol Rev.* 2011;63(2):411-36.
35. Shen P, Yue Y, Park Y. A living model for obesity and aging research: *Caenorhabditis elegans*. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2018;58(5):741-54.
36. Vázquez M, Laguna JC. Receptores activados por proliferadores peroxisómicos (PPAR), metabolismo energético y aterosclerosis. *Endocrinol Nutr.* 2000;47(10):301-10.
37. Annesley SJ, Fisher PR. *Dictyostelium discoideum*-a model for many reasons. *Mol Cell Biochem.* 2009;329(1):73-91.
38. Mathavarajah S, Flores A, Huber RJ. *Dictyostelium discoideum*: A model system for cell and developmental biology. *Curr Protoc Essent Lab Tech.* 2017;15:14.1.1-14.1.19. Doi: 10.1002/cpet.15.
39. Kubohara Y, Homma Y, Shibata H, Oshima Y, Kikuchi H. *Dictyostelium* differentiation-inducing factor-1 promotes glucose uptake, at least in part, via an AMPK-dependent pathway in mouse 3T3-L1 cells. *Int J Mol Sci.* 2021;22(5):2293.
40. Desfougères Y, Portela-Torres P, Qiu D, Livermore TM, Harmel RK, Borghi F, et al. The inositol pyrophosphate metabolism of *Dictyostelium discoideum* does not regulate inorganic polyphosphate (polyP) synthesis. *Adv Biol Regul.* 2022;83:100835.
41. Frej AD, Clark J, Le Roy CI, Lilla S, Thomason PA, Otto GP, et al. The inositol-3-phosphate synthase biosynthetic enzyme has distinct catalytic and metabolic roles. *Mol Cell Biol.* 2016;36(10):1464-79.
42. Adonin L, Drozdov A, Barlev NA. Sea urchin as a universal model for studies of gene networks. *Front Genet.* 2021;11:627259.
43. Burke RD, Angerer LM, Elphick MR, Humphrey GW, Yaguchi S, Kiyama T, et al. A genomic view of the sea urchin nervous system. *Dev Biol.* 2006;300(1):434-60.
44. Perillo M, Arnone MI. Characterization of insulin-like peptides (ILPs) in the sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*: insights on the evolution of the insulin family. *Gen Comp Endocrinol.* 2014;205:68-79.
45. Yasumasu I, Fujiwara A, Shoger RL, Asami K. Distribution of some enzymes concerning carbohydrate metabolism in sea urchin eggs. *Exp Cell Res.* 1975;92(2):444-50.
46. McCusker C, Gardiner DM. The axolotl model for regeneration and aging research: a mini-review. *Gerontology.* 2011;57(6):565-71.
47. Hansen GN, Hansen BL, Jørgensen PN, Vogel CK. Immunocytochemical localization and immunochemical characterization of an insulin-related peptide in the pancreas of the urodele amphibian, *Ambystoma mexicanum*. *Cell Tissue Res.* 1989;256(3):507-12.
48. Schneider A, Hanke W. Influence of insulin-like growth factors and insulin on the [³⁵S]sulfate uptake by cartilage of the axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Gen Comp Endocrinol.* 1996;104(1):92-102.
49. Janssens PA, Maher F. Glucagon and insulin regulate in vitro hepatic glycogenolysis in the axolotl *Ambystoma mexicanum* via changes in tissue cyclic AMP concentration. *Gen Comp Endocrinol.* 1986;61(1):64-70.
50. Vance E. Biology's beloved amphibian - the axolotl - is racing towards extinction. *Nature.* 2017;551(7680):286-9.