

Evaluación de marcadores de Estrés del Retículo Endoplásmico (BIP y CHOP) en placentas de pacientes con diabetes gestacional tratadas con y sin metformina

Evaluation of Endoplasmic Reticulum stress markers (BIP and CHOP) in placentas from patients with Gestational Diabetes treated with and without Metformin

Arredondo Ornelas Aranza¹, Reyes Mireles Paula Andrea¹, López Enríquez Jesús Emiliano¹, María Daniela Salazar López¹, Ángel David Paulino González¹, María Luisa Lazo de la Vega Monroy¹, Barbosa Sabanero Gloria¹

¹ Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la Salud, Campus León, Universidad de Guanajuato.
g.barbosasabanero@correo.mx

Resumen

La hiperglucemia que se presenta en una condición de diabetes gestacional (DG) puede inducir estrés del retículo endoplásmico (ERE) en la placenta, un órgano clave para el desarrollo fetal. Este estudio evaluó la expresión de BIP y CHOP, marcadores del ERE, en placentas de pacientes con DG tratadas con y sin metformina, comparadas con un grupo control. Se observó una mayor expresión de BIP en el grupo control, lo que sugiere una mejor capacidad adaptativa frente al estrés celular. En contraste, la expresión de CHOP fue más elevada en el grupo tratado con metformina, lo que podría indicar una activación aumentada de vías proapoptóticas. Estos hallazgos plantean interrogantes sobre el impacto placentario del tratamiento farmacológico en DG, más allá del control glucémico. Desde la perspectiva de la teoría de los Orígenes del Desarrollo de la Salud y la Enfermedad (DOHaD), la disfunción placentaria inducida por estrés celular puede alterar la programación fisiológica del feto, predisponiéndolo a enfermedades metabólicas en etapas posteriores de la vida. En este contexto, los resultados apoyan la necesidad de comprender cómo intervenciones durante el embarazo, como el uso de metformina, pueden modular el microambiente intrauterino y, con ello, influir en la salud a largo plazo. Apoyo financiero: DAIP-UG (CIIC 389/2025).

Palabras clave: DOHaD, BIP, CHOP, Estrés del Retículo Endoplásmico, Respuesta a proteínas mal plegadas.

Introducción

El concepto "DOHaD" Development Origins of Health and Disease (Orígenes de la Salud y la Enfermedad durante el Desarrollo) establece que las exposiciones ambientales adversas como como la DG, la disfunción placentaria y el estrés celular, durante periodos críticos del desarrollo desde la concepción, el embarazo, la infancia e incluso la vida fetal influyen profundamente en la salud y el riesgo de enfermedad a lo largo de toda la vida. Ello mediante mecanismos de programación biológica, incluyendo modificaciones epigenéticas, inflamatorias y metabólicas, que alteran la estructura y función de órganos y sistemas, condicionando la susceptibilidad del individuo a enfermedades crónicas no transmisibles a lo largo de su vida (Penkler *et al.*, 2019). La teoría DOHaD ha revolucionado la manera en que entendemos las enfermedades crónicas y el desarrollo humano, sugiriendo que los factores de riesgo no se limitan a la vida adulta, sino que se originan mucho antes de que una persona nazca e incluso, se conciba.

Objetivo

Evaluar la expresión de los marcadores de estrés del retículo endoplásmico, BIP (Binding Immunoglobulin Protein) y CHOP (C/EBP Homologous Protein), en tejido placentario de pacientes con diagnóstico de DG, tratados con y sin metformina. Este análisis tiene como finalidad identificar posibles diferencias en la activación del estrés del retículo endoplásmico (ERE) asociadas al tipo de tratamiento, y explorar su implicación en la disfunción placentaria y en los mecanismos de programación fetal vinculados a esta patología metabólica.

Antecedentes y justificación.

A nivel mundial, el 14% de los embarazos desarrolla DG (Sweeting *et al.*, 2024) siendo una de las complicaciones más frecuentes en el embarazo. Su prevalencia varía según las diferencias en los factores de riesgo y los enfoques de detección y diagnóstico; demostrando un aumento junto con la obesidad y la diabetes tipo 2 (Blanco *et al.*, 2022). En México, la prevalencia de DG se reporta entre el 8.7 a 17.7 %. La mujer mexicana está en mayor posibilidad de desarrollar DG por pertenecer a un grupo étnico de alto riesgo. (Instituto Mexicano del Seguro Social, 2016). La DG se define como la intolerancia a la glucosa que se detecta por primera vez durante el embarazo, con niveles de glucosa que son superiores a los normales pero inferiores a los que diagnosticarían diabetes manifiesta, y representa un riesgo para la salud mundial ante el aumento de obesidad en el mundo (American Diabetes Association Professional Practice Committee (EISayed *et al.*, 2025). La DG representa un riesgo importante tanto para la madre como para el recién nacido. Se ha asociado con un aumento significativo en complicaciones maternas como hipertensión gestacional, preeclampsia, parto por cesárea y parto prematuro. Para los recién nacidos, los riesgos incluyen hipoglucemia neonatal, síndrome de dificultad respiratoria, hiperbilirrubinemia e hipocalcemia (Clement *et al.*, 2025). Además, los hijos de madres con DG tienen una mayor probabilidad de desarrollar obesidad, diabetes tipo 2, trastornos del espectro autista y déficit de atención (Clement *et al.*, 2025; Guan *et al.*, 2025; Rowland & Wilson, 2021). Un estudio poblacional reciente en Canadá también demostró que la exposición intrauterina a DG se asocia con un mayor riesgo a largo plazo de trastorno por déficit de atención e hiperactividad (TDAH), autismo, hipertensión y enfermedad cardiovascular en los hijos (Feig *et al.*, 2024). Incluso en poblaciones europeas, se ha confirmado un riesgo independiente de preeclampsia asociado a la DG (Östlund *et al.*, 2004). Estos hallazgos subrayan la necesidad de un monitoreo riguroso y de intervenciones tempranas para reducir sus consecuencias en la salud materna e infantil.

El tratamiento de la DG sigue un enfoque escalonado que comienza con modificaciones en el estilo de vida como dieta individualizada, control del peso y actividad física moderada, y progresa a tratamiento farmacológico cuando la glucemia permanece fuera de rango. Aunque la insulina es el tratamiento de primera elección, su administración subcutánea, el monitoreo intensivo y el riesgo de hipoglucemia han impulsado el uso de fármacos orales como la metformina (He *et al.*, 2022; Rena *et al.*, 2017; Viollet *et al.*, 2012). Este fármaco reduce la producción hepática de glucosa, mejora la sensibilidad a la insulina en tejidos periféricos y disminuye la absorción intestinal de glucosa; en conjunto, ayuda a mantener niveles glucémicos más estables en la mujer embarazada sin inducir hipoglucemias severas (Rowan *et al.*, 2008). La metformina atraviesa la placenta y puede alcanzar concentraciones fetales similares a las maternas; sin embargo, los estudios no muestran efectos teratogénicos ni alteraciones adversas en el crecimiento o el desarrollo neurológico a corto o largo plazo (Balani *et al.*, 2009). A nivel placentario, la activación de la vía AMPK se ha relacionado con menor estrés oxidativo e inflamación, así como con la modulación de la proliferación trofoblástica, la angiogénesis y el transporte de nutrientes, lo que podría contribuir a la reducción del riesgo de macrosomía observada en algunos estudios y a una menor incidencia de hipoglucemia neonatal en comparación con la insulina (Tarry-Adkins *et al.*, 2022). En conjunto, la metformina ofrece un perfil terapéutico multifacético, seguro y bien tolerado que la convierte en una alternativa razonable para el manejo de la DG en casos seleccionados (Rowan *et al.*, 2008).

La DG genera un ambiente hiperglucémico que impacta directamente sobre la función placentaria y el desarrollo fetal. Esta condición induce una activación anormal de vías metabólicas, incluyendo mTOR e IGF-1, favoreciendo el crecimiento celular excesivo, la síntesis aumentada de lípidos y proteínas, y el desarrollo de macrosomía (Gaccioli *et al.*, 2013). Además, el entorno hiperglucémico promueve estrés oxidativo en la placenta, contribuyendo a disfunción placentaria y un ambiente intrauterino inflamatorio (Saucedo *et al.*, 2023). Este desequilibrio también altera el transporte de glucosa y lípidos hacia el feto, facilitando la acumulación de tejido adiposo, el desarrollo de resistencia a la insulina y una mayor susceptibilidad a obesidad, dislipidemia y diabetes tipo 2 en la descendencia (Sheiner, 2020). A nivel epigenético, se han identificado modificaciones estables en genes reguladores del metabolismo, detectadas en placenta y sangre de cordón, que pueden perpetuar estos efectos incluso años después del nacimiento (Alba-Linares *et al.*, 2023).

La placenta es un órgano clave en la programación fetal, ya que responde a señales ambientales modulando su metabolismo y, por ende, influyendo en el desarrollo del feto (Burton *et al.*, 2016). En contextos de obesidad o hipoxia materna, se ha documentado disfunción mitocondrial, incremento en especies reactivas de oxígeno (ROS). Estas alteraciones reflejan una programación fetal adversa que persiste más allá del nacimiento. En el contexto de la DG, una de las complicaciones metabólicas más prevalentes del embarazo, se ha observado una disrupción significativa en la función placentaria, lo cual representa un riesgo tanto para la madre como para el neonato (Chiefari *et al.*, 2017; Lende & Rijhsinghani, 2020). La DG afecta la señalización hormonal, el transporte de nutrientes, el metabolismo lipídico y la regulación del estrés oxidativo en la placenta (Desoye & Hauguel-de Mouzon, 2007).

Diversos estudios han demostrado que la DG está asociada con aumento del estrés oxidativo, alteraciones mitocondriales y disfunción del retículo endoplásmico en el tejido placentario (H. W. Yung *et al.*, 2014). El estrés del retículo endoplásmico (ERE) genera acumulación de proteínas mal plegadas, lo que activa la respuesta adaptativa conocida como respuesta a proteínas desplegadas (UPR), involucrando vías como IRE1, PERK y ATF6 (Hetz, 2012). Cuando esta respuesta es sostenida, puede inducir apoptosis celular, inflamación crónica, disfunción proteica y alterar el transporte placentario de lípidos, aminoácidos y glucosa, contribuyendo a macrosomía fetal y otras alteraciones antropométricas neonatales (Bloise *et al.*, 2015), reforzando el eje fisiopatológico propuesto por DOHaD.

Además, se ha sugerido que la metformina, como tratamiento farmacológico, podría modular de manera indirecta el estrés oxidativo y la UPR en la placenta, promoviendo una restauración parcial de la homeostasis en comparación con el manejo convencional (dieta y ejercicio), aunque este efecto aún requiere mayor evidencia en humanos (Salomäki *et al.*, 2013; Syngelaki *et al.*, 2016). La identificación de biomarcadores de disfunción placentaria en DG, especialmente aquellos vinculados al ERE, se postula como una vía prometedora para el desarrollo de intervenciones terapéuticas dirigidas, con el objetivo de mejorar los resultados perinatales y reducir el riesgo de enfermedades cardiometabólicas a largo plazo en la descendencia (Aye *et al.*, 2014; Jones *et al.*, 2007).

Material y métodos

Población

Tejido placentario de productos de mujeres con embarazo normoevolutivo o bien, con diagnóstico de DMG, tratadas con y sin metformina, entre 18 años y 35 años, con embarazo a término (semana 37 a semana 41 de gestación), primigestas y multigestas, con productos únicos nacidos por parto eutócico o cesárea y con estado fetal estable. Aquellas con diagnóstico de DG, tratadas con metformina o tratadas con asesoramiento nutricional y/o ejercicio. Sin diagnóstico previo de diabetes. Sin toxicomanías (alcoholismo o tabaquismo). Sin enfermedad hipertensiva en el embarazo, síndrome de anticuerpos anti-fosfolípidos, síndrome de ovario poliquístico, restricción del crecimiento intrauterino, enfermedades del tejido conectivo o procesos infecciosos y sin contraindicaciones para el uso de metformina. Todas ellas con consentimiento para su participación en el estudio.

Se emplearán muestras de placentas de los siguientes grupos de estudio:

- **Grupo C.** Control (Embarazo fisiológico sin complicaciones)
- **Grupo DMG.** Embarazo con diagnóstico de DG tratada solo con asesoramiento de dieta o dieta y ejercicio.
- **Grupo DMGM.** Embarazo con diagnóstico de DG tratada con metformina.

Procedimiento

- **Electroforesis de proteínas de homogenado de tejido placentario.**

Se separaron las proteínas de homogenados de tejido placentario mediante geles de poliacrilamida–SDS al 7.5%. Se cargaron 100 µg de proteína de placenta y se corrieron los primeros 20 min a 75 V y los posteriores 120 min a 120 V.

- **Inmunotransferencia de proteínas de homogenado de tejido placentario.**

Las proteínas de placenta separadas por electroforesis se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa durante 1.5 h, a una corriente eléctrica constante de 280 mA.

- **Inmunodetección de BIP, CHOP y Tubulina.**

La inmunodetección se realizó bloqueando la membrana con BSA al 5% durante dos horas a 4°C en agitación. Se realizaron dos lavados de 5 min cada uno con TBS-Tween 20 al 0.1% (solución salina tamponada con Tris y Tween 20 al 0.1%) y dos con TBS sin Tween-20.

- **Detección de BIP.**

La detección de BIP total se hizo empleando anticuerpo primario (Ab1) anti-BIP dilución 1:1000, se incubó toda la noche (20 horas en agitación suave a una temperatura de 4°C). Posteriormente, las membranas se lavaron tres veces con TBS-Tween 20 (0.1%) por 5 min cada lavado y dos con TBS sin Tween-20. Después, se incubaron con el anticuerpo secundario (Ab2) a una dilución 1:10,000 durante 2 horas en agitación suave a 4°C, después de esto se realizaron tres lavados con TBS-Tween 20 (0.1%) y dos con TBS sin Tween-20.

- **Detección de CHOP**

La detección de CHOP total se hizo empleando como anticuerpo primario (Ab1) anti-CHOP dilución 1:1500. El anticuerpo primario se incubó toda la noche (20 horas en agitación suave a una temperatura de 4°C). Posteriormente, las membranas se lavaron tres veces con TBS-Tween 20 (0.1%) por 5 min cada lavado y dos con TBS sin Tween-20. Después se incubaron con el anticuerpo secundario (Ab2) anti-mouse a una dilución 1:150,000 durante 2 horas en agitación suave a 4°C, después de esto se realizaron tres lavados con TBS-Tween 20 (0.1%) y dos con TBS sin Tween-20.

- **Detección de Tubulina**

Como control de carga se detectó α -tubulina del tejido placentario empleando como (Ab1) monoclonal anti- α -tubulin (SIGMA, T 6074) dilución 1:8,000. El Ab1 se incubó durante 2 horas en agitación suave a una temperatura de 4°C. Posterior a la exposición al Ab1, las membranas se incubaron con el anticuerpo secundario (Ab2) anti-mouse a una dilución 1:5,000 durante 2hrs a 4°C. Después de esto se realizaron tres lavados con TBS-Tween 20 (0.1%) y dos con TBS sin Tween-20.

El revelado de las membranas se realizó por quimioluminiscencia empleando como sustrato una mezcla de: luminol y H₂O₂ (ECL Clarity™ BIO RAD), proporción 1:1. De las bandas inmunodetectadas se realizó un análisis por densitometría para evaluar los niveles de expresión de las proteínas BIP y CHOP, los resultados se normalizaron con la densidad de la banda correspondiente a tubulina. Para ello se empleó el programa Molecular Imagen® ChemiDoc™ XRS+ Bio Rad utilizando el software Image Lab.

Resultados

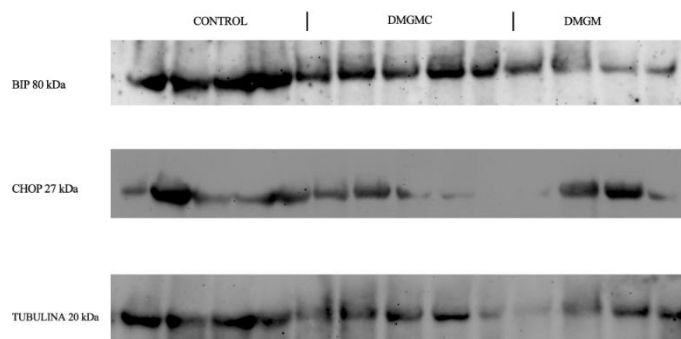


FIGURA 1 INMUNODETECCIÓN DE BIP Y CHOP EN PLACENTA Y SU CONTROL CON α -TUBULINA

En el análisis mediante Western blot se observó la presencia de las proteínas BIP (80 kDa) y CHOP (27 kDa) en todas las muestras analizadas (Figura 1). Se observaron las bandas correspondientes a sus pesos moleculares en el tejido placentario.

Se determinó que el promedio del nivel de expresión de BIP fue de 0.85 ± 0.56 AU en el grupo DMG, 0.26 ± 0.12 AU en el grupo DMGM y 1 ± 0.45 AU en el grupo control. (Figura 2). Los niveles de expresión de BIP fueron menores en el grupo DMGM comparados con el grupo control ($p=0.03$).

El promedio del nivel de expresión de CHOP en el grupo DMG fue de 4.05 ± 2.61 AU, 1 ± 0.48 AU en el grupo control y 3.38 ± 3.48 AU en el grupo DMGM; no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio. (Figura 3).

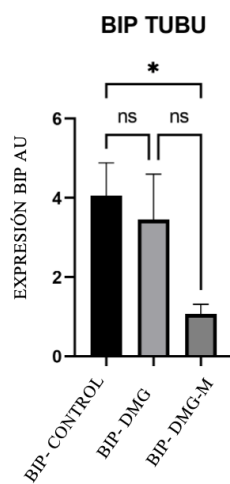


FIGURA 2. EXPRESIÓN BIP

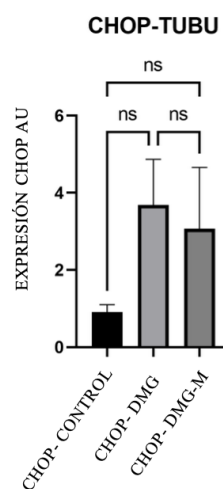


FIGURA 3. EXPRESIÓN CHOP

Discusión

El ERE es un proceso celular fundamental en condiciones de sobrecarga metabólica o alteración del ambiente intracelular, como sucede en la DG. La placenta, al ser un órgano altamente metabólico y regulador del desarrollo fetal, responde activamente al ERE, lo que puede impactar tanto su estructura como su función. Dos proteínas clave en este proceso son BIP (también conocida como GRP78) y CHOP. (Hetz & Papa, 2018) El análisis de la expresión de BIP y CHOP en placentas humanas permite no solo evaluar la presencia de estrés celular, sino también entender el impacto de distintos tratamientos para la DG, como el uso de metformina, sobre la función placentaria. Estos estudios podrían contribuir a identificar nuevos biomarcadores o blancos terapéuticos que optimicen la salud materno-fetal en esta condición.

En este estudio se observó una menor expresión de BIP en el grupo DMGM comparado con el grupo control ($p=0.03$). Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en la expresión de CHOP entre los grupos de estudio (Figuras 2 y 3).

BIP actúa como una chaperona molecular residente en el lumen del retículo endoplásmico que facilita el plegamiento correcto de proteínas en el retículo endoplásmico (RE) y mantiene inactivas a las proteínas sensoras del ERE. Cuando se acumulan proteínas mal plegadas, BIP se disocia de estos sensores, activando rutas de señalización que buscan restaurar la homeostasis, se une a proteínas mal plegadas, facilitando su corrección o su degradación. En placentas de embarazos con DG, se ha observado una expresión aumentada de BIP, lo que sugiere un esfuerzo celular por compensar un entorno intrauterino adverso, caracterizado por hiperglucemia, inflamación o estrés oxidativo (Ehlers *et al.*, 2021; H. W. Yung *et al.*, 2014).

La disminución de su expresión en las placetas en el grupo DMGM observada en este estudio puede reflejar una alteración en la capacidad adaptativa del tejido placentario frente al estrés oxidativo, limitando su respuesta de defensa frente a condiciones metabólicas adversas como la hiperglucemia, la hipoxia o la inflamación crónica (H. Yung *et al.*, 2016; H. W. Yung *et al.*, 2014).

Por otro lado, CHOP es un marcador de daño celular, es un factor de transcripción que se activa en fases tardías de la UPR y se asocia con rutas apoptóticas dependientes del estrés prolongado o no resuelto del RE (Oyadomari & Mori, 2004), y promueve la apoptosis cuando el estrés no puede resolverse. La activación ocurre principalmente a través de la vía PERK-eIF2 α -ATF4 (Figura 4). (Chen *et al.*, 2023), una de las rutas más estudiadas en la respuesta a proteínas mal plegadas del retículo endoplásmico. Bajo condiciones de estrés del RE, la acumulación de proteínas mal plegadas provoca la disociación de BIP de la proteína sensor PERK, lo que permite su activación. Una vez activo, PERK fosforila al factor de iniciación eIF2 α , lo que atenúa la traducción global de proteínas, pero facilita la traducción preferencial de ATF4. Este último transloca al núcleo e induce la transcripción de CHOP, un factor de transcripción cuya expresión sostenida se asocia con la activación de rutas proapoptóticas. Entre los genes blanco de CHOP se encuentra ERO1- α (Endoplasmic Reticulum Oxidoreductin 1 Alpha), una oxidoreductasa del RE que, al ser sobreexpresada, contribuye a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y al daño oxidativo celular (Marciniak *et al.*, 2004). Además, CHOP induce la expresión de BIM, una proteína proapoptótica de la familia BCL-2, la cual aumenta la permeabilidad de la membrana mitocondrial, facilitando la liberación de citocromo c (Puthalakath *et al.*, 2007). Paralelamente, CHOP reprime la expresión de BCL-2, una proteína antiapoptótica clave (McCullough *et al.*, 2001). Esta desregulación favorece la activación de caspasas y la progresión de la vía intrínseca mitocondrial de la apoptosis en contextos de estrés persistente o no resuelto. (Figura 4). Su expresión elevada en la placenta ha sido asociada con disfunción trofoblástica, alteraciones en la vascularización y aumento del riesgo de programación fetal adversa, particularmente en hijos de madres con DG (Burton *et al.*, 2009; H. Yung *et al.*, 2016) Esto refuerza la hipótesis de que una disfunción placentaria inducida por ERE puede ser un mecanismo central en las complicaciones perinatales asociadas a la DG.

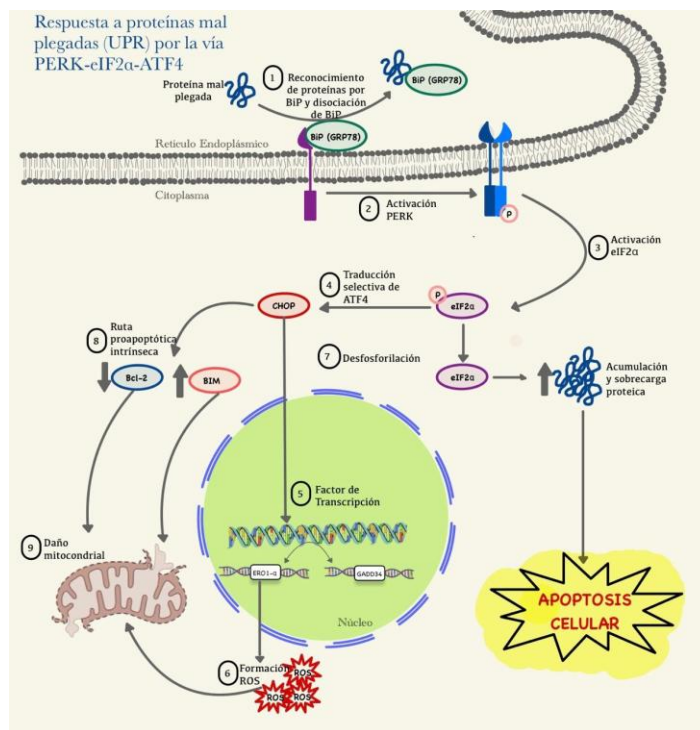


Figura 4. Vía de señalización de respuesta a proteínas desplegadas por PERK-eIF2 α -ATF4. La acumulación de proteínas mal plegadas y desplegadas en el retículo endoplásmico (RE) desacopla la unión de BIP en PERK, activando a esta última. La activación de la vía PERK conlleva la fosforilación de eIF2 α , lo cual disminuye temporalmente la síntesis global de proteínas en el RE, incluyendo la traducción del ARNm de ATF4. Posteriormente, ATF4 activa la expresión de CHOP, con quien colabora para regular diversos genes implicados en la respuesta al estrés, como GADD34 y ERO1- α . GADD34 codifica una subunidad reguladora de una fosfatasa que actúa sobre eIF2 α , promoviendo su desfosforilación y, con ello, la restauración progresiva de la traducción proteica. Si bien esta vía tiene como objetivo inicial restablecer la homeostasis del RE, una activación sostenida puede culminar en muerte celular por apoptosis.

Estos resultados se alinean con estudios previos que han demostrado un desequilibrio en la UPR placentaria en presencia de DG. Yung *et al.* reportaron evidencia de activación del ERE en placentas de embarazos con restricción de crecimiento intrauterino, observando un aumento en CHOP y una reducción en BIP, hallazgos que son similares a los aquí observados en DG. (H. Yung *et al.*, 2008).

En conjunto, estos hallazgos refuerzan la noción de que la DG altera el equilibrio homeostático del entorno placentario, y que las intervenciones terapéuticas pueden modular este efecto en direcciones no siempre predecibles. La disminución de BIP sugiere un desplazamiento desde una respuesta adaptativa hacia una respuesta proapoptótica, lo que podría comprometer la viabilidad y eficiencia funcional de la placenta. Considerando el papel esencial que cumple este órgano en la nutrición, oxigenación y señalización endocrina durante la gestación, estas alteraciones pueden tener consecuencias en el crecimiento fetal, la programación metabólica y la salud a largo plazo de la descendencia.

Conclusiones

Los resultados de este estudio muestran que la expresión de los marcadores de estrés del retículo endoplásmico BIP y CHOP en tejido placentario varía significativamente en función del tratamiento en pacientes con DG. La menor expresión de BIP en el grupo DMGM, en comparación con el grupo control, sugiere una disminución de la capacidad adaptativa frente al estrés celular en la placenta diabética.

Estos hallazgos indican que, si bien la metformina es eficaz en el control glucémico, su impacto sobre la biología placentaria puede incluir la activación de mecanismos de estrés celular y apoptosis. Esto resalta la importancia de considerar no solo los efectos metabólicos del tratamiento, sino también sus repercusiones a nivel tisular y funcional en la placenta. La evaluación de marcadores como BIP y CHOP permite profundizar en la comprensión de los mecanismos celulares implicados en la disfunción placentaria asociada a la DG y su tratamiento.

Dado que la metformina parece inducir una mayor expresión del marcador proapoptótico CHOP en tejido placentario, se plantea la hipótesis de que el impacto de la metformina sobre el estrés del retículo endoplásmico y la viabilidad placentaria puede variar según el perfil metabólico, inflamatorio y genético de cada paciente. Por lo tanto, la personalización del tratamiento con metformina en DG gestacional, basada en biomarcadores celulares y moleculares, podría optimizar los resultados materno-fetales y reducir posibles efectos adversos sobre la función placentaria.

Ética

Esta investigación se apega a la Declaración de Helsinki y los estándares éticos del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia Investigación para la Salud, Investigación con personas, de acuerdo al artículo 17 se considera una investigación con riesgo mínimo. Los procedimientos se realizaron de acuerdo con las Leyes Generales de Salud Mexicanas. Todas las participantes firmaron un consentimiento informado antes del reclutamiento. El presente estudio posee aprobaciones éticas por los Comités de investigación y ética del Hospital de Especialidades Materno Infantil de León, Guanajuato (HEMIL) (folio No. 152/2023 y CEI 20-2023) y por el Comité de Ética para la Investigación de la Universidad de Guanajuato (CIBIUG P49-2022 y adenda CEPIUG-A01-2024).

Referencias

- Alba-Linares, J. J., Pérez, R. F., Tejedor, J. R., Bastante-Rodríguez, D., Ponce, F., Carbonell, N. G., Zafra, R. G., Fernández, A. F., Fraga, M. F., & Lurbe, E. (2023). Maternal obesity and gestational diabetes reprogram the methylome of offspring beyond birth by inducing epigenetic signatures in metabolic and developmental pathways. *Cardiovascular Diabetology*, 22(1), 44. <https://doi.org/10.1186/s12933-023-01774-y>
- Aye, I. L. M. H., Lager, S., Ramirez, V. I., Gaccioli, F., Dudley, D. J., Jansson, T., & Powell, T. L. (2014). Increasing Maternal Body Mass Index Is Associated with Systemic Inflammation in the Mother and the Activation of Distinct Placental Inflammatory Pathways1. *Biology of Reproduction*, 90(6). <https://doi.org/10.1095/biolreprod.113.116186>
- Balani, J., Hyer, S. L., Rodin, D. A., & Shehata, H. (2009). Pregnancy outcomes in women with gestational diabetes treated with metformin or insulin: a case-control study. *Diabetic Medicine*, 26(8), 798–802. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2009.02780.x>
- Blanco, E., Marcela, M., Nuñez, L., Retamal, E., Ossa, X., Woolley, K. E., Oludotun, T., Bartington, S. E., Delgado-Saborit, J. M., Harrison, R. M., Ruiz-Rudolph, P., & Quinteros, M. E. (2022). Adverse pregnancy and perinatal outcomes in Latin America and the Caribbean: systematic review and meta-analysis. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 46, 1. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2022.21>
- Bloise, E., Ortega-Carvalho, T. M., Reis, F. M., Lye, S. J., Gibb, W., & Matthews, S. G. (2015). ATP-binding cassette transporters in reproduction: a new frontier. *Human Reproduction Update*, dmV049. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv049>
- Burton, G. J., Fowden, A. L., & Thornburg, K. L. (2016). Placental Origins of Chronic Disease. *Physiological Reviews*, 96(4), 1509–1565. <https://doi.org/10.1152/physrev.00029.2015>
- Burton, G. J., Yung, H.-W., Cindrova-Davies, T., & Charnock-Jones, D. S. (2009). Placental Endoplasmic Reticulum Stress and Oxidative Stress in the Pathophysiology of Unexplained Intrauterine Growth Restriction and Early Onset Preeclampsia. *Placenta*, 30, 43–48. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2008.11.003>
- Chen, X., Shi, C., He, M., Xiong, S., & Xia, X. (2023). Endoplasmic reticulum stress: molecular mechanism and therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 8(1), 352. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01570-w>
- Chiefari, E., Arcidiacono, B., Foti, D., & Brunetti, A. (2017). Gestational diabetes mellitus: an updated overview. *Journal of Endocrinological Investigation*, 40(9), 899–909. <https://doi.org/10.1007/s40618-016-0607-5>
- Clement, N. S., Abul, A., Farrelly, R., Murphy, H. R., Forbes, K., Simpson, N. A. B., & Scott, E. M. (2025). Pregnancy outcomes in type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 232(4), 354–366. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2024.11.026>
- Desoye, G., & Hauguel-de Mouzon, S. (2007). The Human Placenta in Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 30(2), S120–S126. <https://doi.org/10.2337/dc07-s203>
- Ehlers, E., Talton, O. O., Schust, D. J., & Schulz, L. C. (2021). Placental structural abnormalities in gestational diabetes and when they develop: A scoping review. *Placenta*, 116, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2021.04.005>
- American Diabetes Association Professional Practice Committee (ElSayed, N. A., McCoy, R. G., Aleppo, G., Balapattabi, K., Beverly, E. A., Briggs Early, K., Bruemmer, D., Ebekozien, O., Echouffo-Tcheugui, J. B., Ekhlaspour, L., Gaglia, J. L., Garg, R., Khunti, K., Lal, R., Lingvay, I., Matfin, G., Pandya, N., Pekas, E. J., Pilla, S. J., ... Bannuru, R. R. (2025). 2. Diagnosis and Classification of Diabetes: Standards of Care in Diabetes—2025. *Diabetes Care*, 48(1), S27–S49. <https://doi.org/10.2337/dc25-S002>
- Feig, D. S., Artani, A., Asaf, A., Li, P., Booth, G. L., & Shah, B. R. (2024). Long-term Neurobehavioral and Metabolic Outcomes in Offspring of Mothers With Diabetes During Pregnancy: A Large, Population-Based Cohort Study in Ontario, Canada. *Diabetes Care*, 47(9), 1568–1575. <https://doi.org/10.2337/dc24-0108>
- Gaccioli, F., Lager, S., Powell, T. L., & Jansson, T. (2013). Placental transport in response to altered maternal nutrition. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 4(2), 101–115. <https://doi.org/10.1017/S2040174412000529>

- Guan, J., Qiu, J., Li, L., Fu, M., Zhang, M., Wu, Y., Xu, Y., Ding, H., & Gao, Q. (2025). A meta-analysis of adverse offspring health outcomes in patients with gestational diabetes mellitus. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 27(7), 3555–3567. <https://doi.org/10.1111/dom.16341>
- He, K., Guo, Q., Ge, J., Li, J., Li, C., & Jing, Z. (2022). The efficacy and safety of metformin alone or as an add-on therapy to insulin in pregnancy with GDM or T2DM: A systematic review and meta-analysis of 21 randomized controlled trials. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 47(2), 168–177. <https://doi.org/10.1111/jcpt.13503>
- Hetz, C. (2012). The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 13(2), 89–102. <https://doi.org/10.1038/nrm3270>
- Hetz, C., & Papa, F. R. (2018). The Unfolded Protein Response and Cell Fate Control. *Molecular Cell*, 69(2), 169–181. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2017.06.017>
- Instituto Mexicano del Seguro Social. (2016). Diagnóstico y tratamiento de la diabetes en el embarazo. <http://www.cenetec.salud.gob.mx/contenidos/gpc/catalogoMaestroGPC.html>
- Jones, H. N., Powell, T. L., & Jansson, T. (2007). Regulation of Placental Nutrient Transport – A Review. *Placenta*, 28(8–9), 763–774. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2007.05.002>
- Lende, M., & Rijhsinghani, A. (2020). Gestational Diabetes: Overview with Emphasis on Medical Management. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(24), 9573. <https://doi.org/10.3390/ijerph17249573>
- Marciniak, S. J., Yun, C. Y., Oyadomari, S., Novoa, I., Zhang, Y., Jungreis, R., Nagata, K., Harding, H. P., & Ron, D. (2004). CHOP induces death by promoting protein synthesis and oxidation in the stressed endoplasmic reticulum. *Genes & Development*, 18(24), 3066–3077. <https://doi.org/10.1101/gad.1250704>
- McCullough, K. D., Martindale, J. L., Klotz, L.-O., Aw, T.-Y., & Holbrook, N. J. (2001). Gadd153 Sensitizes Cells to Endoplasmic Reticulum Stress by Down-Regulating Bcl2 and Perturbing the Cellular Redox State. *Molecular and Cellular Biology*, 21(4), 1249–1259. <https://doi.org/10.1128/MCB.21.4.1249-1259.2001>
- Östlund, I., Haglund, B., & Hanson, U. (2004). Gestational diabetes and preeclampsia. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 113(1), 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2003.07.001>
- Oyadomari, S., & Mori, M. (2004). Roles of CHOP/GADD153 in endoplasmic reticulum stress. *Cell Death & Differentiation*, 11(4), 381–389. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4401373>
- Penkler, M., Hanson, M., Biesma, R., & Müller, R. (2019). DOHaD in science and society: emergent opportunities and novel responsibilities. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 10(3), 268–273. <https://doi.org/10.1017/S2040174418000892>
- Puthalakath, H., O'Reilly, L. A., Gunn, P., Lee, L., Kelly, P. N., Huntington, N. D., Hughes, P. D., Michalak, E. M., McKimm-Breschkin, J., Motoyama, N., Gotoh, T., Akira, S., Bouillet, P., & Strasser, A. (2007). ER Stress Triggers Apoptosis by Activating BH3-Only Protein Bim. *Cell*, 129(7), 1337–1349. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.04.027>
- Rena, G., Hardie, D. G., & Pearson, E. R. (2017). The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia*, 60(9), 1577–1585. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4342-z>
- Rowan, J. A., Hague, W. M., Gao, W., Battin, M. R., & Moore, M. P. (2008). Metformin versus Insulin for the Treatment of Gestational Diabetes. *New England Journal of Medicine*, 358(19), 2003–2015. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0707193>
- Rowland, J., & Wilson, C. A. (2021). The association between gestational diabetes and ASD and ADHD: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*, 11(1), 5136. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84573-3>
- Salomäki, H., Vähätalo, L. H., Laurila, K., Jäppinen, N. T., Penttinen, A.-M., Ailanen, L., Ilyasizadeh, J., Pesonen, U., & Koulou, M. (2013). Prenatal Metformin Exposure in Mice Programs the Metabolic Phenotype of the Offspring during a High Fat Diet at Adulthood. *PLoS ONE*, 8(2), e56594. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056594>

- Saucedo, R., Ortega-Camarillo, C., Ferreira-Hermosillo, A., Díaz-Velázquez, M. F., Meixueiro-Calderón, C., & Valencia-Ortega, J. (2023). Role of Oxidative Stress and Inflammation in Gestational Diabetes Mellitus. *Antioxidants*, 12(10), 1812. <https://doi.org/10.3390/antiox12101812>
- Sheiner, E. (2020). Gestational Diabetes Mellitus: Long-Term Consequences for the Mother and Child Grand Challenge: How to Move on Towards Secondary Prevention? *Frontiers in Clinical Diabetes and Healthcare*, 1. <https://doi.org/10.3389/fcdhc.2020.546256>
- Sweeting, A., Hannah, W., Backman, H., Catalano, P., Feghali, M., Herman, W. H., Hivert, M.-F., Immanuel, J., Meek, C., Oppermann, M. L., Nolan, C. J., Ram, U., Schmidt, M. I., Simmons, D., Chivese, T., & Benhalima, K. (2024). Epidemiology and management of gestational diabetes. *The Lancet*, 404(10448), 175–192. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(24\)00825-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(24)00825-0)
- Syngelaki, A., Nicolaides, K. H., Balani, J., Hyer, S., Akolekar, R., Kotecha, R., Pastides, A., & Shehata, H. (2016). Metformin versus Placebo in Obese Pregnant Women without Diabetes Mellitus. *New England Journal of Medicine*, 374(5), 434–443. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1509819>
- Tarry-Adkins, J. L., Robinson, I. G., Reynolds, R. M., Aye, I. L. M. H., Charnock-Jones, D. S., Jenkins, B., Koulmann, A., Ozanne, S. E., & Aiken, C. E. (2022). Impact of Metformin Treatment on Human Placental Energy Production and Oxidative Stress. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.935403>
- Viollet, B., Guigas, B., Garcia, N. S., Leclerc, J., Foretz, M., & Andreelli, F. (2012). Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clinical Science*, 122(6), 253–270. <https://doi.org/10.1042/CS20110386>
- Yung, H., Alnæs-Katjavivi, P., Jones, C. J. P., El-Bacha, T., Golic, M., Staff, A.-C., & Burton, G. J. (2016). Placental endoplasmic reticulum stress in gestational diabetes: the potential for therapeutic intervention with chemical chaperones and antioxidants. *Diabetologia*, 59(10), 2240–2250. <https://doi.org/10.1007/s00125-016-4040-2>
- Yung, H., Calabrese, S., Hynx, D., Hemmings, B. A., Cetin, I., Charnock-Jones, D. S., & Burton, G. J. (2008). Evidence of Placental Translation Inhibition and Endoplasmic Reticulum Stress in the Etiology of Human Intrauterine Growth Restriction. *The American Journal of Pathology*, 173(2), 451–462. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.071193>
- Yung, H. W., Atkinson, D., Campion-Smith, T., Olovsson, M., Charnock-Jones, D. S., & Burton, G. J. (2014). Differential activation of placental unfolded protein response pathways implies heterogeneity in causation of early- and late-onset pre-eclampsia. *The Journal of Pathology*, 234(2), 262–276. <https://doi.org/10.1002/path.4394>