

Efectos de la diabetes gestacional y su tratamiento sobre el DNA mitocondrial

Coria Alcaraz Sandra Ethelvina¹, Gaytán Bocanegra Jimena², Jimenez Bustos Michell De Los Angeles², Rangel Salazar Rubén³, Paulino González Ángel David³, Barbosa Sabanero Gloria³, Lazo De La Vega Monroy María Luisa³.

¹ Departamento de Medicina y Nutrición, División de Ciencias de la Salud, Universidad de Guanajuato, Campus León.

² Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato.

³ Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la Salud, Universidad de Guanajuato, Campus León.

mlazo@ugto.mx

Resumen

La diabetes mellitus gestacional (DMG) es una complicación frecuente del embarazo que puede afectar el ambiente intrauterino y, potencialmente, la salud futura del recién nacido. En años recientes, la evidencia ha respaldado la teoría de DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease), la cual plantea que el entorno durante las etapas críticas del desarrollo fetal puede influir en la programación de enfermedades crónicas en la vida adulta. En este contexto, el ADNmt ha sido propuesto como un mediador sensible a condiciones metabólicas adversas como la hiperglucemia, ya que el exceso de glucosa favorece la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que puede generar daño mitocondrial y alterar su número de copias. Este estudio evaluó el impacto de la DMG y sus tratamientos (conservador y metformina) sobre la expresión del ADN mitocondrial (ADNmt) en tejido placentario, específicamente el gen MT-RNR1. Se analizaron 50 muestras de placenta mediante PCR cuantitativa en tiempo real, comparando tres grupos: embarazos fisiológicos, DMG tratada sin fármacos y DMG tratada con metformina. En este estudio, aunque no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la expresión de ADNmt entre los grupos, se identificó una tendencia a su disminución en presencia de DMG. No se observaron diferencias entre el grupo de DMG tratada con metformina y el grupo de embarazo fisiológico. Estos hallazgos sugieren que el número de copias de ADNmt podría representar un marcador sensible del ambiente metabólico intrauterino.

Palabras clave: Diabetes gestacional; ADN mitocondrial; placenta; metformina.

Introducción

La diabetes mellitus es un trastorno metabólico caracterizado por hiperglucemia crónica, derivada de defectos en la secreción de insulina, en su acción o en ambos. Entre sus diferentes formas, la Diabetes Mellitus Gestacional (DMG) se define como una intolerancia a la glucosa diagnosticada por primera vez durante el embarazo¹. Esta condición representa una de las complicaciones obstétricas más frecuentes a nivel mundial. De acuerdo con el Atlas 2024 de la Federación Internacional de Diabetes (IDF), se estima que 23.6 millones de nacidos vivos (17.3%) estuvieron expuestos a hiperglucemia durante la gestación, de los cuales el 81% correspondió a DMG².

El tamizaje para detectar DMG debe realizarse entre las semanas 24 y 28 de gestación. En mujeres con factores de riesgo, se recomienda realizar la prueba desde el inicio del embarazo. En México, el diagnóstico puede establecerse conforme a dos consensos clínicos: mediante un solo paso, con una Curva de Tolerancia a la Glucosa Oral (CTGO) utilizando una carga de 75 g de glucosa, según el Consenso IADPSG; o bien, mediante un enfoque en dos pasos, que consiste en una prueba de tamizaje inicial con 50 g de glucosa, seguida por una CTGO con carga de 100 g y medición durante 3 horas en pacientes con glucosa plasmática ≥ 140 mg/dL, de acuerdo con el Consenso NIH. La Asociación Americana de Diabetes (ADA) desaconseja el uso de la hemoglobina glucosilada (HbA1c) para el diagnóstico de DMG, ya que el recambio acelerado de eritrocitos durante el embarazo tiende a disminuir sus niveles, tanto en mujeres con diabetes como en aquellas sin la enfermedad¹.

El tratamiento de la DMG comienza con modificaciones al estilo de vida —como dieta controlada y ejercicio físico—, con el objetivo de mantener niveles de glucosa en ayuno <95 mg/dL y <120 mg/dL postprandiales.

Si estas metas no se alcanzan en dos semanas, se recomienda iniciar tratamiento farmacológico¹. La insulina es el estándar terapéutico por su eficacia y seguridad fetal. Sin embargo, en los últimos años, el uso de metformina ha cobrado importancia como alternativa por su bajo costo, administración oral y buena tolerancia. A pesar de su eficacia, la metformina atraviesa la placenta y alcanza concentraciones fetales similares a las maternas, lo que ha generado incertidumbre sobre sus efectos a largo plazo en la salud del producto³.

Las mitocondrias, estructuras celulares esenciales para la producción de energía mediante la fosforilación oxidativa (OXPHOS), desempeñan un papel crucial en el metabolismo de la glucosa. Además de generar ATP, regulan funciones clave como la señalización por calcio, la apoptosis y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). El ADN mitocondrial (ADNmt), un genoma circular y exclusivo de la mitocondria, codifica genes fundamentales para la cadena respiratoria. Su número de copias se ha asociado con el estado funcional mitocondrial y se ha propuesto como un biomarcador sensible a condiciones de estrés metabólico intrauterino⁴.

Antecedentes y Justificación

La diabetes gestacional (DMG) es un trastorno metabólico caracterizado por hiperglucemia que se presenta por primera vez durante el embarazo. Esta condición se asocia con un mayor riesgo de complicaciones tanto maternas como fetales, entre las que destacan: aborto espontáneo, preeclampsia, anomalías congénitas, macrosomía, hipoglucemia y muerte perinatal. Asimismo, se ha documentado que la exposición a un ambiente hiperglucémico intrauterino incrementa la probabilidad de desarrollar obesidad, hipertensión y diabetes tipo 2 en etapas posteriores de la vida^{1,5,6}.

En años recientes, la evidencia ha respaldado la teoría de DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease), la cual plantea que el entorno durante las etapas críticas del desarrollo del feto puede influir en la programación de enfermedades crónicas en la vida adulta. Dentro de este marco, el ADN mitocondrial (ADNmt) ha sido relevante como un potencial mediador entre el ambiente materno y la salud futura del individuo. Diversos estudios sugieren que el número de copias ADNmt puede alterarse ante la exposición a factores como la hiperglucemia, dado que el exceso de glucosa favorece la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que conlleva a daño mitocondrial⁷.

Las mitocondrias desempeñan funciones esenciales en la célula como la producción de ATP, el metabolismo de lípidos y carbohidratos, y la regulación del estrés oxidativo. Por esta razón, la disfunción mitocondrial puede contribuir al desarrollo de múltiples enfermedades crónicas⁷. En particular, la placenta es un órgano de alta demanda energética debido a su papel en el suministro de nutrientes y oxígeno al feto. Su riqueza en mitocondrias convierte al ADNmt en un marcador sensible del estado metabólico intrauterino. Además, al ser exclusivamente de herencia materna, las alteraciones en su integridad o cantidad podrían tener implicaciones directas en la salud fetal⁸.

El presente estudio busca determinar si los diferentes tratamientos empleados en el manejo de la diabetes gestacional-intervenciones no farmacológicas como dieta y ejercicio, frente al uso de metformina, tienen un impacto diferencial en la cantidad de copias de ADN mitocondrial de la placenta, comparado con embarazos fisiológicos. Esta cuantificación puede ofrecer información valiosa sobre los efectos que tiene el tratamiento materno en el ambiente metabólico del feto. En general, las copias de mtDNA se calculan mediante la amplificación de genes mitocondriales usando PCR cuantitativa en tiempo real, con la amplificación de genes nucleares como referencia.

La elección del ADN mitocondrial como marcador obedece a su papel clave en la función energética celular y a su sensibilidad frente al estrés oxidativo⁷. Al considerarse un biomarcador temprano de disfunción mitocondrial su análisis puede brindar evidencia sobre el impacto sobre la DMG y sus terapias sobre el desarrollo fetal.

Además, comprender estos efectos podría reforzar la importancia del asesoramiento preconcepcional y abrir nuevas líneas de investigación para el desarrollo de estrategias preventivas. A futuro, este conocimiento podría contribuir al diseño de terapias que protejan la función mitocondrial o al uso del ADNmt como herramienta diagnóstica para predecir complicaciones como macrosomía o hipoglucemia neonatal, facilitando la toma de decisiones en tiempo oportuno.

Material y métodos

Población

En el estudio realizado se incluyeron mujeres embarazadas con edades entre 18 a 35 años, con embarazos de entre 37 a 41 semanas, que tuvieran embarazo con evolución normal y mujeres con DMG que hayan sido diagnosticadas por primera vez durante la gestación en el segundo trimestre del embarazo, (24 a 28 semanas de gestación), tratadas con metformina y únicamente controladas con dieta y ejercicio. Todas con embarazos llegados a término, productos únicos nacidos por parto eutócico o cesárea y sin sufrimiento fetal, en el Hospital de Especialidades Materno infantil de León, Gto.

El estudio cuenta con aprobación del Comité de Ética para la investigación de la Universidad de Guanajuato (CIPiUG-P49-2022), y el Comité de Ética en investigación del Hospital de Especialidades Materno Infantil de León (CEI 20-2023). Los procedimientos realizados fueron de acuerdo con las Leyes Generales de Salud Mexicanas. Todas las mujeres que participaron en el estudio firmaron un consentimiento informado antes del reclutamiento.

Se tomaron en cuenta los siguientes parámetros para no incluir a mujeres en el estudio: diagnóstico de enfermedad hipertensiva del embarazo, diabetes pregestacional o tipo 2, síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, enfermedades del tejido conectivo, enfermedades infecciosas crónicas, tabaquismo o alcoholismo durante el embarazo y aquellas que no dieron su consentimiento previo para participar en el estudio.

Se utilizaron las tablas actualmente validadas para la población mexicana para la clasificación de los recién nacidos como pequeños para la edad gestacional (PEG), apropiados para la edad gestacional (AGA) o grandes para la edad gestacional (GEG) con base en su peso al nacer y la edad gestacional.

Recolección de muestras

En la primera hora después del parto se obtuvo un trozo de tejido placentario de 5 x 5 cm, incluyendo los lados fetal y materno, a medio camino entre la inserción del cordón y el borde placentario, se realizó un lavado con PBS. El tejido placentario se congeló de manera inmediata en hielo seco y se transportó para ser almacenado en refrigeración a -70°C hasta su uso.

Las biopsias de placenta obtenidas se dividieron en tres grupos para su estudio: fisiológico (FIS), DMG tratada con dieta y ejercicio solamente (DMGC) y DMG tratada con metformina (DMGM). Para realizar la investigación se tomaron 50 muestras de placentas: 20 FIS, 15 DMGC y 15 DMGM.

Procedimiento

Se tomaron 10 mg de cada placenta en un tubo rotulado con el código correspondiente, abarcando la cara materna y la cara fetal. Se homogeneizó el tejido utilizando un politrón con 300 µL de buffer de lisis (cat. 1045730), se añadieron 1.5 µL de proteinasa K, se mezcló 25 veces por inversión y se incubó a 55°C por 1 hora (hasta ver el tejido completamente lisado) invirtiendo el tubo periódicamente durante la incubación. En el siguiente paso se añadieron 1.5 µL de la solución "A" de RNasa y se mezcló por inversión 25 veces, posteriormente se incubó a 37°C por 1 hora, terminando la incubación a 37°C se mantuvo por un minuto en hielo y se añadieron 50 µL de la solución de precipitación de proteínas y se realizó vórtex vigoroso por 20 segundos. Se centrifugó por 3 minutos a 13,000 x g, una vez terminada la centrifugación se colocaron 1,500 µL de isopropanol frío en un nuevo tubo de 2 mL y se añadió cuidadosamente el sobrenadante obtenido, se mezcló por inversión 50 veces y se centrifugó por 1 minuto a 13,000 x g, posteriormente se desechó el sobrenadante y se retiró el resto del líquido por capilaridad, cuidando que el pellet permaneciera en el tubo, se añadieron 300 µL de etanol al 70% y se lavó el pellet de ADN, se volvió a centrifugar durante 1 minuto a 13,000 x g y se desechó el sobrenadante, se dejó secar a temperatura ambiente y posteriormente se añadieron 100 µL de la solución de hidratación del ADN y se dio vórtex 5 segundos a velocidad media. Finalmente se incubó a 65°C durante 1 hora para disolver el ADN y se almacenaron a -20°C hasta su utilización.

PCR cuantitativa (qPCR)

Se cuantificaron las muestras de ADN utilizando un espectrofotómetro (NanoDrop), midiendo la absorbancia a 260 nm, (se calculó de igual manera la relación de absorbancias a 260 y 280 nm para evaluar la pureza del ADN), una vez cuantificadas las muestras, se realizaron diluciones de cada una de ellas, partiendo de la concentración inicial para obtener una concentración final de 50 ng/μL. Una vez hechas las diluciones se procedió a realizar la qPCR.

Los dos genes a analizar mediante la qPCR fueron MT-RNR1 y HBB, siendo HBB el gen "control" ya que este es un gen nuclear, y MT-RNR1 el gen de interés, ya que este codifica para la subunidad 12s de los ribosomas mitocondriales.

Se preparó el master mix para cada gen (MT-RNR1 y HBB) el cual incluyó SYBRgreen master mix (5 μL por 1 reacción), los primers reverso y forward para cada gen correspondiente (1 μL por cada reacción, cada una teniendo una concentración de 10 pMoles de primers) y agua estéril (1 μL por cada reacción), posteriormente en placas para qPCR de 96 pozos se colocaron 8 μL del mix correspondiente (con los primers para MT-RNR1 o HBB según fuera el caso) en cada pozo, para posteriormente colocar 2 μL de ADN de cada muestra en los pozos (se colocaron las muestras por duplicado) y 2 μL de agua estéril para los controles negativos, para finalmente tener reacciones de 10 μL en cada uno de los pozos, se procedió a realizar la qPCR en el equipo QuantStudio 5 Real – Time, antes de meter la placa en el equipo se centrifugó durante 20 segundos (centrífuga de placas PCR Labnet MPS1000) para asegurarse que todos los componentes de la reacción se encontraran mezclados en el fondo del pozo, posteriormente se introdujo la placa en el equipo y comenzó con la reacción bajo los siguientes parámetros⁹:

Temperatura	Tiempo	Ciclos
95°C	10 minutos	1
95°C	10 segundos	45
60°C	30 segundos	
72°C	13 segundos	
Melting Curve		
95°C	15 segundos	1
60°C	1 minuto	1
96°C	1 segundo	1
Final		
40°C	3 minutos	1

Una vez realizada la qPCR se analizaron los datos utilizando el programa QuantStudio Real – Time PCR (qPCR) system, Microsoft Excel y GraphPad Prism.

Resultados

Se obtuvieron los datos de los Ct del ADN de las muestras analizadas mediante la PCR cuantitativa (qPCR), los cuales se utilizaron para realizar el análisis de la expresión génica mediante el método de $\Delta\Delta C_t$ utilizando el grupo FIS como grupo control y el gen constitutivo β -globina como gen de referencia, siendo el gen mitocondrial MT-RNR1 (12s) el gen blanco a analizar. Esta expresión es representativa del número de copias del ADNmt.

Posteriormente se calculó el logaritmo de los resultados obtenidos y con estos datos se realizó un análisis de las diferencias mediante Kruskal-Wallis. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos analizados (FIS, GDM-C y GDM-M), ($p=0.0871$). *El grupo DMG sin metformina mostró una tendencia no significativa a una menor expresión del gen 12s (Figura 1.).*

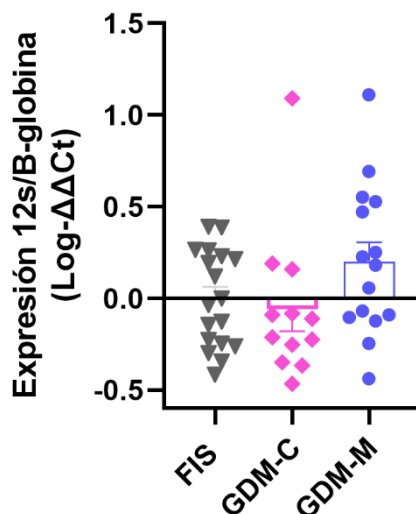


Figura 1. La gráfica representa el promedio de la expresión génica, representativo del número de copias de DNAm, en cada uno de los grupos analizados siendo FIS (embarazo fisiológico), GDM-C (diabetes mellitus gestacional tratada con ejercicio y dieta) y GDM-M (diabetes mellitus gestacional tratada con metformina).

Discusión

En el presente estudio, las muestras de placenta de las pacientes que fueron evaluadas muestran la expresión del gen MT-RNR1 (12s) en todos los grupos, se observa una tendencia de que la presencia de diabetes mellitus gestacional (DMG) disminuye la expresión de dicho gen, sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los 3 grupos en el análisis realizado como se mencionó anteriormente en los resultados obtenidos.

En años recientes se ha respaldado la teoría de que el ADN mitocondrial (ADNmt) es relevante como un potencial mediador entre el ambiente materno y la salud futura del individuo. Se ha sugerido que el número de copias ADNmt puede alterarse ante la exposición a factores como la hiperglucemia, o la exposición a diversos contaminantes o fármacos como en este caso el de elección para el tratamiento de la DMG que es la metformina, por esto mismo se analizaron grupos de mujeres que llevaron un embarazo fisiológico no patológico, mujeres con DMG sin tratamiento farmacológico y mujeres con DMG que utilizaron metformina como tratamiento^{1,8}.

Se observó una tendencia a una disminución en el número de copias de ADNmt en las muestras de pacientes con DMG, lo cual podría deberse a la hiperglucemia con la que cursa esta enfermedad. Asimismo, se observa una mayor variabilidad en los datos del grupo GDM-M, lo cual podría ser consecuencia del uso y efectos de la metformina distintos para cada paciente durante el embarazo. Los resultados obtenidos en este estudio deberán corroborarse en otras cohortes de pacientes.

Conclusiones

La presencia de DMG en el embarazo podría generar una disminución en la expresión del gen mitocondrial MT-RNR1 (12s), sugiriendo que el ADNmt placentario es sensible del ambiente materno al que se ha encontrado sometido el feto durante el embarazo.

Agradecimientos

Agradecemos al LUDIMUG del Campus León por las facilidades brindadas para el uso del equipo QuantStudio Real-Time PCR.

Proyecto financiado por DAIP-UG (CIIC300/2025).

Bibliografía/Referencias

1. American Diabetes Association Professional Practice Committee. (2025). 15. Management of diabetes in pregnancy: Standards of care in diabetes—2025. *Diabetes Care*, 48(1), S306–S320. doi: 10.2337/dc25-S015.
2. Federación Internacional de Diabetes. (2025). Atlas de la Diabetes de la FID, 11.^a edición. Bruselas (Bélgica). <https://diabetesatlas.org/resources/idf-diabetes-atlas-2025/>
3. LaMoia, T. E., & Shulman, G. I. (2021). Cellular and molecular mechanisms of metformin action. *Endocrine Reviews*, 42(1), 77–96. doi: 10.1210/endrev/bnaa023
4. Praveen Kumar, K. S., Jyothi, M. N., & Prashant, A. (2024). Mitochondrial DNA variants in the pathogenesis and metabolic alterations of diabetes mellitus. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 42, 101183. doi: 10.1016/j.ymgmr.2024.101183
5. Holmes, V. A., Young, I. S., Patterson, C. C., Pearson, D. W., Walker, J. D., Maresh, M. J., & McCance, D. R. (2011). Diabetes and Pre-eclampsia Intervention Trial Study Group. Optimal glycemic control, pre-eclampsia, and gestational hypertension in women with type 1 diabetes in the Diabetes and Pre-eclampsia Intervention Trial. *Diabetes Care*, 34(8), 1683–1688. doi: 10.2337/dc11-0244
6. Mohan, S., & Egan, A. M. (2024). Diagnosis and treatment of hyperglycemia in pregnancy: type 2 diabetes mellitus and gestational diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 53(3), 335–347. doi: 10.1016/j.ecl.2024.05.011
7. Fukunaga, H. (2021). Mitochondrial DNA copy number and developmental origins of health and disease (DOHaD). *International Journal of Molecular Sciences*, 22(12), 6634. doi: 10.3390/ijms22126634
8. Burton, G. J., & Fowden, A. L. (2015). The placenta: a multifaceted, transient organ. *Philosophical Transactions of the Royal Society, Lond B Biol Sci*, 370(1663), 20140066. doi: 10.1098/rstb.2014.0066
9. Foretz, M., Guigas, B., & Viollet, B. (2023). Metformin: update on mechanisms of action and repurposing potential. *Nature Reviews Endocrinology*, 19(8), 460–476. doi: 10.1038/s41574-023-00833-4