

00524
69



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**EFFECTOS DE LA RESTRICCIÓN NUTRICIONAL
DURANTE LA GESTACION Y/O LACTANCIA EN
LA RATA SOBRE LAS CONCENTRACIONES DE
LEPTINA EN SUERO Y COMPOSICION
CORPORAL DE LAS CRIAS.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
MARGARITA GONZALEZ ZAMORANO



MEXICO, D.F.



2003.

**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA**

A



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO.

Presidente.	Prof. ROMAN PALACIOS RUTH ELIZABETH.
Vocal.	Prof. TERRAZAS VALDES LUIS IGNACIO.
Secretario.	Prof. ZAMBRANO GONZALEZ ELENA.
1 ^{er} Suplente.	Prof. PEDRAZA CHAVERRI JOSE.
2 ^o Suplente.	Prof. MORENO SAENZ ENRIQUE.

Lugar de realización de la tesis:

Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Asesor del Tema.



Dra. Elena Zambrano González.

Sustentante.



Margarita González Zamorano.

Este trabajo se realizó en el Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, bajo la dirección de la Dra. Elena Zambrano González, y con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), con número de proyecto: 138259M.

DEDICATORIAS.

A mamá quien siempre ha confiado en mí, gracias por transmitirme tu fuerza y por regalarme tu hermosa mirada cada mañana.

A papá quien sin saberlo, ha estado siempre conmigo.

A mis hermanos y hermanas; quienes sembraron en mí toda clase de semillas, que desde mi niñez florecieron para llenar mi alma de distintos colores, y que hoy hacen de mí lo que soy. (Les agradezco el tiempo que cada uno se tomó para escoger las mejores, y esforzarse siempre en sembrarlas con paciencia.).

A mis compañeritos Zulmy, Edsón, Itzel, Andy, Kasia, Miguelito, Santy, Ximena, Fernanda y Mariana., las tucécitas de mi vida. Y me preguntó ¿Quién aprende de quién?.

A mi angelito quien nunca me cuestiono, quien confío en mí plenamente, quien siempre tenía un espacio para mí en su mente y en su corazón y que sin ti quizá jamás hubiese alcanzado este sueño. A mi hermana Adis. Le agradezco a Dios que permitiera tu regreso a mi vida.

A mis abuelos[†], porque a cada paso que doy se que siempre están conmigo, y aunque no conozco su imagen siento su corazón cerca de mí.

A mi abuelita Ruth[†], porque mi niñez no habría sido igual sin ti. Se que siempre me cuidas.

A todos mis amigos, compañeros y maestros de la Facultad, porque siempre me brindaron su apoyo, su cariño y amistad.

Se que en el intento de caminar juntos, a veces se pierdo, no se, quizá yo me pierda, pero basta mirar a mi lado para descubrir el valor de tu presencia. Así, comparto hoy este sueño contigo, estoy segura que vendrán muchos más, pero siempre junto a ti. A Luis.

AGRADECIMIENTOS.

A la Dra. Elena Zambrano González, por su asesoría y enseñanzas durante la elaboración del presente trabajo, por su paciencia y confianza.

Al Dr. Fernando Larrea jefe del Departamento de Biología de la Reproducción, mi agradecimiento por las facilidades otorgadas para la realización de esta tesis.

A mis amigos y compañeros de laboratorio quienes participaron de alguna u otra forma en la realización de este trabajo y estimularon mi superación personal y profesional.

A mi querida Facultad de Química.

Y a la Universidad Nacional Autónoma de México, que me brindó el espacio y la oportunidad de egresar como profesionista.

Es preciso tener mucho valor para oponerse a un concepto considerado cierto y que nadie pone en cuestión. Los conocimientos sólo pueden progresar cuando nos enfrentamos a los datos de que disponemos sin ideas preconcebidas.

Nathanielz P.W

EFFECTOS DE LA RESTRICCIÓN NUTRICIONAL DURANTE LA GESTACIÓN Y/O LACTANCIA EN LA RATA SOBRE LAS CONCENTRACIONES DE LEPTINA EN SUERO Y COMPOSICIÓN CORPORAL DE LAS CRIAS.

En las recientes investigaciones, realizadas con animales de experimentación y en epidemiología clínica, se ha demostrado que la calidad de vida en las primeras etapas del desarrollo puede afectar profunda e irreversiblemente las características fisiológicas y metabólicas del adulto, de igual modo demuestran la relación entre deficiencias nutricionales durante el desarrollo temprano, con diferentes enfermedades en la vida posnatal. De estas evidencias ha surgido la hipótesis de "programación de la vida fetal" particularmente, la desnutrición en las etapas tempranas de la gestación incrementa el predisposición a la obesidad. La enfermedad no es causada por los defectos genéticos, sino por la alteración de la expresión génica, como consecuencia de la respuesta a los cambios ambientales durante el desarrollo fetal, sin embargo, la lactancia también juega su propio papel en la programación, modificando el desarrollo óptimo del individuo. La leptina, es una hormona relacionada con la obesidad, regula la ingesta de alimento y el gasto energético, además es sintetizada principalmente por el tejido adiposo; se sabe que la desnutrición tiene un impacto en las concentraciones de leptina, sin embargo, a la fecha no existe suficiente información sobre los efectos del estrés nutricional intrauterino en la regulación de la leptina en la vida adulta. El presente trabajo explora la relación que existe entre el sobrepeso en el adulto y la desnutrición en etapas tempranas del desarrollo. Se valora el efecto de la alimentación deficiente en proteína durante la gestación y/o la lactancia en ratas hembras, sobre las concentraciones de leptina en suero y su relación con el peso y composición corporal en las crías para ello se emplearon ratas preñadas, alimentadas con dietas isocalóricas con contenido normal (C) o restringido (R) en proteína, durante el embarazo y/o lactancia. Se evaluó el peso de las crías y la ingesta de alimento. En la edad adulta, se analizó la composición corporal, y leptina en suero.

Al terminar la gestación las madres control ganaron alrededor del 61% de su peso, mientras que las madres restringidas solo incrementaron su peso en un 42.5%. El tipo de dieta consumida no afectó la cantidad de alimento ingerido por las madres. La deficiencia de proteína en la dieta de las madres gestantes, provoca el retraso de sus crías lo que se refleja en un bajo peso al nacer. En el caso de los machos, las diferencias no son significativas. La desnutrición materna ocasiona que el peso del hígado del recién nacido sea menor con respecto al control. El efecto de la lactancia se manifestó particularmente en el peso de las crías el día del destete (día 21), las crías de madres que se restringieron en la gestación y que se alimentaron de dieta control durante la lactancia, experimentaron una aparente recuperación en su peso corporal. Sin embargo, la calidad de esta recuperación se cuestiona al observar que el porcentaje en peso del hígado de estas crías es mayor con respecto al resto de los grupos. Hacia la edad adulta se observa que las crías hembras del grupo RC (restringido en la gestación) tienden al sobrepeso, $p < 0.05$. En ningún momento se relaciona una hiperfagia con estos resultados. El análisis de la composición corporal demostró que ese último hallazgo se debía a la acumulación de grasa corporal (% de lípidos), ($27.146 \pm 1.130\%$ CC vs $35.462 \pm 0.788\%$ RC, $p < 0.001$), sin embargo las concentraciones de leptina en suero del grupo RC, no se encuentran significativamente elevadas. En cuanto a los machos, el grupo RC no mostró diferencias con respecto al control tanto en peso como en contenido de lípidos corporales y concentración de leptina en suero, los grupos RR (restringido en ambos periodos) y CR (restringido en la lactancia) por el contrario presentaron menor peso y contenido de lípidos corporales así como leptina en suero.

Conclusiones: Las adaptaciones prenatales que alteran de forma permanente el metabolismo del adulto para responder favorablemente a las condiciones subóptimas de estrés, en este caso la desnutrición, pueden ser contraproducentes si el ambiente postnatal es diferente al que el feto esperaba y para el cual estaba preparado. Los datos experimentales demuestran que la desnutrición fetal, aunada a una lactancia normal, es factor desencadenante, en las hembras, para padecer sobrepeso en la vida adulta.

La correcta rehabilitación nutricional del recién nacido, es fundamental para evitar el riesgo. Los resultados también sugieren que la programación fetal, por desnutrición, impacta de manera distinta el metabolismo de la hembra y el macho.

INDICE

RESUMEN

Página

ANTECEDENTES.

1. Obesidad.	1
1.1 Fisiopatología de la obesidad.	3
1.2 La obesidad y el hígado graso.	4
2. Leptina y su receptor.	6
2.1 Moduladores de la leptina.	10
3. Programación fetal.	11
3.1 Gestación.	12
3.2 Gestación y obesidad.	14
3.3 Lactancia y obesidad.	16
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	19
OBJETIVOS.	20
HIPOTESIS.	21
MATERIALES Y METODOS.	
1. Manejo de animales.	22
2. Grupos de estudio.	22
3. Elaboración de dietas.	23

3.1 Procedimiento.	24
4. Obtención de muestras biológicas y preparación de la "carcaza" de los animales.	25
5. Determinación de leptina en suero mediante RIA.	25
6. Determinación de la composición corporal de las crías.	26
6.1 Determinación de lípidos.	26
6.2 Determinación de proteína.	27
7. Cálculos.	28
8. Análisis estadísticos.	28
RESULTADOS.	
1. Características generales de las madres en estudio.	
1.1 Peso corporal de las madres durante el embarazo y la lactancia.	29
1.2 Ingestión de alimento de las madres en estudio.	30
1.3 Consumo de proteínas y carbohidratos por las madres.	31
2. Características generales de las crías al nacimiento.	
2.1 Peso corporal al nacimiento.	32
2.2 Talla de las crías al nacimiento.	32
2.3 Peso y porcentaje en peso del hígado al nacimiento.	33
3. Características de las crías al destete (día 21)	
3.1 Peso corporal de las crías después del destete.	33
3.2 Ingesta de alimento diario de las crías al destete.	34
3.3 Peso y porcentaje en peso del hígado en día 21.	35

4. Datos de las crías hembras en la edad adulta. (70 días)	
4.1 Peso corporal de las crías hembras adultas.	36
4.2 Composición corporal de las ratas durante la vida adulta y el efecto de la alimentación restringida.	37
4.3 Correlación del porcentaje de lípidos corporales y peso en hembras de 70 días.	37
4.4 Concentraciones de leptina en suero de hembras adultas.	39
4.5 Correlación de leptina y porcentaje de lípidos corporales, en hembras adultas.	39
4.6 Peso corporal e ingesta de alimento de las crías hembras en día 140 de edad.	39
5. Datos de las crías macho en la edad adulta. (70 días)	
5.1 Peso corporal de las crías macho.	41
5.2 Composición corporal de la rata macho adulta, efecto de la alimentación restringida en proteína.	41
5.3 Correlación de peso y de lípidos corporales en machos de 70 días.	42
5.4 Concentración de leptina en suero de la rata macho en edad adulta.	43
5.5 Correlación de leptina y porcentaje de lípidos corporales en machos adultos.	44
5.6 Peso corporal ingesta de alimento de machos en día 140 de edad.	44
DISCUSION.	46
CONCLUSIONES.	52
BIBLIOGRAFIA.	53

X

Introducción.

1 OBESIDAD.

- 1.1 Fisiopatología de la obesidad.
- 1.2 La obesidad y el hígado graso.

2 LEPTINA Y SU RECEPTOR.

- 2.1 Moduladores de la leptina.

3 PROGRAMACION FETAL.

- 3.1 Gestación.
- 3.2 Gestación y obesidad.
- 3.3 Lactancia y obesidad.

INTRODUCCIÓN.

1. OBESIDAD.

La obesidad es una enfermedad cuya prevalencia va en aumento y por consiguiente se está convirtiendo rápidamente en problema de salud mundial^{1,2}. Este padecimiento se presenta con frecuencia en poblaciones de países desarrollados como Estados Unidos y algunos otros en Europa, sin embargo parece surgir con gran incidencia también en países en vías de desarrollo como México, aunque paradójicamente coexista con hambruna y desnutrición.

Sin embargo, cada día se reconoce más, en particular en Latinoamérica, que los patrones de alimentación y estilos de vida están cambiando drásticamente, y que como resultado, las enfermedades crónicas y degenerativas se están convirtiendo en un serio problema de salud³.

En Brasil por ejemplo, se ha demostrado el incremento de obesidad en adultos comparando datos de encuestas realizadas en los años de 1974 y 1989. En varones fue de 2.5 a 4.8%, mientras que en las mujeres el incremento fue de 4.8 %^{4,5}. En Costa Rica entre los años de 1982 y 1998 se informó un aumento del 11.3% en la prevalencia de la obesidad⁶.

Los datos de la Encuesta Nacional de Nutrición de 1988 en México, mostraron que la obesidad en mujeres del país, era similar a la de EUA en la década de los 70. Cerca de 17% de las mujeres de 12 a 49 años de edad presentaron obesidad⁷. En los resultados de la Encuesta de 1999, los datos mostraron que en el mismo grupo, 30.6% presentaron sobrepeso y 21.2% obesidad⁸.

La obesidad puede definirse de varias maneras, pero se refiere específicamente al exceso de grasa corporal que se presenta cuando se consume más energía de la que se gasta en un periodo prolongado, lo que ocasiona aumento del peso corporal⁹. Pese a su definición aparentemente simple, la obesidad es una enfermedad crónica que ha alcanzado proporciones epidémicas en todo el mundo^{1,2}. Sin embargo, en la actualidad aún se desconoce con exactitud cómo y por qué ocurre. Se ha propuesto que la obesidad es el resultado de la integración de varios factores como: medio ambiente, cultura, fisiología, metabolismo y genética. Este problema cobra mayor interés cuando se analizan los efectos deletéreos que tiene sobre diferentes órganos y sistemas como son el endocrino, cardiovascular, gastrointestinal, ginecológico, reproductor, respiratorio, y sistema nervioso central asociados a diversas complicaciones que repercuten muy desfavorablemente en la salud y la esperanza de vida de estos pacientes^{10,11}, predisponiéndolos a enfermedades como, *diabetes mellitus* tipo 2, hiperlipidemia, hipertensión arterial, cardiopatía coronaria, accidente vascular cerebral, entre otras¹².

Los mecanismos mediante los cuales el sobrepeso conlleva al desarrollo de estas enfermedades no son claros; es por ello que surge la necesidad de incrementar investigaciones que aporten bases importantes para el desarrollo de nuevas perspectivas en el estudio de la obesidad.

La "International Obesity Task Force" (OITF – OMS) clasifica a la obesidad tomando como base un Índice de Masa Corporal (IMC = $\text{Peso Kg/ Talla m}^2$) ≥ 30 ¹³. El IMC estima la prevalencia de obesidad dentro de una población; sin embargo, no distingue entre el peso asociado con músculo y el peso asociado con grasa, es decir, no considera la distribución de grasa en el cuerpo que también influye en los riesgos para la salud. El estudio de la composición corporal es una herramienta potencial en la evaluación integral de los pacientes obesos. En la actualidad se reconoce la relación entre la grasa corporal y las complicaciones metabólicas características de la obesidad¹⁴. El Grupo Nacional de Consenso en Obesidad propone tomar el IMC ≥ 27 como punto de corte para establecer el diagnóstico de Obesidad, debido a la estatura de la población mexicana³.

La prevalencia de obesidad en México por zonas geográficas es de 24.7% en la región norte, 19.5% en la región Centro, 21.7 en la región Sur y 19.4% en la zona Metropolitana¹⁵.

La Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas (ENEC), realizada por la Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud y el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán" en 1993, establece que en el país 21.1% de la población tiene un IMC ≥ 30 , y 59.4% presenta ≥ 25 ¹⁶.

Arroyo y colaboradores (2000)¹⁸ estimaron la prevalencia de sobrepeso y obesidad por sexo. La muestra representativa nacional incluyó 8,462 mujeres y 5,929 varones entre los 20 y 69 años de edad, residentes de 417 poblaciones de más de 2,500 habitantes. De lo que se concluyó que la obesidad es más frecuente en mujeres (21.5%) que en varones (14.9%).

Hoy en día la obesidad también se presenta en niños. La OMS informó que alrededor del 20 al 30% de los niños en edad escolar tienen sobrepeso y obesidad⁹.

En México, de acuerdo a las Encuestas Nacionales de Nutrición (ENN-I y II), las prevalencias de sobrepeso y obesidad en niños menores de cinco años fueron de 4.7% en 1988 y de 5.4% en 1999^{7,a}.

El estudio de Sánchez-Castillo y colaboradores¹⁷, llevado a cabo en cuatro zonas rurales de México: Michoacán, San Luis Potosí, Tamaulipas y Morelos mostró, en contra de lo esperado, tasas altas de sobrepeso y obesidad en niños. Se observa que las prevalencias de sobrepeso y obesidad en población infantil rural (varones menores de cinco años) obrepresentan el doble de sobrepeso y obesidad (20.6%) que las niñas (10.8%). Sin embargo, las niñas

incrementan rápidamente en sobrepeso y obesidad entre los 5 y 9 años (27.1%), 10% por arriba de los varones.

Ningún cambio en el medio ambiente o en los factores sociales y genéticos por sí solos podría explicar el incremento de la obesidad infantil en los últimos 30 años.

Una situación realmente alarmante es que 3 de las primeras 5 causas de muerte en nuestro país se relacionan a padecimientos en los que la obesidad fue el factor predisponente¹⁸. (Enfermedad del corazón, enfermedad isquémica del corazón, *diabetes mellitus*)

Con todo lo anterior podemos aseverar que, en México, la obesidad se ha constituido, en un problema muy importante de salud pública tanto en niños como en adultos.

Sólo la prevención de la obesidad, en edades tempranas principalmente, y la intervención oportuna en padecimientos relacionados, podrá de alguna forma reducir el impacto que se tiene en este momento.

1.1 FISIOPATOLOGÍA DE LA OBESIDAD.

Algunos experimentos en animales, así como estudios clínicos en humanos, han demostrado repetidamente que los factores dietéticos, en particular el nivel de consumo de grasa y energía están relacionados fuerte y positivamente con el exceso de peso³.

Se ha identificado plenamente la presencia de dos centros cerebrales (núcleo arcuato y paraventricular) involucrados en los mecanismos de apetito y saciedad. El centro de la saciedad está localizado en el hipotálamo ventromedial. Se piensa que el centro del apetito se encuentra en el hipotálamo lateral^{3,16,19}. Ambos centros están influenciados por una variedad de vías nerviosas aferentes y eferentes. El sistema límbico y las áreas corticales asociadas, también están implicados y vinculados al hipotálamo. En éste se reciben estímulos aferentes neurales (vagales y catecolaminérgicos), estímulos hormonales (insulina, colecistocinina, leptina y glucocorticoides) relacionados al estado metabólico, en donde modulan la liberación de péptidos que afectan la ingestión de alimentos y también señales eferentes al eje hipotálamo-hipofisario³.

El balance energético representa la diferencia entre el consumo de energía metabolizable y el gasto total de energía. El balance energético negativo permite la movilización de energía del cuerpo como hidratos de carbono, grasa o proteína^{20,21}. El metabolismo de la grasa depende de los requerimientos de energía y está regulado por las señales neuronales, hormonales y por los nutrimentos. Al tejido adiposo se le puede ver como órgano endocrino; ya que se le ha vinculado con la secreción de algunos péptidos, por ejemplo, la leptina; hormona que regula

la ingesta y el peso corporal. Este tema será abordado en el siguiente capítulo.

1.2 LA OBESIDAD Y EL HIGADO GRASO

Como ya se mencionó anteriormente, el paciente obeso presenta alta predisposición para desarrollar alteraciones metabólicas, como *diabetes mellitus* tipo 2 (DM 2), resistencia a la insulina e hiperlipidemia entre otras, estos padecimientos son factores suficientes que pueden favorecer problemas hepáticos como esteatosis hepática o hígado graso no alcohólico²¹, alteración que puede comprender sólo infiltración grasa principalmente de triglicéridos, y que con algunas características histológicas adicionales, como cambios inflamatorios y fibrosis, se le conoce como esteatohepatitis no alcohólica (EHNA)^{22,23}.

Existen múltiples factores que favorecen la progresión de EHNA y está dado fundamentalmente por: a) la obesidad, b) edad avanzada, c) así como factores nutricionales que conllevan alteraciones celulares y metabólicas intracelulares, como el mal funcionamiento mitocondrial y el aumento en la peroxidación de los lípidos a cargo de los peroxisomas, aumentando la producción de radicales libres³.

Rodríguez y colaboradores²⁴, estudiaron pacientes con diagnóstico de EHNA, la mayoría fueron del sexo femenino (90%), lograron determinar la frecuencia de los principales factores de riesgo: Obesidad (100 %), diabetes (56%) e hiperlipidemia (13%). Las alteraciones histológicas hepáticas se relacionaron, por primera vez, con la obesidad hace 40 años²⁵. Thaler^{26,27}, en 1962 y 1972, describió la presencia de hepatitis en el hígado graso del obeso. En 1980, Ludwig y colaboradores²², publicaron un interesante estudio sobre 20 pacientes no alcohólicos con cambios histológicos de hepatopatía alcohólica asociados a obesidad. Sin embargo la EHNA no sólo afecta a pacientes obesos o diabéticos sino también a individuos sanos, delgados que eventualmente progresa a cirrosis²³.

En la literatura internacional se mantiene el debate entre aquellos especialistas que creen que el obeso sólo puede padecer cambios hepáticos leves, en ausencia de otra patología hepática asociada (hepatitis viral, hepatotoxicidad medicamentosa, diabetes o alcoholismo)²⁸ y los que afirman que la esteatosis del obeso puede progresar a cirrosis^{24,25}. En la actualidad se acepta como una hepatopatía propia del obeso. La acumulación de lípidos en el hepatocito está regulada por la actividad de las enzimas, que modulan su captación, oxidación y exportación; cuando el ingreso aumenta y se inhiben los mecanismos compensatorios o se induce lipogénesis, la esteatosis sobreviene. La hepatotoxicidad resulta cuando se acumulan los ácidos grasos y el sistema de oxidación falla³.

En efecto, los adipocitos intra-abdominales poseen actividad lipolítica elevada²⁹, enviando mayor cantidad de ácidos grasos al hígado. Este responde aumentando la síntesis de triglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) ³. Las alteraciones en la homeostasis de los lípidos pueden presentarse en todas las formas de esteatosis hepática³⁰, ya que existen tres factores predominantes; a) aumento en la captación por el hígado de ácidos grasos, como resultado del aumento en la movilización de ácidos grasos de adipocitos periféricos, b) aumento en la síntesis endógena de ácidos grasos y c) disminución en la disposición de ácidos grasos ocasionado por defectos de la β oxidación mitocondrial, o por disminución en la exportación de ácidos grasos secretados del hepatocito unidos a apolipoproteína B como lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL)³⁰.

La resistencia a la insulina es un fenómeno metabólico que se encuentra presente en pacientes obesos, con DM 2. Este fenómeno contribuye a la esteatosis hepática, aumentando la lipólisis y la actividad del ciclo del ácido tricarboxílico, así como la captación por el hígado de ácidos grasos libres. La hiperinsulinemia ejerce efectos antilipolíticos por inhibición de la lipasa sensible a hormonas, disminuyendo el flujo de ácidos grasos hacia el hígado. Dentro del hígado, la insulina suprime la β oxidación mitocondrial y estimula la síntesis de ácidos grasos de la glucosa³⁰, el daño mitocondrial disminuye la vía predominante de la β oxidación de ácidos grasos, así como el metabolismo intermedio y la generación de energía dentro del hepatocito³¹. Esto hace que se incrementen los niveles hepatocelulares de ácidos grasos libres tóxicos³². A la reducción de peso en pacientes obesos le sigue una mejoría o normalización de la bioquímica hepática³³.

Otros estudios han demostrado también que el adelgazamiento provoca la mejoría o desaparición de la infiltración grasa³⁴.

Por otro lado la leptina aumenta la fibrosis hepática por inducción del RNAm de procrotégena $\alpha 1$ (I), también aumenta la respuesta inflamatoria y profibrogénica del hígado; favoreciendo la elevación del factor transformador del crecimiento $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), activando a las células estelares e incrementando la respuesta fibrogénica en el hígado³⁵. Todas estas consideraciones sobre la esteatosis hepática son importantes, si tomamos en cuenta que en este órgano se lleva a cabo la mayor parte del metabolismo en el cuerpo.

Metabolismo de los hidratos de carbono.

- a) **Metabolismo de las grasas.**
- b) **Metabolismo proteínico.**
- c) **Otras funciones metabólicas.**

2. LEPTINA Y SU RECEPTOR.

En 1994, el equipo de Friedman^{34,37} clonó exitosamente el gen *ob* en el ratón y su homólogo en el humano, e identificó su producto proteínico: la leptina. Este descubrimiento significó uno de los grandes adelantos científicos en la medicina, abriendo enormes líneas de investigación para estudiar mejor los mecanismos involucrados en la obesidad.

La leptina es una pequeña proteína que contiene 167 aminoácidos^{36,37} con peso molecular de 16 kD; es regulada por el gen *ob* en el ratón. El homólogo del gen *ob* en el hombre se encuentra en el brazo largo del cromosoma 7q31 y contiene 3 exones con poco más de 15.000 pares de bases³⁸.

La leptina (del griego leptos: delgado) es secretada a la sangre principalmente por el tejido adiposo blanco, aunque también hay producción de leptina, en menor medida, por la placenta, el estómago y las células estelares del hígado³⁹. La expresión de la leptina y los niveles circulantes se incrementan concomitantemente con los depósitos grasos. Su principal función es estimular la actividad adrenérgica deprimiendo el apetito e induciendo al aumento del gasto energético. Se ha sugerido que la función primaria de la leptina es mantener los depósitos grasos suficientes para el crecimiento y la reproducción; si estos depósitos son inadecuados, ello se refleja en la disminución de leptina y el resultado es hiperfagia, baja expedición de energía e infertilidad^{19,39}.

Estudios realizados revelan que la leptina ejerce una acción lipolítica-autocrina o parácrina en adipocitos aislados de rata e incluso en grasa humana⁴⁰. El reconocimiento de que el tejido graso produce una hormona capaz de actuar a través de receptores específicos en órganos blanco distantes, creando la retroalimentación para regular el peso corporal, ubica definitivamente a la obesidad en el campo de la endocrinología.

Los estudios de Hetherington⁴¹ muestran que en animales de experimentación, las lesiones del hipotálamo ventromedial ocasionan una disrupción de estos núcleos y, a consecuencia de ello, se presenta hiperinsulinemia, acompañada de hiperfagia e hipometabolismo lo que lleva a obesidad.

Muchos autores coinciden en plantear al hipotálamo como el principal órgano blanco de la leptina, específicamente el núcleo ventromedial, dorsomedial, paraventricular e hipotálamo lateral. La leptina se considera como la señal que informa a los centros reguladores del balance energético y la cantidad de tejido graso almacenado, lo que trae consigo la disminución de la ingesta calórica y el aumento del gasto energético⁴². Estas acciones pueden explicarse, en parte, por el efecto supresor de la leptina en la expresión del NPY (neuropéptido Y, fuerte estimulador del apetito)^{19,104}, y su secreción por las neuronas del núcleo arcuato^{19,104}, por otro lado la insulina y

los glucocorticoides aumentan la expresión del RNAm de dicho neuropéptido³. La ingesta es el equilibrio entre las señales que estimulan el apetito, llamadas orexogénicas y las que reflejan saciedad para detener la ingesta, anorexogénicas. Numerosos factores biopsicológicos están implicados en el comportamiento de la ingestión⁴⁴.

La mayoría de los sujetos obesos expresan leptina, por lo que las mutaciones en el gen *ob* son poco frecuentes^{44,46}. A pesar de todo, se han descrito algunas alteraciones genéticas en dos primos con obesidad mórbida de aparición temprana, por delección del nucleótido guanina 133 y un codon "stop" prematuro en el gen de la leptina⁴⁷. El producto génico es inactivo porque carece de un residuo cisteína en el extremo c-terminal, que es esencial para la actividad biológica de la leptina⁴⁸, mientras que en miembros de otra familia con mutaciones en el gen del receptor de la leptina, los síntomas que aparecen son alteraciones en la capacidad reproductora además de obesidad mórbida⁴⁹.

De acuerdo con los estudios iniciales de Coleman⁵⁰, el ratón *db/db* produce leptina pero tiene insensibilidad hipotalámica a sus efectos, es decir, un modelo de leptino-resistencia. En humanos, si bien recientemente se describieron casos de obesidad severa por ausencia de leptina⁴⁷, este modelo de leptino-resistencia⁵¹ probablemente sea el que predomine por defectos a nivel del receptor⁵². Está en discusión la posibilidad de que las personas obesas tengan mutaciones en el gen que codifica para el receptor de la leptina, de tal manera que ocasionen resistencia a la acción de esta hormona o que esta no penetre de manera adecuada en el sistema nervioso central; es posible que el problema sea el resultado de segundos mensajeros que interfieran con la acción de la leptina⁵³.

Este aspecto sobre la carga genética es importante ya que la obesidad exhibe interacción entre factores genéticos y ambientales que favorece el depósito de calorías, en forma de grasa: la obesidad es el ejemplo donde el fenotipo no es sólo atribuible a un gen en especial o aislado a una población determinada, porque puede desarrollarse únicamente por un exceso en la

ingesta de energía, que supera a la demanda⁴⁴. Los estudios en animales han permitido identificar algunos genes relacionados con la obesidad, ubicados en las regiones p22-p31 del cromosoma 1; estas regiones son las que contienen la secuencia encargada de la codificación del receptor de la leptina. Además, están documentados casos de obesidad humana, vinculados con mutaciones en genes particulares⁴⁴. Por ejemplo, la carboxipeptidasa E es una enzima que se expresa en las células neuroendocrinas secretoras y cuya función consiste en remover los residuos c-terminales de prohormonas como la proinsulina, y proneuropéptidos; las mutaciones en la secuencia que codifica para tal enzima hacen que se produzcan moléculas inactivas y están relacionadas con la aparición de obesidad⁴⁵.

La reducción de los niveles de leptina causa el aumento del apetito y la disminución del gasto energético. El aporte energético se define como la cantidad de energía medida en calorías obtenidas a partir de la ingesta. Este aporte puede ser tomado como reserva calórica al ser almacenada en el tejido adiposo, transformarse en glucógeno como fuente de energía de rápido consumo o proteínas, las cuales serán usadas como energía sólo en casos severos de desnutrición. Cada gramo de grasa aporta 9 calorías, a diferencia del gramo de proteína y carbohidratos que aporta 4 y 3.75 calorías respectivamente⁴⁴.

Mayores concentraciones plasmáticas de leptina se pueden interpretar como estado de privación más que de exceso de energía y, por lo tanto, hay tendencia al depósito de grasa. Los obesos tienen niveles altos de leptina y son resistentes a la acción de la hormona, ya que la respuesta inhibitoria a la ingesta de comida y a la expedición de energía es menor que en las personas normales.

Desde los años 50 se han descubierto y descrito en roedores distintas mutaciones en genes relacionados con la obesidad. Dickle y sus colaboradores comunicaron la aparición de un mutante asociado con obesidad mórbida. El defecto genético se heredaba de forma recesiva y su manifestación era en edad temprana, además de asociarse con diabetes mellitus. A este mutante se le denominó *ob/ob*⁴⁶.

Poco después, otro tipo de alteración genética en ratones fue descrito por Hummel y Coleman que consistía en la aparición de obesidad y diabetes, fue denominado *db/db*. El hecho de que los mutantes *ob/ob* y *db/db* fueran fenotípicamente idénticos, pero con alteraciones genéticas distintas, hizo pensar en la existencia de defectos en distintos pasos de una cadena enzimática aún por definir⁴⁶.

Los fenotipos de los ratones obesos *ob/ob* y *db/db*, que desarrollan la obesidad en estadios tempranos presentando hiperfagia, reducción en el gasto energético y resistencia a la insulina

con alta susceptibilidad para la diabetes, están bien caracterizados. En experimentos de parabiosis (circulación cruzada) entre ratones obesos *ob/ob* y normales, se observó la pérdida significativa de peso en los ratones *ob/ob* y se concluyó que debía existir algún factor circulante en el animal sano capaz de controlar el balance energético, sin embargo, en el experimento de ratones *db/db* y normales no se observó respuesta⁸⁶. (Figura 1) La clonación del factor mutado en los ratones *ob/ob* y en los *db/db*, condujo al descubrimiento de los genes de la leptina (*ob*) y de su receptor (*ob-R*), respectivamente⁸⁶.

El gen mutado de los ratones *db/db* del cromosoma 4, tiene su homólogo en el brazo corto del cromosoma 1 humano⁸⁷. El receptor de la leptina es miembro de la familia de receptores de citoquinas, que fue clonado y secuenciado por distintos grupos. Es una proteína de membrana de aproximadamente 1200 aminoácidos con distintas isoformas: *Ob-Ra*, *Ob-Rb*, *Ob-Rc*, *Ob-Rd*, *Ob-Re* y *Ob-Rf*^{88,89}.

El lado extracelular del *Ob-R* (exones 1-15) contiene una región a la que pueden unirse dos moléculas de leptina, aunque no se conoce la estequiometría de unión de la leptina al receptor.

El exón 16 codifica el dominio transmembranal del receptor presente en todas las isoformas excepto en *Ob-Re* (forma soluble), que podría estar implicada en el transporte de leptina a través de la barrera hematoencefálica⁸⁸. La región implicada en la señalización intracelular presenta diferentes tamaños según las isoformas.

La forma larga del receptor de la leptina (*Rb*) se ha identificado en múltiples regiones cerebrales y también en tejidos periféricos como el hígado, el páncreas y el músculo estriado.

En el cerebro, las regiones fundamentales en las que se ha localizado, se encuentran asociadas a la regulación del comportamiento alimentario y de la regulación y equilibrio energético; además de encontrarse en el cerebro, específicamente en los núcleos arcuato y paraventricular y en las áreas hipotalámicas ventromedial (VMH), lateral (LH) y dorsomedial (DMH); se distribuyen por los órganos periféricos, como lo son pulmón, riñón, hígado, páncreas, corteza adrenal, ovarios, músculo esquelético, células madre hematopoyéticas, adipocitos y tracto gastrointestinal⁸⁶, lo que nos hace pensar que la acción de la leptina va más allá de ser un simple factor de saciedad.

En conclusión, la identificación molecular de la leptina por Friedman y colaboradores, ha contribuido al incremento en el conocimiento de los mecanismos involucrados en la obesidad y las múltiples patologías asociadas a esta.

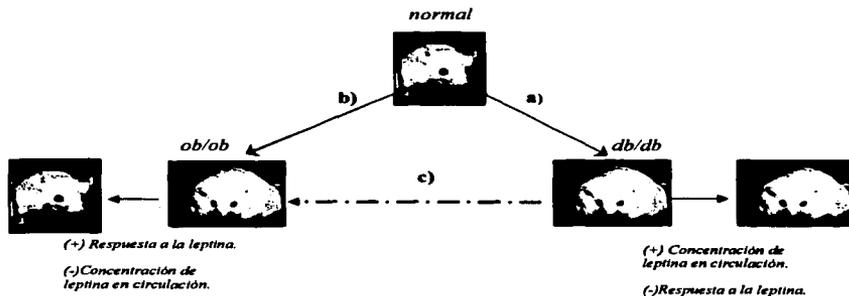


Figura 1.-Experimentos de parabiosis. a) La transfusión de sangre del ratón normal al ratón *db/db* no produce ninguna respuesta, b) en el ratón *ob/ob* provoca la reducción de la ingesta y peso corporal c) La inyección de sangre del ratón *db/db* al ratón *ob/ob* provoca también la reducción en la ingesta y peso corporal; de lo que se concluye que; el ratón *ob/ob* no presenta el factor circulante de la saciedad, pero tiene una alta respuesta a este (presenta mutación en el gen de la leptina); el ratón *db/db* produce el factor, pero presenta resistencia a este⁸¹, (la mutación se encuentra en el gen del receptor de la leptina).

2.1 MODULADORES DE LA LEPTINA.

La presencia de elementos de respuesta al AMPc y a los glucocorticoides en el gen de la leptina sugieren que su expresión puede estar modulada por estos agentes. Los agonistas β_3 adrenérgicos que actúan aumentando la concentración de AMPc, reducen la expresión del RNAm, de la leptina "in vivo"⁸⁷ y, por lo tanto, los niveles circulantes; por el contrario, los glucocorticoides aumentan su expresión "in vitro"⁸⁷. Así mismo, la administración de glucocorticoides en humanos conlleva a la elevación sostenida de los niveles circulantes de leptina. Por otro lado, datos recientes sugieren que la leptina puede controlar los niveles de glucocorticoides mediante la inhibición de la producción hipotalámica del NPY y/o hormona liberadora de corticotropina (CRH). La leptina podría actuar bloqueando el eje secretor representado por el hipotálamo, la hipófisis anterior y la corteza adrenal⁸¹. Además otros estudios sugieren que los glucocorticoides podrían inhibir la acción de la leptina⁸².

La leptina aumenta los niveles de RNAm de la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y su acción a nivel del núcleo paraventricular (PVN) resulta en la disminución de la ingesta y en el aumento del gasto energético en ratas obesas y normales. En animales genéticamente obesos se observan altos niveles de corticosteroides y, en muchos casos, la adrenalectomía supone la remisión de la obesidad⁶². No obstante, el tratamiento con glucocorticoides, incluso a dosis bajas, restaura la obesidad, indicando el papel permisivo de estas hormonas en la acumulación de grasa corporal^{61,62}.

3. PROGRAMACION FETAL.

Recientemente estudios epidemiológicos relacionan situaciones adversas durante el desarrollo temprano con las enfermedades en la vida adulta. Esto se puede explicar por procesos asociados a cambios adaptativos en el desarrollo de los órganos fetales en respuesta a la desnutrición materna y fetal⁶³. Las adaptaciones pueden ser permanentes y alterar el metabolismo del adulto, esto puede ser benéfico para sobrevivir si sé continua en las mismas condiciones de desnutrición, pero puede ser detrimental y afectar en gran medida al individuo si la nutrición se vuelve abundante⁶³.

Desde los estudios iniciales en animales, en 1960, se sabe que las alteraciones en la nutrición durante la infancia o la vida fetal pueden impactar en el metabolismo, crecimiento y desarrollo neurológico⁶⁴. Las observaciones más interesantes se obtuvieron a partir de los estudios de Barker y colaboradores⁶⁵; ellos demostraron que el bajo peso al nacer o durante la infancia se asociaba con mayor riesgo en el desarrollo de ciertos trastornos metabólicos durante la vida adulta. Esto se conoce como la "hipótesis de los orígenes fetales de las enfermedades en el adulto". Asimismo, se consideró una talla corporal pequeña como marcador de la inadecuada nutrición fetal, la cual motivaría adaptaciones que "programarían" el desarrollo ulterior de patologías y determinar el surgimiento tardío de la obesidad, hipertensión arterial y *diabetes mellitus* tipo 2, independientemente de la herencia genética^{3,66,67}. Sin embargo no se sabe a ciencia cierta como ocurre esto.

El cuerpo humano funciona gracias a la coordinación y comunicación que existe entre sus células. Cada tipo de célula es ejemplo de diferenciación, cuyo papel es asegurar que queden convenientemente cubiertas todas las necesidades del organismo. Una vez que la célula se ha diferenciado ya no suele crecer más. En vez de eso, concentra sus actividades en las funciones especializadas. Por ello estas etapas tempranas del desarrollo son más vulnerables. Así pues la riqueza o, al contrario, el empobrecimiento del entorno durante cualquier fase del desarrollo,

antes y después del nacimiento, pueden influir en el desarrollo de órganos y/o sistemas. Cuando las células primitivas del embrión todavía no han quedado asignadas a la que será su función definitiva, corren el riesgo de presentar modificaciones, que podrían producir cambios importantes y quizá irreversibles⁶⁶.

La morfología final del cuerpo en el adulto y su correcto funcionamiento dependerán de que cada célula haya tomado las decisiones correctas. Cada célula desarrolla capacidades específicas relacionadas con las células vecinas y que dependen de los estímulos del entorno, de las señales procedentes del feto mismo y de las procedentes de la madre⁶⁶.

En resumen, el concepto de "programación intrauterina" propone que la desnutrición fetal desencadena adaptaciones endocrinas que cambian permanentemente la morfología, fisiología y el metabolismo del individuo. Esta programación fetal se lleva a cabo durante periodos sensibles o críticos de su desarrollo, teniendo efectos a largo plazo⁶⁶. El fenotipo final será la suma de la influencia del programa genético y del medio ambiente.

3.1 GESTACIÓN.

En el útero, el feto debe desarrollar una serie de sistemas que le ayudarán a enfrentarse al entorno que aún le es ajeno, este desarrollo depende en gran medida de la madre, y se verá afectado para bien o para mal por los hábitos que ésta tenga⁶⁶.

Entre los factores que afectan el desarrollo fetal está el suplemento nutricional; el adecuado crecimiento fetal está ligado de manera directa con la salud y nutrición materna, así como el flujo sanguíneo uterino, la función placentaria y el estado del sistema endocrino^{66,71}, de tal forma que si la demanda nutricional del feto es mayor que el aporte placentario, se originará una desnutrición fetal.

El bebé posee su propio programa genético, el cual contiene la información necesaria para su desarrollo; sin embargo este debe ser lo suficientemente flexible para afrontar todo tipo de desafíos que le vendrán del medio externo como la multitud de cambios y alteraciones que le impone la actividad de su madre: los alimentos que ingiere, el ejercicio físico, así como otros muchos factores relacionados con sus hábitos y estilo de vida. Todo esto son situaciones sobre las cuales el feto no tiene control, pero contra las que puede protegerse aportando respuestas apropiadas⁶⁶. El fenotipo del adulto es la suma de los factores genéticos, así como de la influencia del ambiente fetal y posnatal^{66,72}. Se ha demostrado, por ejemplo que ratas que son

manipuladas desde estadios tempranos, responden con menos estrés en situaciones anormales. Es posible que si mientras nos estamos desarrollando experimentamos situaciones que estimulan nuestros sistemas de respuesta estemos mejor preparados para enfrentar condiciones de estrés más adelante.

Durante los nueve meses de la gestación, la placenta es el enlace con la fuente de suministros, que es la madre. Los elementos básicos de la nutrición del feto son glucosa, aminoácidos, lípidos, agua, iones, minerales y vitaminas⁶⁸. Cada uno de estos componentes atraviesa la placenta por distintos mecanismos. El feto puede guardar reservas de glucosa en forma de glucógeno en su corazón, músculos e hígado, que le servirán como fuente de energía en caso de que la madre no pueda proveerla⁶⁹. Sin embargo, los depósitos de glucógeno del feto son pequeños, y éste quedaría privado de alimento al cabo de un día aproximadamente. El feto puede notar los cambios en el nivel de glucosa que le llega a través de la placenta, lo cual significa que le influyen los hábitos alimentarios de la madre, estos cambios alteran la cantidad y la frecuencia de los estímulos sensoriales que le llegan al feto.

La placenta es un órgano vivo, y de hecho utiliza glucosa para obtener la energía que necesita para realizar sus actividades cotidianas, también puede almacenarla en forma de glucógeno. Sin embargo, en tiempos de escasez, la placenta y el feto pueden terminar compitiendo por el suministro alimentario; la placenta puede tomar para sí la glucosa que estaba destinada al feto, de modo que éste queda privado de la glucosa que necesita. Si esto sucede, el feto puede no tener otra alternativa que vaciar sus propias y escasas reservas. Si se gastasen todas sus reservas de glucosa, tendría que destruir sus propios tejidos, para abastecerse de energía.

Las condiciones nutricionales durante la gestación y periodo posnatal pueden provocar alteraciones tanto en la organización del sistema nervioso como en la constitución de diversos órganos, que pueden persistir hasta la edad adulta⁷³. Por ejemplo, debido a una desnutrición materna, algunos niños nacen demasiado pequeños o inmaduros. El retraso en el crecimiento fetal, que en cierta forma refleja la malnutrición materna, aumenta el riesgo de padecer enfermedades crónicas como consecuencia de la programación intrauterina⁷⁴. En algunos casos, el feto puede controlar su propio desarrollo, de modo que, incluso cuando el suministro de materias necesarias para su existencia disminuye, el cerebro está bien protegido gracias a la prioridad que se le da⁶⁹, su desarrollo se mantiene casi sin alteración a expensas

principalmente de órganos viscerales como el hígado, páncreas, músculo y bazo^{75,76}.

Otro problema relacionado con la escasez de alimento son los períodos de hipoxemia, para ello el feto dispone de varios métodos de compensación. Además de interrumpir las diversas actividades que puedan suponer un gasto innecesario de oxígeno, tales como los movimientos respiratorios, dirige su sangre únicamente a los órganos vitales, o sea, el cerebro y el corazón, cortando el suministro a los órganos menos indispensables⁶⁸. Si, a pesar de los mecanismos de defensa que el feto adopte, el oxígeno que puede obtener sigue siendo insuficiente para su crecimiento y desarrollo normales, continuará disminuyendo el flujo hacia los tejidos menos vitales. Puede ser éste el motivo de que el feto presente un retraso en el crecimiento¹⁴.

Dado que la hipoxemia provoca trastornos importantes en el desarrollo del feto, es indispensable comprender sus causas. La más directa se da cuando la madre sufre de anemia; la sangre de una anémica transporta menos oxígeno, si el oxígeno que llega a la parte materna de la placenta, es insuficiente, el suministro de oxígeno al feto también será deficiente⁷⁷. La anemia y otras condiciones potencialmente peligrosas son fáciles de prevenir con una alimentación adecuada y evitando el estrés innecesario. Otra causa de hipoxemia en un feto puede encontrarse en el mal funcionamiento de la placenta. El buen funcionamiento de la placenta es absolutamente esencial para que el feto pueda desarrollarse adecuadamente.

Algunos estudios realizados en modelos de rata con desnutrición proteínica durante la gestación demostraron que: a) Hay retraso permanente en el crecimiento de crías nacidas de madres alimentadas con dieta baja en proteína. b) Se presentan cambios en el crecimiento de algunos órganos. Se protege el desarrollo de los órganos esenciales como el cerebro o pulmones a expensas de órganos viscerales como el hígado, páncreas músculo y bazo. c) La programación del metabolismo del hígado es reflejo de los permanentes cambios de enzimas hepáticas claves en la glucólisis y gluconeogenesis⁶³.

3.2 GESTACION Y OBESIDAD.

Existen estudios epidemiológicos, realizados en poblaciones humanas que han padecido condiciones adversas, en donde se correlaciona el factor de estrés intrauterino con las enfermedades que sobrevienen en la vida adulta. Los hallazgos han mostrado que la influencia nutricional durante el embarazo es un factor dominante en la programación fetal^{78,79}. Un ejemplo de este tipo de estudios es el realizado durante el bloqueo Nazi a Holanda Occidental en septiembre de 1944 y que coincidió con un invierno crudo y precoz, conocido como el "invierno

hambriento holandés⁶⁶ con una duración de alrededor de ocho meses. El fenotipo de los varones que nacieron de mujeres holandesas embarazadas cuando inició el período de mayor hambruna permitió conocer algunos efectos de la desnutrición prenatal en el humano. Este estudio demostró, que si la desnutrición se presentaba en la primera mitad del embarazo, estos individuos presentaban adiposidad incrementada y una probabilidad alta de ser obeso; todo lo contrario se observó cuando esta exposición ocurrió en la segunda mitad de la gestación⁶⁶. Otra ciudad que sufrió la ocupación alemana fue Leningrado. Durante el sitio, la ración alimenticia administrada fue de 250 g a los trabajadores y de 150 g al resto de la población. Los niños supervivientes, al llegar a la vida adulta tuvieron una mayor susceptibilidad a enfermedades coronarias⁶⁷. La investigación con animales de experimentación confirma los hallazgos clínicos y epidemiológicos. Las crías de ratas sujetas a dietas isocalóricas y bajas en proteínas durante todo el embarazo, o en diferentes periodos de la gestación, han tenido hipertensión, así como intolerancia a la glucosa, en la vida adulta^{62,63}. Resultados similares se han obtenido con cuyos y ratas de madres expuestas a desnutrición hipocalórica^{64,65}.

Existen tres periodos críticos en la infancia para desarrollar obesidad que tiene una relación estrecha con el crecimiento y desarrollo del tejido adiposo, éstos son: el periodo prenatal, el periodo de rebote de adiposidad y la adolescencia. En el periodo prenatal las hipótesis mencionan que las alteraciones en el medio ambiente intrauterino son condicionantes para la obesidad, debido a los efectos de la nutrición "in utero". Cuando se están desarrollando los centros de regulación del apetito y la adipogénesis hay una exposición temprana "in utero" a la desnutrición o nutrición en exceso⁷⁷.

La diferenciación de los centros hipotalámicos responsables del control de la ingestión de alimentos podría afectarse; la exposición "in utero" tardía a desnutrición puede reducir la gran replicación de adipocitos que ocurre en el último trimestre del embarazo, mientras que la exposición tardía a sobrenutrición puede causar hiperplasia de los adipocitos; si ocurre desnutrición en las etapas tempranas del embarazo se puede alterar la regulación de la ingestión de alimentos y predisponer al desarrollo de obesidad tardía. La desnutrición en el tercer trimestre y la posnatal pueden influir en el proceso celular del tejido adiposo y proteger contra el desarrollo de obesidad; es decir, un niño con bajo peso al nacimiento por desnutrición en el primer trimestre tiene mayor riesgo de adiposidad incrementada, hipertensión y diabetes; mientras que uno con bajo peso al nacimiento debido a desnutrición materna en el último trimestre, el riesgo de hipertensión y diabetes aumenta, pero no así el de obesidad⁷⁷. Se han realizado varios estudios para determinar si la obesidad pudiera estar programada desde la vida

fetal; por desnutrición materna. Los experimentos más frecuentes consisten en la disminución en la porción de alimento durante la gestación; estas investigaciones han demostrado que las crías nacen con bajo peso, y su alimentación posterior con dietas hipercalóricas, producen hiperfagia, incremento en las concentraciones de leptina e insulina y presión sistólica elevada como consecuencia de la programación fetal. La hiperinsulinemia e hiperleptinemia juegan un papel clave en la etiología de la hiperfagia, obesidad e hipertensión como consecuencia de las alteraciones en el desarrollo fetal⁸⁶.

El suministro de nutrimentos al feto es factor clave en la regulación del crecimiento fetal. La relación directa de la nutrición fetal con el estado endocrino y metabólico y la interacción entre el feto, placenta y madre deben estar coordinadas para permitir un desarrollo fetal óptimo. La desnutrición materna altera el crecimiento fetal y el de sus tejidos⁸⁷. Por otro lado algunos estudios epidemiológicos en humanos indican la influencia de ciertos factores posnatales⁸⁸, entre ellos la relación dada por la duración de la lactancia y la aparición de enfermedad isquémica tardía. En este contexto, la hipótesis de los orígenes fetales debe analizarse conjuntamente con la hipótesis de los orígenes posnatales⁸⁹.

3.3 LACTANCIA Y OBESIDAD.

Los bebés que reciben fórmula, por ejemplo, son 20% más propensos al sobrepeso que aquellos que recibieron leche materna⁹⁰. Se ha vinculado significativamente la alimentación con biberón "leche de fórmula comercial" que tiene un mayor contenido de proteína y nitrógeno⁹¹; con obesidad en la adolescencia en poblaciones de pocos recursos socioeconómicos⁹². La leche de fórmula puede causar una respuesta metabólica de incremento de insulina y secreción del factor de crecimiento-1 parecido a la insulina que puede llevar a sobrepeso en bebés alimentados con este tipo de leche artificial.

Algunos estudios⁹³ han determinado que los bebés prematuros alimentados con leche enriquecida, presentan concentraciones elevadas de leptina al llegar a la adolescencia en comparación con niños que fueron alimentados con leche estándar. Los adolescentes que habían recibido la leche para prematuros, presentaron concentraciones de leptina mayores, en relación con su masa corporal grasa, con independencia de la edad, y la clase social. Estos resultados sugieren la existencia de un mecanismo por el cual las concentraciones de leptina puedan establecerse en etapas tempranas de la vida. Los hallazgos también contribuyen a los

trabajos de investigación sobre la relación entre la nutrición prenatal y de la infancia temprana con el riesgo de la obesidad en la edad adulta.

Singhal A, del Centro de Investigación en Nutrición Infantil MRC, en Cambridge, Reino Unido, y sus colegas⁹³, proponen que la lactancia al menos para los niños prematuros podría ser un período crítico para programar la fisiología posterior de la leptina y, por inferencia, el riesgo de obesidad. De hecho uno de los pocos estudios realizados en ratas, sobre programación y leptina, demuestran que el tratamiento con esta hormona durante etapas tempranas y tardías de la lactancia provocan incrementos significativos en el peso corporal y la ingesta de alimento en la edad adulta acompañada de concentraciones elevadas de leptina en suero; pero los efectos son más marcados cuando la leptina es inyectada en los primeros diez días de lactancia⁹⁴; sugiriendo que el período de la lactancia constituye una ventana crítica para la programación del peso corporal y la ingesta de alimento.

Investigaciones recientes en los Estados Unidos muestran la posible relación entre los patrones alimenticios del niño en los primeros doce meses y la obesidad durante la niñez⁹⁴. Las estadísticas de crecimiento parecen demostrar que los niños amamantados no suben de peso tan rápido entre los nueve y los doce meses, período durante el cual se les recomienda a muchas madres complementar la lactancia de su hijo con leche artificial o incrementar la administración de alimentos complementarios (sólidos)⁹⁵.

El estudio que condujo Von Kries et al, demostró que la lactancia materna desarrolla un efecto de programación que ayuda a prevenir la obesidad y la propensión al sobrepeso a largo plazo. De acuerdo a este estudio, los bebés que recibieron lactancia materna exclusiva por tres a cinco meses se mostraron 35% menos propensos a ser obesos. El estudio de Gillman et al⁹⁶, sugirió que el sobrepeso en adolescentes puede ser asociado con el tipo de alimentación que recibieron en la primera infancia y que la lactancia materna puede disminuir el riesgo de obesidad.

La incidencia de la obesidad infantil y diabetes juvenil van alarmantemente en incremento, el entendimiento de los mecanismos por los cuales estas patologías se presentan es indispensable para dar una nueva perspectiva a este problema y salvaguardar la salud mundial. En este contexto el papel que juega la desnutrición es un factor que debe ser exhaustivamente investigado. La identificación temprana de factores de riesgo puede ser clave para la prevención de la obesidad en los niños, jóvenes y adultos⁹⁶. La calidad y duración de la lactancia materna pudiera establecer estrategias inmediatamente disponibles y de bajo costo para prevenir la obesidad en la niñez y adolescencia⁹⁷. Por ello es importante que se comprenda la relación que existe entre los desafíos fisiológicos que el feto ha de afrontar dentro del útero y los que el recién nacido encontrará en los minutos, horas o días inmediatos al parto.

Considerando lo anterior, el presente trabajo pretende aportar información que ayude a esclarecer si la obesidad pueda programarse por un estrés alimenticio "in utero" o posparto; con la posibilidad, de que esta programación sea el resultado de un conjunto de condiciones presentes en ambos periodos.

Planteamiento del problema.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Se ha planteado en varios estudios epidemiológicos, que la desnutrición materna durante el primer trimestre del embarazo incrementa la susceptibilidad de que el individuo producto de esa gestación padezca obesidad en la vida adulta. Otros estudios han demostrado que el tipo de lactancia tiene cierta contribución a la predisposición de esta enfermedad.

Proponemos que la lactancia normal posterior a la restricción nutricional durante la vida fetal, coloca al organismo en una situación condicionante al incremento de los depósitos grasos; muy probablemente porque el feto al nacer enfrenta condiciones para las cuales no estaba preparado; es decir la restricción en los nutrientes provocó adaptaciones en el feto para hacer frente a esta condición adversa, sin embargo cuando llega la lactancia; y la alimentación cambia, el metabolismo del bebé se enfoca en almacenar suficiente energía para periodos de escasez como los que enfrentó antes de nacer. Así que sugerimos que el metabolismo de grasas en el hígado se ha modificado.

La leptina juega un papel muy importante en la regulación de la ingesta y el peso corporal, así como de los depósitos grasos, por lo que consideramos que los cambios en la dieta durante periodos críticos del desarrollo, como lo son la gestación y la lactancia pudiera afectar la regulación de esta hormona. Sin embargo, hasta el momento no son claros los efectos de la desnutrición sobre estos aspectos, y consideramos que el aporte de nuevos datos puede ayudar a esclarecerlos.

Objetivos.

OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.

Valorar el efecto de la alimentación deficiente en proteína durante la gestación y/o la lactancia en ratas hembras de la cepa "Wistar", sobre las concentraciones de leptina en suero y su relación con el peso y composición corporal en las crías.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Determinar el efecto de dietas isocalóricas, con diferente contenido de proteína, sobre el peso corporal y la ingesta de alimento diario de las ratas gestantes.
2. Analizar si la desnutrición proteínica durante la gestación afecta el desarrollo de las crías.
3. Estudiar el impacto de la desnutrición durante la lactancia, determinando si provoca cambios en el peso corporal o ingesta de alimento de la cría al momento del destete.
4. Establecer si hay cambios en el peso del hígado de las crías al nacimiento y al destete.
5. Determinar si la dieta restringida en proteína, provoca cambios en las concentraciones de leptina de crías adultas.
6. Determinar la composición fisicoquímica de la "carcaza" (proteínas y lípidos corporales) de las crías adultas, provenientes de madres desnutridas durante la gestación y/o lactancia.

Hipótesis.

HIPOTESIS.

La desnutrición materna durante la gestación advierte el retraso del desarrollo en las crías, lo que se refleja en su peso al nacimiento. El adecuado crecimiento fetal está ligado de manera directa con la salud y nutrición materna. Este aspecto puede predisponerlas a la obesidad en su vida adulta, como lo han propuesto varios estudios epidemiológicos, debido al impacto nutricional sobre periodos críticos del crecimiento y desarrollo del tejido adiposo. Sin embargo la lactancia puede estar contribuyendo de algún modo.

La predisposición a la obesidad en la vida adulta tiene orígenes fetales y posnatales. La obesidad del adulto esta dada por cambios metabólicos y adaptaciones durante estas dos etapas tempranas de la vida. En conjunto una desnutrición durante la vida fetal seguida de una lactancia normal; son los factores que disponen al individuo a este padecimiento, aumentando su adiposidad y las concentraciones de leptina en suero.

Materiales y métodos.

1 MANEJO DE ANIMALES.

2 GRUPOS DE ESTUDIO.

3 ELABORACION DE LAS DIETAS.

3.1 Procedimiento.

4 OBTENCION DE MUESTRAS BIOLÓGICAS.

5 DETERMINACION DE LEPTINA EN SUERO.

6 DETERMINACION DE LA COMPOSICION CORPORAL.

6.1 Determinación de lípidos.

6.2 Determinación de proteínas.

7 CALCULOS

8 ANALISIS ESTADÍSTICOS.

MATERIALES Y METODOS.

1. Manejo de los animales.

Se emplearon para este trabajo, ratas hembras de la cepa Wistar de 10 a 12 semanas de edad y con peso de 240 ± 20 gramos. Antes del estudio, las ratas fueron alimentadas con dieta de laboratorio (Purina 5001). Los animales seleccionados fueron mantenidos en cajas de acrílico en un cuarto de bioterio del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, que cuenta con condiciones controladas de temperatura (22°C) y ciclo de luz / oscuridad (12:12 h). El proyecto fue aprobado por la “*Comisión de Ética para Animales de Experimentación.*” El alimento y al agua estuvieron disponibles a libre demanda. Cuando las hembras presentaban la edad y peso deseados, se colocaron con machos de la misma cepa para su cruce. Diariamente por la mañana (9:00 a 10:00 a.m.), se realizaron frotis vaginales a las hembras para observar el tapón espermático, indicando así el inicio de la gestación.

Las ratas preñadas fueron retiradas de la caja de acrílico y colocadas en cajas metabólicas para seguir la evolución de su gestación tanto en peso como en alimento consumido diariamente. Se pesó a la madre (Balanza Sartorius®, sensibilidad 0.1g), en las primeras horas del día, al igual que el alimento (Balanza Sartorius®, sensibilidad 0.01g).

El día 20 de gestación, dos días antes del parto estas hembras fueron transferidas a cajas de acrílico. El día del parto (día 22), que fue designado como día 0 de lactancia, se registró el peso corporal, talla y el número de crías, para asegurar que la lactancia fuese igual, la camada se ajustó a diez crías. Las madres que tuvieron menos de diez y más de 15 crías fueron excluidas del estudio.

2. Grupos de estudio.

Las ratas preñadas fueron incluidas aleatoriamente en dos grupos de alimentación.

2.1 Grupo control (C). Las madres gestantes fueron alimentadas con dieta a base de caseína al 20%, que se denominó dieta control (C).

2.2 Grupo restringido (R). Las madres gestantes fueron alimentadas con dieta isocalórica a base de caseína al 10%, que se denominó dieta restringida (R).

Después del parto los dos grupos de la gestación se dividieron en subgrupos.

2.3. Grupo control-control (CC). Las madres se alimentaron con dieta control durante los dos periodos del estudio (gestación y lactancia).

2.4. Grupo restringido-restringido (RR). Las madres recibieron dieta restringida durante la gestación y lactancia.

2.5 Grupo control-restringido (CR). Este grupo se alimento con dieta restringida durante la lactancia únicamente.

2.6 Grupo restringido-control (RC). Madres restringidas únicamente en la gestación.

Durante la lactancia, se registró diariamente la ingesta de alimento de la madre, así como su peso y el de sus crías. Al término de la lactancia, día 21 de edad, las crías fueron separadas de la madre y alimentadas con dieta control, a partir de este momento y hasta día 140 de edad su peso corporal y su ingesta diaria se registró, siempre a la misma hora del día (9:00 a 10:00 a.m.)

3. Elaboración de las dietas.

Las dos dietas utilizadas, fueron preparadas en la planta piloto de la Unidad de Tecnología de Alimentos del INCMNSZ. Los reactivos fueron adquiridos de Sigma-Aldrich, Hartan-Tecklad y Droguería Cosmopolita.

Los equipos utilizados se describen a continuación:

•Mezcladora Hobart[®]. Modelo A200 The Hobart MFG. C.O

Descripción: Este equipo consiste en un tazón estañado de 20 L, ganchos y bastidores. Un motor en la parte superior con un mecanismo de engranes, que hacen girar los ganchos y 3 velocidades. Dimensiones: altura: 768.35 mm, altura del tazón 292.18 mm, ancho del tazón 357.18 mm

•Báscula EURA[®]. Peso total 100 Kg. Graduaciones menores 50 gramos. Modelo 2000/100, Basculas ESHER.

•Balanza Sartorius[®]. Sensibilidad 0.001 (g)

La composición química de estas dietas y el porcentaje con el que contribuye cada uno de los nutrimentos, se muestran en el Cuadro 7. La dieta control (C) corresponde a las últimas recomendaciones de la NRC de 1993, para roedores en periodo de gestación y lactancia⁶⁶, denomina AIN-93G que aporta aproximadamente 3800 kilocalorías / Kg. de dieta.

3.1 Procedimiento.

Cada uno de los componentes de la dieta fueron pesados, en la báscula o balanza según la cantidad requerida, y enseguida fueron introducidos en el tazón antes descrito, la dieta fue mezclada durante 15 minutos a velocidad media y posteriormente se adicionó agua (2L / 7Kg de dieta aproximadamente) hasta obtener una consistencia pastosa, se siguió el proceso por 5 minutos más, al terminar la masa fue extendida en una superficie plana de modo que se obtuviera una capa con grosor de 1.5 cm, luego esta fue cortada en cuadros de 3x3 cm con la ayuda de laminillas de plástico, las galletas fueron secadas a temperatura ambiente.

Cuadro 1. Composición de las dietas isocalóricas utilizadas en el estudio.

Materia Prima	Dieta control (C) 20% de proteína		Dieta restringida (R) 10% de proteína	
	g / Kg de dieta	Kcal	g / Kg de dieta	Kcal
Caseína	200	800	100	400
Cistina	3		1.5	
Vitaminas ¹	10		10	
Minerales ²	35		35	
Colina Clorhidrato	1.85		1.85	
Celulosa	50		50	
Aceite de maíz	50	450	50	450
Almidón	325	1300	376	1500
Dextrosa	325	1300	376	1500
Totales	1000	3850	1000	3850

¹ La mezcla mixta de vitaminas (Teklad AIN-93-VX 160040) contiene: á.c. nicotínico, pantotenato de calcio, piridoxina, tiamina, riboflavina, ácido fólico, D-biotina, Vit B₁₂, DL- α -acetato de tocoferol, vit A, vit D₃ vit K, sacarosa.

² La mezcla mixta de minerales (Teklad AIN 93 G-MX TD 94046) contiene: calcio, potasio, sodio, magnesio, hierro, zinc manganeso, molibdeno, yodo, fósforo, cloro, azufre, cobre, níquel, vanadio, silicio.

4. Obtención de muestras biológicas y preparación de la carcasa de los animales.

Los animales fueron sacrificados entre las 9:00 y las 10:00 h, por decapitación. La sangre se recolectó en tubos de vidrio. Los órganos del animal fueron retirados y el hígado se pesó (Balanza con sensibilidad de 0.001g). Posteriormente la piel fue retirada, para obtener el

paquete músculo y esqueleto, denominado "carcaza" para pesarlo y conservarlo en congelación (a -4°C) hasta su uso en la determinación de la composición corporal.

5. Determinación de leptina en suero mediante RIA.

Las concentraciones de leptina en suero de animales de 70 días de edad fueron determinadas por duplicado mediante la técnica de RIA (Rat Leptin RIA "Kit" Linco. Research, Inc.). Para ello se utilizaron 100 µl de suero. La técnica emplea anticuerpo contra leptina de rata, y leptina de rata marcada radiactivamente con 125 I, los tubos utilizados para el análisis son de vidrio de borosilicato, (12x75 mm).

Cuentas totales: 100µl de leptina de rata marcada con 125 I.

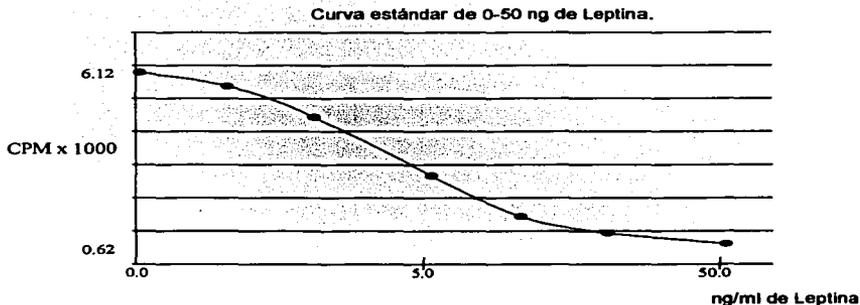
Uniones inespecíficas: Se utilizaron 300µl del amortiguador, los cuales se incubaron de 20-24 hrs. a temperatura ambiente. Se adicionaron 100 µl de Leptina de rata marcada con 125 I y se repitió la incubación, por último 1 ml de reactivo precipitante, se incubo 20 minutos a 4°C y se centrifugo a la misma temperatura por 20 minutos a 2,000-3,000 xg.

Curva estándar: Se utilizaron 200µl del amortiguador para el punto cero de la curva, los siguientes puntos requirieron 100µl al igual que los controles. Se adicionaron 100µl del anticuerpo contra leptina de rata y se incuba en las condiciones antes mencionadas, posteriormente se colocan los 100µl de la leptina marcada y se repite la incubación; por último 1 ml de reactivo precipitante; se incuban 20 min. a 4°C y se centrifuga en las condiciones antes señaladas.

Muestras: Se utilizan 100 µl de muestra; el procedimiento es igual al utilizado para la curva.

Nota: La adición de cada reactivo requiere la agitación con "vortex".

Inmediatamente después de centrifugar, todos los tubos son decantados excepto los dos tubos de cuentas totales. La reactividad se cuantifico en un contador gamma.



6. Determinación de la composición corporal de las crías adultas (70 días de edad).

Las carcazas preparadas y congeladas de la forma en que se indicó en la sección 4, fueron descongeladas, y secadas en un horno a 60°C hasta peso constante, molidas posteriormente en una licuadora Osterizer[®] (carcaza seca) hasta obtener un polvo fino que fue conservado en frascos de plástico bien sellados a 4°C hasta el momento de su uso.

6.1 Determinación de lípidos.

El contenido de lípidos de las carcazas fue determinado por el método de Soxtec[®], el cual tiene como fundamento la extracción de todo material soluble que contenga la muestra en un disolvente no polar.

Para ello se peso aproximadamente 1 gramo de la carcaza en polvo, y se colocó en un matraz de bola de 250ml, se le adicionó 20 ml de ácido clorhídrico 2:1, y enseguida 3 ml de etanol. Las muestras fueron puestas a reflujo durante 45 minutos para su hidrólisis, después fueron filtradas y lavadas con agua caliente hasta obtener una solución clara, el papel filtro se colocó dentro del cartucho de celulosa (diámetro de 26 mm Marca FOSS-TECATOR), el

cual tiene en el fondo un trozo de algodón y después de la muestra se introdujo otro, los cartuchos de celulosa se montaron en la unidad de extracción (Soxtec System HT 1043) con condensadores de Liebig, a los vasos de aluminio puestos previamente a peso constante, se les adicionó 50 ml de éter etílico anhidro para después instalarlos en el equipo. Los lípidos fueron extraídos durante 3 h por reflujo constante, una vez efectuada la extracción, el solvente fue evaporado, se retiraron los vasos de aluminio los cuales contenían el extracto etéreo; para eliminar restos de éter, la muestra se introdujo en la estufa de secado de 1 a 2 minutos, finalmente se colocaron dentro del desecador para enfriarlos y posteriormente pesarlos. Por diferencia en peso, se calculó la cantidad de grasa contenida en la muestra.

$$\text{Cálculos: \% extractos etéreo} = \frac{c-a}{b} \times 100$$

Donde: a = peso constante del vaso

b = peso de la muestra

c = peso constante del vaso con grasa

Expresión de resultados, g extracto etéreo / 100 g de muestra.

La diferencia de peso, muestra la cantidad de lípidos contenidos en un gramo de carcaza seca. Los datos también pueden ser reportados como los gramos de lípidos contenidos en la carcaza seca total. Las determinaciones fueron hechas por duplicado.

6.2 Determinación de proteína.

El contenido de proteínas de la carcaza se determinó por el método de Kjeldahl, ya que la materia orgánica puede ser oxidada en medio ácido, el nitrógeno se fija como sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$. Se alcaliniza el medio con hidróxido de sodio al 40% lo que permite la formación de amoniaco (NH_3) en forma de gas el cual se fija en ácido bórico (H_3BO_3) al 1%, formándose borato de amonio; éste, se tituló con ácido sulfúrico 0.1N con un titulador automático (Kjeltec auto sampler system, tecator 1035).

Se pesaron alrededor de 0.1 a 0.2 gramos de la carcaza en polvo y se colocaron dentro de los tubos de digestión, entonces se adicionaron 12 ml de ácido sulfúrico a los tubos y una tableta catalizadora "Kjeltabs" (0.50g de un catalizador de selenio y sulfato de potasio). Se colocan los tubos en el digestor; el proceso se realiza en aproximadamente 3 horas. Transcurrido el

tiempo, se retiran los tubos, se dejan enfriar dentro de la campana. A cada tubo se le adicionan 75 ml de agua destilada y se colocan en el equipo Kjeltec para su titulación.

Con esta técnica se determina la cantidad de nitrógeno total. Todas las muestras se determinaron por duplicado.

$$\text{Cálculos: \% de Nitrógeno} = \frac{(\text{mi problema} - \text{mi blanco}) (\text{mEq N}) (\text{N H}_2\text{SO}_4) \times 100}{\text{peso de la muestra}}$$

% de proteína = % nitrógeno x factor (6.25)

Expresión de resultados g proteína / 100 g de muestra

7. Cálculos.

Todos los datos fueron almacenados en la versión de la hoja de cálculo Excel del paquete de Office 2000 de Microsoft, los resultados fueron analizados estadísticamente en Sigma Stat 2.0 y graficados en el programa Sigma Plot. 2001. Todos los resultados fueron expresados como Media \pm Error Estándar.

8. Análisis estadísticos.

Para los resultados de alimento consumido y peso corporal así como para peso de órganos, análisis hormonal y composición corporal se empleó la prueba de ANOVA de una vía considerando el valor de $p < 0.05$ como el nivel mínimo de significancia. Para analizar peso corporal, talla y órganos de neonatos se empleó una prueba de t de student. En todos los casos el análisis estadístico se realizó empleando la versión 2.0 de Sigma Stat.

Resultados.

1. CARACTERISTICAS GENERALES DE MADRES.

- 1.1 Peso corporal durante la gestación y lactancia.
- 1.2 Ingesta de alimento.
- 1.3 Consumo de proteínas y carbohidratos.

2. CARACTERISTICAS GENERALES DE CRIAS AL NACIMIENTO.

- 2.1 Peso corporal.
- 2.2 Talla de las crías al nacimiento.
- 2.3 Peso y porcentaje en peso del hígado.

3. CARACTERISTICAS GENERALES DE CRIAS AL DESTETE.

- 3.1 Peso corporal.
- 3.2 Ingesta de alimento
- 3.3 Peso y porcentaje en peso del hígado en día 21 de edad.

4. DATOS DE CRIAS HEMBRAS EN EDAD ADULTA.

- 4.1 Peso corporal.
- 4.2 Composición corporal.
- 4.3 Correlación del porcentaje de lípidos y el peso corporal.
- 4.4 Concentración de leptina en suero.
- 4.5 Correlación de leptina y porcentaje de lípidos corporales.
- 4.6 Peso corporal e ingesta de alimento en día 140 de edad.

5. DATOS DE CRIAS MACHOS EN EDAD ADULTA.

- 5.1 Peso corporal.
- 5.2 Composición corporal
- 5.3 Correlación de peso y porcentaje de lípidos corporales.
- 5.4 Concentración de leptina en suero.
- 5.5 Correlación de leptina y porcentaje de lípidos corporales.
- 5.6 Peso corporal e ingesta de alimento en día 140 de edad.

RESULTADOS.

1. CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS MADRES.

1.1 Peso corporal de las madres durante el embarazo y la lactancia.

Las ratas fueron seleccionadas de 10-12 semanas de edad, al iniciar el estudio todas contaban con un peso promedio de 240 ± 20 gramos, como se muestra en la *Figura 2*, se asignaron aleatoriamente a cualquiera de las dietas, ya sea control (C) o restringida (R). Se analizó el peso corporal de las madres al final de la gestación (día 22), mediante *t* de student, se determinó que el peso al término del embarazo, fue menor para las madres restringidas con respecto al control $p < 0.05$. Después del parto las madres restringidas (RR) continuaron mostrando siempre el menor peso con respecto al resto de los grupos, la dieta provocó una recuperación de las madres restringidas en el embarazo y que en la lactancia consumían dieta control (RC), y lo contrario ocurrió con el grupo restringido en la lactancia (CR), el cual perdió peso durante la lactancia a causa de la dieta restringida, sin embargo la pérdida no fue tan severa como en el caso de las madres RR. (*Figura 2*)

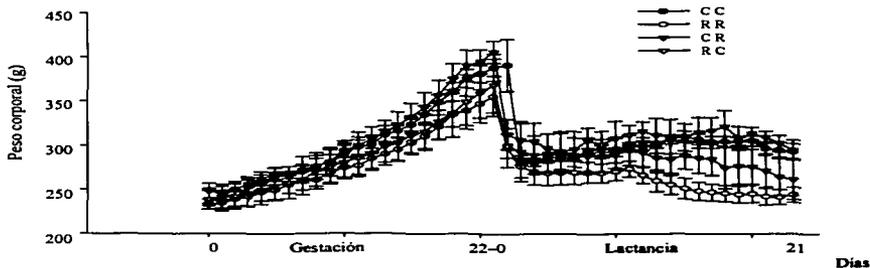


Figura 2. Peso corporal de las madres durante la gestación y lactancia. Las madres seleccionadas en la edad de 10-12 semanas de edad, y peso promedio de 240 ± 20 g, fueron pesadas diariamente durante el embarazo y lactancia entre las 9:00 y 10:00 a.m. Grupo control (CC n=5), restringido durante la gestación y lactancia (RR n=5), restringida en la lactancia (CR n=9), restringida únicamente en la gestación (RC n=9). Los datos están expresados como la media \pm EE de cada grupo. Se analizaron los datos en dos días diferentes de la lactancia por ANOVA de una vía. Día 10 de lactancia RR vs CC $p < 0.05$, CR y RC vs CC NS. Día 21 de lactancia RR vs CC $p < 0.001$, CR vs CC $p < 0.05$, RC vs CC NS.

1.2 Ingestión de alimento de las madres durante todo el estudio.

Como se observa en la *Figura 3A* el tipo de dieta administrada no influyó en la cantidad de alimento consumido diariamente durante el estudio. Sin embargo se observa que las madres, cualquiera que sea el grupo experimental al que pertenezcan, aumentan su ingesta durante la lactancia. El incremento en los requerimientos de energía, para la producción de leche, es compensado por un aumento en el consumo de alimento. Los datos del último periodo de la lactancia no se muestran, ya que las crías consumen del alimento sólido destinado a la madre, por esta razón no son representativos. Por otro lado el consumo en términos de calorías, (*Figura 3B*), conserva el mismo perfil que la ingesta diaria, debido a que las dietas son isocalóricas.

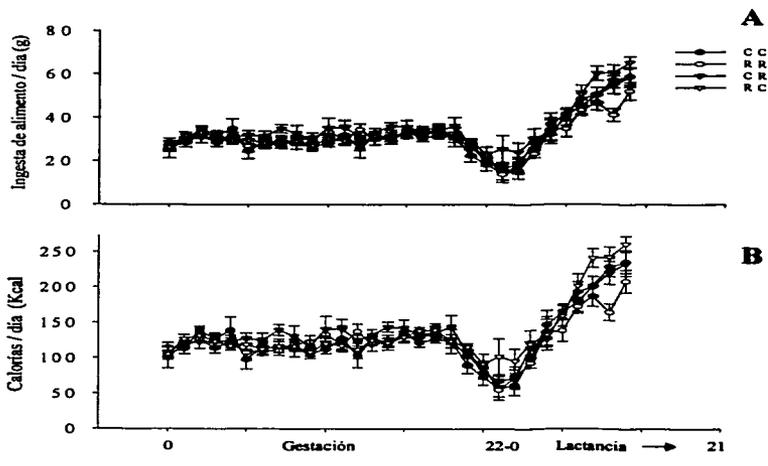


Figura 3. Ingesta de alimento y calorías diarias de las madres. El alimento fue pesado diariamente entre las 9:00 y 10:00 a.m. durante la gestación y lactancia. Panel A, ingesta de alimento, panel B, calorías consumidas. Grupo control (CC n=5), restringido durante la gestación y lactancia (RR n=5), restringida en la lactancia (CR n=9) y restringida únicamente en la gestación (RC n=9). Los datos son expresados como la media \pm EE de cada grupo.

1.3 Consumo de proteínas y carbohidratos por las madres durante todo el estudio.

La dieta experimental restringida contiene 50% menos de proteína de la que compone a la dieta control (C), estas diferencias determinan el consumo de proteína (Figura 4A), debido a que el consumo de alimento por las madres de los diferentes grupos no fue diferente. Las madres del grupo restringido (R) consumen menos proteína que las ratas control. Por otro lado las dietas utilizadas en este estudio son isocalóricas, la dieta restringida en proteína esta compensada con carbohidratos, es por ello que se observa un ligero incremento en su consumo, por los grupos restringidos (Figura 4B).

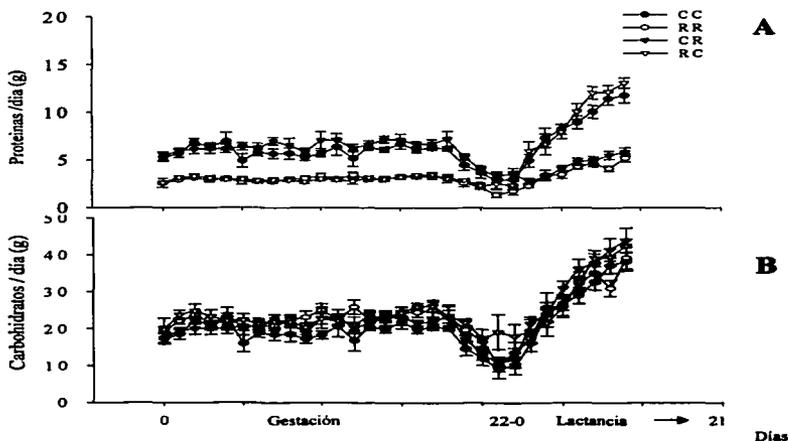


Figura 4. Proteína y Carbohidratos ingeridos diariamente por las madres, durante la gestación y lactancia. Panel A, consumo de proteína, panel B, carbohidratos consumidos diariamente. Grupo control (CC n=5), restringido durante la gestación y lactancia (RR n=5), restringida en la lactancia (CR n=9) y restringida únicamente en la gestación (RC n=9). Todos los datos son expresados como la media \pm EE de cada grupo.

2. CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS CRÍAS, DE AMBOS SEXOS, AL NACIMIENTO.

2.1 Peso corporal al nacimiento.

En las gráficas siguientes se puede apreciar que el peso corporal de las crías al nacimiento fue afectado por el grado de desnutrición de la madre durante su embarazo, siendo significativo este retraso en las crías hembras (Figura 5A). En el caso de los machos se observa una tendencia similar, sin embargo la diferencia no es significativa (Figura 5B).

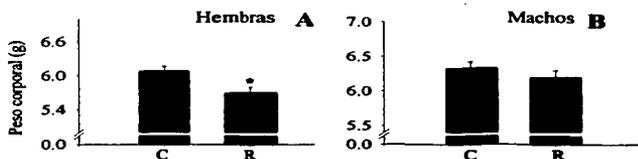


Figura 5. Peso corporal de las crías al nacimiento. Al momento del nacimiento las crías fueron pesadas. C (crías de madres alimentadas con dieta control), R (crías de madres alimentadas con dieta restringida). Panel A Hembras (C, n=56) y (R, n=67), panel B Machos (C, n=52) y (R, n=55). Los datos son expresados como la media \pm EE y analizados por *t* de student * $p < 0.01$ vs C.

2.2 Talla de las crías al nacimiento.

La talla fue registrada al nacimiento, sin embargo no se observaron diferencias; reflejo quizá de los mecanismos compensatorios que el feto pone en juego ante la situación adversa a la que se enfrentó en el interior de su madre, los cuales se discutirán mas adelante (Figura 6).

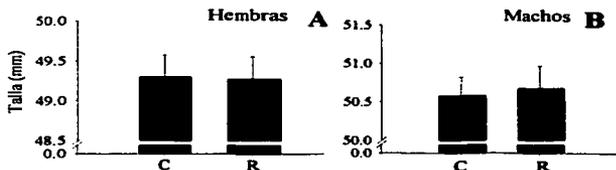


Figura 6. Talla de las crías al nacimiento. Al nacimiento las crías fueron medidas con vernier de la punta de la nariz a la raíz de la cola. C (crías de madres alimentadas con dieta control), R (crías de madres alimentadas con dieta restringida). Panel A Hembras (C, n=56) y (R, n=67), Panel B Machos (C, n=52) y (R, n=55). Los datos son expresados como la media \pm EE y analizados por *t* de student.

2.3 Peso y porcentaje en peso del hígado al nacimiento.

Se registraron los pesos de los hígados al nacimiento, en donde se observó un claro retraso en el desarrollo de dicho órgano en las crías de las madres que mantuvieron una dieta restringida en proteína durante su embarazo (Tabla 1).

Este hecho confirma que en tiempos de escasez todo está organizado para minimizar en lo posible cualquier daño al cerebro, y que a costa de protegerlo se limite el crecimiento de otros órganos, resulta evidente entonces que el desarrollo de este órgano se ha resentido por el retraso nutricional que ha sufrido durante la vida fetal.

Tabla 1. Peso y % en peso del hígado al nacimiento.

	Hembras		Machos	
	Hígado (g)	% Hígado	Hígado (g)	% Hígado
CONTROL	0.328 ± 0.007	4.374 ± 0.082 *	0.318 ± 0.008	4.439 ± 0.142 **
RESTRINGIDO	0.251 ± 0.010 *	3.793 ± 0.086 *	0.274 ± 0.010 **	3.825 ± 0.076 **

Tabla 1. Peso y % en peso del hígado al nacimiento. Al momento del sacrificio de las crías recién nacidas, el hígado fue pesado, el peso de este órgano fue menor para las crías de madres restringidas, la misma tendencia es para el % en peso ((peso del hígado/ peso corporal) x 100). Hembras: (control n=26, restringidas n=29); Machos: (control n=20, restringidas n=24). Los datos son expresados como la media ± EE y analizados por t de student. * p < 0.001 vs CC; **p < 0.01 vs CC.

3. CARACTERISTICAS GENERALES DE LAS CRIAS, DE AMBOS SEXOS, AL DESTETE.

3.1 Peso corporal de las crías, después del destete.

En este periodo se observa que las crías de madres restringidas (RR) conservan siempre un menor peso con respecto al resto de los grupos. El grupo restringido en la lactancia (CR) muestra también un menor peso, sin embargo ligeramente mayor que el anterior, la desnutrición en esta etapa provoca el retraso en el desarrollo de estos animales.

Las crías de madres restringidas en el embarazo (RC), alcanzaron en peso al grupo control al concluir la lactancia, (Figura 7). A pesar de su bajo peso al nacimiento, resultado de la

desnutrición "in utero" a la que fueron sometidas, la calidad de la lactancia ayudó a recuperar a este grupo, sin embargo no es claro bajo qué circunstancias. Además es interesante notar que el análisis de la ingesta no muestra hiperfagia, las crías del grupo RC comen igual o menos que el grupo control en algún momento. (Tabla 2)

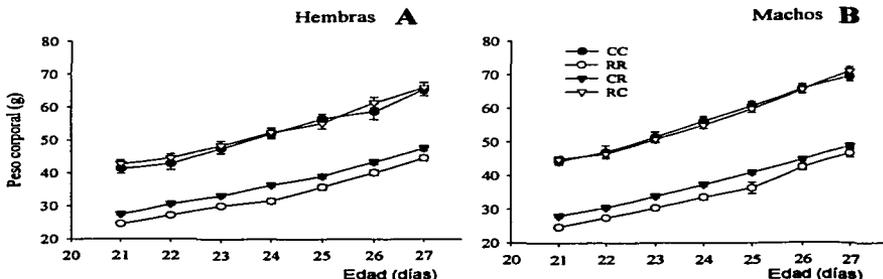


Figura 7. Peso de las crías después del destete. Las crías fueron destetadas en día 21 de edad, su peso fue registrado diariamente. El grupo RC recuperó su peso hasta alcanzar en este momento al control, mientras que el resto de los grupos se mantuvieron por debajo de este. CC (control), RR (restringido durante el embarazo y la lactancia), CR (restringido únicamente en la lactancia), RC (restringido en el embarazo). Panel A hembras (CC n=10, RR n=14, CR n=37, RC n=33), panel B machos (CC n=14, RR n=9, CR n=24, RC n=40). Los datos fueron expresados como la media \pm EE de cada grupo. Los datos fueron analizados por ANOVA de una vía. RR y CR vs CC $p < 0.001$, RC vs CC NS para ambos sexos.

3.2 Ingesta de alimento diario de las crías después del destete.

De los datos arrojados al analizar la ingesta diaria de alimento de crías hembras y machos al momento del destete, se observó que las crías hembras del grupo RC consumen en algún momento la misma cantidad de alimento que el grupo control, sin embargo los machos de este mismo grupo presentan menor ingesta. Con respecto a los grupos CR y RR podemos decir que su consumo es menor, estos dos grupos se comportan de igual manera en ambos sexos, (Tabla 2).

3.3 Peso y porcentaje en peso del hígado en día 21.

Al día 21 de edad, momento del destete, se analizó el peso del hígado con el fin de observar el efecto de la dieta recibida en la lactancia sobre este órgano en cuanto a peso se refiere. Los datos registrados muestran aumento del peso en el grupo restringido en el embarazo (RC), no así para los grupos restringido (RR) y restringido en la lactancia (CR). Por otro lado el análisis del % en peso mostró un verdadero incremento del tamaño de este órgano únicamente para las crías restringidas en la gestación (RC). (Tabla 3)

Tabla 2. Consumo de alimento (g) por las crías al destete.

	Día 21	Día 24	Día 27
Hembras			
CC	7.56 ± 0.55	11.26 ± 0.04	15.29 ± 0.34
RR	3.99 ± 0.01 *	7.35 ± 0.35 *	11.14 ± 0.31 *
CR	4.43 ± 0.24 *	7.86 ± 0.15 *	10.49 ± 0.17 *
RC	5.99 ± 0.22	11.04 ± 0.28	13.27 ± 0.24
Machos			
CC	8.37 ± 0.51	13.05 ± 0.007	17.60 ± 0.61
RR	4.91 ± 0.17 *	8.63 ± 0.23 *	11.17 ± 0.50 *
CR	5.55 ± 0.77 *	8.30 ± 0.86 *	12.07 ± 1.55 *
RC	6.04 ± 1.20 *	11.46 ± 1.98	14.03 ± 2.10 *

Tabla 2. Ingesta de alimento al destete. El alimento fue pesado diariamente (Balanza Sartorius[®] sensibilidad 0.001). Hembras: (CC n=10, RR n=14, CR n=37, RC n=33), machos (CC n=14, RR n=9, CR n=24, RC n=40). Los datos son expresados como la Media ± EE y analizados mediante ANOVA de una vía. *p<0.01 vs CC.

Tabla 3. Peso del Hígado al día del destete y % en peso.

	Hembra		Macho	
	Hígado (g)	% Hígado	Hígado (g)	% Hígado
CC	1.546 ± 0.056	3.644 ± 0.092	1.541 ± 0.059	3.457 ± 0.095
RR	1.051 ± 0.050 *	3.752 ± 0.150	0.934 ± 0.016 *	3.249 ± 0.053
CR	1.009 ± 0.069 *	3.129 ± 0.154	1.075 ± 0.077 *	3.421 ± 0.187
RC	2.292 ± 0.066 **	4.529 ± 0.199 *	2.099 ± 0.051	5.146 ± 0.340 *

Tabla 3. Peso y % en peso del hígado al destete. Se observó que el peso de este órgano se mantuvo por encima del control para las crías que mantuvieron un desarrollo fetal restringido y una lactancia normal (RC), contrariamente a esto los grupos RR y CR, presentaron un menor peso con respecto al control, esta observación se aplica a ambos sexos. El análisis del % en peso registró un aumento únicamente para el grupo RC, de ambos sexos. Hembras: (CC n=9, RR n=11, CR n=12 y RC n=13), machos (CC n=18, RR n=18, CR n=12 y RC n=9). Los datos son expresados como la media ± EE y analizados por ANOVA de una vía. * $p < 0.001$ vs CC; ** $p < 0.001$ vs CC, RR y CR.

4. DATOS DE LAS CRÍAS HEMBRAS EN LA EDAD ADULTA (70 DÍAS).

4.1 Peso corporal de las crías en edad adulta.

Las hembras de los grupos restringido (RR) y restringido en la lactancia (CR) muestran los pesos más bajos, mientras que las hembras del grupo RC mostraron un sobrepeso con respecto al control (Figura 8).

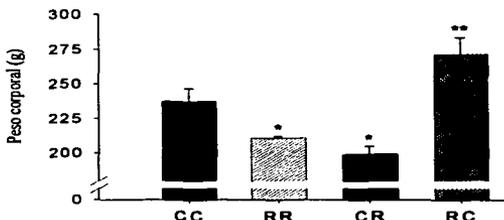


Figura 8. Peso corporal de las crías hembras en edad adulta (70 días). Las crías fueron pesadas diariamente desde el nacimiento, esta gráfica representa únicamente el peso en día 70 de edad. Control (CC n=5), restringido durante el embarazo y la lactancia (RR n=4), restringido únicamente en la lactancia (CR n=5), restringido en el embarazo (RC n=5). Los datos son expresados como la media ± EE y analizados mediante ANOVA de una vía. * $p < 0.05$ vs CC; ** $p < 0.05$ vs CC, RR y CR.

4.2 Composición corporal de las ratas durante la vida adulta y el efecto de la alimentación restringida.

La carcaza es el conjunto del músculo y el esqueleto completo, de la cual se reporta la composición química proximal (*Tabla 5*). Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado. En la *Tabla 4* se presenta el peso de la carcaza libre de agua. Todas las siguientes determinaciones están referidas a este peso seco total. Este análisis fue realizado con el fin de determinar la calidad del peso corporal de los diferentes grupos. Las hembras del grupo restringido en la gestación (RC) presentan una cantidad de lípidos superior al grupo control, en el otro extremo se encuentra el grupo restringido (RR), el cual muestra el menor porcentaje de lípidos corporales a pesar de ser el grupo que más proteína contiene.

Tabla 4. Peso seco de las carcazas de las ratas hembras en la vida adulta.

Grupo	Peso (g)
CC	42.61 ± 2.31
RR	36.76 ± 0.58 [*]
CR	38.06 ± 0.95 [*]
RC	47.47 ± 1.61

Tabla 4. Peso seco de las carcazas. Grupo Control (CC n= 4), Restringido (RR n=4), Restringido en la lactancia (CR n=5), restringido en la gestación (RC n=4). Los datos están expresados como la Media ± EE y analizadas por ANOVA de una vía. * $p < 0.01$ vs RC.

4.3 Correlación de % de lípidos corporales y peso en hembras de 70 días de edad.

Se analizó la correlación entre el peso de las hembras en edad adulta y el contenido de lípidos corporales, lo que determinó que el sobrepeso de las crías hembras estaba dado por la acumulación de grasa. (*Figura 9*)

Tabla 5. Determinación de la composición corporal de la rata hembra en la vida adulta (70 días).

Grupo	% de lípidos	% de proteínas
CC	27.146 ± 1.130	56.465 ± 1.635
RR	20.085 ± 0.951 *	65.556 ± 0.420 ‡
CR	23.505 ± 1.622	61.771 ± 1.368
RC	35.462 ± 0.788 **	50.268 ± 1.708

Tabla 5. Determinación de lípidos y proteínas corporales en la hembra adulta. El contenido de lípidos de las carcasas fue analizado por el método de Soxtec y la determinación de proteínas por el método de Kjeldahl. El grupo RC (n=4) presenta un aumento significativo en el contenido de grasa con respecto al control (CC n= 4), para el grupo RR (n=4) el contenido de grasa corporal esta por debajo del control no así para CR (n=5). La proteína no presenta gran variabilidad sin embargo el grupo RR tiene tendencia a una mayor proporción corporal de esta. Los datos son expresados como el promedio ± EE, y analizados por ANOVA de una vía. * $p < 0.001$ vs CC; ** $p < 0.001$ vs CC, RR y CR; ‡ $p < 0.05$ vs CC.

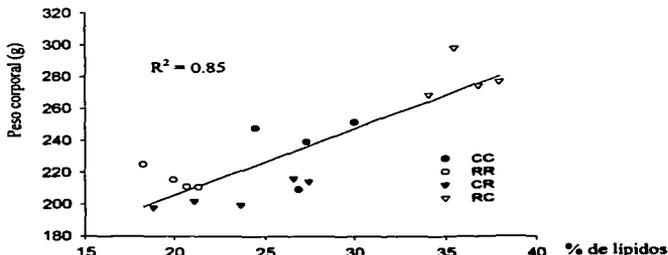


Figura. 9 Correlación de pesos y contenido de grasa corporal. El porcentaje de lípidos corporales se determinó por el método de Soxtec. La gráfica muestra una correlación positiva entre los pesos y el contenido de lípidos corporales.

4.4 Concentración de leptina en suero de hembras en edad adulta.

Las concentraciones en suero de leptina en estos animales fueron determinadas mediante RIA. No se encontraron diferencias entre el grupo control y el restringido en la gestación, sin embargo se puede observar una tendencia al aumento de esta hormona en circulación. Contrariamente a esto, los grupos RR y CR mostraron menores concentraciones de leptina en suero con respecto al control. (Figura 10)

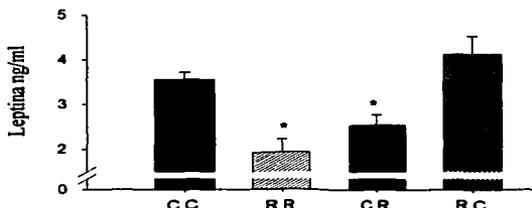


Figura. 10 Concentración de leptina en suero de la rata hembra en la edad adulta. Las crías fueron sacrificadas en día 70 de edad por decapitación y la sangre fue recolectada. Las concentraciones de leptina en suero fueron determinadas por duplicado mediante RIA (Rat Leptin RIA Kit Linco. Research, Inc.) Control (CC n= 7), restringido (RR n=5), restringido en la lactancia (CR n= 10), restringido en la gestación (RC n= 13). Los datos son expresados como la Media ± EE y analizados mediante ANOVA de una vía. * $p < 0.01$ vs CC.

4.5 Correlación de leptina y % de lípidos corporales en hembras de 70 días de edad.

Se encontró correlación positiva entre los niveles de leptina en suero y el contenido de grasa corporal en las crías hembras adultas (Figura 11).

Las crías del grupo RC, muestran alto contenido de lípidos corporales, acompañado de mayores concentraciones de leptina en suero.

4.6 Peso corporal e ingesta de alimento de las hembras en edad adulta (140 días).

En la edad adulta las crías hembras, se analizó su peso corporal e ingesta diaria de alimento (Figura 12) para poder observar posibles cambios a largo plazo, a esta edad el peso de los grupos restringido (RR) y restringido en la lactancia (CR) no presentaron diferencias con respecto al control, aparentemente se presentó una recuperación, sin embargo el sobrepeso observado

para las hembras del grupo restringido en la gestación (RC) en día 70 de edad, se conservó. Sin embargo no se observa tampoco hiperfagia a esta edad. En definitiva, la adaptación del metabolismo de las ratas restringidas (RR) obliga a un estado en el cual su ingesta es menor, hasta la vida adulta.

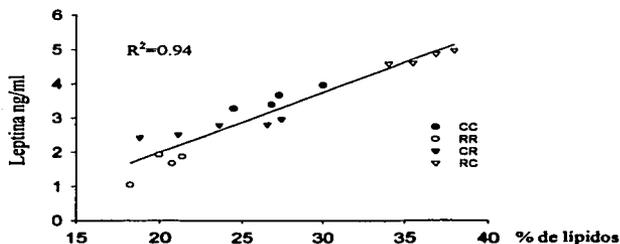


Figura. 11 Correlación de concentración de leptina y contenido de grasa corporal. Se analizaron las concentraciones de leptina en suero por RIA, y el % de lípidos corporales se determinó por el método de Soxtec. La gráfica muestra una correlación positiva entre los valores de leptina y el contenido de lípidos corporales.

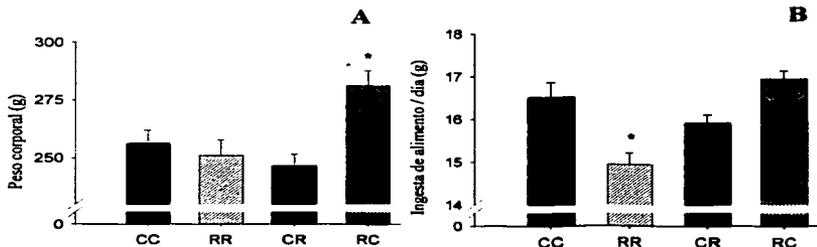


Figura. 12 Peso corporal e ingesta de alimento de las crías hembras en día 140 de edad. Panel A peso corporal, panel B alimento consumido. Control (CC n=5), restringida (RR n=7), restringida en la lactancia (CR n=19), restringida en el embarazo (RC n=15). Los datos son expresados como la Media \pm EE y analizados mediante ANOVA de una vía. * $p < 0.05$ vs CC.

5. DATOS DE LAS CRIAS MACHOS EN LA EDAD DE 70 DIAS.

5.1 Peso corporal de las crías macho.

Los pesos de las crías fueron registrados durante la vida adulta, la *Figura 13* representa únicamente la edad de 70 días, los datos sugieren que la restricción durante la gestación (RC) no provoca un sobrepeso en este sexo como en las hembras. Por otro lado se observa que a esta edad el grupo restringido en la lactancia es el que presenta menor peso con respecto al control, en este aspecto la lactancia es periodo clave tanto para hembras como para machos.

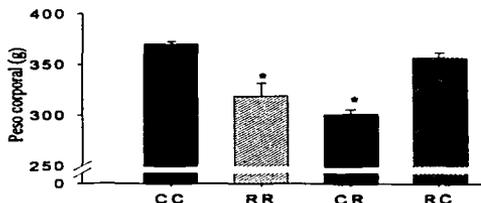


Figura 13. Peso corporal de las crías machos en edad adulta (70 días). Las crías fueron pesadas diariamente desde el nacimiento, esta gráfica representa únicamente el peso de 70 días de edad. Control (CC n=5), restringido durante el embarazo y la lactancia (RR n=4), restringido únicamente en la lactancia (CR n=4) y restringido en la gestación (RC n=4). Los datos son expresados como la media \pm EE y analizados por ANOVA de una vía. * $p < 0.05$ vs CC.

5.2 Composición corporal de las ratas macho adulta, efecto de la alimentación restringida en proteína.

En la *Tabla 6* se reporta el peso de la carcasa seca. El análisis químico proximal está referido a este peso seco total. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado y se presentan en la *Tabla 7*, los grupos RR y CR son los únicos que difieren en el contenido de proteína y lípidos, con respecto al control.

Tabla 6. Peso seco de las carcazas de las ratas machos en la vida adulta.

Grupo	Peso (g)
CC	71.81 ± 0.89
RR	50.77 ± 4.63 [*]
CR	53.61 ± 1.20 [*]
RC	70.16 ± 1.95

Tabla 6. Peso seco de las carcazas. Grupo Control (CC n= 4), restringido (RR n=4), restringido en la lactancia (CR n=4), restringido en la gestación (RC n=4). Los datos están expresados como la Media ± EE y analizadas por ANOVA de una vía. * $p < 0.001$ vs CC.

Tabla 7. Determinación de la composición corporal de la rata macho en la vida adulta

Grupo	% de lípidos	% de proteínas
CC	37.090 ± 1.622	46.867 ± 0.718
RR	21.847 ± 2.849 [*]	63.875 ± 2.992 [*]
CR	26.955 ± 0.261 [*]	60.997 ± 0.107 [*]
RC	38.199 ± 2.388	51.189 ± 3.003

Tabla 7. Determinación de lípidos y proteínas corporales en el macho adulto. El contenido de lípidos y proteínas de las carcazas fue determinado por el método de Soxhlet y Kjeldahl respectivamente. El grupo RC (n=4) no presenta cambios con respecto al control (CC n= 4) en el contenido de grasa corporal, mientras que para los grupos RR (n=4) y CR (n=4) el contenido de grasa corporal es inferior al control. El porcentaje de proteína no muestra diferencias entre los grupos, sin embargo los grupos RR y CR tienden a un alto contenido de proteína con respecto al resto de los grupos. Los datos son expresados como gramo de proteína o lípido / 100 gramo de muestra. Los resultados fueron analizados por ANOVA de una vía. * $p < 0.001$ vs CC.

5.3 Correlación de peso y % de lípidos corporales en machos de 70 días de edad.

Se encontró correlación positiva entre el peso de los animales y su contenido de lípidos corporales. (Figura 14)

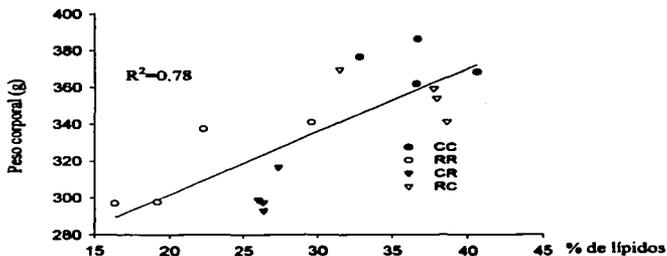


Figura. 14 Correlación de peso y contenido de grasa corporal. El porcentaje de lípidos corporales se determinó por el método de Soxhlet. La gráfica muestra una correlación positiva entre los pesos y el contenido de lípidos corporales.

5.4 Concentración de leptina en suero de la rata macho en edad adulta.

Los sueros de estos animales fueron analizados por radioinmunoanálisis (Rat Leptin RIA Kit Linco. Research, Inc). Los datos son presentados en la *Figura 15*. Las concentraciones circulantes de esta hormona en el grupo restringido únicamente en la gestación no es diferente del control. Por otro lado es el grupo restringido (RR) y el restringido en la lactancia (CR) quienes muestran la menor concentración de leptina en suero.

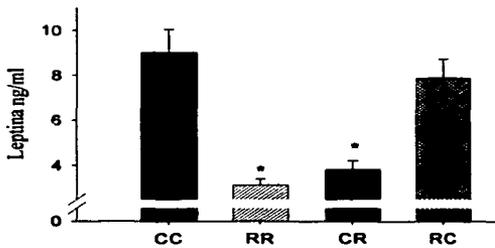


Figura. 15 Concentración de leptina en suero de la rata macho en edad adulta. Las concentraciones de leptina en suero fueron determinadas por duplicado mediante RIA (Rat Leptin RIA Kit Linco. Research, Inc.) Control (CCn=8), restringido (RRn=8), restringido en la lactancia (CR n=12) y restringido en la gestación (RC n=12). Los datos son expresados como la Media \pm EE y analizados mediante ANOVA de una vía. * $p < 0.05$ vs CC.

5.5 Correlación de leptina y % de lípidos corporales en machos de 70 días de edad.

Se encontró correlación positiva entre los niveles de leptina en suero y el contenido de grasa corporal en las crías machos adultos (*Figura 16*).

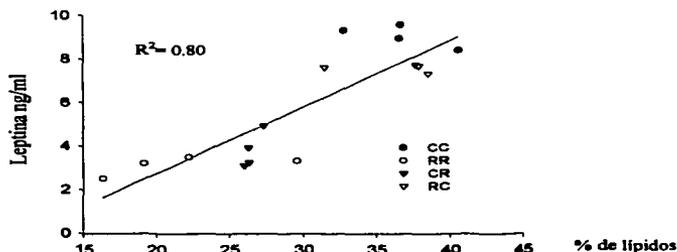


Figura. 16 Correlación de concentración de leptina y contenido de grasa corporal. Se midieron las concentraciones de leptina en suero por RIA, y el % de lípidos corporales se determinó por el método de Soxhlet. El gráfico muestra una correlación positiva entre el contenido de grasa corporal y las concentraciones circulantes de leptina.

5.6 Peso corporal e ingesta de alimento de machos en edad adulta (140 días).

En la edad adulta se analizó el peso corporal e ingesta de alimento. El peso corporal del grupo RC no fue diferente del control, en tanto, los grupos RR y CR mostraron un peso inferior (*Figura 17 A*). Con respecto a la ingesta se observó un menor consumo de alimento para todos los grupos comparados con el control (*Figura 17B*).

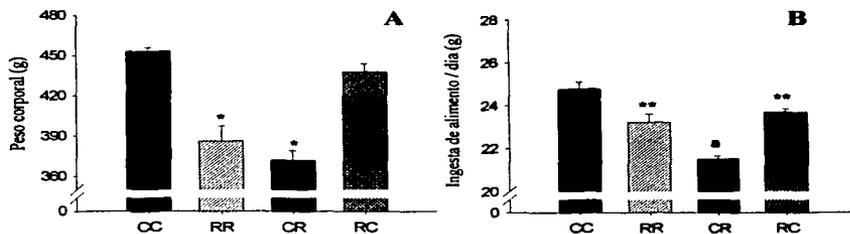


Figura 17. Peso corporal e Ingesta de alimento de las crías en día 140 días. Grupo control (CC n=6), restringido en el embarazo y lactancia (RR n=4), restringida en la lactancia (CR n=18), restringida en el embarazo (RC n=23). Los datos son expresados como la Media \pm EE y analizados por ANOVA de una vía. * $p < 0.01$ vs CC; ** $p < 0.001$ vs CC.

D

iscusión.

DISCUSIÓN.

El estudio sobre programación fetal es tan amplio y aún con muchos aspectos por aclarar, que este estudio es tan sólo una pequeña aportación a la investigación sobre este tema. El presente trabajo de tesis fue diseñado para evaluar el efecto de la desnutrición materna durante la gestación y/o la lactancia, en la programación del metabolismo que predispone a la obesidad o sobrepeso por una dieta restringida en la gestación seguida de una dieta normal en la lactancia.

Los resultados muestran varios hallazgos importantes, que se discuten por tema.

1. CARACTERÍSTICAS DE LAS MADRES EN ESTUDIO.

La edad de los animales para iniciar un estudio de esta naturaleza es muy importante, porque necesitan haber pasado el periodo de crecimiento; así, los pesos de las ratas fluctúan entre 240 ± 20 gramos y con una edad determinada entre 10 y 12 semanas. Estos aspectos deben ser controlados ya que el embarazo se puede ver afectado por estos parámetros.

En la edad adulta (70-84 días) las ratas mantienen un peso considerablemente constante, durante su gestación este peso aumentó gradualmente. El grupo control ganó alrededor del 61%, mientras que el grupo restringido solo aumento de 41 a 44 %. Al momento del parto el grupo control perdió 100 g. de peso aproximadamente, y el restringido alrededor de 60 g. Sin duda esto repercutió en el peso de las crías como discutiremos mas adelante.

Durante la lactancia, el cambio de dieta a que se sometieron algunas madres modificó su peso corporal. Se observa que las madres que recibieron dieta control durante su lactancia, después de la desnutrición en su embarazo, logran recuperar su peso e incluso puede observarse que es ligeramente, aunque no significativamente, mayor que el control. Todo lo contrario ocurre con la madre que ha mantenido una dieta control en su embarazo, y es desnutrida en la lactancia, donde se observa la pérdida de peso. Estos hechos se atribuyen a los requerimientos nutricionales necesarios para la madre en ambos periodos del estudio, embarazo y lactancia, en este contexto las madres que reciben dieta restringida en proteína sufren pérdida de peso, siendo más crítico para las madres restringidas todo el tiempo.

El consumo de alimento de las madres, depende de su estado fisiológico, es decir las ratas lactantes aumentaron su ingesta de la manera descrita en trabajos anteriores^{100,101,102}. Esta situación se debe al incremento de energía requerida¹⁰³, la cual se compensa aumentando la

cantidad de alimento ingerido en este periodo como se aprecia en la gráfica de alimento consumido (*Fig. 3-A Sección 1.2*). Durante la lactancia hay una cascada de cambios a nivel molecular, tisular y celular que se van presentando desde la gestación en el desarrollo embrionario "in utero", hasta el buen desarrollo de la lactancia, siendo decisiva para la primera etapa de la vida después del nacimiento, donde se presenta la mayor velocidad de crecimiento.

Las dietas empleadas para este estudio son isocalóricas, la dieta restringida en proteína es compensada en calorías con carbohidratos, es por ello que el tipo de dieta administrado no tiene ningún efecto sobre la cantidad de alimento consumido; ya que ambas proporcionan la misma carga energética. Sin embargo debido a la composición de la dieta restringida las madres que son alimentadas con esta, consumen menos proteína; esta desnutrición se refleja en el desarrollo de sus crías.

2. CARACTERÍSTICAS DE LAS CRÍAS AL NACIMIENTO DE AMBOS SEXOS.

Una forma de evaluar cómo se desarrolló el individuo durante la gestación, es considerar la nutrición materna durante el embarazo y el peso al nacimiento del individuo.

La baja cantidad de proteína en la dieta de la rata gestante, repercute en un bajo peso de la camada al nacimiento.

La dieta que una madre consuma durante el embarazo, es determinante para el desarrollo intrauterino del feto, ya que las deficiencias en la dieta, pueden traer consecuencias irreversibles para el desarrollo de su cría. La deficiencia en la proteína de la dieta puede ocasionar desde un leve retraso en el crecimiento de las crías hasta una franca desnutrición, esto depende de la intensidad y duración de la restricción de la madre⁶⁴.

La talla registrada al nacimiento no presentó ningún cambio con respecto al control, probablemente por los mecanismos de defensa que el feto adopta ante situaciones adversas, en este caso la desnutrición que sufre "in utero". Sin embargo la desnutrición si se manifestó en el peso de las crías.

La deficiencia de proteína en la dieta de la madre gestante provocó un retraso en el desarrollo de los órganos fetales; en el presente trabajo se presentó el efecto sobre el peso del hígado, este órgano, en un recién nacido que estuvo expuesto a la desnutrición fetal, llega a representar del 76 al 86% de un hígado normal. De hecho en proporción al peso corporal, el hígado normal en la rata representa alrededor del 4.45%, el hígado de una cría desnutrida apenas alcanza el 3.8%. En este contexto se sabe que uno de los órganos vitales para la

supervivencia del feto es el cerebro, este es protegido a costa del desarrollo de otros órganos viscerales como el hígado⁹⁸.

Si bien es cierto, que el desarrollo del feto tiene determinantes genéticos, el crecimiento fetal muestra fuerte relación con una amplia variedad de factores epigenéticos dependientes del estado nutricional; éstos incluyen pobre dieta materna, escasas reservas nutricionales en la madre, inadecuado flujo sanguíneo uterino incluyendo defectos en la permeabilidad de nutrientes a través de la placenta: la talla y el peso al nacimiento reflejan la trayectoria y condición del crecimiento fetal.

3. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS CRÍAS DE AMBOS SEXOS AL DESTETE (día 21).

La dieta restringida administrada durante la gestación y la lactancia (RR), afecta drásticamente el crecimiento de las crías, su peso representa apenas del 50 al 60 % del control. En el caso de las crías de madres que solo recibieron la desnutrición en la lactancia; el retraso que se dio no fue tan severo, su peso con respecto al control fue del 60 al 70%. El retraso que presentan al nacimiento, puede revertirse con una dieta adecuada¹⁰⁴, las crías de madres restringidas en el embarazo y compensadas en la lactancia (RC), alcanzaron en peso al control.

La dieta de la madre afecta la composición de la leche; en ratas sometidas a una dieta baja en proteína se encuentra afectada negativamente la producción diaria y la concentración de sus proteínas¹⁰⁰. La síntesis de proteína en la glándula mamaria, se ve disminuida por efecto de la calidad y la cantidad de proteína en la dieta. En este contexto se acepta ampliamente que la alimentación durante la gestación y la lactancia, son de vital importancia para el desarrollo óptimo de la cría. Los cambios en la producción de leche y en su composición, han sido bien estudiados por efecto de los cambios en la dieta materna; Crnic¹⁰⁶ encuentra que una dieta baja en proteína (8% de caseína) ocasiona una disminución en el contenido de N total en la leche y un aumento en el contenido de lípidos, estos datos coinciden con un trabajo de Hernández y colaboradores¹¹². El estudio de Grimbble, encuentra que la producción de leche se ve severamente reducida por la dieta con una proteína pobre en calidad (maíz) pero no se encontró diferencia en la composición de la leche¹⁰⁰. En este contexto podemos inferir que la leche, de las madres que reciben la dieta deficiente en proteína, es de baja calidad y deficiente en nutrientes; es por ello que las crías RR y CR, mantuvieron un desarrollo inferior al control. En contraste las crías del grupo RC, que muestran un peso similar al control al finalizar la lactancia, son alimentadas con una leche de

calidad diferente, ya que sus madres en este periodo son alimentadas con dieta control, sin duda, este hecho impactó en su recuperación favorablemente.

Por otro lado, el consumo de alimento de las crías al destete fue analizado, estos animales no muestran rasgos de hiperfagia relacionada con la recuperación del peso corporal en estas crías. La cantidad de alimento ingerido por el grupo RC, en ningún momento sobrepasó lo consumido por el control. El hecho de que su ingesta sea igual que el control, probablemente nos hable de un intento de favorecer el almacenamiento y poder hacer frente a una posterior desnutrición. Los efectos que puedan provocar los cambios en la dieta de la madre durante la lactancia se ven reflejados en la calidad de la leche y finalmente en el crecimiento de sus crías. Sin embargo la recuperación de estos animales se cuestiona, cuando se descubre un aumento en el peso del hígado, mostrando un incremento de hasta el 48% con respecto al control, en el caso de las hembras y 36% en los machos. Así mismo, el análisis del por ciento que representa el hígado con respecto al peso corporal de la cría, mostró hepatomegalia. Mientras que el hígado de una cría normal representa el 3.5 % del total de su peso; en las crías que sufrieron la desnutrición "in utero" y más tarde experimentaron una lactancia normal, (RC), es del 4.5% en hembras y 5.2 % en machos. El hallazgo de un hígado agrandado sin la existencia de ningún otro síntoma sugiere la posibilidad de un hígado graso³. El diagnóstico del hígado graso se fundamenta básicamente en: 1. Niveles elevados de las enzimas hepáticas (transaminasas). 2. No exista consumo de alcohol y 3. Pruebas negativas a hepatitis B y C³. En este trabajo no se midieron niveles de transaminasas, sin embargo se asegura que los siguientes dos aspectos son negativos; así que sugerimos que la hepatomegalia de estos animales se atribuya a un hígado graso, por la acumulación de triglicéridos, consecuencia del sobreesfuerzo de ácidos grasos que llegan al hígado.

Los datos sugieren que las crías del grupo RC, ajustaron su metabolismo para hacer frente a la deficiente disponibilidad de nutrimentos durante su vida fetal, así que, si el aporte de energía era bajo el gasto también tendría que serlo, para mantener el equilibrio y sobrevivir. Desde el punto biológico, cada organismo que sobrevive y se reproduce está, por definición, adaptado a su ambiente. Pero una vez adecuado, la estrategia de sobrevivencia exige condiciones sostenibles para que ésta adaptación represente un beneficio real para el individuo. Sin embargo durante la lactancia el aporte nutricional se muestra mayor al que esperaba, así que se presenta un aumento en el aporte y menor gasto energético, así que el exceso se almacena en forma de triglicéridos, dentro del tejido adiposo y en el hígado. En cambio para las crías del grupo RR, el aporte nutricional durante la lactancia no cambió con respecto al recibido "in utero", así que en este aspecto no sufrieron alteraciones, no padecen hepatomegalia.

4. CARACTERÍSTICAS DE LAS CRIAS HEMBRAS EN LA EDAD ADULTA.

Un hallazgo importante en este trabajo de tesis, fue el sobrepeso que mostraron las crías hembras en la etapa adulta del grupo restringido en la gestación (RC) en contraste con el menor peso del grupo CR.

El estudio de la composición corporal, como ya se indicó en los resultados, mostró un alto porcentaje de lípidos para las crías que mantuvieron la desnutrición fetal, y posteriormente una lactancia normal, esto indica que el sobrepeso, sin duda, se atribuye al aumento de los depósitos grasos. Las adaptaciones que permitieron la supervivencia ante la dieta deficiente en proteína, resultó en el adulto perjudicial, ya que el individuo se sometió a una dieta rica en nutrientes desde el momento de nacer. Es decir las crías RC, fueron programadas "in utero", al enfrentarse a un deficiente aporte nutricional, su gasto energético se adapta para ser el mínimo, así que nacieron con este programa metabólico, sin embargo en la lactancia se sometieron a un cambio de dieta, su medio ambiente cambió, su aporte nutricional fue mayor al esperado. La dosis de energía en la dieta sobrepasó al consumo, así que el exceso se almacenó como triglicéridos, dentro del tejido adiposo del cuerpo.

La causa principal de la obesidad es el balance calórico positivo por mayor ingreso y menor gasto energético. Las crías del grupo RC no muestran mayor ingesta (hiperfagia), pero los resultados sugieren que sí existe menor gasto energético.

El incremento de su adiposidad está directamente asociado con tasas plasmáticas elevadas de leptina, se demostró una correlación positiva bastante estrecha, así que pensar que la alteración del sobrepeso se fundamenta en las concentraciones bajas de leptina no es aceptable, sugiriendo una posible resistencia a la hormona, a nivel de receptor o en el transporte en la barrera hematoencefálica. Recientemente, Caro et al.¹⁸⁷ sugieren que la leptina penetre en el cerebro mediante un sistema de transporte saturable. La capacidad de transporte es más baja en personas obesas, originando un mecanismo de resistencia a la leptina.

La leptina sigue siendo ampliamente reconocida como una pieza clave en el metabolismo energético, pero sigue sin esclarecerse su papel como señal que indicaría al sistema nervioso central el nivel de reservas grasas del organismo.

La lactancia, al menos para las crías con bajo peso al nacer, es un período crítico para programar la fisiología posterior de la leptina y por inferencia, el riesgo de obesidad.

Las crías RR, en cambio, mantuvieron su condición nutricional al nacer, así que se enfrentaron a una situación para la cual estaban preparadas, si su gasto energético era el

mínimo, también su aporte de alimento lo fue, la *Figura 13B* muestra que su ingesta es menor que el resto de los grupos. De hecho no presentaron en ningún momento aumentar su depósito energético (grasa corporal), ni su peso, al contrario de lo que ocurrió con las crías del grupo RC.

El grupo RR, presentó menor ingesta, junto con menor peso y % de lípidos corporales. Las concentraciones de leptina en suero mantuvieron una correlación positiva con su depósito de grasa.

El día 140 de edad los grupos RR y CR de hembras alcanzan el peso del grupo control, esto se debe a que, estos individuos se adaptaron a su ambiente restringido en nutrimentos en los periodos tempranos del desarrollo, el cambio de dieta a control (C), después de la lactancia, ayudó a su recuperación sólo con un lento aumento del peso corporal.

Estos resultados confirman el hecho de que la desnutrición tiene un fuerte impacto en etapas tempranas del desarrollo (gestación y lactancia).

5. CARACTERÍSTICAS DE LAS CRIAS MACHOS EN LA EDAD ADULTA.

Los machos del grupo RC no presentan aumento de peso con respecto al control, de hecho, ni el contenido de lípidos ni las concentraciones de leptina se encontraron elevadas; en estos aspectos las crías se muestran normales, sin embargo es importante resaltar la hepatomegalia que reflejaron el día del destete, lo que probablemente se deba a la acumulación de grasa; parece ser que este sexo logró recuperar un metabolismo graso normal, por esta razón no observamos aumento en grasa y peso corporal. Por el contrario las crías de los grupos RR y CR, muestran pesos inferiores al control, de igual modo las concentraciones de leptina en suero y la cantidad de lípidos corporales son inferiores. Así la correlación positiva entre el porcentaje de lípidos y la concentración de leptina en suero se mantiene.

La recuperación del grupo RC no se debe a una mayor ingesta, por el contrario la cantidad de alimento consumida por estos animales es inferior al control.

El menor peso de las crías RR y CR se mantiene hasta la edad de 140 días, acompañado por menor ingesta. La condición nutricional de las crías RR se mantuvo al nacer, se enfrentaron a una situación para la cual estaban preparadas, es decir se adaptaron para el mínimo gasto, por ello su ingesta es menor, en el caso del grupo CR parece afectarse de manera más intensa en este aspecto, ya que es el que muestra menor ingesta con respecto al resto de los grupos, estos resultados nos indican la importancia de la lactancia para este sexo. Ambos periodos, lactancia y embarazo, son críticos en el desarrollo del centro del apetito.

C onclusiones.

CONCLUSIONES.

Con estos resultados y con su análisis, se puede considerar lo siguiente:

1. Las adaptaciones que permiten la supervivencia ante una dieta deficiente, "in utero", resultan perjudiciales cuando las condiciones nutricionales en el período posnatal son diferentes a las que el feto esperaba y para las cuales estaba preparado.
2. Los datos experimentales demuestran que la desnutrición fetal, aunada a una lactancia normal, es factor desencadenante en el padecimiento de la obesidad en la vida adulta de la rata hembra.
3. La desnutrición materna durante la gestación es un factor de riesgo en las crías hembras para padecer sobrepeso, la correcta rehabilitación nutricional del recién nacido, es fundamental para evitar el riesgo.
4. Los resultados además sugieren que la programación por desnutrición impacta de manera distinta el metabolismo de las hembras y machos.

Los hallazgos contribuyen a los trabajos de investigación sobre la relación entre la nutrición prenatal y de la infancia temprana, sobre el metabolismo de la obesidad en la edad adulta.

Bibliografía.

BIBLIOGRAFIA.

1. **Foreyt J, Goodrick K.** The ultimate triumph of obesity. *Lancet* 1995; 346: 134-135.
2. **Seidell JC, Flegal.** Assessing obesity: classification and epidemiology. *Br Med Bull* 1997; 53:238-252.
3. **Méndez Sánchez N, Uribe M.** Obesidad Epidemiología fisiopatología y manifestaciones clínicas. Manual Moderno 1ª Edición. 2002.
4. **Monteiro CA, Mondini L, Medeiros de Souza AL, Popkin BM.** The nutrition transition in Brazil. *Eur J Clin Nutr* 1995; 49:105-113.
5. **Sichieri R, Coitinho DC, Marfili LM, Recine E, Everhart JE.** High temporal, geographic, and income variation in body mass index among adults in Brazil. *Am J Public Health* 1994; 84:793-798.
6. **Costa Rica, Ministerio de Salud, 1997.**
7. **Encuesta Nacional de Nutrición 1988, Secretaría de Salud, México 1988.**
8. **Encuesta Nacional de Nutrición 1999, Secretaría de Salud, México, 1999.**
9. **Quíbrera IR.** *Rev. Endoc. Nut.* 1(1):7 1993.
10. **Vague J.** The degree of masculine differentiation of obesities: a fact for determining predisposition of diabetes, arteriosclerosis, gout and uric calculus disease. *Am J Clin Nutr* 1958;4:20
11. **Thompson D, Edelsberg J, Colditz GA, Bird A, Oster G.** Lifetime health and economic consequences of obesity. *Arch Intern Med* 1999; 159:2177-2183
12. **Pi-Sunyer FX.** Medical hazards of obesity. *Ann Intern Med* 1993; 119:655-660.
13. **Preventing and managing the Global Epidemic of Obesity Report of the World Health organization consultation of Obesity.** WHO Geneva, 1997.
14. **Macías N.** Evaluación de la composición corporal del paciente obeso. *Nutrición Clínica* 2002 (5) 4:258-262.
15. **Encuesta Nacional de Enfermedades crónicas. Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud e INNSZ 1993.**
16. **Arroyo P, Loria A, Fernández V et al.** Prevalence of pre-obesity and obesity in urban adult Mexicans in comparison with other large surveys. *Obes Res* 2000; 8:179-185.
17. **Sánchez-Castillo CP, Lara JJ, Villa AR, Aguirre J, Escobar M, Gutiérrez H, Chávez A, James WPT.** Unusually high prevalence rates of obesity in four Mexican rural communities. *Eur J Nutr* 2001; 55, 10:833-840.

18. **Rosebaum M, Liebel R.** Medical progress. Obesity. *New Eng J Med* 1997; 337 (6):1-19.
19. **Satya P, Dube M, Pu S, et al.** Appetite regulating pathways in the hypothalamic regulation of body weight. *Endocrinology Review* 1999; 20(1): 68-90
20. **Goran M.** Energy metabolism and obesity. *Medical Clinics of North America.* 2000; 84 (2).
21. **Guyton A.** Tratado de fisiología médica. 6ª ed, México. Interamericana, 1989: 825-831
22. **Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ.** Nonalcoholic steatohepatitis: experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980; 55:434-438.
23. **Nasrallah SM, Willis CE, Galambos JT.** Hepatic morphology in obesity *Dig Dis Sci* 1981; 26:325-327.
24. **Rodríguez HH, Ruiz MB, González J, Martínez AG, Reyes M, Panduro CA.** Polipoprotein polymorphism in patients with nonalcoholic steatohepatitis in a Mexican population. *Abstract. J Hepatol* 2001; 34:197.
25. **Zelman, S.** The liver in obesity. *Arch Intern Med.* 1952;90:141-156
26. **Thaler, H.** Die fettleber und ihre pathogenethische Beziehung zur Lebercirrhose. *Virchow Arch Path Anat.* 1962;335:180-188
27. **Thaler, H.** Aetiologie und therapie der fettleber. *Deuts Medizin J.* 1972;23:648-653
28. **Clain,D. J.; Lefkowitz, J.H.** Fatty liver disease in morbid obesity. *Gastroenterol Clin North Am.* 1987;16:239-252
29. **Robbins.** Patología estructural y funcional. 4ª ed. México; Editorial Interamericana 1996: 192-497.
30. **Fong DG, Nehra V, Lindor KD, Buchman AL.** Metabolic and nutritional considerations in Nonalcoholic fatty liver. *Hepatology* 2000;32:3-10
31. **Amatruda, J.M.; Salhanick, AL.** Insulin and steatonecrosis: are they related? *Hepatology.* 1989; 6:1024-1025
32. **Wanless, I.R.; Lentz, J.S.** Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology.* 1990; 12: 1106-1110
33. **Palmer, M.; Schaffner, F.** Effect of weight reduction on hepatic abnormalities in overweight patients. *Gastroenterology.* 1990; 99: 1408-1413.
34. **Rantlov, I.; Hardt, F.** Regression of liver steatosis following gastroplasty or gastric bypass for morbid obesity. *Digestion.* 1990; 47: 208-214.

35. Ikejima K, Honda H, Yoshikawa M, Hirose M, Kitamura T, Takei Y, Sato N. Leptin augments inflammatory and profibrogenic responses in the murine liver induced by hepatotóxico chemical. *Hepatology* 2001; 34:288-297.
36. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-432
37. Ogawa Y, Masuzaki H, Ise N et al. Molecular cloning of rat obese cDNA and augmented gene expression in genetically obese Zucker fatty rats. *J Clin Invest* 1995; 96: 1647-1652.
38. Auwerx J, Staels B. Leptin. *Lancet* 1998; 351:737-741.
39. Heymsfield S, Greenberg A, Fujlloka K et al. Recombinant leptina for weight loss in obese and lean adults. *JAMA* 1999; 282 (16): 1568-1575.
40. Frühbeck G, Aguado M, Martínez JA. In vitro lipolytic effect of leptin on mouse adipocytes: evidence for a possible autocrine/paracrine role of leptin. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 240: 590-594.
41. Hetherington AW, Ranson SW. Hypothalamic lesions and adiposity in the rat. *Anat Rec* 1940, 78:149-172.
42. Mohamed-Ali, Coppeck SW. Adipose tissue as an endocrine and paracrine organ. *Int J Obesity* 1998; 22:1145-1158.
43. Stanley BG et al. NPY chronically injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity. *Peptides* 1986;7:1189-1192
44. Barreto L, MD. y col. Obesidad: fisiología d la ingesta. *Revista Colombiana de Cirugía Plástica y Reconstrucción*. 2001; 7 (2):46-51.
45. Farooqi S, Rau H, Whitehead J, O'Rahilly Y S. Ob gene mutations and human obesity. *Proc Nutr Soc* 1998; 57: 471-475.
46. Maffei M, Stoffel M, Barone M, Moon B, Dammerman M, Ravussin et al. Absence of mutations in the human ob gene in obese/diabetic subjects. *Diabetes* 1996; 45:679-682.
47. Montague CT, Farooqi S, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ et al. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997; 387:903-908.
48. Zhang F, Basinski MB, Beals JM, Briggs SL, Churgay LM, Clawson DK et al. Crystal structure of the obese protein leptin E-100. *Nature* 1997; 387:206-209.
49. Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D et al. A mutation in the human leptin receptor causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998; 392:398-401.
50. Coleman DL. Obese and Diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia* 1978; 14:1-148.

51. Lönnqvist F, Arner P, Nordfors L, Shalling M. Overexpression of the obese gene mRNA in human obesity. *J Clin Invest* 1995; 95:2986-8
52. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriaclunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334:292-295.
53. Berquera B, Couce M, Lloyd R. Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates. *Current Opinion Endocrinology* 2000; 7 (5): 225-230.
54. Barreto L, Mundar F, Acosta E, Terront A. Obesidad: fisiología de la ingesta. *Revista colombiana de Cirugía Plástica y Reconstructiva*. 2001 7(2):46-51.
55. Ingalls AM, Dickie MD, Snell GD. Obese, new mutation in the mouse *J Hered* 1950; 41: 317-318.
56. Friedman JM, Halasa JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals *Nature* 1998; 395:763-770
57. Martí A, Martínez J.A. La leptina y la regulación del peso corporal. *Anales de la Salud. Universidad de Navarra* 2002; 2:1-10.
58. Tartaglia LA. The leptin receptor. *J Biol. Chem* 1997; 272: 6093-6096.
59. Lee G.H, Proenca R, Monte J. M., Carroll K.M., Darvishzadeh J. G., Lee J.I & Friedman J. M. Abnormal Splicing of the Leptin receptor in diabetic mice *Nature* 1996; 379:632-635
60. Kaplan LM. Leptin, obesity and liver disease. *Gastroenterology* 1998; 115:997-1001.
61. Heiman ML, Chen Y, Caro JF. Leptin participates in the regulation of glucocorticoid and growth hormone axes. *J Nutr Biochem* 1998; 9:553-559.
62. Zakrzewska E, Cusin I, Sainsbury A, Rohner-Jeanrenaud F, y Jeanrenaud B. Glucocorticoids as counterregulatory hormones of leptin. *Diabetes* 1997 46:717-719.
63. Patel MS, Srinivasan M, Aalinkel R. Metabolic programming by nutrition during early development. *Indian J Exp Biol* 2000; 38(9):849-55.
64. Tirapegui JO, De Angelis RC. Marginal protein deficiency in pregnant rats. Changes in offspring body composition. *Arq Gastroenterol* 1985 22:83-87.
65. Godfrey KM, Barker DJ. Fetal programming and adult health; *Public Health Nutr* 2001; 4(2B):611-24
66. Harding JE, Johnston BM. Nutrition and fetal growth. *Reprod Fertil Dev* 1995, 7(3):539-47.
67. Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Lond)* 1998, 95(2):115-28

68. Nathanielsz, PW. Life in the womb: the origin of health and disease. New York: Prometheus Press, 1999.
69. Moor V, Davies M. Early life influences on later health: role of nutrition. *Asia Pac J Clin Nutr* 2001; 10 (2): 113-117
70. Gluckman PD. Nutrition, glucocorticoids, birth size, and adult disease. (Editorial). *Endocrinology* 2001; 142:1889-91.
71. Barker DJ, Fall CH. Fetal and infant origins of cardiovascular disease. *Arch Dis Child* 1993; 68:797-9.
72. Barker DJ. Mothers, babies and health in later life. London: Churchill Livingstone, 1998.
73. Parra-Gómez, Téllez-Girón, Escobar. La desnutrición y sus consecuencias sobre el metabolismo intermedio. *Rev. Fac. Med. UNAM* 2003;48:32-36
74. Barker DJ, Clarcck PM. Fetal under nutrition and disease in later life. *Rev Reprod* 1997, 2(2):105-112
75. Desai M, Crowther NJ, Lucas A, Hales CN. Organ-selective growth in the offspring of protein-restricted mother. *Br J Nutr*1996; 76(4):591-603.
76. Winick M, Noble A. Cell responses in rats during malnutrition at various ages. *J. Nutr* 1966; 89:300-306.
77. Padrón M. Obesidad infantil: un problema creciente. *Nutrición Clínica* 2002(5) 4:258-262.
78. Godfrey KM, Barker DJ. Fetal nutrition and adult disease. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1344S-1352S
79. Barker DJ. In utero programming of chronic disease. *Clin Sci (Colch)* 1998; 95:115-28.
80. Ravelli GP, Stein ZA, Susser MW. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *N Engl J Med* 1976; 295:349-53
81. Stanner SA, Yudkin JS. Fetal programming and the Leningrad Siege Study. *Twin Res* 2001;4(5):287-92
82. Langley-Evans SC, Gardner DS, Jackson AA. Maternal protein restriction influences the programming of the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J Nutr*1996; 126:1578-85.
83. Langley SC, Jackson AA. Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diets. *Clin Sci (Colch)* 1994; 86:217-22.
84. Woodall SM, Johnston BM, Breier BH, et al. Chronic maternal undernutrition in the rat leads to delayed postnatal growth and elevated blood pressure of offspring. *Pediatr Res* 1996; 40:438-43.

85. **Robinson JS, Moore VM, Owens JA, et al.** Origins of fetal growth restriction. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000;92:13-19.
86. **Vickers MH, Breler BH, Cutfield WS, Hofman PL, Gluckman PD.** Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension by hypercaloric nutrition. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 279(1): E63-7
87. **Jackson AA, Langley-Evans SC, McCarthy HD.** Nutritional influences in early life upon obesity and body proportions. *Ciba Found Symp* 1998; 201:118-29; discussion 129-37,188-93.
88. **De Oliveira Cravo C, Teixeira CV, Passos MC, Dutra SC, De Moura EG, Ramos C.** Leptin treatment during the neonatal period is associated with higher food intake and adult body weight in rats. *Horm Metab Res* 2002 34(7):400-405.
89. **Lucas A, Fextrell M.** Orígenes Fetales de la Enfermedad del Adulto. *Hipótesis Revisada.* *British Medical Journal* 1999; 319: 245-249
90. **Brophy Marcus, M.** Breast-fed babies make leaner kids. *US News &World Report* 2001; 130(21): 59.
91. **Hediger, M. L. Overpeck, MD., Ruan, W.J., et al.** Early infant feeding and growth status of US-born infants and children aged 4-71 months: analyses from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am j Clin Nutr* 2000; 72 (1):159-167.
92. **Kelly, R. A.** A predictive model for risk of overweight among children 3-5 years of age. A test of glycemic index of the diet. Unpublished doctoral dissertation, Mississippi State University, Strkville: 2001; 63-98.
93. **Singhal A, Farooqi IS, O'Rahilly S, Cole TJ, Fewtrell M, Lucas A.** Early nutrition and leptin concentrations in later life. *Am J Clin Nutr* 2002;75(6):993-999
94. **Linda N. Couvillion, BS, IBCLC Starkville MS.** Obesidad y patrones alimenticios infantiles. *LEAVEN* 38 (3) 2002.
95. **Gillman, M. W., Rifas-Shiman, S. L., Camargo, C. A., et al.** Risk of overweight among adolescents who were breastfed as infants. *JAMA* 2001; 285 (19):2461-2468
96. **Stettler, N.** Early risk factors for increased adiposity: A cohort study of African American subjects followed from birth to young adulthood. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(2):376-383.
97. **Dietz, W. H.** Breastfeeding may help prevent Childhood overweight. *JAMA* 2001; 285(19):2506-2507.
98. **Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC.** AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American institute of Nutrition Ad Hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123:1939-1951.
99. Técnica descrita por el manual del equipo Soxtec Tecatos HT 1043

100. **Cervantes Rodríguez M.** Influencia de la concentración de proteínas de la dieta sobre la producción y composición de la leche en ratas y su efecto en la composición corporal de sus crías. TESIS. 1997 Licenciatura en Nutrición. Universidad Veracruzana.
101. **Williamson DH, Munday MR, Jones RG.** Biochemical basis of dietary influences on the synthesis of the macronutrients of rat milk. 1984 Fed Proc 43:2443-2447.
102. **Gallardo Bolaños A.** Influencia de la concentración de proteínas en la dieta sobre las reservas corporales de la rata durante el periodo de gestación TESIS. 2001 Licenciatura Química de Alimentos. Facultad de Química. UNAM.
103. **Fleming AS.** Control of food intake in the lactating rat: Role of Suckling and hormones. Phys Behav 1978. 17:841-848.
104. **Anderson GD, Ahokas RA, Lipshiltz J, Dilts PV.** Effect of maternal dietary restriction during pregnancy on maternal weight gain and fetal birth weight in the rat. J Nutr 1980 110:883-890.
105. **Crníc LS, Chase HP.** Models of infantile undernutrition in rats: Effects on milk. J Nutr 1978. 108:1755-1760.
106. **Grimble RF.** The effect of dietary protein concentration and quality on the hormonal status, protein metabolism and milk protein concentration of rats. Ann Nutr Metab. 1981 25:221-227.
107. **Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, et al.** Decreased cerebrospinal-fluid serum leptina ration in obesity: A possible mechanism for leptin resistance. Lancet 1996;348:159-16

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA