



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO **UNAM** POSGRADO 

FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO
EN CIENCIAS BIOQUÍMICAS

EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN
ENERGÉTICA DURANTE LA GESTACIÓN
SOBRE LA ACTIVIDAD Y EXPRESIÓN DE
LA LIPOPROTEINA LIPASA EN RATAS
ALIMENTADAS EN LA EDAD ADULTA CON
UNA DIETA ALTA EN LÍPIDOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS (BIOQUÍMICAS)

P R E S E N T A:
HAZEL VALDEZ RODRIGUEZ

Tutor: DRA MARTHA E. DEL PRADO MANRIQUEZ



MÉXICO, D. F.

Junio 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

EFECTO DE LA RESTRICCIÓN ENERGÉTICA DURANTE LA GESTACIÓN SOBRE LA ACTIVIDAD Y EXPRESIÓN DE LA LIPOPROTEÍNA LIPASA EN RATAS ALIMENTADAS EN LA EDAD ADULTA CON UNA DIETA ALTA EN LÍPIDOS

RECONOCIMIENTOS

Esta tesis de maestría se realizó bajo la dirección de la Dra. Martha E. Del Prado Manríquez en el laboratorio de lípidos, en la Unidad de Investigación Médica en Nutrición del Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional Siglo XXI. El proyecto fue apoyado por CONACYT.

El Comité Tutorial que asesoró el desarrollo de esta tesis estuvo formado por:

Dra. Martha E. Del Prado Manríquez	Centro Médico Nacional SXXI, IMSS
Dr. Jorge Vázquez Ramos	Facultad de Química, UNAM
Dr. Ignacio Camacho Arroyo	Facultad de Química, UNAM

El Jurado de Examen de Maestría estuvo constituido por:

Presidente	Dra. Victoria Chagoya de Sánchez	Instituto de Fisiología Celular, UNAM
Vocal	Dr. Armando R. Tovar Palacio	Instituto Nacional de Nutrición "Salvador Zubirán"
Secretario	Dr. Federico Martínez Montes	Facultad de Medicina, UNAM
Suplente	Dr. Jorge Vázquez Ramos	Facultad de Química, UNAM
Suplente	Dr. Alfonso León del Río	Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Gracias Dios por permitirme crecer como persona, como profesionalista y como mujer dandome de las herramientas que necesito para cumplir las metas que me he propuesto.

Gracias a mi familia por estar conmigo en todos estos años, apoyándome incondicionalmente, dándome consejos y sobre todo queriéndome tal y como soy; les dedico esta tesis gracias Mamá y Javi.

Gracias Doctora Martha por estos años, por su paciencia y su cariño incondicional, por ser una amiga.

Gracias a mis amigos de la UIM Nutrición, con ustedes el trabajo es fácil y agradable.

Gracias Gore, Cecy, Letty, Laura, Adriana, por ser las mejores amigas. Gracias a mis amigos que aunque no los mencione saben que estan presentes en mi corazón y son parte importante de mi vida.

Gracias a todos aquellos que contribuyeron con sus ideas, comentarios, y su apoyo.

ÍNDICE

RESUMEN.....	6
ABREVIATURAS.....	10
ANTECEDENTES.....	11
LIPOPROTEÍNA LIPASA.....	12
OBESIDAD.....	19
Grasa corporal.....	21
Aspectos neuroendócrinos de la obesidad.....	25
LEPTINA.....	27
INSULINA.....	29
GENÉTICA Y AMBIENTE.....	30
Factores genéticos.....	31
Factores ambientales.....	35
Factores nutricionales.....	36
Actividad física.....	37
PROGRAMACIÓN.....	37
OBJETIVO GENERAL.....	44
HIPÓTESIS GENERAL.....	44
MATERIAL Y MÉTODOS.....	45
1. ANIMALES.....	45
2. REGISTRO Y CONSUMO DE ALIMENTO.....	47
3. REGISTRO DEL PESO CORPORAL DE LA RATA MADRE Y LAS CRÍAS.....	47
4. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL DE LAS RATAS.....	47
Contenido de agua.....	48
Contenido de nitrógeno.....	48

Contenido de lípidos.....	48
5. DETERMINACIÓN DE LA INCORPORACIÓN Y OXIDACIÓN DE ¹⁴ C TRIOLEINA	48
6. METABOLITOS Y HORMONAS EN SANGRE.....	51
7. LIPOGÉNESIS.....	52
8. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA LPL.....	52
Preparación del polvo acetónico.....	52
Extracción de la enzima.....	53
Medición de la actividad de la LPL.....	53
9. EXTRACCIÓN DE RNA.....	54
Cuantificación e integridad del RNA.....	55
Cuantificación del mRNA de la lipoproteína lipasa.....	55
RESULTADOS.....	55
DISCUSIÓN.....	72
CONCLUSIONES.....	78
PERSPECTIVAS.....	79
REFERENCIAS.....	80

RESUMEN

INTRODUCCION En la última década hay evidencia que sugiere que las intervenciones nutricionales durante el embarazo dan como resultado el desarrollo de adaptaciones que cambian permanentemente la estructura, fisiología y metabolismo del feto. Estos cambios predisponen el comienzo de enfermedades cardiovasculares, hipertensión, diabetes mellitus tipo 2, **obesidad** y arteriosclerosis. La prevalencia de obesidad está actualmente aumentando en México y en países en desarrollo en el mundo. En México, los datos de la última Encuesta Nacional de Salud y Nutrición muestran que la prevalencia de obesidad ha sido duplicada en los últimos 10 años, la incidencia de obesidad es de más del 60% en hombres y en mujeres menores a 40 años de edad.

La obesidad es un síndrome multifactorial en donde el ambiente social, ambiental y conductual influye e interactúan con el genotipo. Varios estudios epidemiológicos relacionan un ambiente intrauterino adverso con el desarrollo subsiguiente de enfermedades metabólicas y degenerativas. Las bases moleculares y ambientales de esta relación y del papel relativo de los genes y del ambiente continúan inciertos. La hipótesis del origen fetal propone que un ambiente intrauterino adverso durante un periodo crítico de desarrollo puede alterar el medio hormonal y metabólico fetal, el cual puede conducir a desórdenes metabólicos, endocrinos y cardiovasculares cuando un estímulo externo se aplica. Modelos animales de restricción del crecimiento temprano han sido desarrollados para comprender su relación con las enfermedades en adultos y proveer los mecanismos moleculares. Algunos estudios en ratas adultas, los cuales usan una restricción del 70% del consumo de alimento durante la gestación, han mostrado que inducen un aumento en la presión sistólica, aumentando significativamente durante el ayuno las concentraciones de insulina y leptina comparadas con las camadas controles.

Estas camadas desarrollan hiperfagia desde la edad postnatal temprana y continúan incrementando su consumo de alimento por el resto de sus vidas; esto se amplifica con una nutrición hipercalórica. Usando una restricción del 50% en el consumo de alimento desde el día 15 de gestación hasta el destete, se ha reportado una pérdida dependiente de la edad de la tolerancia a la glucosa, además se encontró un incremento en el consumo de alimento, mayor adiposidad, elevación de la composición de lípidos y mayores velocidades de ganancia de peso. Este trabajo fue diseñado para estudiar algunas de las adaptaciones en el metabolismo de los lípidos involucradas en el desarrollo de la obesidad usando un modelo de desnutrición durante la gestación.

La LPL es una enzima extracelular fisiológicamente activa en la superficie luminal del endotelio capilar de muchos tejidos extrahepáticos, donde cataliza la hidrólisis de los triacilgliceroles en los quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad, permitiendo a los tejidos usar los ácidos grasos para su almacenamiento y oxidación. La actividad de la LPL cambia rápidamente con el estado nutricional, y determina la velocidad a la cual los tejidos pueden utilizar los triacilgliceroles. Varios estudios muestran que después de una comida, la actividad de la LPL se eleva en el tejido adiposo comparado con el músculo, resultando en la partición de los ácidos grasos de los triacilgliceroles circulantes al tejido adiposo para su depósito. Durante el ayuno sucede lo contrario en relación a la elevación de la actividad de la LPL en músculo, redireccionando los ácidos grasos de los triacilgliceroles al tejido para su oxidación y alejándose de su almacenaje en el tejido adiposo.

Algunos estudios han mostrado que la actividad de la LPL es mayor en el tejido adiposo de los sujetos obesos comparados con los delgados. En humanos obesos se reportó que la actividad de la LPL en el tejido adiposo no disminuye después de un periodo de control de peso y aún a veces se incrementa. En ratas genéticamente obesas, una elevada actividad de la LPL en el tejido adiposo persiste aún bajo una dieta control, ayuno, ejercicio, tratamiento farmacológico o intervención quirúrgica.

OBJETIVO Evaluar la captación de lípidos, la expresión y la actividad de la LPL en el tejido adiposo y en tejidos oxidativos en animales adultos restringidos energéticamente al 50% durante su gestación y alimentados con una dieta alta en lípidos post-destete.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se utilizaron ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley gestantes alimentadas *ad libitum* (grupo control (NR) o restringidas al 50% de la dieta *ad libitum* (grupo R). Las crías del grupo R fueron alimentadas por nodrizas durante la lactancia. Las crías macho a partir del día 21 de lactancia (destete) fueron alimentadas *ad libitum* con una dieta que contiene el 4% de lípidos (NL) o una dieta con el 40% de lípidos (AL). A los 80 días de edad, se determinó la composición corporal de los grupos estudiados, además de la oxidación e incorporación de ^{14}C -trioleína en los tejidos y la lipogénesis en el hígado y en tejido adiposo epididimal.

RESULTADOS Se encontró que el peso corporal así como el porcentaje de lípidos en el hígado, el tejido adiposo epididimal y la carcasa fueron significativamente mayores entre el grupo R/AL comparado con el grupo control. La actividad de la lipoproteína lipasa fue mayor en tejido adiposo y músculo esquelético en los grupos sometidos a restricción energética durante la gestación comparados con los grupos no restringidos. La incorporación de un lípido marcado fue mayor en los grupos sometidos a restricción energética durante la gestación comparados con su control no restringido.

CONCLUSIONES La restricción durante la gestación conduce al aumento en el porcentaje de grasa corporal en la edad adulta, sin cambios aparentes en la ingesta total de energía.

El aumento en el consumo de lípidos potencia el efecto de la restricción de alimento durante la gestación sobre el desarrollo de la obesidad en la rata. Las ratas restringidas durante la gestación presentan mayores concentraciones séricas de insulina, leptina, glucosa y triacilgliceroles como resultado del desarrollo de obesidad. El aumento en la captación de lípidos por los tejidos en los animales obesos está relacionado con un aumento en la actividad enzimática de la LPL. La regulación de la enzima en este modelo no ocurrió mediante un mecanismo transcripcional, sino a través de algún otro de los mecanismos reportados para la enzima, como la glicosilación y dimerización de la enzima, un cambio en la relación entre la degradación y la activación de la enzima o durante la transición de la enzima a su sitio de acción en la superficie del lumen del endotelio capilar.

ABREVIATURAS

LPL	Lipoproteína lipasa
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
TAG	Triacilgliceroles
3T3L1	Línea celular de tejido adiposo de ratón
BMM	Macrófagos derivados de la médula de huesos murinos
IMC	Índice de masa corporal
GABA	Ácido gamma aminobutírico
POMC	Proiomelanocortina
MSH	Hormona estimulante de melanocitos
CRH	Hormona liberadora de corticoesteroides,
GLUT4	Transportador de glucosa
UCP	Proteína desacoplante
PPAR	Peroxisome proliferator activated receptor
AGRP	Proteína relacionada con el agouti
NR	Grupo sin restricción de alimento durante la gestación
R	Grupo restringido de alimento durante la gestación
NL	Dieta post-destete con contenido de lípidos normal
AL	Dieta post-destete con contenido de lípidos alto

ANTECEDENTES

Los triacilgliceroles constituyen más del 90% de los lípidos consumidos en la dieta occidental promedio de un adulto. Los lípidos después de su digestión se transportan en el torrente sanguíneo en forma de lipoproteínas, ya sea como quilomicrones (formados en el epitelio intestinal) o como lipoproteínas de muy baja densidad VLDL (formadas en el hígado). Los triacilgliceroles en estas lipoproteínas son procesados por la lipoproteína lipasa para liberar ácidos grasos, los cuales pueden ser re-esterificados y almacenados como triacilgliceroles en los adipocitos, metabolizados para ser utilizados como fuente de energía en diversos tejidos como el músculo esquelético y el corazón, o liberados al torrente sanguíneo unidos a albúmina (Fig 1)^{51,61}.

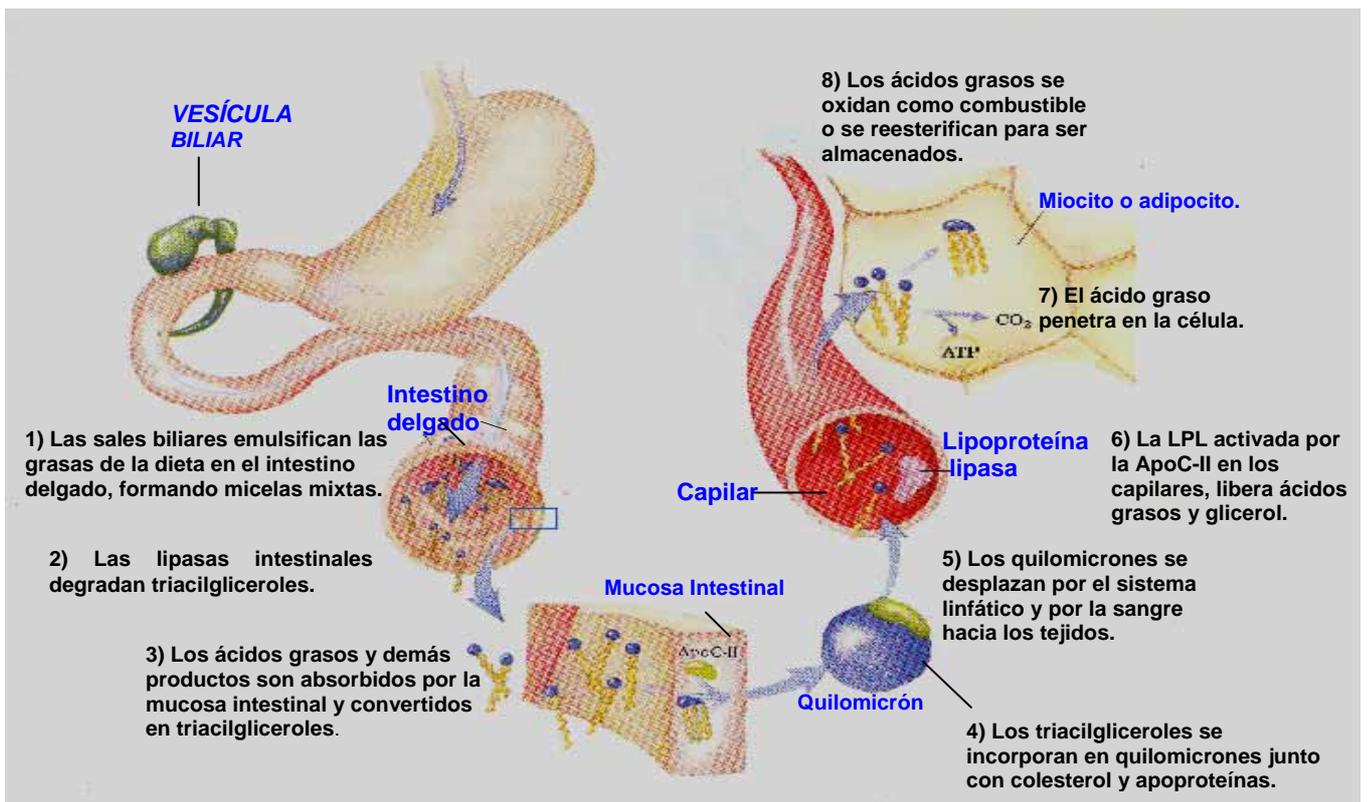


Figura 1. Digestión y absorción de los lípidos¹²³.

LIPOPROTEÍNA LIPASA

La LPL es una glicoenzima producida por varios tejidos, actúa en la superficie del lumen del endotelio capilar y su función es la de hidrolizar los ácidos grasos de los triacilgliceroles en las lipoproteínas circulantes, dando como producto final monoacilgliceroles, ácidos grasos libres y lipoproteínas de densidad intermedia ⁸⁰. La lipólisis mediada por la LPL promueve el intercambio de lípidos entre las lipoproteínas (Fig 2). El sustrato preferencial de esta enzima es uno de los enlaces éster primarios en los triacilgliceroles, y el mecanismo propuesto es un ataque nucleofílico por una serina activa. La LPL requiere de la presencia de la apolipoproteína CII (que se encuentra en los quilomicrones y VLDL) para su activación, incrementando la afinidad del sitio activo de la enzima por los triacilgliceroles (Fig 3)²⁴². Además de su acción lipolítica, la LPL facilita la transferencia de ésteres de colesterol entre las lipoproteínas y dentro de las células ^{60,79}.

La LPL es sintetizada en las células parenquimales, pero funciona en la superficie luminal del endotelio vascular ^{179, 284}. Se ha demostrado que el transporte de la LPL de la parte basolateral a la apical en cultivos de células está modulado por dos procesos: la unión de la LPL a los proteoglicanos de sulfato de heparan y la interacción con los receptores de la VLDL. El papel de los proteoglicanos de sulfato de heparán es concentrar a la LPL en la superficie celular e incrementar la eficiencia de la unión a los receptores de la superficie de las células¹⁵⁹; especialmente a los receptores de VLDL, los cuales están regulados por la ingesta de alimento y el ayuno, mientras que su expresión tiene cambios paralelos a la actividad de la LPL en el tejido adiposo y en el muscular³⁹. Los proteoglicanos de sulfato de heparán participan junto con la familia de receptores de LDL para internalizar y transferir los ligandos de los espacios intersticiales a la circulación. Este proceso puede ser importante para el transporte extracelular de la LPL activa¹⁵⁷. Este transporte denominado transcitosis puede ser utilizado tanto de la parte interna de la célula hacia la circulación como en sentido contrario para su degradación ⁹⁹.

La secuencia completa de la LPL consta de 475 aminoácidos, incluyendo una secuencia líder de 27 aminoácidos¹¹²; la proteína madura contiene 448 aminoácidos con una masa molecular de 50.4 kDa. La secuencia de aminoácidos de la LPL en ratón, vaca y cobayo tiene una identidad del 90% con la LPL del humano.

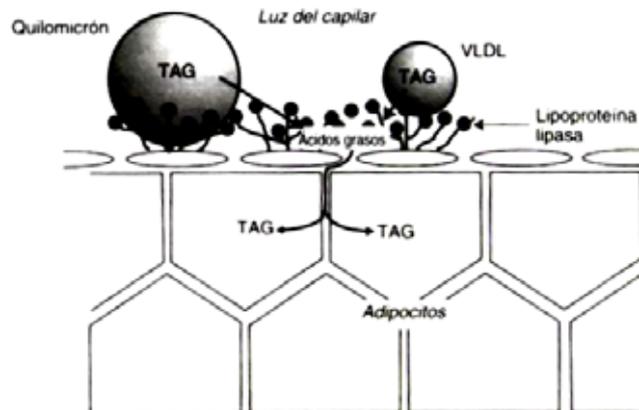


Figura 2. Acción de la lipoproteína lipasa en el tejido adiposo blanco⁷¹

El gen humano de la LPL ha sido localizado en la región p22 del brazo corto del cromosoma 8; en la rata el gen de la LPL se localiza en la región p14 del brazo corto del cromosoma 16. El gen abarca aproximadamente 30 kb y contiene 10 exones y 9 intrones.

Se han identificado seis sitios funcionales dentro del monómero de la LPL:

- i) un péptido señal de 27 aminoácidos que se elimina de la proteína,
- ii) un sitio catalítico,
- iii) un sitio de interacción con la apolipoproteína CII,
- iv) un sitio de unión entre fases
- v) un sitio de unión de polianiones para la interacción con los proteoglicanos de sulfato de heparán en el endotelio vascular y
- vi) un sitio para las interacciones no covalentes subunidad-subunidad.

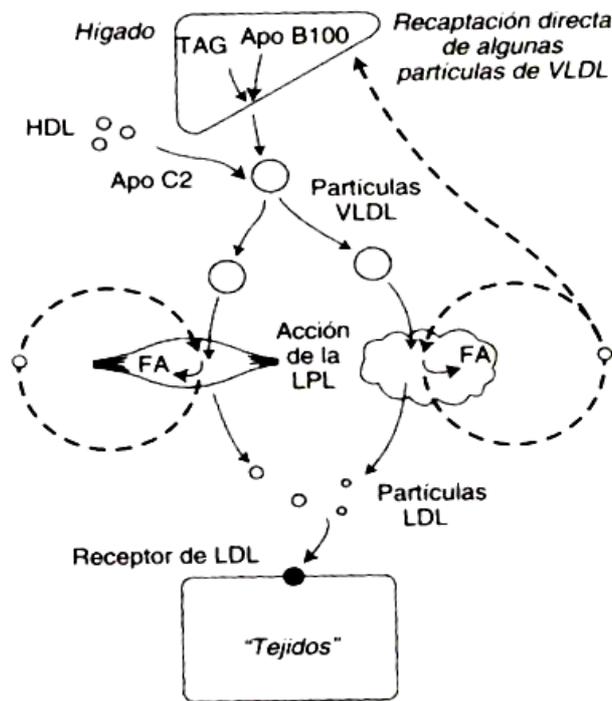


Figura 3. Acción de la LPL sobre las lipoproteínas ⁷¹

Aunque un gen sencillo codifica a la LPL, la expresión de esta enzima es tejido específica, sugiriendo que la transcripción del gen de la LPL está regulada por elementos de acción cis tejido-específicos, tanto positivos como negativos^{117, 160, 191,193}. En los humanos hay dos especies de mRNA de 3350 y 3750 pares de bases; sin embargo en la rata solamente se ha observado una especie del mRNA de la LPL.

La síntesis de la LPL en el retículo endoplásmico rugoso da como resultado una subunidad de 55 kDa, una glicoproteína que contiene 8-12% de carbohidratos; se ha identificado a la LPL como un homo dímero¹⁰⁶ que pierde rápida y progresivamente su actividad hidrolítica con la disociación¹⁶. La glicosilación de la LPL (Fig 4) inicialmente involucra la transferencia de un oligosacárido ligado a lípidos [Glc₃-Man₉ (GlcNAc)₂] a residuos específicos de arginina en el polipéptido naciente^{17, 161}. El carbohidrato unido al extremo amino terminal de la LPL sufre una serie de modificaciones conforme la enzima es

transportada a través del retículo endoplásmico rugoso y del complejo de Golgi, cada uno con enzimas específicas para el procesamiento de la glicoproteína. La estructura que entra en el Golgi trans [GlcNAc-Man₃ (GlcNAc)₂-proteína] es modificada por una serie de reacciones de transferencia para añadir GlcNAc, galactosa y ácido siálico dando como resultado una gran variedad de cadenas de oligosacáridos complejas. La LPL puede existir en varias formas glicosiladas dependiendo del tejido y la especie. Las glicoproteínas procesadas en el Golgi tienen como destino: i) los lisosomas, ii) su incorporación a las vesículas secretoras y iii) el transporte a la membrana celular³¹.

La LPL se localiza en muchos tejidos: tejido adiposo (blanco y pardo)²⁶⁶, corazón, glándula mamaria (durante la lactancia), músculo esquelético (principalmente en el compuesto de fibras rojas de contracción rápida), glándula suprarrenal, ovario, aorta torácica, intestino delgado, pulmón, cerebro (en el área del hipocampo), vesícula e hígado (aunque solo se expresa en el hígado de los neonatos). De estos tejidos, el músculo cardíaco, el tejido adiposo y la glándula mamaria lactante parecen contener la mayor cantidad de mRNA específico para la LPL. Diversos estudios han sugerido que la actividad de la LPL en el hígado, cerebro¹⁵, tejido adiposo pardo y pulmón es más importante durante el desarrollo fetal y en el periodo postnatal inmediato^{39, 60, 233}.

La actividad de la LPL responde a cambios en el estado de alimentación o nutrición del sujeto^{204, 205, 212, 213, 268}. En el tejido adiposo, la actividad de la LPL se incrementa después de la ingestión de alimento y disminuye en condiciones de ayuno (Fig 5)^{19, 119, 200}.

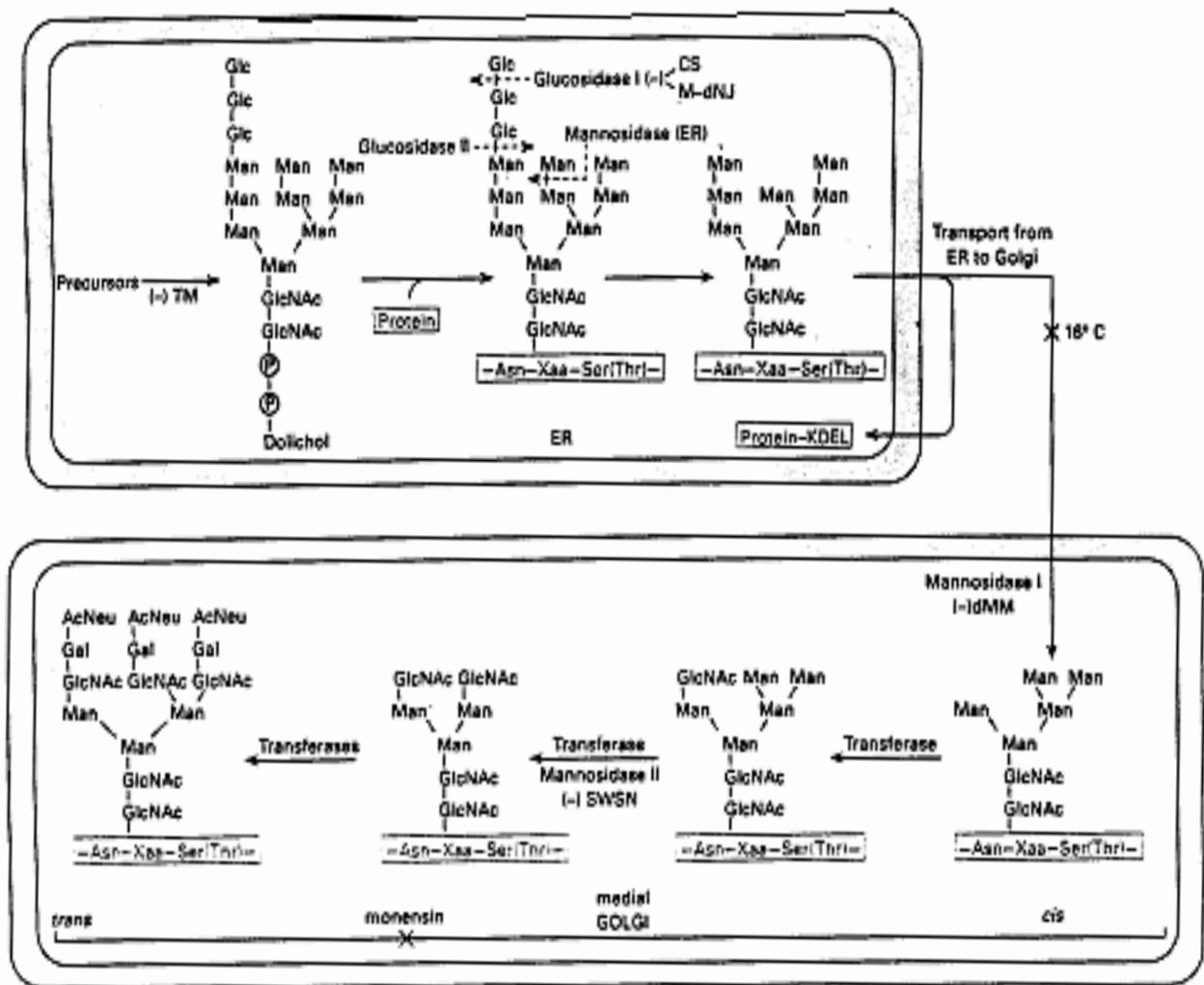


Figura 4. Reacciones involucradas en la síntesis y procesamiento de las glicoproteínas unidas al extremo amino en el retículo endoplásmico y en el aparato de Golgi.

En las ratas alimentadas con dietas con diferente composición, la actividad de la LPL en los diferentes tejidos presenta diferencias dependiendo de la composición de la dieta ^{9, 229}. La actividad de la LPL es mucho mayor en el tejido adiposo de las ratas alimentadas con una dieta alta en carbohidratos que con una dieta alta en lípidos, mientras que en estas mismas condiciones la actividad de la LPL en músculo disminuye¹²¹. En las ratas con libre acceso a una dieta alta en lípidos, la actividad de la LPL en el tejido adiposo es baja mientras que en el músculo es mayor comparada con la que presentan las ratas alimentadas con una dieta normal en lípidos ^{9, 52}. La actividad de la LPL en plasma se incrementa cuando la concentración de lípidos aumenta como respuesta a la ingestión de una comida rica en grasa, este aumento puede deberse a varios factores como: un incremento de la estabilidad de la lipasa en el plasma, un aumento en la liberación de la enzima desde los tejidos al plasma, o a una disminución de su degradación en el plasma^{9,}

33, 55, 153, 179 ·

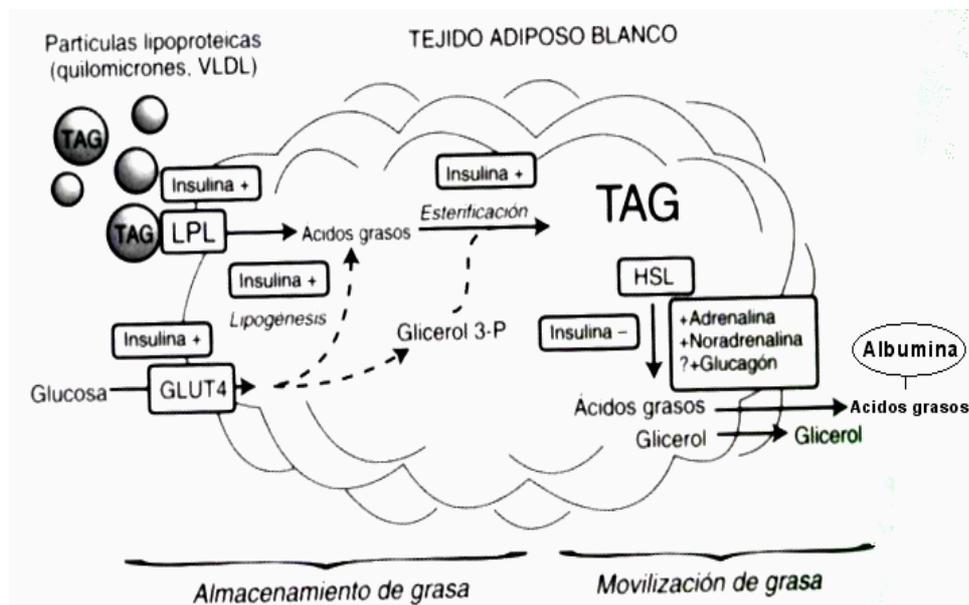


Figura 5. Captación y movilización de los lípidos y carbohidratos en el tejido adiposo.

Se ha reportado que en ratas sometidas a un periodo de ayuno la actividad de la LPL en el músculo esquelético se eleva y en el tejido cardiaco se mantiene elevada por al menos 48 h después de la ausencia de comida^{29, 45, 115, 122}. En contraste, en condiciones de ayuno, la actividad de la LPL disminuye en el tejido adiposo ^{20, 142}. El músculo esquelético puede ser mas activo que el tejido adiposo en la hidrólisis de los triacilglicerolos circulantes ya que en el músculo la Km de la LPL es menor que en el tejido adiposo^{14, 23, 68}.

El perfil de expresión de la LPL está regulado por diversos estados fisiológicos, con cambios recíprocos en la utilización de los ácidos grasos de acuerdo a las demandas metabólicas²⁷. Los cambios en la expresión de la LPL están mediados predominantemente a través de la acción de hormonas, como la insulina^{34, 73, 151, 162}, glucocorticoides ²³⁹ y adrenalina ^{121, 163, 242, 269}. En la Tabla 1 se presentan algunos de los efectos de una variedad de hormonas sobre la expresión y actividad enzimática ¹⁴³.

Además del efecto que tienen las hormonas sobre la actividad y expresión de la LPL, la enzima también se regula de una manera tejido/célula específica¹⁵ y por la edad²⁰. Este control puede ocurrir a nivel transcripcional mediante factores en *cis* y en *trans* y a nivel post-transcripcional ^{58, 61, 152, 191}. En relación a este último, la regulación puede estar mediada en un gran número de pasos, los cuales incluyen la estabilidad del mRNA, la traducción, la degradación de la proteína, el procesamiento, la secreción, la translocación a su sitio de acción y la inhibición competitiva por productos^{65,113,141,143, 214, 218}.

TABLA 1. Reguladores de la expresión y actividad de la LPL

Mediador	Tipo de célula o tejido	Efecto
Catecolaminas	Tejido adiposo pardo de rata	↑ actividad
	Miocitos cardiacos rata	↑ actividad
	Tejido adiposo blanco rata	↓ actividad
Hormona del crecimiento	Ob1771	↑mRNA, ↑ actividad
Glucocorticoides	Preadipocitos primarios humanos	↑mRNA, ↑ actividad
	3T3-L1**	↑mRNA, ↑ actividad
	Preadipocitos primarios rata	↓mRNA, ↓ actividad
Insulina	Preadipocitos primarios humanos	↑ actividad
	3T3-L1	mRNA (sc), ↑ actividad
	Macrófagos peritoneales ratón	mRNA (sc)
Estrógeno	3T3-L1	↓ mRNA
Prolactina	3T3-L1	↑ actividad
Hormona	3T3-L1	mRNA (sc), ↓ actividad
Ácido Retinóico	3T3-L1	mRNA (sc), ↓ actividad
	BMM*	↓ actividad
Tiroxina	Tejido adiposo café rata	↑ actividad
	Tejido adiposo blanco rata	mRNA (sc), ↑ actividad
	Corazón rata	mRNA (sc), ↑ actividad
Vitamina D3	3T3-L1	↑ mRNA, ↑ actividad

BMM* macrófagos derivados de la médula de huesos murinos; sc sin cambio, ↑ incremento; ↓ disminución₁₄₃, 3T3L1** Línea celular de tejido adiposo de ratón

OBESIDAD

En la actualidad se acepta que la obesidad es un síndrome multifactorial, caracterizado por alteraciones metabólicas, más frecuentemente observada en la población a nivel mundial, es un problema de Salud Pública que afecta tanto a países desarrollados como en vías de desarrollo. A partir de 1994 se detectó un aumento considerable en el número de sujetos obesos en varios países del mundo y se comenzó a identificar como una epidemia global. En la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición realizada en 1999 en la República Mexicana se mostró que la prevalencia de obesidad prácticamente se ha duplicado en los últimos 10 años, y que esta prevalencia es mayor al 60% en hombres y mujeres mayores de 40 años.

La etiología de la obesidad es desconocida, en los últimos años se han realizado una gran variedad de estudios en animales y en humanos, tratando de encontrar las causas del aumento exagerado en el número de sujetos obesos, lográndose importantes avances en la comprensión de algunos de los factores involucrados en el desarrollo de esta enfermedad, dentro de los cuales destacan los desajustes en el control del comportamiento alimentario, en los mecanismos de almacenamiento de las grasas y en el equilibrio entre la ingestión y el gasto de energía, así como las influencias endocrinas, psicológicas, genéticas, sociales y ambientales ^{74,75,240}.

La obesidad es una enfermedad crónica, de origen multifactorial, caracterizada por un almacenamiento en exceso de la grasa corporal, en donde se entrelazan interacciones en el desarrollo entre el ambiente con el genotipo ^{5, 74, 240}.

La obesidad incrementa de forma importante el riesgo de morbi-mortalidad, ya que se ha relacionado con el desarrollo de aberraciones metabólicas como la intolerancia a la glucosa, la hiperinsulinemia y la hipertrigliceridemia, lo que aumenta el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares, la incidencia de infartos, además del desarrollo de diabetes mellitus tipo II, artritis, hipertensión arterial, dislipidemia,

enfermedades vesiculares, respiratorias y osteoarticulares, y algunas formas de cáncer (cáncer de colón y de mama), además del efecto psicológico que afecta a las personas obesas ^{8, 203, 240}.

Grasa corporal

El cuerpo humano almacena grasa en el tejido adiposo, esta grasa es una fuente de energía necesaria para llevar a cabo los procesos necesarios para la vida. Además de la función de almacén de energía, el tejido adiposo tiene otras funciones como: aislante térmico (grasa subcutánea), protección mecánica y órgano endocrino, secretando numerosas sustancias – leptina y adiponectina, entre otras- que participan en variadas funciones como la regulación del peso corporal, el desarrollo y crecimiento del tejido adiposo, la termogénesis y en procesos de inmunidad, coagulación sanguínea, presión arterial, pubertad y reproducción ^{203, 216}.

El tejido adiposo ha sido considerado un tejido de reserva energética, el cual almacena la energía ingerida en exceso en forma de triacilgliceroles intra-adipocitarios, lo que le permite a los seres vivos asegurar la continuidad de la especie y su supervivencia en tiempos de escasez alimentaria²⁴⁰. La alta densidad calórica y la naturaleza hidrofóbica de los triacilgliceroles permiten un eficiente almacenaje de energía sin consecuencias osmóticas. La cantidad de triacilgliceroles en el tejido adiposo es la suma acumulativa a través del tiempo de la diferencia entre la energía consumida (alimento) y la energía gastada (metabolismo en reposo y actividad física). Aunque los mecanismos de homeostasis guardan esta diferencia muy cercana a cero, pequeños cambios en un largo periodo de tiempo pueden tener un efecto en la acumulación, incrementando el número y tamaño de los adipocitos ^{203,240}.

Desde un punto de vista morfológico y funcional, el tejido adiposo puede dividirse en dos tipos, pardo y blanco; a pesar de tener un origen en común, tienen una función diferente. El tejido adiposo blanco contribuye normalmente con un 15 a un 25% del peso

corporal en el ser humano, es el verdadero órgano almacén de energía, se distribuye en el tejido subcutáneo, en las vísceras y en el retroperitoneo, teniendo diferencias funcionales entre ellos. El tejido adiposo pardo contribuye con alrededor del 1% del peso corporal del adulto, siendo más abundante al momento del nacimiento y disminuyendo paulatinamente con la edad. En animales inferiores está presente en forma muy importante, desempeñando un papel trascendental en la termorregulación y en el control del peso corporal; se distribuye superficial y profundamente, localizándose principalmente en regiones perirrenales, axiales, escapulares, subscapulares y rodeando grandes vasos sanguíneos, es activado de manera natural por la exposición al frío y por la sobrealimentación²⁴⁰.

Los adipocitos del tejido adiposo blanco tienen numerosos receptores de membrana, especialmente hormonales, que permiten detectar rápidamente las variaciones en los niveles de las hormonas circulantes ocasionados por cambios en la alimentación, y cuyo resultado es almacenar energía si existe exceso de ella (lipogénesis) o la hidrólisis de los triacilgliceroles (lipólisis) para obtener energía cuando la ingesta es insuficiente²⁴⁰.

La homeostasis energética está controlada por efectos coordinados en el consumo de alimento y en el gasto mediados por señales endocrinas y neuronales que emanan del tejido adiposo y de los sistemas endocrino, gastrointestinal y neurológico y están integrados por el sistema nervioso central. Un gran número de factores originados en el cuerpo mandan señales aferentes a un pequeño número de centros funcionales en el sistema nervioso central, las cuales median las interacciones con las rutas eferentes para regular el gasto de energía, a través de sistema nervioso simpático y parasimpático y las hormonas tiroideas, y el consumo de energía - a través del patrón de alimentación²⁰³.

La distribución de la grasa corporal no es homogénea y ha adquirido importancia como un factor pronóstico de morbimortalidad. Desde un punto de vista clínico, la obesidad puede clasificarse de acuerdo a la distribución de la grasa en obesidad ginecoide y androide. La ginecoide se refiere a la acumulación de grasa en la parte glúteo-femoral, comúnmente observada en mujeres, especialmente en edad reproductiva. En este tipo de distribución periférica de grasa corporal, las complicaciones metabólicas son poco frecuentes e importantes, siendo más bien de tipo mecánicas y estéticas. El tejido adiposo subcutáneo glúteo-femoral tiene un metabolismo lento, con una alta actividad lipogénica y muy baja lipólisis, dada por la escasa densidad de receptores β -adrenérgicos y alta en α_2 -adrenérgicos. La obesidad androide se presenta cuando la acumulación de grasa se concentra en la parte abdominal, preferentemente en hombres, pero también en mujeres menopáusicas. Anatómicamente la grasa abdominal puede dividirse en subcutánea y visceral, siendo ésta última de mayor importancia por su asociación con diversas enfermedades cardiovasculares y metabólicas, que pueden conducir al desarrollo de resistencia a la insulina e hiperinsulinemia. El contenido de grasa en el tejido adiposo visceral se correlaciona positivamente con la cantidad total de grasa corporal, existiendo diferencias inter-individuales producidas por numerosos factores ambientales y genéticos. Este tejido adiposo tienen un predominio de receptores β -adrenérgicos y glucocorticoideos sobre los α_2 -adrenérgicos, lo que hace predominar la lipólisis sobre la lipogénesis, generando un vaciamiento directo de los ácidos grasos libres hacia el sistema venoso porta, lo que produce una alteración de la degradación de la insulina asociada a un aumento en la síntesis de triacilglicérols y de la gluconeogénesis. Una distribución androide de la grasa corporal está asociada con un mayor riesgo de morbilidad y mortalidad que una distribución más periférica de la grasa corporal y puede ser un mejor indicador de riesgo de morbilidad que el de la grasa corporal total^{203, 240}.

El tipo de distribución de grasa corporal esta asociada con diferencias en la distribución de la actividad de la LPL en las diferentes regiones del cuerpo²⁰³.

La medición de la grasa corporal total es el principal instrumento para el diagnóstico de obesidad. En el humano, el índice de masa corporal (IMC; Kg./m²) es el más utilizado en la actualidad para definir el estado nutricional y para el diagnóstico de la obesidad. Se ha encontrado una fuerte correlación entre el IMC con las mediciones directas de grasa corporal, un IMC > 28 se utiliza en el diagnóstico de obesidad e indica un riesgo para la salud²⁰³.

Dada la importancia de los almacenes de energía para la sobrevivencia individual y la capacidad reproductiva, la capacidad de conservar energía en forma de tejido adiposo puede de cierta forma ser atribuido como una ventaja de sobrevivencia. Por esta razón, los humanos se han adaptado a su ambiente y evolucionado, teniendo genes que favorecen el consumo y almacenaje de energía y disminuyen el gasto energético²⁰³.

Se ha sugerido que la obesidad en los humanos y en las ratas genéticamente obesas Zucker (fa/fa) puede ser, en parte, el resultado de una actividad anormalmente elevada de la LPL^{72, 86}. Las personas obesas y las ratas genéticamente obesas tienen niveles elevados en la actividad de la LPL en el tejido adiposo cuando se comparan con personas delgadas y ratas control no obesas^{25, 26, 50, 85}. En las ratas Zucker se han encontrado alteraciones detectadas desde edad temprana y que se mantienen durante toda la vida, aún cuando se mantenga un peso corporal reducido; dentro de estas alteraciones se encuentra una elevada actividad de la LPL en el tejido adiposo ^{42, 152, 236}. Se ha sugerido que la permanencia de elevados niveles de actividad de la LPL durante periodos de pérdida de peso puede dar como resultado una reducción desproporcionada de la masa corporal de varios de los compartimentos, manteniendo el tamaño del tejido adiposo a expensas de otros órganos vitales⁸⁵. La hipótesis propuesta por Greenwood menciona que la elevación temprana de la actividad de la LPL en el tejido adiposo en las ratas Zucker da como

resultado una deposición excesiva de triacilgliceroles en el tejido adiposo y consecuentemente una reducción de la masa corporal libre de grasa en crecimiento, ocasionando como una respuesta compensatoria un aumento en el consumo de alimento utilizado para mantener la masa corporal libre de grasa, mientras que provee al tejido adiposo con sustratos para su demanda incrementada de triacilgliceroles.

Las ratas genéticamente obesas Zucker (*fa/fa*) han sido un modelo excelente para el estudio del desarrollo temprano de la obesidad^{42, 47,136}. En una etapa temprana, estos animales muestran varias alteraciones metabólicas como hiperinsulinemia, una elevada lipogénesis hepática la cual da como resultado un perfil lipogénico elevado crónico. También se ha identificado una elevación en los niveles de LPL en el tejido adiposo. En ratas Zucker, la actividad elevada de la LPL está asociada desde la primera o segunda semana de vida con un incremento en el tamaño de los adipocitos y en el contenido de lípidos de la carcasa¹³⁶. En un estudio realizado en ratas Zucker obesas se encontró una mayor actividad de la LPL por adipocito que en los adipocitos de las ratas control, aunque la actividad específica de la LPL, los gramos de LPL en el tejido, y la Km en extractos crudos no eran diferentes. En estos animales obesos se encontró que el músculo crecía mas lentamente y oxidaba menos glucosa y mas ácidos grasos y aminoácidos que en los animales controles. Se ha sugerido que el músculo esquelético puede tener una importante contribución al desarrollo o mantenimiento de la obesidad, ya que pequeñas diferencias en la energía utilizada por el músculo en el tiempo pueden dar como resultado un gran cambio en la masa del tejido adiposo. El músculo de los animales obesos a las 12 semanas de edad oxida mas ácidos grasos libres que el de los no obesos y responde rápidamente a un ayuno corto aumentando el porcentaje de los lípidos oxidados ¹⁴².

La observación de que la actividad de la LPL en el tejido adiposo permanece elevada en la rata obesa Zucker, aún en condiciones catabólicas normales, sugiere que el tejido adiposo de estos animales puede presentar una elevada captación crónica de triacilgliceroles asociada con una mayor actividad de la enzima ¹³⁶.

Aspectos neuroendocrinos de la obesidad

Numerosos factores biofisiológicos afectan la conducta alimentaria. El núcleo arcuato y el núcleo paraventricular en la parte ventromedial del hipotálamo son partes de un sistema que integra la composición corporal con la conducta alimentaria y el gasto energético. El estímulo neurológico aferente (vago y catecolaminérgico) y el estímulo hormonal (insulina, colecistoquinina, leptina y glucocorticoides) junto con el estado metabólico son recibidos en el hipotálamo, donde modulan la liberación de péptidos que se sabe afectan el consumo de alimento y a las señales eferentes al eje hipotálamo-pituitario (resultando una mediación endocrina de la disposición de combustibles) y el sistema nervioso autónomo (resultando en la liberación de insulina y el gasto de energía)⁸¹.

Las hormonas gastrointestinales que controlan el apetito y la saciedad son producidas en respuesta al consumo de alimento, y están mediadas por hormonas y neuropéptidos. La zona donde se reciben estas señales es el hipotálamo, y su regulación e interconexión constituyen un control importante en la homeostasis energética⁸¹.

Las monoaminas y los neuropéptidos poseen potentes y variados efectos sobre los centros cerebrales que regulan la conducta alimentaria. Diversos neurotransmisores influyen para estimular el aumento del apetito, dentro de estos se encuentran el ácido gama aminobutírico (GABA), el factor liberador de la hormona de crecimiento y varias clases de neuropéptidos como los opioides, la galanina, el neuropéptido Y y el péptido YY. Por otro lado, entre los neurotransmisores con efecto inhibitorio sobresalen la serotonina, la dopamina, la noradrenalina, la neurotensina, la calcitonina, el glucagon, la hormona liberadora de corticoesteroides (CRH) y la urocortina^{74, 203}.

Los núcleos hipotalámicos que conforman el centro del apetito contienen vías neuronales múltiples que se dividen en anabólicas y catabólicas. La vía anabólica está representada por el núcleo del arcoato-paraventricular-neuropéptido Y, que al responder a una estimulación periférica produce el incremento en la ingestión de alimento y el almacenamiento de los depósitos de energía en el organismo. El sistema es regulado negativamente por la leptina y por la insulina, desde la periferia después de haber atravesado la barrera hematoencefálica⁷⁴.

El sistema catabólico está representado por péptidos específicos de la familia del proopiomelanocortina (POMC), cuyos cuerpos neuronales se encuentran en el núcleo arcoato y proyectan sus axones al núcleo paraventricular; cuando actúan con receptores de melanocortina producen un potente efecto de saciedad. El péptido de esta familia con una mayor participación en el control de la ingestión de los alimentos y el peso corporal es la hormona estimulante de los melanocitos- α (MSH- α). El sistema inhibitorio de la ingestión de alimentos lo estimula la leptina y la insulina⁷⁴.

En ratas, las lesiones que dañan la parte ventromedial del hipotálamo causan hiperinsulinemia, hiperfagia e hipo-metabolismo. La obesidad resultante se mantiene por ajustes apropiados en el consumo de alimento y en el gasto de energía, sugiriendo que las lesiones en este núcleo alteran una parte específica de un mecanismo de regulación en el peso corporal ²⁰³.

Se piensa que en las personas obesas existe una alteración de las señales humorales que funcionan como aferentes para la regulación del apetito a nivel hipotalámico⁴, debido a un aumento en la sensibilidad al neuropéptido Y. Esto condiciona a un aumento del apetito, el aumento en la lipogénesis y la disminución del metabolismo basal y del consumo de oxígeno⁷⁴.

LEPTINA

La leptina, descubierta en 1994, es una proteína plasmática de 16 kDa constituida por 167 aminoácidos; es sintetizada principalmente en el tejido adiposo y es transportada en la sangre hacia el cerebro, donde existen receptores específicos en el hipotálamo^{7, 69, 81, 123, 139}.

La leptina ha sido identificada como producto del gen OB en ratones de laboratorio³⁷. Los ratones deficientes de este gen presentan niveles elevados de corticoesterona, son incapaces de mantener su temperatura corporal, crecer o de reproducirse normalmente. Además presentan problemas con el control del apetito¹, razón por la cual pueden llegar a ser extremadamente obesos³². También desarrollan aberraciones metabólicas, y son resistentes a la insulina^{7, 30, 81, 123}.

La leptina lleva el mensaje al organismo de que las reservas de grasa son suficientes y estimula la reducción en el consumo de energía e incrementa el gasto energético²⁰⁷. La interacción de la leptina con su receptor en el hipotálamo altera la liberación de las señales aferentes que afectan el apetito, disminuyendo la ingesta de alimento¹⁰³. La leptina también estimula el sistema nervioso simpático, incrementando la presión sanguínea, la frecuencia cardíaca y la termogénesis, tiene efecto sobre el neuropéptido Y, y la proteína desacopladora 2 (UPC2)^{30, 253, 254}. Los mecanismos de transducción de señales de la leptina involucran la fosforilación del receptor de leptina y los activadores de transducción de señales (STATs) a través de la cinasa de Janus (JAK)^{7, 49, 123}.

Los niveles de leptina en plasma están influenciados por diversos factores: la restricción energética, los substratos del metabolismo, los niveles de insulina y la resistencia a la insulina, las hormonas sexuales y la genética⁷. Se ha demostrado en varios estudios una relación entre los niveles de leptina y el porcentaje de grasa corporal¹⁴⁹. La leptina es secretada de forma circadiana, siendo la medianoche la fase de mayor producción. Además se ha encontrado una diferencia entre géneros con relación a las

concentraciones plasmáticas de leptina, las mujeres tienen mayores concentraciones a cualquier nivel de adiposidad que los hombres^{7, 81, 107}.

Las concentraciones de leptina plasmática aumentan en humanos obesos, lo cual sugiere que la liberación de la leptina está relacionada con el número y tamaño de los adipocitos⁴⁰. Se ha sugerido que puede desarrollarse resistencia a la leptina en algunas personas obesas, esto explicaría porque la leptina no tiene efecto sobre el apetito de las personas con obesidad. Estudios recientes han mostrado que el perfil metabólico depende de la localización de los depósitos de grasa, siendo los adipocitos viscerales los que segregan cantidades mayores de leptina en comparación con los adipocitos subcutáneos. El sitio de producción de leptina es importante debido a su relación con el desarrollo de anomalías metabólicas relacionadas con la obesidad, como la resistencia a la insulina, la diabetes mellitus tipo 2, la hipertensión, las dislipidemias⁸¹.

La regulación hormonal del tejido visceral se encuentra bajo el control de la insulina y los glucocorticoides²⁷⁰, sin embargo no se conoce el mecanismo mediante el cual la leptina pueda modificar esta regulación. Diversos investigadores han propuesto que ambas hormonas se encuentran sobre-reguladas. Se ha reportado que la leptina es regulada por la concentración de insulina^{114, 198}, y diversos estudios han mostrado una correlación directa entre la concentración de leptina y las concentraciones plasmáticas de insulina en ayuno ^{41, 81}.

INSULINA

La insulina ejerce varios efectos que determinan el almacenamiento de grasa en el tejido adiposo (Fig 5). Primero, la insulina aumenta la captación de glucosa por la mayor parte de los tejidos del organismo, lo que disminuye automáticamente la utilización de grasa, funcionando así como un ahorrador de grasa. Adicionalmente, la insulina promueve la síntesis de ácidos grasos, principalmente cuando hay una ingesta elevada de

carbohidratos. La insulina ejerce otros dos efectos esenciales necesarios para el almacenamiento de grasa en los adipocitos: inhibe la acción de la lipasa sensible a hormonas, enzima que hidroliza los triacilgliceroles almacenados en el tejido adiposo, y por lo tanto inhibe la liberación de ácidos grasos provenientes del tejido adiposo a la circulación. La insulina promueve el transporte de glucosa al interior de los adipocitos, en donde se utiliza como precursor en la formación de glicerol, indispensable para la síntesis de triacilgliceroles. La secreción de insulina está relacionada tanto con el tamaño de las reservas de grasa como con el nivel de glucosa sanguíneo¹²³.

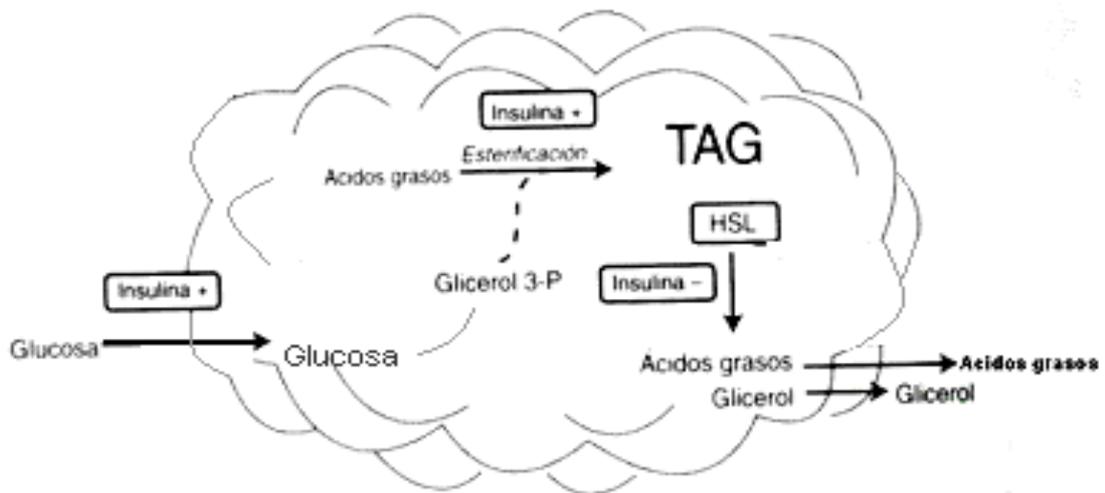


Figura 6. Efecto de la insulina sobre la movilización de las grasas en el tejido adiposo blanco.

Los sujetos obesos y, frecuentemente, los familiares de las personas obesas, presentan hiperinsulinemia y resistencia a la insulina, mientras que un porcentaje muy elevado presenta intolerancia a la glucosa. Por lo tanto, la insulina tiene principalmente un efecto anabólico y participa de manera fundamental tanto en la obesidad como en sus comorbilidades asociadas⁸².

Genética y ambiente

La obesidad es el resultado de una ingestión calórica que excede al gasto energético por tiempo prolongado, almacenándose el exceso de la energía consumida como triacilgliceroles en el tejido adiposo. Sin embargo, la etiología de la obesidad es compleja, ya que se combinan tanto factores de tipo ambiental como genético. Conocer dichos factores y sus interacciones propicia el afrontar su diagnóstico, tratamiento y etiopatogonia de forma más completa.

Factores genéticos

La aparición y el desarrollo de la obesidad se deben a la interacción de tendencias genéticas con el ambiente. El legado genético influye de manera decisiva en la determinación del índice de masa corporal y en la distribución del tejido adiposo²⁰³.

Existe una clara tendencia entre los miembros de una familia a tener un IMC similar. En diversos trabajos se ha demostrado una correlación entre los IMC de los padres con el de sus hijos. Los estudios con gemelos monocigóticos muestran que entre ellos hay una mejor correlación entre sus IMC que entre los gemelos dicigóticos, a pesar de tener el mismo ambiente familiar. En gemelos idénticos existe una mayor similitud en otros indicadores de la composición corporal, como la grasa corporal, la grasa subcutánea, la grasa abdominal y la masa magra⁷⁴.

De acuerdo a diferentes trabajos realizados en mellizos, en hijos de padres obesos entregados en adopción y en la frecuencia de aparición de obesidad en el ámbito familiar, se ha concluido que la herencia desempeña un papel muy importante en la obesidad, variando desde un 30-40% hasta un 80%. Dentro de los factores que se ha mostrado pueden ser heredados se tiene la distribución de tejido adiposo (relación entre la grasa corporal superior y la inferior), la actividad física, el índice metabólico en reposo, los cambios en el gasto de energía como respuesta a la sobrealimentación, algunos aspectos de comportamiento alimenticio, las preferencias alimenticias, la actividad de la LPL, la

síntesis máxima de glicéridos estimulada por insulina, y las velocidades basales de lipólisis. Pero en general podemos decir que el 25% de la varianza transmisible total se atribuye al factor genético, 30% a la transmisión cultural, y 45% a otros factores ambientales no transmisibles^{74, 203, 240}.

Por lo tanto, la herencia cultural y la herencia genética, son los elementos primordiales que llevan al exceso de adiposidad, además de la interacción genético-ambiental que promueven la aparición de obesidad en un individuo.

Las bases genéticas de la obesidad apenas se están definiendo¹⁰⁰. Ya que la obesidad puede desarrollarse a partir del consumo excesivo de energía sobre el gasto de esta, la búsqueda de genes candidatos de obesidad ha sido enfocada en aquellos que tienen un papel en el metabolismo energético. Familias completas, pares de individuos y sujetos dentro de diferentes poblaciones étnicas y geográficas son examinados para determinar las relaciones entre la obesidad y los marcadores moleculares como genes candidatos. Se han desarrollado una serie de ratones transgénicos para facilitar el estudio de la obesidad monogénica (Tabla 2). Hasta ahora han sido implicadas las alteraciones o disfunciones de más de 20 genes, como productores de obesidad. Todos los genes causantes de obesidad monogénica identificados en roedores han sido clonados y secuenciados en humanos (Tabla 3), aunque muy raramente se han observado alteraciones en ellos que conduzcan a explicar el desarrollo de la obesidad en los humanos, por lo que se sugiere que la obesidad humana es predominantemente poligénica.

Las ratas y los ratones con mutaciones genéticas sencillas que dan como resultado obesidad han sido extensamente estudiados en un esfuerzo para comprender las bases fisiológicas y bioquímicas de los aspectos más sobresalientes de su fenotipo: aumento en el consumo de alimento, reducción en el gasto energético, almacén preferencial de calorías en forma de grasa, y susceptibilidad a diabetes mellitus tipo II.

Entre los genes identificados que pudieran tener repercusión en la obesidad humana, se encuentran las mutaciones encontradas en los genes que codifican para la leptina y su receptor, para el receptor β_3 adrenérgico, para las proteínas desacoplantes (CPPS), pro-opiomelanocortina (POMC), receptor para melanocortina 4 (MC4-R), la Na^+/K^+ -ATPasa y PPAR- γ 2. Dentro de los genes que predisponen a la obesidad existen genes mayores y menores en cuanto a su potencial para desarrollar obesidad.

Tabla 2. MODELOS TRANSGÉNICOS RELACIONADOS CON CAMBIOS EN LA GRASA CORPORAL

Aumento de grasa corporal	Disminución de grasa corporal
Disminución de receptores glucocorticoideos	Sobre-expresión de LPL en tejido muscular y cardiaco
Sobre-expresión de CRH	Sobre-expresión del gen para leptina hepática y adiposa
Sobre-expresión de GLUT4 en tejido adiposo	Sobre-expresión de UCPs en tejido adiposo blanco y pardo
Sobre-expresión de AGRP	Sobre-expresión de UCP-3 muscular
Sobre-expresión de MCH	Sobre-expresión del receptor β_1 adrenérgico en tejido adiposo
Knockout de UCPs en tejido adiposo pardo	Knockout gene GLUT4
Knockout del receptor β_3	Knockout gene C3
Knockout del receptor serotoninérgico 5-HT ₂	Knockout gene MCH
Knock out gene del receptor MC4-R	Knockout gene HMGIC
Knockout gene del PPAR- α	Knockout gene acetil-CoA carboxilasa 2

CRH hormona liberadora de corticoesteroides, GLUT4 transportador de glucosa, UCP proteína desacoplante, PPAR peroxisome proliferator activated receptor, MCH hormona concentrante de melanina, AGRP proteína relacionada con el agouti ²⁴⁰

Entre los genes identificados que pudieran tener repercusión en la obesidad humana, se encuentran las mutaciones encontradas en los genes que codifican para la leptina y su receptor, para el receptor β_3 adrenérgico, para las proteínas desacoplantes (UCPs), pro-opiomelanocortina (POMC), receptor para melanocortina 4 (MC4-R), la Na^+/K^+ -ATPasa y PPAR- γ 2. Dentro de los genes que predisponen a la obesidad existen genes mayores y menores en cuanto a su potencial para desarrollar obesidad.

Tabla 3. FORMAS MONOGENÉTICAS EN ROEDORES

Gen	Mutación	Producto del gen	Cromosoma en el ratón	Cromosoma humano	Acción
<i>Lep</i>	<i>Ob</i>	Leptina	6 (ratón)	7q31.3	Reducción en el consumo de alimento e incremento en el gasto energético
<i>Lepr</i>	<i>db</i>	Receptor de leptina	4 (ratón)	1p32	Procesamiento, transporte de la señal y degradación de la leptina
	<i>fa</i>		5 (rata)		
<i>Cpe</i>	<i>Fat</i>	Carboxipeptidasa E	8 (ratón)	11p15	Procesamiento de pro hormonas
<i>Tub</i>	<i>Tub</i>	Fosfodiesterasa	7 (ratón)	4q32	Apoptosis celular en el hipotálamo
<i>Agouti</i>	<i>Ay</i>	Proteína de señalización Agouti	2 (ratón)	20q11.2	Bloquea al receptor para la melanocortina-4

Casos aislados de obesidad en humanos han sido recientemente identificados como resultado de mutaciones sencillas de genes en rutas metabólicas que son anormales en roedores genéticamente obesos. En los miembros de una familia se ha reportado una mutación en la codificación de la leptina, con hipoleptinemia y obesidad, como en los ratones ob/ob. Otra mutación en ratones (fat) está caracterizada por defectos en la carboxipeptidasa E, hiperinsulinemia, infertilidad, hipoadrenalismo y obesidad a largo término²⁰³.

Factores ambientales

Para que se exprese la información genética se requiere de un medio ambiente propicio, ya que es imposible explicar por medio de mutaciones genéticas el desmesurado aumento de la obesidad en las últimas décadas. Dentro de los factores ambientales más importantes están los nutricionales¹⁰⁵ y el estilo de vida sedentaria, habiendo un gran número de estudios en animales y humanos que demuestran la trascendencia que éstos desempeñan en la génesis de la obesidad²⁴⁰.

Investigaciones recientes sugieren que muchas de las enfermedades en la edad adulta, se originan por un deterioro en el crecimiento y en el desarrollo intrauterino, lo que se conoce como la hipótesis del "origen fetal de la obesidad". En esta hipótesis se propone que las alteraciones hormonales y en la nutrición⁹⁵ durante la etapa fetal, conducen a cambios adaptativos permanentes, fisiológicos y metabólicos, que predisponen a los individuos a presentar enfermedades cardiovasculares, metabólicas y endocrinas en la etapa adulta. Este proceso se ha descrito como programación, en el cual un estímulo en un periodo crítico y sensible de la vida temprana tiene efectos permanentes sobre la estructura, fisiología y metabolismo del organismo^{10, 11, 12, 83, 84, 132, 140}.

Otros factores ambientales relacionados con esta hipótesis son: el nivel socioeconómico, el estrés, la ingesta de alcohol, el tabaquismo, el embarazo, la menopausia, el envejecimiento y la ingesta de fármacos.

Factores nutricionales

Ha quedado demostrado que una sobrealimentación, con un porcentaje mayor de grasas, incrementa el riesgo de desarrollar obesidad en individuos susceptibles genéticamente. Esto puede explicarse por la alta densidad energética de los lípidos, por su bajo poder de saciedad, por su agradable palatabilidad y por una baja estimulación para su oxidación¹⁴⁰.

Las personas obesas consumen una mayor cantidad de calorías en su alimentación diaria que las calorías gastadas. Este consumo excesivo puede iniciarse desde etapas muy tempranas de la vida, y depende fundamentalmente de las influencias culturales y los hábitos familiares, del legado genético y del ambiente, y por último de la programación.

La composición de la dieta es importante. Los lactantes que se alimentan con fórmulas artificiales tienen más problemas de sobrepeso que los alimentados al seno materno. Por otro lado, los hijos de padres obesos aceptan más fácilmente alimentos de sabor dulce. Esta conducta quizá es condicionada genéticamente y se percibe desde el sexto mes de vida postnatal⁸³.

Se ha observado que las personas obesas comen menos veces al día que las no obesas. Quienes ingieren sólo una o dos comidas fuertes al día, suelen tener más sobrepeso, mayores concentraciones de colesterol sérico y alteraciones en la tolerancia a los carbohidratos, que quienes ingieren tres o más comidas al día. Otros estudios sobre hábitos alimentarios de los obesos muestran que éstos tienden a buscar alimentos ricos en lípidos los cuales favorecen el depósito de grasa corporal. La grasa es menos eficaz para enviar las señales de saciedad que van desde el tubo digestivo hasta los centros de control de apetito en el cerebro. Por lo que las personas con una dieta muy rica en grasa comen por periodos más largos y en mayor cantidad⁷⁴.

Actividad física

El aumento en un estilo de vida sedentario, con una baja actividad física tanto en actividades cotidianas como en la práctica de ejercicio rutinario, está implicado en la ganancia y recuperación de peso. El fenómeno de la urbanización, que principalmente presenta un aumento en la industrialización y en la tecnificación, produce actividades más fáciles y cómodas de realizar con un menor gasto energético, además de la disminución en actividades con un esfuerzo físico menor¹⁴⁰. El grado de actividad física es menor en los obesos, tanto en jóvenes como en adultos, los cuales tienden a ser más sedentarios que las personas delgadas⁷⁴.

PROGRAMACIÓN

La hipótesis del origen fetal propone que las alteraciones en la nutrición fetal^{77,78, 83,84} y el estado endocrino dan como resultado adaptaciones en el desarrollo que cambian permanentemente la estructura, fisiología y metabolismo, así predisponen al individuo a enfermedades cardiovasculares, metabólicas y endocrinas en la vida adulta¹³.

Los eventos en la vida temprana pueden influenciar las respuestas a largo plazo en tres formas: 1) daño directo, 2) un estímulo durante un periodo crítico que causa la inducción, eliminación o daño en el desarrollo de la estructura somática, 3) un estímulo temprano durante un periodo crítico en la fisiología que tiene consecuencias a largo plazo en la función^{256,257}. Se ha sugerido que el término programación se aplica en los dos últimos procesos, y por tanto la programación se define como el proceso por medio del cual un estímulo o reto aplicado a un periodo sensible o crítico del desarrollo da como resultado un efecto permanente o a largo plazo sobre la estructura o función del organismo^{130,132, 140, 167}. La programación es un término que se refiere a la capacidad general del fenotipo de un organismo de estar modulado por las experiencias ambientales. La capacidad de un organismo de responder efectivamente a la variación en el ambiente

tiene un valor alto para la sobrevivencia tanto para los individuos como para las especies^{12, 95, 176}.

Los periodos críticos o sensibles en el desarrollo han sido descritos para varios procesos fisiológicos y ambientales, algunas de las ventanas críticas propuestas en la formación de nuevas células de diversos órganos en humanos se encuentran en la figura 7^{13, 195, 196}.

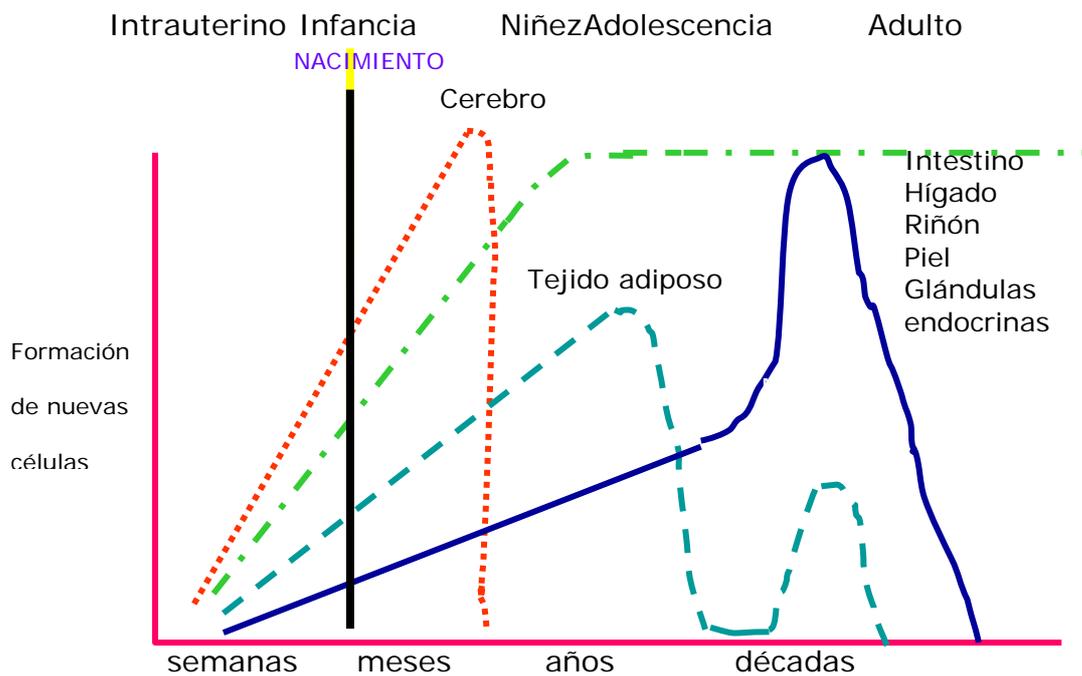


Fig 7. Periodos críticos de desarrollo de varios tejidos en la vida de un humano.

La hipótesis de la existencia de periodos críticos en el desarrollo de la obesidad es sustentada por diversos estudios en animales y en humanos. Estos periodos críticos se consideran como la etapa de desarrollo en donde las alteraciones fisiológicas incrementan el predominio de obesidad y se han considerado como las ventanas de oportunidad que promueven el desarrollo de obesidad durante el periodo prenatal y la adolescencia^{56, 63}.

Durante los últimos años, el interés en la programación ha crecido rápidamente por los resultados obtenidos en un gran número de estudios epidemiológicos los cuales han mostrado una fuerte relación entre cambios nutricionales^{77,78} y ambientales en las etapas tempranas de desarrollo (etapa prenatal y postnatal inmediata) y el desarrollo de enfermedades degenerativas^{150, 244} como la diabetes tipo 2, hipertensión, enfermedades cardiovasculares¹⁰, elevadas concentraciones de colesterol¹¹, obesidad⁴⁴ y metabolismo anormal de glucosa-insulina ^{3, 84, 89}.

Existen diversos factores que afectan el desarrollo y el crecimiento fetal ^{90, 134}, dentro de estos se encuentran la salud de la madre, la nutrición, el flujo sanguíneo y el estado del sistema endocrino^{48, 70}. La influencia de la nutrición materna durante la gestación se considera una de las causas dominantes de la programación temprana. Uno de estos estudios fue el realizado por Ravelli, evaluando las consecuencias de la ocupación de Holanda por el ejército alemán durante la Segunda Guerra Mundial.

La hambruna en el oeste de Holanda comenzó abruptamente en octubre de 1944 y terminó con la liberación de Holanda en mayo de 1945, y coincidió con un invierno crudo y precoz que produjo una hambruna de ocho meses. La hambruna holandesa es única, ya que es un periodo de privación intensa de nutrientes en una población bien nutrida, cuyo nivel de nutrición fue rápidamente restablecido después de la hambruna. En octubre comenzó la restricción de los suministros alimenticios. Al principio de la ocupación la ración diaria promedio por individuo era aproximadamente de 1800 kcal/d y disminuyó en seis meses a 600 kcal/d. En mayo de 1945, después de la liberación, los suministros de alimentos regresaron a valores de 1700 kcal/d. Los niños expuestos a la hambruna in útero fueron por tanto bien nutridos durante su infancia⁸³. Las características de los hijos de mujeres que estaban embarazadas cuando comenzó esta etapa han permitido conocer algunos efectos de la desnutrición prenatal en el ser humano. Se observó que las anomalías ocasionadas por la influencia nutricional dependen del periodo en que la

madre es privada de una adecuada nutrición. Los niños que fueron expuestos a la hambruna se estudiaron nuevamente a los 19 años de edad, a través de la evaluación de los registros de la milicia y se encontró que los hombres cuyas madres se expusieron en los primeros dos trimestres de gestación a la hambruna presentaron una mayor incidencia de obesidad, a diferencia de lo observado cuando la madre se encontró desnutrida en etapas finales del embarazo^{195, 196}. Cuando se evaluó nuevamente a esta población en su edad adulta (50 años), se encontró que los hombres y las mujeres expuestas a la hambruna in útero tenían mayores concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina después de una dosis oral de glucosa, además presentaron mayores concentraciones de pro-insulina, lo cual sugiere que tenían una baja tolerancia a la glucosa determinada parcialmente por resistencia a la insulina. También se encontró que la desnutrición materna durante los primeros trimestres de gestación estaba asociada a un mayor IMC y una mayor circunferencia de cadera solamente en mujeres, incrementándose de esta forma la tendencia a desarrollar obesidad. Sin embargo, cuando la exposición a la desnutrición ocurría en el último trimestre de gestación o en los primeros meses de vida extrauterina, la probabilidad de desarrollar obesidad era menor²³⁰. Se ha considerado que estas diferencias entre el desarrollo de obesidad y la etapa de exposición a una restricción de alimento esta relacionada con el establecimiento del número de adipocitos. En los sujetos expuestos a la restricción en la etapa de división celular de los adipocitos (en los primeros meses de vida extrauterina), el número reducido de adipocitos contribuye al no desarrollo de obesidad^{195, 196}. Asimismo, entre las mujeres nacidas en estas condiciones fue mayor la propensión de que sus hijos tuvieran retraso en el crecimiento al llegar a la edad reproductiva, con lo cual se advierte que los efectos de las condiciones adversas durante la gestación pueden transmitirse a través de las generaciones^{64, 81, 146}.

Durante el sitio de 872 días en San Petersburgo²²³, de septiembre de 1941 a enero de 1944, también hubo condiciones extremas de restricción alimentaria. Hubo una disminución de la población de 2.4 millones de personas a 1 millón de personas por causa de la hambruna. La mayoría de las muertes ocurrieron durante el invierno de 1941-1942, donde la ración de pan fue de 250 g para los trabajadores y 125 g de pan para los demás, por lo que la ración diaria promedio era aproximadamente de 300 kcal y el contenido proteínico era bajo o nulo. El promedio de nacimientos disminuyó un 17%. El estudio realizado por Stanner²²⁶ en donde se evaluaron a los sujetos sobrevivientes de la hambruna extrema, encontró que la desnutrición intrauterina estaba fuertemente relacionada con la obesidad y la hipertensión. Los niños que nacieron después del sitio tuvieron mayor susceptibilidad a enfermedades coronarias^{83,84, 226}.

Un estudio realizado en Dinamarca reveló que, en gemelos monocigóticos, el gemelo diabético tuvo un peso al nacimiento menor que el gemelo normoglicémico, lo que demuestra que el ambiente intrauterino puede ser una causa para el desarrollo de diabetes. Otros investigadores han reportado datos que sugieren que la nutrición en etapas tempranas del desarrollo puede tener influencia en la composición corporal en el adulto.

Se han desarrollado diversos modelos animales⁶⁶, en un intento por entender las bases moleculares de la relación entre el ambiente uterino¹⁴⁷ y el desarrollo de enfermedades en la edad adulta y para confirmar los resultados clínicos y epidemiológicos. Existen diversos estímulos durante la gestación que pueden tener un efecto sobre el crecimiento y el metabolismo de glucosa y lípidos en varias especies, estímulos que pueden ser nutricionales, hormonales o intervenciones quirúrgicas. Algunos de los modelos animales usados son: la restricción de proteína durante la gestación, la restricción energética materna durante el embarazo¹⁴⁴, la restricción materna de hierro, la exposición a glucocorticoides⁴⁴, el ligado de la arteria uterina^{13, 167}.

La restricción de proteína durante la gestación es uno de los modelos más estudiados. Existen similitudes sorprendentes entre los resultados obtenidos con este modelo y los estudios de diabetes tipo 2 y síndrome metabólico en individuos. Este modelo utiliza ratas que son alimentadas con una dieta baja en proteína (5-8%) durante el embarazo que da como resultado restricción en el crecimiento de la camada. Durante la lactancia las crías pueden ser alimentadas por madres nodrizas (alimentadas durante el embarazo con una dieta del 20%), y durante la lactancia recuperan rápidamente el peso alcanzando el peso corporal de sus controles. Esta recuperación en la velocidad de crecimiento parece tener un efecto desfavorable sobre la longevidad, ya que se ha encontrado una pérdida acelerada de los telómeros de las células del riñón⁹⁸; el efecto adverso del periodo de recuperación ha sido reportado también en humanos. En estas ratas se ha encontrado, además, una pérdida edad-dependiente de la tolerancia a la glucosa^{22, 24, 54}, la aparición de hipertensión^{165, 263}, diferencias en la fisiología del hígado^{35,168}, el desarrollo de la obesidad, diabetes tipo 2^{3,1 66, 167, 217, 222} y una menor longevidad⁹⁶.

Los efectos de varios regímenes de restricción de alimento han sido estudiados por varios investigadores^{101, 102, 104}. Los primeros estudios se centraron en los efectos a largo plazo de la restricción de alimento en un periodo de tiempo corto en las etapas tempranas de la vida, muestran que la restricción calórica en las ratas entre las 3-6 semanas de vida causa un daño en la respuesta secretora de insulina que es evidente a las 12 semanas de edad. Usando una restricción energética del 70% durante la gestación se encontró que las ratas en la edad adulta tuvieron hipertensión, concentraciones elevadas de insulina, hiperfagia la cual se incrementa con la edad y con el consumo de una dieta hipercalórica²⁶³. Una restricción del 50% de alimento durante la gestación desde el día 15 hasta el destete produce una pérdida dependiente de la edad de la tolerancia a la insulina, hiperfagia la cual se amplifica con una dieta hipercalórica, elevación de la presión sistólica¹¹⁸, hiperinsulinemia e hiperlipidemia^{246,247}.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La relación en la actividad de la LPL entre el tejido adiposo y el músculo puede ser un factor importante en el desarrollo de la obesidad. Se desconoce si la restricción durante la gestación y la realimentación posterior puede programar cambios en la relación de la captación de lípidos entre el tejido muscular y el tejido adiposo y por lo tanto ser un factor determinante en el desarrollo de la obesidad en la vida adulta.

OBJETIVO GENERAL

Comparar la captación de lípidos, la expresión y la actividad de la LPL en el tejido adiposo y en el tejido muscular en animales adultos restringidos energéticamente al 50% durante su gestación y alimentados con una dieta alta en lípidos post-destete, con las de animales sin restricción.

HIPOTESIS GENERAL

La captación, la actividad y la expresión de la LPL serán mayor en el tejido adiposo y menor en el músculo de los animales adultos restringidos energéticamente al 50% durante su gestación y alimentados con una dieta alta en lípidos post-destete, en comparación con animales no restringidos.

MATERIAL Y METODOS

1. ANIMALES

Se utilizaron ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley alimentadas a libre demanda con un alimento comercial (Laboratory Rodent Diet, PMI Feeds Inc, St Louis MO, USA) hasta las 12 semanas de edad. Los animales se mantuvieron bajo ciclos de luz / oscuridad de 12h. A las 12 semanas de edad, las ratas con un peso corporal entre 220 y 240 g se aparearon con machos de la misma cepa (Método de tríos). El primer día de gestación se determinó mediante la presencia de espermatozoides por medio de una citología vaginal, las ratas en las que se obtuvo un resultado positivo se transfirieron a una jaula individual con libre acceso a agua.

Las hembras preñadas se dividieron aleatoriamente en dos grupos con diferente proporción nutricional durante todo el proceso de gestación: 1) el grupo control (NR) que se alimentó *ad libitum* con una dieta estándar y 2) el grupo restringido (R) al cual se le proporcionó el 50% de la dieta *ad libitum*, la restricción comenzó a partir del octavo día de gestación, después de la implantación del óvulo fecundado. El día de parto se consideró el primer día de lactancia.

Después del parto, se registró el tamaño y el peso de las crías, ajustando la camada a 8 crías. Las crías de las madres del grupo restringido fueron alimentadas por madres del grupo control (nodrizas), para asegurar una nutrición adecuada y estándar hasta el destete.

El día del destete, las crías macho tanto de madres del grupo control como del grupo restringido se dividieron en dos grupos, los cuales fueron alimentados *ad libitum* con una dieta estándar (NR/NL o R/NL) o con una dieta hipercalórica (NR/AL o R/AL) hasta el día del experimento. El contenido de vitaminas y minerales en las dos dietas fue idéntico y de acuerdo con los requerimientos de la dieta estándar para rata. La composición porcentual de macronutrientes de las dietas se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4

Composición de las dietas experimentales

Ingrediente	Dieta normal en lípidos	Dieta alta en lípidos
	(NL)	(AL)
	g / kg dieta	
Caseína	206	206
Glucosa	330	60
Fécula de maíz	330	60
Aceite de maíz	40	400
DL-Metionina	3	3
Vitaminas ¹	10	10
Minerales ²	26	26
Celulosa	55	235
Energía Kcal / g	3824	4904

¹ Contenido por Kg: 11.01 g PABA, 101.66 g ácido ascórbico, 0.044 g de biotina, 2.97 g B12, 6.61g pantotenato de calcio, 349.69 g citrato de colina dihidrogenada, 0.20 ácido fólico, 100.01 g inositol, 4.95 g menadiona, 9.91 g niacina, 2.20 g HCl B6, 2.20 g B2, 2.20 g HCl B1, 3.96 g palmitato de retinil, 0.44 g ergocalciferol, 24.23 g acetato de DL- α tocoferol, 466.67 g fécula de maíz.

² Contenido por Kg: 0.025 g molibdato de amonio, 292.9 g carbonato de calcio, 4.3 g fosfato de calcio, 1.56 g sulfato cúprico, 6.23 g citrato férrico, 99.8 g sulfato de magnesio, 1.21 g sulfato de manganeso, 0.005 g yoduro de potasio, 343.1 g fosfato de potasio, 250.6 g cloruro de sodio, 0.015 g selenito de sodio, 0.2 g cloruro de zinc.

A los 80 días de edad, los machos se sacrificaron para cuantificar metabolitos en sangre, lipogénesis, incorporación y oxidación de ^{14}C -trioleína, composición corporal, cuantificación de mRNA de LPL, medición de la actividad de LPL y de la masa de LPL en tejido adiposo y músculo.

2. REGISTRO Y CONSUMO DE ALIMENTO

Desde el primer día de embarazo y hasta el día del destete se registró diariamente el consumo de alimento de la rata madre. Las ratas del grupo no restringido (NR) recibieron diariamente 100 g de alimento y el día siguiente a la misma hora se colectó el alimento residual. El alimento consumido se calculó a partir de la diferencia entre el alimento inicial menos el alimento residual. Las ratas madre del grupo restringido recibieron el 50% del promedio de alimento consumido por las ratas del grupo no restringido.

A partir del destete y hasta los 80 días de edad se registró diariamente el consumo de alimento de las crías macho.

3. REGISTRO DEL PESO CORPORAL DE LA RATA MADRE Y LAS CRÍAS

A partir del primer día de embarazo, se registró diariamente el peso corporal de la rata madre utilizando una balanza electrónica OHAUS con sensibilidad de 0.1 g. El peso corporal se registró a la misma hora en la que se puso el alimento.

El día del parto, que fue considerado como el primer día de lactancia, se registró el número y peso de las crías, y se ajustó la camada a 8 crías con la mayor cantidad de machos posibles. A partir del primer día de lactancia y hasta los 21 días de edad (destete) se registró diariamente el peso corporal de la camada. Después de este día y hasta los 80 días de edad se registró diariamente el peso corporal de los machos.

4. DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL DE LAS RATAS

La composición corporal de las crías macho se determinó en 10 animales por grupo a los 80 días de edad. Después del sacrificio, los animales fueron eviscerados y se les eliminó la piel, la cabeza, las patas y la cola. El tejido restante compuesto por la masa muscular, la masa ósea y el tejido adiposo se nombró como carcasa.

La carcasa de los machos se pesó y se licuó con agua (1:1 p/v). El homogeneizado se colocó en una charola previamente tarada y se colocó dentro de un horno a 90°C hasta obtener un peso constante. La carcasa seca se pulverizó en un mortero, el polvo obtenido se colocó en frascos de vidrio con tapa de rosca y se guardaron en refrigeración a 4°C hasta su uso.

Contenido de agua

La humedad se determinó a partir de la diferencia entre el peso húmedo de la carcasa y el peso del polvo seco.

Contenido de nitrógeno

El contenido de nitrógeno se determinó en muestras de 0.02-0.03 g del pulverizado de la carcasa sometiéndolas a una digestión proteínica ácida, mediante el método de Kjeldahl, utilizando un desecador y un titulador semiautomáticos (Tecator modelo 1035).

Contenido de lípidos

Para esta determinación se usaron muestras de 1 g del pulverizado de la carcasa en cartuchos de celulosa, los cuales fueron colocados en un extractor de lípidos tipo goldfish. Los lípidos fueron extraídos por reflujo constante durante 4 h con éter etílico y recibidos en recipientes de vidrio previamente puestos a peso constante. Transcurrido el tiempo de extracción el solvente se evaporó y los vasos con el residuo lipídico se llevaron a peso constante. El contenido de lípidos se obtuvo por la diferencia del peso del vaso con los lípidos extraídos y con los vasos vacíos.

5. DETERMINACIÓN DE LA INCORPORACIÓN Y OXIDACIÓN DE ^{14}C TRIOLEINA

La captación de los lípidos de la dieta se evaluó a través de la incorporación de los ácidos grasos de la trioleína marcada radiactivamente en los lípidos del tejido adiposo y del músculo. Además de la captación se valoró la oxidación de los lípidos de la dieta a partir de la producción de $^{14}\text{CO}_2$.

Las crías macho de 80 días de edad (10 por grupo) recibieron por vía oral ^{14}C trioleína (0.5 g, 0.8 μCi) entre las 8:00 y las 9:00 am, no se utilizó anestésico para la intubación. Inmediatamente después, las ratas se introdujeron dentro de un desecador, en un sistema diseñado para capturar $^{14}\text{CO}_2$ proveniente de la oxidación de la ^{14}C trioleína (Figura 8). El $^{14}\text{CO}_2$ fue atrapado con una solución de etanol amina: etilen glicol monometil éter (1:1 v/v). La solución se cambió cada hora durante 5 horas. Se tomaron 5 ml de cada alícuota y se les adicionó 5 ml de líquido de centelleo para cuantificar el $^{14}\text{CO}_2$.

Después de 5 horas de la administración de la dosis de trioleína marcada, las ratas fueron anestesiadas intraperitonealmente con pentobarbital sódico (60 mg/Kg p.c.). En la rata anestesiada se tomó una muestra de sangre de la arteria aorta abdominal, posteriormente la rata se sacrificó y se disecó el hígado, el tejido adiposo epididimal y el tracto gastrointestinal. La carcasa y las vísceras se homogeneizaron en agua (1:1 p/v). El tracto gastrointestinal se homogeneizó con 100 ml de ácido perclórico al 3%. La sangre se centrifugó por 5 minutos para obtener el suero. Una alícuota de 20 μl de suero se colocó en viales que contenían 5 ml de líquido de centelleo y se determinó la radiactividad de la muestra en contador líquido de centelleo.

Se tomaron muestras por duplicado aproximadamente de 0.5 g del hígado y del tejido adiposo, así como alícuotas de 5 g de los homogeneizados del tracto gastrointestinal y de la carcasa, para realizar la extracción de los lípidos por el método de Stansbie. Los lípidos fueron saponificados con la adición de KOH al 60%. Los tubos se incubaron 10 min a 70°C y se les adicionó 1.5 ml de etanol absoluto agitando la muestra en vórtex e incubando

nuevamente a 70°C durante dos horas. Después de la incubación, las muestras se neutralizaron con 1.5 ml de H₂SO₄ 6M y se extrajeron los lípidos tres veces con éter de petróleo. La fase etérea se lavó con agua y se evaporó durante 24 horas en viales previamente pesados. Los lípidos extraídos se disolvieron en 5 ml de líquido de centelleo y se midió la radiactividad de los lípidos marcados incorporados en los tejidos.

La absorción de la dosis oral de trioleína se calculó a partir de la diferencia entre las dosis de ¹⁴C trioleína administrada y los lípidos radiactivos presentes en el tracto gastrointestinal de la rata, después de 5 h de la administración de la dosis. La captación de los lípidos por los tejidos se expresó como porcentaje de la dosis absorbida.

La acumulación de los lípidos marcados en los tejidos se determinó midiendo la radiactividad en los lípidos extraídos de los tejidos.

Se pesaron muestras por duplicado de cada uno de los tejidos (0.5 gramos) y de los homogeneizados del tracto gastrointestinal y de los carcass (5g).

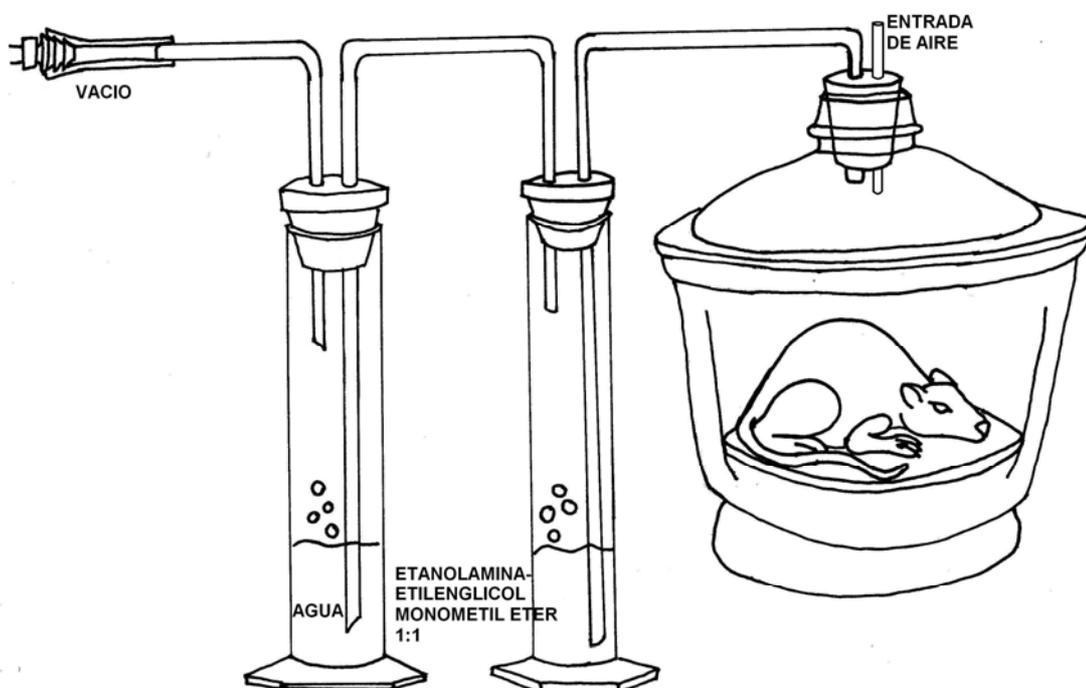


Figura 8. Sistema diseñado para capturar ¹⁴CO₂ proveniente de la oxidación de ¹⁴C-trioleína administrada vía oral a la rata.

6. METABOLITOS Y HORMONAS EN SANGRE

Los machos de 80 días de edad se sometieron a ayuno de 18 horas previas al día del experimento. Aproximadamente entre las 8:00 y 9:00 am las ratas fueron decapitadas para obtener la mayor cantidad de sangre. La sangre se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos para obtener el suero en el cual se realizó la cuantificación de metabolitos y hormonas. La medición de insulina y de leptina se realizó mediante radioinmunoensayo con un kit comercial (Rat Insulin RIA Kit, RI-13K / Rat Leptin RIA Kit RL-83K Linco Research). La concentración de glucosa plasmática se cuantificó por el método de Trinder, usando un kit comercial (Stanbio Glucosa oxidasa). Los triacilgliceroles se cuantificaron utilizando un método enzimático mediante estuches comerciales (Stanbio Triglicéridos Liquicolor GPO-PAP).

7. LIPOGÉNESIS

Los machos de 80 días de edad se inyectaron intraperitonealmente con 0.1 ml de $^3\text{H}_2\text{O}$ (1 mCi), después de 60 minutos las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico (60 mg/Kg p.c.). Se tomaron muestras de sangre arterial para la determinación de la radiactividad específica del agua tritiada. La rata se sacrificó y se disecó el hígado y el tejido adiposo epididimal, registrando su peso.

Se obtuvieron muestras de 0.5 g de hígado y tejido adiposo. La extracción de los lípidos se determinó mediante el método de Stansbie.

8. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA LPL

La actividad de la LPL se determinó por el método descrito por Nilsson-Ehle, utilizando una emulsión de trioleína tritiada como sustrato. Los ácidos grasos marcados con tritio, liberados de la trioleína por la acción de la LPL del tejido, son extraídos de la mezcla de reacción y cuantificados por medio de un contador líquido de centelleo.

Preparación del polvo acetónico

Después de la obtención de la muestra de sangre en las ratas que se utilizaron en la medición de la oxidación de ^{14}C -trioleína, se disecó un fragmento de músculo o tejido adiposo, el cuál fue prensado en placas de metal e inmediatamente congelado en nitrógeno líquido y se mantuvo en congelación a 70°C hasta su posterior uso.

El fragmento de tejido congelado (tejido adiposo o músculo) se pulverizó sin descongelar en un mortero de porcelana enfriado con nitrógeno líquido. Una vez pulverizado se registró su peso, se pasó a tubos de ensaye en donde se les adicionó acetona enfriada a -20°C , se agitó y se centrifugó a 2500 rpm durante 5 minutos. Al finalizar la centrifugación, la acetona se decantó y se repitió la operación tres veces. El polvo obtenido se lavó con 10 ml de éter etílico, se centrifugó en las mismas condiciones, para eliminar mediante decantación el éter etílico sin resuspender el polvo. El polvo se secó en un desecador a vacío durante 2 horas. Transcurrido este tiempo se registró el peso del polvo y una muestra se utilizó para extraer a la LPL.

Extracción de la enzima

La LPL se extrajo de 10 mg del polvo acetónico utilizando 1ml de amortiguador Tris-HCl 0.05 M con etilen glicol 1M, pH 8.0. La mezcla se mantuvo en hielo con agitación constante durante 1 hora. Transcurrido este tiempo, la mezcla se centrifugó a 3000 rpm durante 20 minutos y el sobrenadante fue utilizado como fuente de la enzima.

Preparación del sustrato

La solución de trabajo que se utilizó para la medición de la actividad de la LPL en el tejido se preparó inmediatamente antes de ser utilizada, mezclando 4 volúmenes de un amortiguador Tris-HCl 0.2 M pH 8.0, con 3% de albúmina de suero bovino libre de ácidos grasos, 1 volumen de suero y 1 volumen del sustrato concentrado.

El sustrato concentrado se preparó mezclando 150 mg de trioleína 99% (cis-trioctadecanoil glicerol, Sigma-Aldrich), 0.25 ml de ^3H -trioleína (5mCi/10ml) y 0.1 ml de

lecitina (fosfatidil colina), la mezcla se evaporó con una corriente de nitrógeno durante 30 minutos a temperatura ambiente para eliminar el tolueno en el que está disuelta la trioleína tritiada. Transcurrido ese tiempo se agregaron 3.14 g de glicerol (δ 1.256 g/ml) y la mezcla se homogeneizó durante 5 minutos en hielo, en un homogeneizador de tipo Poltrón. El sustrato concentrado se mantuvo a temperatura ambiente y es estable hasta por 6 semanas.

El suero se obtuvo de ratas con un ayuno de 24 horas y se calentó a 60°C durante 10 minutos para eliminar su actividad lipolítica.

Medición de la actividad de la LPL

Se colocaron 100 μ l del extracto enzimático con 100 μ l del sustrato de trabajo a pH 7 y se incubaron a 37°C durante 60 minutos. Transcurrido este tiempo la reacción se detuvo mediante la adición de 3.33 ml de la mezcla de Belfrage (metanol-cloroformo-heptano 1.45:1.25:1 v/v/v) agitando durante 1 minuto. A continuación se adicionó 1 ml de amortiguador de carbonato-borato de sodio 0.1 M, pH 10.5, la mezcla se agitó durante 1 minuto y posteriormente se centrifugó a 2500 rpm durante 15 minutos a 4°C.

Se tomaron 0.5 ml de la fase acuosa y se colocaron en viales de borosilicato, a los cuales se les adicionó 5 ml de líquido de centelleo para posteriormente determinar la radiactividad durante 5 minutos en un contador líquido de centelleo (Becan LS6000LL). Las determinaciones se hicieron por duplicado.

La actividad específica (SA) del sustrato de trabajo se determinó midiendo la radiactividad de 25 μ l de esta suspensión con 5 ml de líquido de centelleo.

9. EXTRACCIÓN DE RNA

La extracción del RNA se realizó en 100-150 mg de polvo de tejido adiposo y músculo, el cual se obtuvo moliendo el tejido con nitrógeno líquido, y utilizando el método de trizol. Se agregó 1 ml de trizol frío al tejido en polvo y se homogeneizó mediante un polytron aproximadamente 2-3 minutos, y se incubó en hielo 5 minutos. Posteriormente, el homogeneizado se centrifugó a 10 000 rpm durante 10 minutos a 4°C. Al sobrenadante se le agregaron 200 µl de cloroformo frío, mezclando vigorosamente e incubando de 2-3 minutos en hielo, se centrifugó a 10 000 rpm durante 10 minutos. La mezcla se separa en una fase inferior color roja, una interfase de fenol-cloroformo y una fase acuosa superior donde se encontraba el RNA. A esta fase se le añadieron 0.5 ml de isopropanol frío y se incubó 10 minutos a -20°C, después de este tiempo se centrifugó a 10 000 rpm durante 10 minutos, en este paso el RNA se precipita y toma la forma de un botón blanco en el fondo del tubo. Se eliminó el sobrenadante y se añadió 1 ml de etanol al 75% para resuspender la pastilla, esta mezcla se centrifugó a 7500 rpm durante 5 minutos, se eliminó el sobrenadante y se dejó secar al RNA precipitado durante 5 minutos. El RNA seco se disolvió en agua con dietilpirocarbonato (DEPC) estéril y se congeló a -70°C.

Cuantificación e integridad del RNA

La integridad del RNA se determinó mediante un gel de agarosa al 1%. Y la cuantificación se realizó mediante un espectrofotómetro (Eppendorf, Biophotometer), se leyó la absorbancia a 260 y 280 nm y si la relación entre estas longitudes de onda era cercana a 2 el RNA se tomó como puro.

Cuantificación del mRNA de la lipoproteína lipasa

La cuantificación del mRNA de la LPL se realizó mediante la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-RT). Se utilizaron oligonucleótidos marcados con FAM y con la siguiente secuencia: Primer Sentido: 5'- ATCCATGGATGGACGGTGACAGGAA -3'. Se utilizó β -actina como gen control y secuencia 5'- GCCTTCCTCCTGGGTATGGAATCC-3'.

Para la realización del ensayo de RTq-PCR se utilizó un kit taiman para ONE-sep RTq-PCR (Applied Biosystems) usando 12.5 μ l de Master Mix 2X, 0.625 μ l de Multiscribe and RNase Inhibitor mix 40X, 1.25 μ l de primer tanto sentido como antisentido, 1 μ l de templado (con una concentración entre 10-100 ng) ajustando el volumen final de 25 μ l con agua libre de RNAasas.

El ensayo se realizó en un termociclador para PCR en tiempo real (Abi Prism 7000) y las condiciones establecidas fueron: el alineamiento fue de 50° C durante 2 minutos, posteriormente una desnaturalización a 95° C durante 10 minutos para finalmente llegar a 40 ciclos de amplificación. Cada ciclo estaba constituido por una desnaturalización a 95° C durante 15 segundos y un alineamiento a 60° C durante 1 minuto.

RESULTADOS

1. Efecto de la restricción sobre el crecimiento de las ratas hembras gestantes

La curva de crecimiento de las ratas hembras durante el periodo gestacional se muestra en la figura 9, en donde se observa que las ratas restringidas en un 50% tienen un peso menor comparadas con las ratas control, alimentadas a libre demanda, durante la gestación (151.68 ± 33.9 vs 68.34 ± 16.4 g, $p < 0.001$). A partir del noveno día de gestación se empieza a notar el efecto de la restricción. La ganancia total de peso durante el periodo de gestación fue de 59.1 ± 24.1 g en el grupo restringido contra 160.6 ± 28.4 g en el grupo control.

Figura 9. Crecimiento de la rata madre durante la gestación

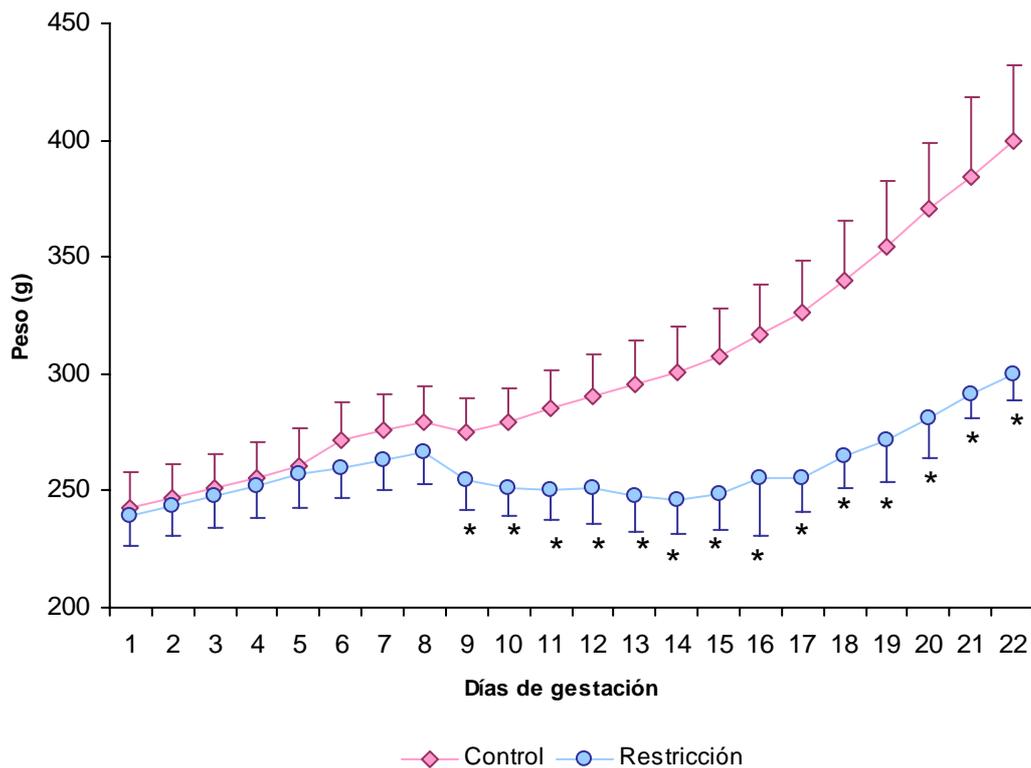


Figura 9. Peso de la rata madre durante la gestación. Las ratas del grupo experimental se sometieron a una restricción del 50% del consumo de alimento de la rata control. Grupo Control $n = 46$, Grupo Restricción $n = 23$. Los valores se presentan como promedio \pm SD. Las diferencias estadísticas se muestran como * con una $p < 0.001$.

2. Peso de las crías al nacimiento y al destete

El peso al nacimiento de las crías de las ratas que fueron sometidas a restricción fue significativamente menor en comparación con sus controles. El número de crías por camada no fue diferente entre los grupos.

Al destete el peso corporal de las crías macho del grupo restringido fue significativamente menor que el peso corporal de las ratas control (Tabla 5).

Tabla 5. Peso corporal de las crías macho al nacimiento y al destete

Grupo	Peso al nacimiento	Número de crías por camada	Peso de las crías al destete
NR/NL (53)	7.6 ± 0.49	11.3 ± 2.0	49.7 ± 5.1 ^a
NR/AL (53)			49.3 ± 4.7 ^a
R/NL (50)	5.95 ± 0.57	10.9 ± 1.8	43.7 ± 5.2 ^b
R/AL (50)			44.8 ± 5.7 ^b
p	<0.0001	0.44	<0.0001

Los valores se presentan como promedio ± desviación estándar. Los promedios que son significativamente diferentes se muestran con superíndices diferentes.

3. **Peso corporal y de los tejidos de las crías macho a los 80 días de edad**

En la tabla 6 se muestra el peso corporal y el peso del tejido adiposo epididimal y retroperitoneal, de la carcasa y del hígado de las ratas macho de los cuatro grupos experimentales.

El peso corporal fue significativamente mayor en las ratas sometidas a una restricción de alimento del 50% durante la gestación (R) comparadas con las ratas alimentadas a libre demanda durante la gestación (NR), independiente de la dieta con la que fueron alimentados después del destete.

Las ratas alimentadas con una dieta alta en lípidos (NR/AL) después del destete y las restringidas durante la gestación independientemente de la dieta que recibieron después del destete tuvieron un peso de la carcasa mayor en comparación con el grupo no restringido alimentado con la dieta NL durante el destete.

Los machos del grupo NR/AL tuvieron un peso de la carcasa mayor que el grupo NR/NL. Por otro lado, el grupo R/NL tuvo un mayor peso de carcasa que el grupo NR/NL, el cual está relacionado al tratamiento durante su gestación, sin embargo, no se encontraron diferencias cuando se compara con el grupo R/AL ni contra el grupo NR/AL. No se encontraron diferencias estadísticas en el peso del hígado entre los cuatro grupos experimentales, aunque existe tendencia a un aumento en el tamaño del hígado dependiente de la dieta y de la restricción temprana (Tabla 6).

Se encontró un efecto de la dieta y de la restricción temprana en el peso sobre la cantidad del tejido adiposo epididimal entre los grupos estudiados. El peso del tejido adiposo epididimal fue significativamente mayor en los animales que recibieron la dieta AL y en los que fueron restringidos durante la gestación. La restricción *in utero* provocó un aumento significativo en el peso del tejido adiposo epididimal independientemente de la dieta postdestete, siendo mayor entre aquellos machos alimentados post-destete con una dieta alta en lípidos; además la restricción *in utero* provoca un aumento significativo en la

cantidad de tejido adiposo epididimal, cuando se comparan los grupos NR/NL y R/NL. El grupo R/AL fue el que tuvo una mayor cantidad de tejido epididimal comparado con los otros tres grupos restantes (Tabla 6).

Tabla 6. Efecto de la restricción *in útero* y de la cantidad de lípidos de la dieta sobre el peso corporal y de los tejidos a los 80 días de edad de las crías macho

Grupo	Peso corporal	Carcasa	Tejido adiposo		Hígado
			Epididimal	Retroperitoneal	
	g				
NR/NL	349.1 ± 15.8 ^a	168.6 ± 26.8 ^a	2.82 ± 0.55 ^a	2.74 ± 1.23 ^a	12.2 ± 1.3
NR/AL	342.8 ± 23.4 ^a	178.1 ± 13.5 ^b	3.42 ± 0.98 ^b	3.93 ± 0.70 ^a	12.7 ± 1.7
R/NL	366.9 ± 22.2 ^b	195.2 ± 19.9 ^b	3.66 ± 0.56 ^b	6.89 ± 1.80 ^b	12.7 ± 1.3
R/AL	374.7 ± 21.6 ^b	204.2 ± 21.9 ^b	4.48 ± 0.83 ^c	7.51 ± 0.71 ^b	13.5 ± 1.2
p	0.01	0.005	<0.0001	<0.0001	0.066

Los valores se muestran como promedio ± desviación estándar. Los superíndices diferentes indican diferencias estadísticas entre los grupos.

En la tabla 7 se muestran el peso de los tejidos, los resultados se muestran como porcentaje de tejido para corregir por las diferencias en peso corporal. En cuanto a la carcasa, se encontraron diferencias entre los grupos no restringidos con diferente dieta, siendo mayor el tamaño de la carcasa en el grupo NR/AL que en el grupo NR/NL. No se encontraron diferencias entre los grupos restringidos. Las diferencias encontradas en el análisis del peso de los tejidos se mantienen aún después de esta corrección.

El porcentaje de tejido adiposo epididimal fue diferente entre los grupos con diferente tipo de dieta y entre diferente tratamiento durante la gestación. Entre el grupo R/NL y el NR/AL no se encontraron diferencias estadísticas en el porcentaje de tejido adiposo epididimal.

Los grupos sometidos a restricción alimentaria durante la gestación tuvieron un mayor porcentaje de tejido adiposo retroperitoneal que los grupos control, independientemente de la dieta con la que fueron alimentados.

No se encontraron diferencias estadísticas en el porcentaje de hígado por peso corporal entre ninguno de los grupos estudiados.

Tabla 7. Porcentaje del peso corporal de la carcasa y de los tejidos a los 80 días de edad de las crías macho en relación al peso corporal

	Carcasa	Tejido adiposo		Hígado
		Epididimal	Retroperitoneal	
	%			
NR/NL	47.9 ± 4.9 ^a	0.81 ± 0.2 ^a	0.75 ± 0.3 ^a	3.54 ± 0.3
NR/AL	51.9 ± 3.3 ^b	0.99 ± 0.3 ^b	1.18 ± 0.2 ^a	3.69 ± 0.5
R/NL	56.9 ± 2.00 ^b	1.01 ± 0.2 ^b	1.75 ± 0.3 ^b	3.60 ± 0.4
R/AL	59.1 ± 5.5 ^b	1.23 ± 0.2 ^c	2.15 ± 0.3 ^b	3.59 ± 0.4
p	0.014	<0.0001	<0.0001	0.663

Los valores se muestran como promedio ± desviación estándar. Los superíndices diferentes indican diferencias estadísticas entre los grupos.

4. Ingesta de alimento en las crías macho desde el destete hasta los 80 días de edad.

En la figura 10 se muestra el consumo de alimento de las crías macho desde el destete hasta los 80 días de edad. Durante el periodo posterior al destete y hasta los 80 días de edad, el consumo de alimento fue menor a partir del día 26 en las ratas alimentadas con la dieta alta en lípidos independientemente de si fueron o no restringidas durante la gestación del tratamiento que tuvo su madre durante la gestación.

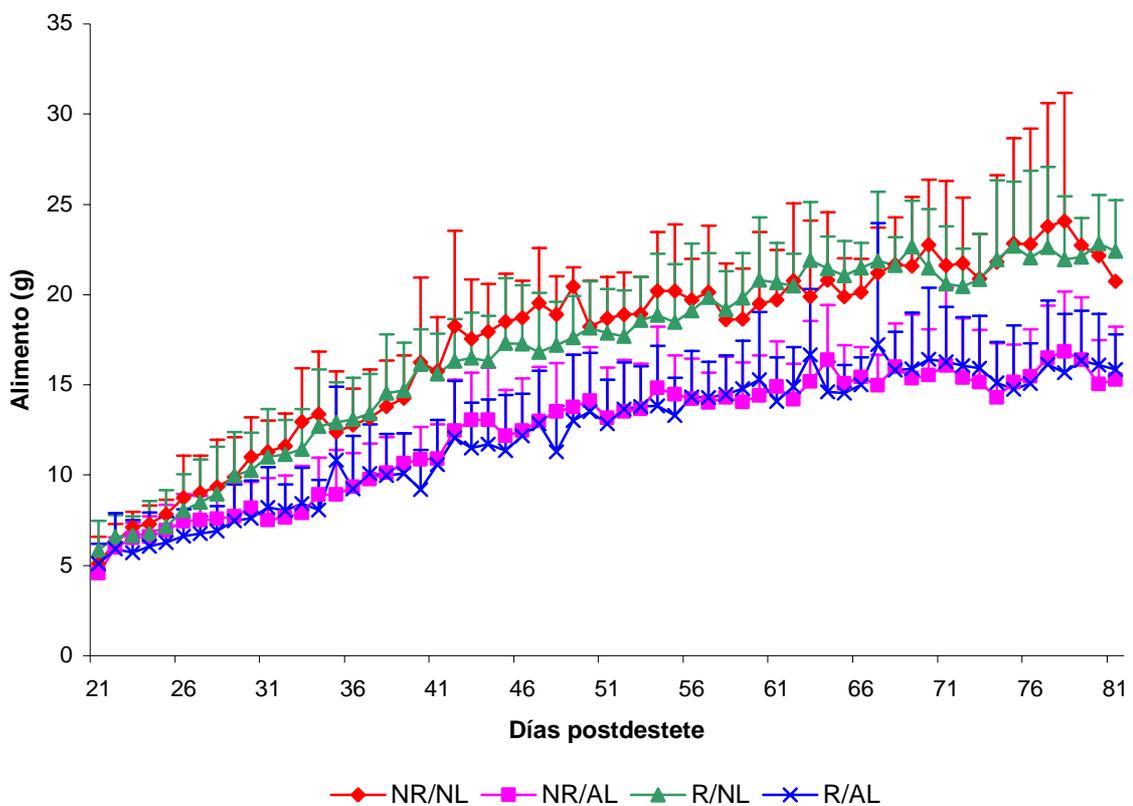


Figura 10. Ingesta de alimento de las crías macho, no restringidos durante su periodo gestacional (NR) o con una restricción del 50% de alimento (R), alimentadas desde el destete hasta los 80 días de edad alimentadas con una dieta que contiene 4% de lípidos (NL) o con 40% de lípidos (AL); grupos no restringidos durante su periodo gestacional (NR) o con una restricción del 50% de alimento durante la gestación (R). NR/NL n= 64, NR/AL n= 66, R/NL n= 49, R/AL n= 46. Los valores se presentan como promedio \pm desviación estándar.

La ingesta energética de los cuatro grupos experimentales se muestra en la figura 11. La ingesta energética se incrementó progresivamente desde el destete hasta los 80 días de edad en todos los grupos, no se encontraron diferencias significativas en el consumo de energía durante este periodo entre los grupos experimentales.

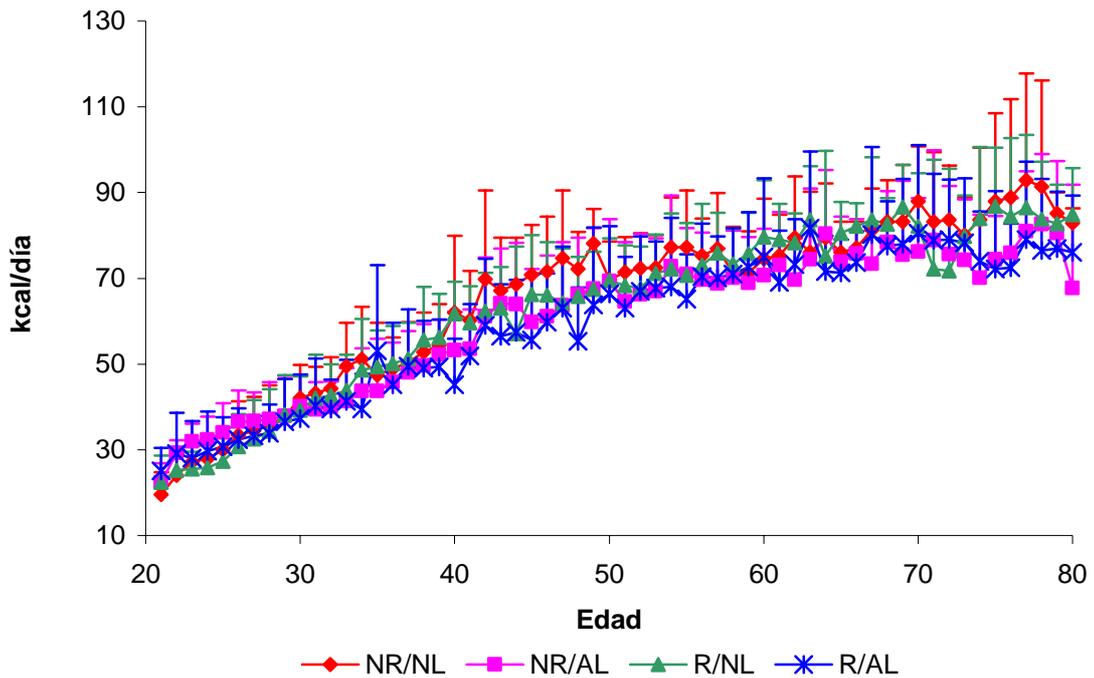


Figura 11. Ingesta energética de las crías macho desde el destete hasta 80 días de edad alimentadas con una dieta que contiene 3824 cal/kg dieta (NL) o 4904 cal/kg dieta (AL); grupos no restringidos durante su periodo gestacional (NR) o con una restricción del 50% de alimento durante la gestación (R). NR/NL n= 64, NR/AL n= 66, R/NL n= 49, R/AL n= 46. Los valores se presentan como promedio \pm desviación estándar.

5. Composición corporal de las ratas macho a los 80 días de edad.

La composición corporal de los animales de los diferentes grupos experimentales determinada a los 80 días de edad se muestra en la tabla 8. Se observa que los grupos sometidos a la restricción *in útero* tienen un porcentaje de grasa corporal significativamente mayor en comparación con las crías de las ratas que fueron alimentadas a libre demanda *ad libitum* durante la gestación. Además, los grupos que recibieron la dieta AL desde el destete tienen un porcentaje de grasa corporal significativamente mayor en comparación con las ratas alimentadas con la dieta NL independientemente de si los animales fueron o no restringidos durante la gestación.

El porcentaje de proteína corporal en los grupos de ratas que recibieron la dieta AL, fue significativamente menor comparadas con los grupos de ratas alimentadas con la dieta NL.

Tabla 8. Efecto de la restricción durante la gestación *in útero* y del contenido de la cantidad de lípidos en la dieta sobre la composición corporal de las ratas macho a los 80 días de edad.

	Humedad	Sólidos	Grasa	Proteína
	%			
NR/NL	72.2 ± 1.7	27.5 ± 1.7	17.4 ± 3.3 ^a	68.5 ± 1.9 ^a
NR/AL	70.0 ± 1.9	30.0 ± 1.9	23.9 ± 2.5 ^b	63.2 ± 1.9 ^b
R/NL	72.4 ± 2.7	27.6 ± 2.7	22.6 ± 3.4 ^b	70.3 ± 1.8 ^a
R/AL	71.0 ± 2.9	29.0 ± 2.9	28.3 ± 3.3 ^c	65.1 ± 2.1 ^b
p	0.17	0.17	<0.0001	0.029

Los valores se muestran como promedio ± desviación estándar. Los superíndices diferentes indican diferencias estadísticas entre los grupos.

6. Porcentaje de lípidos en los tejidos

El porcentaje de lípidos en el hígado y en el tejido adiposo se muestra en la tabla 9. Los grupos de ratas alimentados con una dieta AL tienen significativamente mayor porcentaje de lípidos en el hígado comparados con las ratas que recibieron la dieta NL. No se encontraron diferencias en el contenido de lípidos en el tejido adiposo epididimal entre ninguno de los grupos.

Tabla 9. Efecto de la restricción alimentaria durante la gestación y la alimentación postdestete con una dieta con diferente concentración de lípidos sobre el contenido de lípidos en hígado y tejido adiposo de las crías macho a los 80 días de edad

	N	Hígado	TAE
		%	
NR/NL	10	3.6 ± 0.41 ^a	79.3 ± 12.2
NR/AL	10	10.1 ± 2.9 ^b	79.3 ± 5.4
R/NL	8	3.4 ± 1.0 ^a	75.3 ± 9.2
R/AL	8	9.1 ± 2.3 ^b	81.1 ± 6.0
p		<0.0001	0.59

Los valores se muestran como promedio ± desviación estándar. Los superíndices diferentes indican diferencias estadísticas entre los grupos.

7. Captación y oxidación. Utilización y transferencia de una dosis de ^{14}C trioleína administrada oralmente a las ratas macho a los 80 días de edad

La absorción de la dosis oral de trioleína marcada fue significativamente mayor en las ratas que recibieron la dieta AL en comparación con las ratas de la dieta NL (Tabla 10). Para corregir el efecto de la absorción los resultados se expresan como porcentaje de la dosis absorbida.

Tabla 10. Efecto de la restricción de alimento durante la gestación *in útero* y de la alimentación postdestete con una dieta con diferente concentración de lípidos sobre la absorción de una dosis oral de ^{14}C -trioleína de lípidos en las crías macho de 80 días de edad

	N	Absorción de la dosis de ^{14}C -trioleína %
NR/NL	10	74.35 ± 7.86 ^a
NR/AL	10	89.75 ± 3.94 ^b
R/NL	8	78.63 ± 6.09 ^a
R/AL	8	93.35 ± 3.22 ^b
p		<0.0001

Los valores se muestran como promedio ± desviación estándar. Los superíndices desiguales indican diferencias estadísticas entre los grupos.

En la tabla 11 se muestran los valores acumulados de producción de $^{14}\text{CO}_2$ durante las 5 horas de estudio en los cuatro grupos experimentales. La oxidación de lípidos marcados fue significativamente menor en el grupo restringido durante la gestación y alimentado con una dieta alta en lípidos después del destete R/AL comparado contra los tres otros grupos restantes.

Tabla 11. Efecto de la restricción de alimento durante la gestación *in útero* y de la alimentación postdestete con una dieta con diferente concentración de lípidos sobre la producción de CO₂ y la incorporación de ¹⁴C-trioleína en el hígado, la carcasa y el tejido adiposo epididimal en las crías macho a los 80 días de edad

	n	Producción de CO ₂ (% dosis absorbida)	Incorporación total de ¹⁴ C-lípidos (% dosis absorbida/tejido total)		
			Hígado	Tejido adiposo epididimal	Carcasa
NR/NL	10	34.0 ± 3.2 ^a	17.4 ± 1.5	11.0 ± 0.6 ^a	11.9 ± 0.4 ^a
NR/AL	10	38.9 ± 3.1 ^a	14.9 ± 2.5	11.2 ± 0.5 ^a	13.8 ± 0.9 ^b
R/NL	8	36.9 ± 5.2 ^a	14.5 ± 2.6	11.8 ± 0.8 ^b	13.1 ± 0.8 ^b
R/AL	8	30.2 ± 5.1 ^b	16.4 ± 2.9	12.0 ± 0.5 ^b	16.6 ± 1.1 ^c
p		0.03	0.066	0.004	<0.0001

Los valores se muestran como promedio ± desviación estándar. Los superíndices diferentes indican diferencias estadísticas entre los grupos.

La incorporación de la ¹⁴C-trioleína en el hígado, tejido adiposo y carcasa se muestra en la tabla 11. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos en la incorporación de los lípidos marcados en el hígado o en el tejido adiposo. La incorporación de la ¹⁴C-trioleína en la carcasa y en el tejido adiposo epididimal de las ratas a los 80 días de edad fue significativamente mayor en las ratas restringidas durante la gestación que en las no restringidas, independientemente de la dieta postdestete consumida.

Además, se encontró que la incorporación del lípido marcado es significativamente mayor en las ratas alimentadas con la dieta AL., siendo el grupo R/AL el que tuvo una incorporación mayor comparado con los tres grupos restantes.

La incorporación de la ^{14}C -trioleína en la carcasa de las ratas a los 80 días de edad fue significativamente mayor en las ratas restringidas durante la gestación que las no restringidas; la dieta alta en lípidos tiene efecto sobre el aumento en la incorporación del lípido marcado en ambos grupos.

8. Lipogénesis en hígado y tejido adiposo

La tabla 12 muestra la síntesis *de novo* de los lípidos en el hígado en el tejido adiposo. En el hígado y en el tejido adiposo la lipogénesis fue menor en los tejidos de los grupos con la dieta AL comparados con los animales del grupo NL. En el hígado, las ratas del grupo R/NL tuvieron una mayor lipogénesis comparados con los del grupo NR/NL, sin embargo el grupo R/AL tuvo una menor lipogénesis al compararlo con el grupo NR/AL en este mismo tejido.

Tabla 12. Síntesis de lípidos *de novo* en las crías macho a los 80 días de edad

	N	LIPOGENESIS	
		mmol/g tej / h	
		Hígado	Tejido adiposo
NR/NL	10	12.0 ± 2.5 ^a	10.6 ± 1.8 ^a
NR/AL	10	7.5 ± 3.6 ^b	5.3 ± 2.9 ^b
R/NL	10	17.3 ± 5.1 ^c	11.5 ± 2.8 ^a
R/AL	10	2.9 ± 1.6 ^d	2.3 ± 0.8 ^c
p		<0.0001	<0.0001

Los valores se muestran como promedio ± desviación estándar. Los superíndices diferentes indican diferencias estadísticas entre los grupos.

9. Actividad de lipoproteína lipasa en músculo y tejido adiposo

La tabla 13 muestra la actividad de la LPL en el músculo y en el tejido adiposo epididimal y retroperitoneal. La actividad de la LPL en el músculo fue significativamente mayor en los grupos restringidos durante la gestación comparada con la actividad de las ratas de los grupos no restringidos, independientemente del tipo de dieta que consumieran.

En el tejido adiposo epididimal como en el retroperitoneal la actividad de la LPL fue significativamente mayor entre los grupos de ratas restringidas durante la gestación comparadas con las no restringidas, sin embargo las ratas del grupo R/AL tuvieron significativamente la mayor actividad de LPL comparados con los demás grupos.

Tabla 13. Efecto de la restricción alimentaria durante la gestación y la alimentación post-destete con dietas con diferente contenido de lípidos sobre la actividad de la LPL

Grupo	Músculo	Tejido Adiposo	
		Epididimal	Retroperitoneal
	nmolFFA/min		
NR/NL	1.32 ± 0.30 ^a	3.93 ± 1.52 ^a	1.43 ± 0.59 ^a
NR/AL	1.67 ± 0.41 ^a	3.56 ± 1.69 ^a	1.12 ± 0.42 ^a
R/NL	2.39 ± 0.81 ^b	6.79 ± 2.27 ^b	4.95 ± 0.68 ^b
R/AL	3.01 ± 0.73 ^b	13.01 ± 3.33 ^c	7.14 ± 2.09 ^c
p	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Los valores se muestran como promedio ± desviación estándar. Los superíndices diferentes indican diferencias estadísticas entre los grupos.

10. Perfil de expresión de lipoproteína lipasa en tejido adiposo y músculo de ratas adultas.

Las figuras 12 y 13 muestran la expresión de la lipoproteína lipasa en músculo esquelético y en tejido adiposo, respectivamente. La expresión de la lipoproteína lipasa en músculo fue significativamente mayor en los grupos restringidos durante la gestación comparados con las ratas de los grupos no restringidos ($p < 0.003$), sin embargo los animales que consumieron una dieta alta en lípidos no presentaron una expresión diferente independientemente del tratamiento durante la gestación que tuvieran.

El perfil de expresión de la lipoproteína lipasa en el tejido adiposo es igual en todos los grupos experimentales, como se muestra en la figura 13.

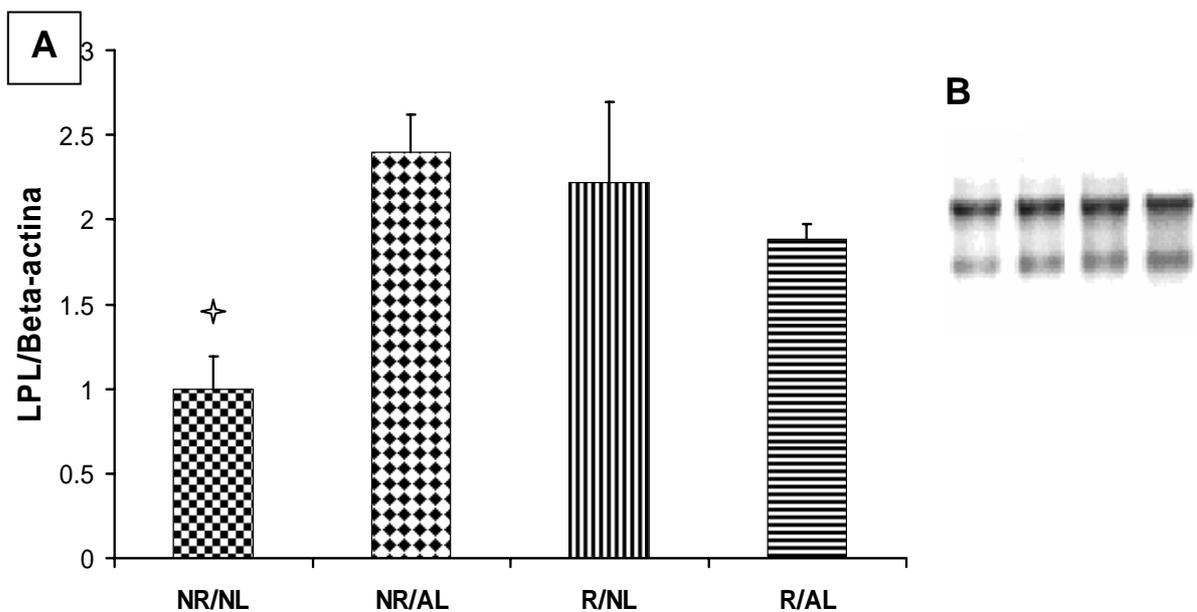


Figura 12. A) Perfil de expresión de lipoproteína lipasa en músculo esquelético en las crías macho a los 80 días de edad alimentadas con una dieta que contiene 3824 cal/kg dieta (**NL**) o 4904 cal/kg dieta (**AL**); grupos no restringidos durante su periodo gestacional (**NR**) o con una restricción del 50% de alimento durante la gestación (**R**). Los valores se presentan como promedio \pm error estándar. La comparación se realizó entre los grupos en un mismo tejido. La diferencia mostrada tiene $p < 0.003$. **B)** Gel al 1% de agarosa con 150ng/ml de RNA.

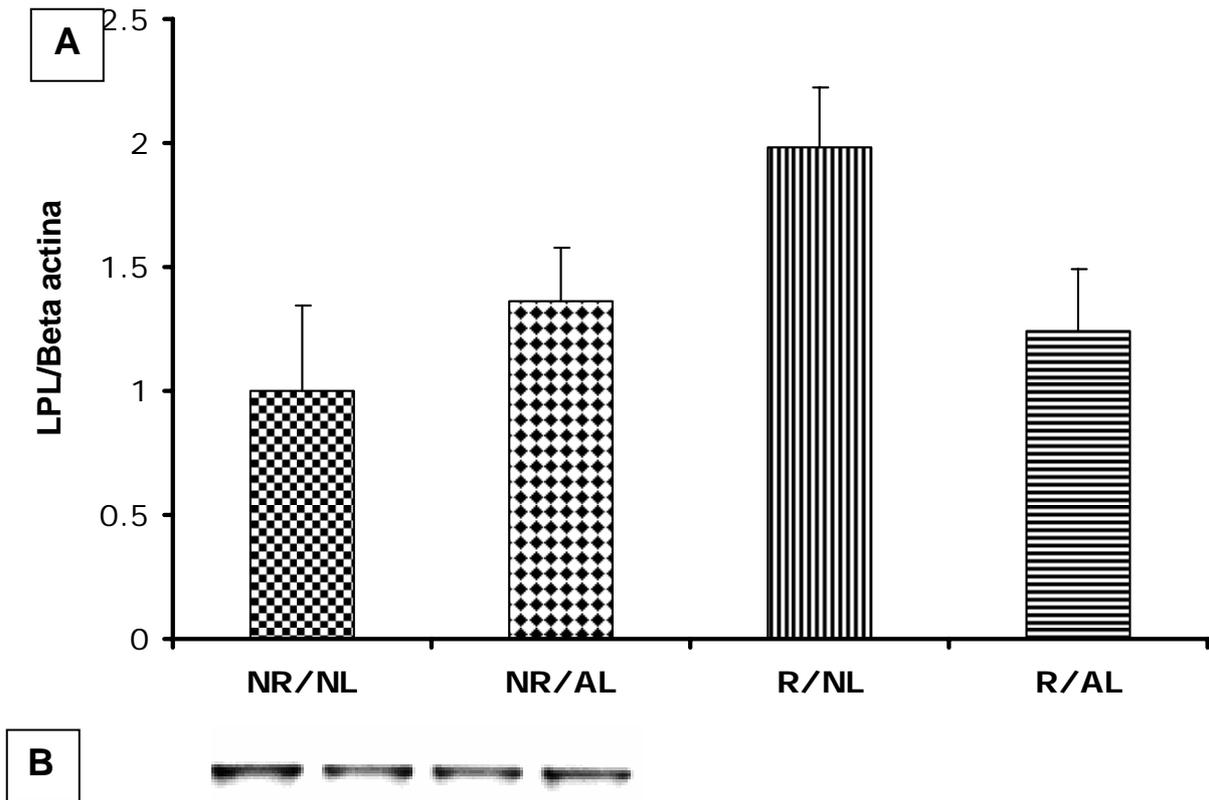


Figura 13. A) Perfil de expresión de lipoproteína lipasa en tejido adiposo epididimal en las crías macho a los 80 días de edad alimentadas con una dieta que contiene 3824 cal/kg dieta (**NL**) o 4904 cal/kg dieta (**AL**); grupos no restringidos durante su periodo gestacional (**NR**) o con una restricción del 50% de alimento durante la gestación (**R**). Los valores se presentan como promedio \pm error estándar. La comparación se realizó entre los grupos en un mismo tejido. La diferencia mostrada tiene $p < 0.003$. **B)** Gel al 1% de agarosa con 150ng/ml de RNA.

11. Concentración de leptina, insulina, glucosa y triacilgliceroles plasmáticos

La tabla 14 muestra las concentraciones en plasma de insulina, leptina, glucosa y triacilgliceroles de las ratas macho a los 80 días de edad. La concentración plasmática de insulina, glucosa y triacilgliceroles es significativamente mayor en las ratas sometidas a restricción comparadas con las ratas no restringidas; en el caso de la insulina y de la glucosa éste aumento es independiente de la dieta post-destete con la que fueron alimentadas, sin embargo en el caso de la concentración de triacilgliceroles plasmáticos, el consumo de una dieta alta en lípidos disminuye la concentración de triacilgliceroles circulantes (Tabla 14).

La concentración de leptina en plasma es significativamente mayor en las ratas sometidas a restricción comparadas con las ratas no restringidas, independientemente de la dieta con la que fueron alimentadas (Tabla 14). Se realizó un análisis de regresión lineal (Tabla 15) para eliminar el efecto de la concentración de grasa sobre la secreción de leptina y se encontró que los grupos R/NL y R/AL continuaban teniendo una mayor concentración de leptina plasmática por efecto de la restricción independientemente del porcentaje de la grasa y del peso corporal.

Tabla 14. Efecto de la restricción de alimento durante la gestación y la alimentación post-destete con dietas con diferente contenido de lípidos sobre la concentración plasmática de leptina, insulina, glucosa y triacilgliceroles

Grupo	Leptina ng/ml	Insulina ng/ml	Glucosa mM	Triacilgliceroles mg/dl
NR/NL	2.1 ± 0.8 ^a	2.3 ± 0.6 ^a	8.6 ± 1.5 ^a	96.72 ± 22.9 ^a
NR/AL	2.0 ± 1.0 ^a	2.4 ± 0.8 ^a	7.0 ± 1.9 ^b	67.56 ± 39.7 ^b
R/NL	4.6 ± 1.4 ^b	3.3 ± 0.6 ^b	14.4 ± 1.6 ^c	143.48 ± 24.2 ^c
R/AL	5.1 ± 2.4 ^b	4.0 ± 0.9 ^b	12.0 ± 2.1 ^c	101.48 ± 21.1 ^a
p	< 0.0001	<0.0001	0.001	<0.0001

Los valores se muestran como promedio ± desviación estándar. Los superíndices diferentes indican diferencias estadísticas entre los grupos.

Tabla 15. Variación ajustada para las concentraciones séricas de leptina en ratas macho de 80 días de edad en el grupo restringidos controlando por peso corporal y tipo de dieta

			Valor de p	R²
Variable dependiente: Concentraciones séricas de leptina (ng/ml)			<0.001	0.47
Predictor	Coficiente	Desviación estándar	P	
Peso corporal	-0.000182	0.006	0.976	
Dieta alta en lípidos¹	2.562	0.443	0.476	
Restricción²	0.289	0.402	<0.001	

¹ Comparado con la dieta estándar ² Comparado con los animales con libre acceso a alimento durante la gestación (leptina = 1.74+ 0.00074 peso corporal + 2.08 RNL + 3.05 R/AL - 0.028NR/AL, p R/NL 0.003 y R/AL <0.0001).

DISCUSIÓN

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de la restricción durante el desarrollo intrauterino junto con el aporte elevado de lípidos después del destete sobre el metabolismo de los lípidos y el desarrollo de obesidad en la rata. Nuestros resultados muestran que la restricción de alimento durante la gestación esta relacionada con un mayor peso y contenido de grasa corporal en la edad adulta en la rata; este efecto puede verse amplificado si el animal recibe una dieta alta en energía, con elevado contenido de lípidos. La desnutrición fetal como un modelo de programación temprana, se relacionó también con alteraciones en el metabolismo del organismo asociada con la elevación de hormonas y de algunos indicadores bioquímicos de la obesidad como la leptina, la insulina, la glucosa y los triacilgliceroles. El aumento en la acumulación de lípidos corporales por efecto de la restricción gestacional y la dieta postdestete estuvo asociado con la mayor actividad de la lipoproteína lipasa tanto en músculo como en tejido adiposo.

Diversos estudios han mostrado que las modificaciones provocadas por la programación temprana se manifiestan cuando se presenta un estímulo externo el cual desencadena una serie de alteraciones en la homeostasis corporal, provocando el desarrollo de diversas enfermedades endocrinas y/o metabólicas ^{10, 56, 66, 132, 167}. Nuestros resultados están de acuerdo con estas observaciones debido a que demostramos que la ingesta de una dieta alta en lípidos como estímulo externo ambiental amplifica los efectos del modelo de programación temprana por desnutrición⁷⁶, incrementando el peso corporal, la adiposidad, las alteraciones en los metabolitos plasmáticos y la actividad de la lipoproteína lipasa en músculo y tejido adiposo y disminuyendo la oxidación de los lípidos de la dieta. El resultado de todos estos cambios en el metabolismo condujo al desarrollo de obesidad en las ratas.

El grado de retardo en el crecimiento fetal observado en nuestros animales, ocasionado por la restricción en la cantidad de alimento a la rata madre solamente durante el periodo de gestación puede compararse con los resultados mostrados con otros modelos experimentales en ratas ^{144, 244, 245, 267}. El efecto de la restricción intrauterina provocó la disminución en el peso y talla de las crías, sin embargo no se afectó el número de embriones implantados o la sobrevivencia de estos ya que el número de crías por camada no fue diferente entre los grupos. Las crías del grupo restringido mostraron una aceleración en su velocidad de crecimiento durante la etapa de lactancia, sin embargo, aún después de este esfuerzo, el tamaño de las crías restringidas permaneció por debajo de las crías control hasta el destete; estos datos coinciden con resultados publicados por otros grupos de investigación ^{101, 102, 247}.

Después del destete, la velocidad de crecimiento de las crías restringidas durante la gestación continuó siendo mayor que la del grupo control, logrando que al día 63 de edad, el peso corporal de las ratas de los dos grupos se igualara. Sin embargo, al día 80 de edad las ratas restringidas durante su gestación fueron más grandes que las del grupo control. Esta diferencia puede atribuirse al aumento en los depósitos adiposos en el cuerpo de los animales del grupo restringido ya que el porcentaje de grasa fue 40% mayor en el grupo restringido en comparación con el grupo control.

Los estudios publicados han mostrado que al variar las condiciones experimentales de programación intrauterina principalmente modificando la duración y tipo de exposición, se pueden tener diferentes efectos sobre la diferenciación celular y el desarrollo de los tejidos de las ratas ^{11, 102, 130, 247}. Nuestros resultados mostraron que la restricción durante las últimas dos semanas de gestación es suficiente para desencadenar cambios en el metabolismo de los animales que los conduzcan al desarrollo de obesidad.

Estudios previos ^{130, 246} han demostrado que las ratas desnutridas durante la gestación consumen significativamente más alimento como una consecuencia de la desnutrición fetal. En nuestro estudio, las ratas restringidas a pesar de haber desarrollado un mayor peso corporal y una mayor adiposidad, no desarrollan hiperfagia. El consumo energético por día entre los grupos experimentales fue similar, lo que puede indicar que las ratas restringidas utilizan más eficientemente la energía ingerida o gastan menos energía para el mantenimiento de su gasto energético basal y de su actividad física. Algunos datos en la literatura indican que los animales desnutridos durante la gestación son más eficientes en el uso de energía para la ganancia de peso que las ratas con un libre acceso de alimento durante la gestación ^{101, 102, 104}. Al respecto se ha propuesto que la preferencia en el almacenamiento de energía sobre el uso de los combustibles es el resultado de una memoria celular como resultado de la desnutrición durante la gestación, cuyo objetivo principal es almacenar energía en preparación para futuras privaciones alimenticias ^{11, 130, 167}.

Aunque otros autores ^{167, 246} muestran que las dietas hipercalóricas estimulan la hiperfagia, nuestros resultados muestran que las ratas a las que se les proporcionó una dieta alta en lípidos con una elevada densidad energética regulan su consumo energético y no desarrollan hiperfagia. Otros trabajos han encontrado lo mismo en estudios con diferente concentración de lípidos en la dieta ^{41, 76}.

En relación a la hiperfagia reportada por Jones ¹⁰², este utilizó una dieta stock durante los primeros 140 días de vida, la cual era rica en carbohidratos, y la hiperfagia presentada en las ratas adultas se produjo cuando se cambió a una dieta hiperlipídica en la edad adulta. Este aumento en la cantidad de comida ingerida puede estar relacionado por el simple cambio de sabor del alimento, En nuestro modelo las ratas consumieron una dieta hiperlipídica a partir del destete (día 21 de edad) y hasta los 80 días de edad, por lo

que nunca tuvieron el estímulo de cambio de sabor, y se enfocaron en el consumo diario requerido.

Las ratas restringidas durante su gestación mostraron un mayor tamaño en los depósitos de tejido adiposo del epidídimo y en la región retroperitoneal, cuando se comparan con el grupo de ratas no restringidas. Este depósito mayor de lípidos en el tejido adiposo puede ser consecuencia de una mayor captación de los lípidos circulantes asociado a una mayor actividad de la lipoproteína lipasa en este tejido. El aumento en la actividad de la enzima puede ser una consecuencia directa de la programación temprana. Estudios de otros grupos aportan resultados que no concuerdan con los nuestros, Jones¹⁰² encontró en un modelo similar al nuestro, que la desnutrición intrauterina provocaba un aumento en el peso corporal como consecuencia de un aumento en el consumo energético, sin que se encontraran diferencias en la actividad de la LPL en ningún tejido de las ratas estudiadas, ni siquiera en los grupos de animales a los que se les ofreció una dieta alta en lípidos. Diferencias en el diseño del modelo de programación entre los dos estudios puede ser la causa de la contradicción de los resultados antes mencionada. A pesar de que la restricción de alimento durante la gestación utilizada por Jones sea del 50%, igual que en nuestro estudio, el comienzo de la restricción se llevó a cabo a diferentes tiempos,; Jones restringió durante los primeros 14 días de gestación, en los cuales se lleva a cabo la mitosis y la implantación del blastocisto y el desarrollo de diversas estructuras precursoras de sistemas corporales; mientras que en nuestro modelo, la restricción se realizó durante los últimos 14 días de gestación, permitiendo la implantación y aumentando la tasa de natalidad²⁴³. Estos resultados sugieren que la última semana de gestación puede ser el momento del marcado (imprinting) de la enzima en los diversos tejidos en los que se encuentra presente⁸⁸.

Por otro lado, estudios en humanos han mostrado que la actividad de la lipoproteína lipasa es mayor en el tejido adiposo de los individuos obesos comparadas con individuos sin obesidad, y que esta mayor actividad se mantiene aún cuando los individuos obesos disminuyan su peso^{108, 109}.

La lipoproteína lipasa es una enzima que se localiza en diversos tejidos, incluyendo el músculo y el tejido adiposo; y así como otras proteínas sintetizadas en mas de un tejido, los procesos moleculares que conducen a la regulación tejido-específica de la LPL no están completamente entendidos. La expresión y la actividad de la enzima dependen del estado metabólico del tejido y de los estados fisiológicos del organismo, con cambios recíprocos en la utilización de los ácidos grasos de acuerdo a las demandas metabólicas. Los cambios en la expresión de la LPL están mediados predominantemente a través de la acción de hormonas, como la insulina, glucocorticoides y adrenalina^{60, 67, 121, 160, 242}. El control de la expresión de la lipoproteína lipasa puede ocurrir a nivel transcripcional mediante factores en *cis* y en *trans* y a nivel post-transcripcional, a través de un gran número de pasos, los cuales incluyen la estabilidad del mRNA, la traducción, la degradación de la proteína, el procesamiento, la secreción, la translocación a su sitio de acción y la inhibición competitiva por productos¹⁴³.

Nuestros resultados sugieren que el aumento en la actividad de la LPL en los dos tejidos estudiados (tejido adiposo y músculo) no se debe a una mayor tasa de transcripción debido a que los niveles del mRNA de la LPL no fueron diferentes entre los grupos en ninguno de los tejidos estudiados. Estos resultados nos sugieren que la regulación de la enzima se está llevando a cabo a nivel post-transcripcional, como lo han propuesto varios autores^{58, 60, 62, 108, 161,191, 193, 194, 214}.

Nuestros hallazgos pueden ser el resultado de adaptaciones en el metabolismo energético que pueden contribuir a un aumento de los materiales metabólicos de depósito como las acumulaciones de grasa en el tejido adiposo incrementando la adiposidad y el peso corporal^{87, 91}. Esto se refleja por un aumento en el contenido de grasa en la carcasa y en el peso del tejido adiposo tanto epididimal como retroperitoneal, como un resultado del efecto de programación temprana. El incremento en el peso del tejido adiposo puede ser consecuencia de la hiperinsulinemia desarrollada en estas ratas junto con el aumento en la concentración de leptina circulante, la cual como se observó en los resultados es independiente del aumento de la adiposidad. Las posibles adaptaciones en el metabolismo energético pueden reflejarse por las concentraciones elevadas en la glucosa y triacilgliceroles, como se ha reportado en relación al desarrollo de obesidad⁴³.

CONCLUSIONES

La restricción durante la gestación conduce al aumento en el porcentaje de grasa corporal en la edad adulta ocasionado por una mayor captación y depósito de los lípidos de la dieta en los tejidos, aun sin cambios aparentes en la ingesta total de energía.

El aumento en el consumo de lípidos potencia el efecto de la restricción de alimento durante la gestación sobre el desarrollo de la obesidad en la rata.

Las ratas restringidas durante la gestación presentan mayores concentraciones séricas de insulina, leptina, glucosa y triacilgliceroles como resultado del desarrollo de obesidad.

El aumento en la captación de lípidos por los tejidos en los animales obesos esta relacionado con un aumento en la actividad enzimática de la LPL. La regulación de la enzima en este modelo no se llevo a cabo a través de un mecanismo transcripcional.

PERSPECTIVAS

De todo lo anterior es necesario estudiar los mecanismos moleculares a través de los cuales la programación temprana provoca el desarrollo de un fenotipo ahorrador. Sería importante conocer si la programación temprana modifica los patrones epigenéticos que de este modo podrían heredarse a las siguientes generaciones y explicar, en parte, el aumento a nivel mundial de una serie de enfermedades crónico degenerativas, dentro de las cuales se encuentra la obesidad como un problema de salud pública.

Además sería importante encontrar los mecanismos reguladores de la lipoproteína lipasa de forma natural, y saber a que nivel la programación temprana está actuando. Conocer, en este modelo, a que nivel se regula la lipoproteína lipasa: traducción, post-traducción, activación o translocación a su sitio de acción. Y por último es necesario saber si la actividad de la lipoproteína lipasa es un factor preponderante en el desarrollo y mantenimiento de la obesidad.

REFERENCIAS

1. Ahima R, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, Flier J. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* 1996; 382: 250-252.
2. Alvarez C, Bailbe D, Picarel-Blanchot F, Bertin E, Pascual-Leone A, Portha B. Effect of early dietary restriction on insulin action and secretion in GK rat, a spontaneous model of NIDDM. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278: E1097-E1103.
3. Alvarez C, Martin M, Goya L, Bertin E, Portha B, Pascual-Leone A. Contrasted impact of maternal rat food restriction on the fetal endocrine pancreas. *Endocrinology* 1997; 138 (6): 2267-2273.
4. Archer Z, Rayner V, Mercer J. Hypothalamic gene expression is altered in underweight but obese juvenile male Sprague-Dawley rats fed a high-energy diet. *J Nutr* 2004; 134(6):1369-1374.
5. Arner P. Obesity--a genetic disease of adipose tissue? *Br J Nutr* 2000 Mar; 83 Suppl 1:S9-16.
6. Aubert R, Camus M.C., Bourgeois F, Herzog J, Lemonnier D. Serum lipoprotein profiles in mice: effects of early over- and undernutrition. *J Nutr* 1988; 118:1190-1196.
7. Auwerx J, Steals B. Leptin. *Lancet* 1998; 351 (7): 737-742.
8. Bains R, Wells S, Flavell D, Fairhall K, Strom M, Tissier P, Robinson I. Visceral Obesity without insulin resistance in late-onset rats. *Endocrinology* 2004; 145: 2666-2679.
9. Baltzell JK, Wooten JT, Otto DA. Lipoprotein lipase in rats fed fish oil: apparent relationship to plasma insulin levels. *Lipids* 1991; 26(4):289-94.
10. Barker D, Gluckman p, Godfrey K, Harding J, Owens J, Robinson J. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet* 1993; 341: 938-941.

11. Barker D, Martyn C, Osmond C, Hales C, Fall C. Growth in utero and serum cholesterol concentrations in adult life. *Br Med J* 1993; 307(11):1524-1527.
12. Barker D, Phillipa MC. Fetal undernutrition and disease in later life. *Rev Reproduction* 1997; 2: 105-112.
13. Barrenäs M.L., Bratthall A, Dahlgren J. The thrifty phenotype hypothesis and hearing problems. *Br Med J* 2003; 327: 1199-2000.
14. Ben Zeev O, Lusic A, LeBoeuf R, Nikazy J, Schotz M. Evidence for independent genetic regulation of heart and adipose lipoprotein lipase activity. *J Biol Chem* 1983; 258(22): 13632-13636.
15. Ben Zeev O, M. H. Doolittle, Singh N, Chang CH, Schotz MC. Synthesis and regulation of lipoprotein lipase in the hippocampus. *J Lipid Res* 1990; 31: 1307-1313.
16. Ben Zeev O, Mao H, Doolittle MH. Maturation of lipoprotein lipase in the endoplasmic reticulum: Concurrent formation of functional dimers and inactive aggregates. *J Biol Chem* 2002; 277(12): 10727-10738.
17. Ben Zeev O, Stahnke G, Liu G, Davis R, Doolittle M. Lipoprotein lipase and hepatic lipase: the role of asparagines-linked glycosylation in the expression of a functional enzyme. *J Lipid Res* 1994; 35: 1511-1523.
18. Bergö M, Olivecrona G, Olivecrona T. Diurnal rhythms and effects of fasting and re-feeding on rat adipose tissue lipoprotein lipase. *Am J Physiol* 1996; 271(34): E1092-E1097.
19. Bergö M, Olivecrona G, Olivecrona T. Forms of lipoprotein lipase in rat tissues: in adipose tissue the proportion of inactive lipase increases on fasting. *Biochem J* 1996 Feb 1; 313 (Pt 3):893-8.
20. Bergö M, Olivecrona G, Olivecrona T. Regulation of adipose tissue lipoprotein lipase in young and old rats. *Int J Obes* 1997; 21:980-986.

21. Bergö M, Wu G, Ruge T, Olivecrona T. Down-regulation of adipose tissue lipoprotein lipase during fasting requires that a gene, separate from lipase gene, is switched on. *J Biol Chem* 2002; 277 (14): 11927-11932.
22. Bertin E, Gangnerau M.N, Bailbé D, Portha B. Glucose metabolism and β -cell mass in adult offspring of rats protein and/or energy restricted during the last week of pregnancy. *Am J Physiol* 1999; 277(40): E11-E17.
23. Bey L, Hamilton M. Suppression of skeletal muscle lipoprotein lipase activity during physical inactivity: a molecular reason to maintain daily low-intensity activity. *J Physiol* 2003; 551: 673-682.
24. Blondeau B, Garofano A, Czernichow P, Bréant B. Age-dependent inability of the endocrine pancreas to adapt to pregnancy: a long-term consequence of perinatal malnutrition in the rat. *Endocrinology* 1999; 140 (9): 4208-4213.
25. Boivin A, Deshaies Y. Contribution of hyperinsulinemia to modulation of lipoprotein lipase activity in the obese Zucker rat. *Metabolism*. 2000; 49(1):134-40.
26. Boivin A, Montplaisir I, Deshaies Y. Postprandial modulation of lipoprotein lipase in rats with insulin resistance. *Am J Physiol* 1994; 267(30): E620-E627.
27. Bonnet m, Leroux C, Faulconnier Y, Hocquette JF, Bocquier F, Martin P, Chilliard Y. Lipoprotein lipase activity and mRNA are up-regulated by refeeding in adipose tissue and cardiac muscle of sheep. *J Nutr* 2000; 130(4): 749-756.
28. Boozer CN, Brasseur A, Atkinson RL Dietary fat affects weight loss and adiposity during energy restriction in rats. *Am J Clin Nutr*. 1993; 58(6):846-52.
29. Botion LM. The influence of fasting/refeeding on the lipoprotein lipase activity of adipose tissue and muscle. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34(11):1411-4.
30. Bouret S, Simerly R. Minireview: leptin and development of hypothalamic feeding circuits. *Endocrinology* 2004; 145(6): 2621-2626.

31. Braun J, Severson D. Regulation of the synthesis, processing and translocation of lipoprotein lipase. *Biochem J* 1992; 287: 337-347.
32. Bray G, York D. Leptin and clinical medicine: a new piece in the puzzle of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82 (9): 2771-2776.
33. Brown M. and D. K. Layman. Lipoprotein lipase activity and chylomicron clearance in rats fed a high fat diet. *J Nutr* 1988; 118 (11): 1294-1298.
34. Brunzell JD, Schwartz RS, Eckel RH, Goldberg AP. Insulin and adipose tissue lipoprotein lipase activity in humans. *Int J Obes* 1981; 5(6):685-94.
35. Burns S, Desai M, Cohen R, Hales N, Illes R, Germain J, Going T, Bailey R. Gluconeogenesis, glucose handling, and structural changes in livers of the adult offspring of rats partially deprived of protein during pregnancy and lactation. *J Clin Invest* 1997; 100: 1768-1774.
36. Byrne C. Programming other hormones that affect insulin. *Br Med Bull* 2001; 60: 153-171.
37. Campfield A .Central mechanisms responsible for the actions of OB Protein (Leptin) on food intake, metabolism and body energy storage. *Front Horm Res* 2000; 26: 12-20.
38. Campfield A. Neurobiology of OB protein (Leptin). *Front Horm Res* 2000; 26:1-11.
39. Camps L., M. Reina, M. Llobera, S. Vilaro, T. Olivecrona. Lipoprotein lipase: cellular origin and functional distribution. *Am J Physiol* 1990; 258 (4 Pt 1): C673- C681.
40. Caro J, Sinha M, Kolaczynski J, Zhang P, Considine R. Leptin: the tale of an obesity gene. *Diabetes* 1996; 45: 1455-1462.
41. Cha MC, Jones PJ. Dietary fat type and energy restriction interactively influence plasma leptin concentration in rats. *J Lipid Res* 1998; 39(8):1655-60.
42. Chan C, Stern J. Adipose lipoprotein lipase in insulin-treated diabetic lean and obese Zucker rats. *Am J Physiol* 1982; 242(5): E445-E450.

43. Chapman C, Morgan L, Murphy M. Maternal and Early Dietary Fatty Acid Intake: Changes in Lipid Metabolism and Liver Enzymes in Adult Rats. *J Nutr* 2000; 130(2):146-151.
44. Cleasby M, Kelly P, Walker B, Seckl J. Programming of rat muscle and fat metabolism by in utero overexposure to glucocorticoids. *Endocrinology* 2003; 144(3): 999-1007.
45. Cook CB, Nair R, Herminghuysen D, Gatchair-Rose A, Rao J, Bagby GJ, Prasad C. Epididymal fat depot lipoprotein lipase activity is lower in animals with high endogenous fat preferences. *Life Sci* 1995; 57(9):839-45.
46. Cruz ML, Williamson DH. Refeeding meal-fed rats increases lipoprotein lipase activity and deposition of dietary [¹⁴C] lipid in white adipose tissue and decreases oxidation to ¹⁴CO₂. The role of undernutrition. *Biochem J* 1992; 285: 773–778.
47. Cusin I, Sainsbury A, Doyle P, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B. The ob Gene and Insulin: A Relationship Leading to Clues to the Understanding of Obesity. *Diabetes* 1995; 44(12): 1467-1470.
48. Dabelea D, Pettitt D, Hanson R, Imperatore G, Bennett P, Knowler W. Birth Weight, type 2 Diabetes and insulin resistance in Pima Indian children and young adults. *Diabetes Care* 1999; 22(6): 944-950.
49. Dagogo-Jack S, Fanelli C, Paramore D, Brothers J, Landt M. Plasma leptin and insulin relationships in obese and nonobese humans. *Diabetes* 1996; 45: 695-698.
50. Dasmt WT, Nilsson-Ehle P, Garfinkel AS, Atkinson RL, Bray GA, Schotz M Lipoprotein lipase activity in adipose tissue from obese human beings. *Int J Obes* 1981; 5(1):81-4.
51. De Gasquet P, Griglio S, Pequignot-Planche E, Malewiak MI. Diurnal changes in plasma and liver lipids and lipoprotein lipase activity in heart and adipose tissue in rats fed a high and low fat diet. *J Nutr* 1977; 107(2):199-212.
52. De Gasquet P, Planche E, Boulange A. Lipoprotein lipase at onset of obesity induced in rats by a high-fat diet. *Int J Obes* 1981; 5(6):701-5.

53. Delrue M, Michaud JI. Fat chance: genetic syndromes with obesity. *Clin Genet* 2004; 66: 83-93.
54. Desai M, Byrne C, Meeran K, Martenz n, Bloom S, Hales N. Regulation of hepatic enzymes and insulin levels in offspring of rat dams fed a reduced-protein diet. *Am J Physiol* 1997; 36: G899-G904.
55. Deshaies Y, Arnold J, Lalonde J, Richard D Lipoprotein lipase in white and brown adipose tissues of exercised rats fed a high-fat diet. *Am J Physiol* 1988; 255(2 Pt 2):R226-31.
56. Dietz W. Critical periods in childhood for the development of obesity. *Am J Nutr* 1994; 59: 955-959.
57. Donahoo W, Jensen D, Shepard T, Eckel R. Seasonal Variation in Lipoprotein Lipase and Plasma Lipids in Physically Active, Normal Weight Humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(9):3065-3068.
58. Doolittle M. H., Ben-Zeev O., Elovson J., Martin D., Kirchgessner T. G. The response of lipoprotein lipase to feeding and fasting. Evidence for posttranslational regulation. *J Biol Chem* 1990; 265:4570-4577
59. Doucet E, Pierre S, Alm eras N. Changes in energy expenditure and substrate oxidation resulting from weight loss in obese men and women: is there an important contribution of leptin?. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1550-1556.
60. Eckel RH, Yost TJ, Jensen DR. Alterations in lipoprotein lipase in insulin resistance. *Int J Obes* 1995; 19 Suppl 1:S16-21.
61. Enerb ack S, Gimble J. Lipoprotein lipase gene expression: physiological regulators at the transcriptional and post-transcriptional level. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1169: 107-125.
62. Enerb ack S, Ohlsson B, Samuelsson L, Bjursell G. Characterization of the Human Lipoprotein Lipase (LPL) Promoter: evidence of Two cis-Regulatory Regions, LP-ac and

- LP-P, of Importance for the Differentiation-Linked Induction of the LPL Gene during Adipogenesis. *Mol Cell Biol* 1992; 12(10): 4622-4633.
63. Engelbregt M, Houdijk M, Popp-Snijders C, Delemarre-Van De Wall H. The Effects of Intra-Uterine Growth Retardation and Postnatal Undernutrition on Onset of Puberty in Male and Female Rats. *Pediatric Res* 2000; 48: 803-807.
64. Eriksson J, Forsén T, Tuomilehto J, Osmond C, Barker D. Size at birth, childhood growth and obesity in adult life. *Int J Obes* 2001; 25: 735-740.
65. Erskine J, Jensen D, Eckel R. Macronutrient regulation of lipoprotein lipase is post-translational. *J Nutr* 1994; 124 (4): 500-507.
66. Faust I, Johnson P, Hirsch J. Long-term effects of early nutritional experience on the development of obesity in the rat. *J Nutr* 1980; 110: 2027-2034.
67. Ferreira L, Pulawa L, Jensen D, Eckel R. Overexpressing human lipoprotein lipase in mouse skeletal muscle is associated with insulin resistance. *Diabetes* 2001; 50(5): 1064-1068.
68. Fielding BA, Frayn KN. Lipoprotein lipase and the disposition of dietary fatty acids. *Br J Nutr* 1998; 80(6):495-502.
69. Flier J. What's in a name? In search of leptin's physiologic role. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83 (5): 1407-1413.
70. Fowden A, Forhead AJ. Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reproduction* 2004; 127: 515-526.
71. Frayn K. Regulación del metabolismo. Omega, México 1998
72. Fried S, Turkenkopf I, Goldberg I, Doolittle M, Kirchgessner T, Schotz M, Johnson P, Greenwood M. Mechanism of increased lipoprotein lipase in fat cells of obese Zucker rats. *Am J physiol* 1991; 261(24):E653-E660.

73. Fried S. K., Velazquez N, Nobel J. Nutrition-Induced variations in responsiveness to insulin effects on lipoprotein lipase activity in isolated rat fat cells. *J Nutr* 1990; 120: 1087-1095.
74. Fundación Mexicana para la Salud, Ac. Obesidad consenso. Mc Graw Hill. México DF 2002
75. Galtier-Dereure F, Boegner C. Obesity and pregnancy: complications and cost. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (suppl): 1242S- 1248S.
76. Ghibaudi L, Cook J, Farley C, Van Heek M, Hwa J. Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of Sprague-Dawley rats. *Obes Res* 2002; 10(5):956.
77. Godfrey K, Barker D. Fetal nutrition and adult disease. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(5): 1344S-1352S.
78. Godfrey K. Maternal regulation of fetal development and health in adult life. *Eur J Obst Gynecol* 1998; 78:141-150.
79. Goldberg I, Soprano D, Wyatt M, Vanni T, Kirchgessner T, Schotz M. Localization of lipoprotein lipase mRNA in selected rat tissues. *J Lipid Res* 1989; 30: 1569-1577.
80. Goldberg I. Lipoprotein lipase and lypolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis. *J Lipid Res* 1996; 37: 693-707.
81. González- Barranco. Obesidad. Mc Graw Hill México DF 2004
82. Guo Z, Hensrud D, Johnson M, Jensen M. Regional postprandial fatty acid metabolism in different obesity phenotypes. *Diabetes* 1999; 48: 1586-1592.
83. Hales CN, Barker D. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull* 2001; 60: 5-20.
84. Hales CN, Ozanne SE. For debate: Fetal and early postnatal growth restriction lead to diabetes, the metabolic syndrome and renal failure. *Diabetologia* 2003; 46(7):1013-9.
85. Hamilton JM, Heller HW, Wade GN. Adipose tissue lipoprotein lipase activity in rats maintained at a reduced body weight. *Physiol Behav* 1984; 33(3): 373-378.

86. Hikita M, Bujo H, Yamazaki K, Taira K, Takahashi K, Kobayashi J, Saito Y Differential expression of lipoprotein lipase gene in tissues of the rat model with visceral obesity and postprandial hyperlipidemia. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 277(2):423-9.
87. Hill JO, Lin D, Yakubu F, Peters JC. Development of dietary obesity in rats: influence of amount and composition of dietary fat. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1992; 16(5):321-33.
88. Hofbauer KG. Molecular pathways to obesity. *Int J Obes* 2002; 26(Suppl 2): S18-S27.
89. Holness M, Langdown M, Sugden M. Early-life programming of susceptibility to dysregulation of glucose metabolism and the development of type 2 diabetes mellitus. *Biochem J* 2000; 349: 657-665.
90. Ijzerman R.G, Stehouwer C, Van Weissenbruch M, Geus E, Boomsma D. Evidence for Genetic Factors Explaining the Association Between Birth Weight and Low-Density Lipoprotein Cholesterol and Possible Intrauterine Factors Influencing the Association Between Birth Weight and High-Density Lipoprotein Cholesterol: Analysis in Twins. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 86(11): 5479-5484.
91. In Surk J, Hwang D; Chae K, Lee J, Kim Y, Kang T, Hwang J, Lim C, Huh Y, Cho J. Role of dietary fat type in the development of adiposity from dietary obesity-susceptible Sprague-Dawley rats. *Br J Nutr* 2003; 89: 429-437.
92. Iossa S, Lionetti I, Mollica M, Crscenzo R, Botta M, Barletta A, Liverini G. Effect of high-fat feeding on metabolic efficiency and mitochondrial oxidative capacity in adult rats. *Br J Nutr* 2003; 90: 953-960.
93. Iossa S, Mollica MP, Lionetti L, Crescenzo R, Barletta A, Liverinni G. Effect of long-term high-fat feeding on energy balance and liver oxidative activity in rats. *Br J Nutr* 2000; 84: 377-385.
94. Iossa S, Mollica MP, Lionetti L. Skeletal muscle oxidative capacity in rat fed high-fat diet. *Int J Obes* 2002; 26: 65-72.

95. Jackson A. Nutrients, growth and the development of programmed metabolic function. *Adv Exp Med Biol* 2000; 478: 41-55.
96. James W. Long-term fetal programming of body composition and longevity. *Nutr Rev* 1997; 55 (1): S31-S43.
97. Jaquet D, Leger J, Taboigne MD, Czernichow P, Levy-Marchal C. High serum leptin concentrations during catch-up growth of children born with intrauterine growth retardation. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(6):1949-1953.
98. Jennings BJ, Ozanne SE, Dorling MW, Hales CN. Early growth determines longevity in male rats and may be related to telomere shortening in the kidney. *FEBS letters* 1999; 21804: 4-8.
99. Jensen D, Bessesen D, Eckel R, Neville M. Distribution and source of lipoprotein lipase in mouse mammary gland. *J Lipid Res* 1991; 32: 733-742.
100. Jéquier E. Pathways to obesity. *Int J Obes* 2002; 26 (suppl 2): S12-S17.
101. Jones A, Assimon S, Friedman M. The effect of diet on food intake and adiposity in rats made obese by gestational undernutrition. *Physiol Behav* 1986; 37: 381-386.
102. Jones AP, Simson EL, Friedman MI. Gestational undernutrition and the development of obesity in rats. *J Nutr* 1984;114(8):1484-92
103. Kaibara A, Moshedy A, Auffenberg T, Abouhamze A, Copeland III E, Kalra S, Moldawer L. Leptin produces anorexia and weight loss without inducing an acute phase response or protein wasting. *Am J Physiol* 1998; 274 (43): R1518-R1525.
104. Kanarek R, Schoenfeld, Morgane P. Maternal malnutrition in the rat: effects on food intake and body weight. *Physiol Behav* 1985; 38: 509-515.
105. Kaput J. Diet-disease gene interactions. *Nutrition* 2004; 20:26-31.
106. Keiper T, Schneider J, Dugi K. Novel site in lipoprotein lipase (LPL415-438) essential for substrate interaction and dimer stability. *J Lipid Res* 2001; 42: 1180-1186.

107. Kennedy A, Gettys T, Watson P, Wallace P, Ganaway E, Pan Q, Garvey T. The metabolic significance of leptin in humans: gender-based differences in relationship to adiposity, insulin sensitivity, and energy expenditure. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1293-1300.
108. Kern P, Marshall S, Eckel R. Regulation of lipoprotein lipase in primary cultures of isolated human adipocytes. *J Clin Invest* 1985; 75: 199-208.
109. Kern P, Ong J, Saffari B, Carty J. The effects of weight loss on the activity and expression of adipose tissue lipoprotein lipase in very obese humans. *N Eng J Med* 1990; 322 (15): 1053-1059.
110. Kern P. A Potential Role of TNF α and Lipoprotein Lipase as Candidate Genes for Obesity. *J Nutr* 1997; 127(9):1917S-1922S.
111. Kern PA, Ranganathan G, Yukht A, Ong J, Davis R. Translational regulation of lipoprotein lipase by thyroid hormone is via a cytoplasmic repressor that interacts with the 3' untranslated region. *J Lipid Res* 1996; 37: 2332-2340.
112. Kirchgessner T. G., Svenson K. L., Lusa A. J., Schotz M. C. The sequence of cDNA encoding lipoprotein lipase. *J Biol Chem* 1987; 262: 8463-8466.
113. Klingenspor M, Ebbinghaus C, Hülshorst G, Stöhr S, Spiegelhalter F, Haas K, Heldmaier. Multiple regulatory steps are involved in the control of lipoprotein lipase activity in brown adipose tissue. *J Lipid Res* 1996; 37: 1685-1695.
114. Kolaczynski J, Nyce M, Considine r, Boden G, Nolan J, Hensy R, Mudaliar S, Olefsky J, Caro J. Acute and chronic effect of insulin on leptin production in humans. *Diabetes* 1996; 45: 699-701.
115. Kotlar TJ, Borenstztajn J. Oscillatory changes in muscle lipoprotein lipase activity of fed and starved rats. *Am J Physiol* 1977; 233(4):E316-E319.
116. Kovár J, Fejfarová V, Pelikánová T, Poledne R. Hyperglycemia downregulates total lipoprotein lipase activity in humans. *Physiol Res* 2004; 53: 61-68.

117. Krapp A, Zhang H, Ginzinger D, Liu M, Lindberg A, Olivecrona G, Hayden M, Beisiegel U. Structural features in lipoprotein lipase necessary for the mediation of lipoprotein uptake into cells. *J Lipid Res* 1995; 36: 2362-2373.
118. Kwong W K, Wild A, Roberts P, Willis A, Fleming T. Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension. *Development* 2000; 127: 4195-4202.
119. Ladu M. J., Kapsas H., Palmer W. K. Regulation of lipoprotein lipase in adipose and muscle tissues during fasting. *Am J Physiol* 1991; 260(29):R953-R959.
120. Laplante M, Sell H, MacNaul K, Richard D, Berger J, Deshais Y. PPAR- γ activation mediates adipose depot-specific effects on gene expression and lipoprotein lipase activity. *Diabetes* 2003; 52: 291-299.
121. Lawson N, Pollard AD, Jennings RJ, Gurr MI, Brindley DN. The activities of lipoprotein lipase and of enzymes involved in triacylglycerol synthesis in rat adipose tissue. Effects of starvation, dietary modification and of corticotropin injection. *Biochem J* 1981; 200(2):285-94.
122. Lee JJ, Smith PJ, Fried SK. Mechanisms of Decreased Lipoprotein Lipase Activity in Adipocytes of Starved Rats Depend on Duration of Starvation. *J Nutr* 1998; 128(6):940-6.
123. Nelson D, Cox M. Lehninger, Principles of Biochemistry. Worth Publishers. Third Edition. United States of America, 2000.
124. Lemonnier D, de Gasquet P, Mackay S, Planche E, Alexiu A, Rosselin G, Loiseau A. Different levels of food restriction have opposite effects on adipocyte cellularity and lipoprotein-lipase activity in obese rats. *Diabete Metab* 1989; 15(6):394-402.
125. Lemonnier D. Effects of age, sex and site on the cellularity of the adipose tissue in mice and rats rendered obese by a high-fat diet. *J Clin Invest* 1972; 51: 2907-2915.

126. Leon D, Koupilova I, O Lithell H, Berglund L, Mohsen R, Vagero L, Lithell UB, McKeigue P. Failure to realize growth potential in utero and adult obesity in relation to blood pressure in 50 year old Swedish men. *Br Med J* 1996; 312: 401-406.
127. Letexier D, Diraison F, Beylot M. Addition of insulin to a moderate high-carbohydrate diet reduces hepatic lipogenesis and plasma triacylglycerol concentrations in humans. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 559-564.
128. Levin B, Cover E. Gestational obesity accentuates obesity in obesity-prone progeny. *Am J Physiol* 1998; 275 (44): R1374-R1379.
129. Lönnroth P Potential role of adipose tissue for the development of insulin resistance in obesity. *Acta Med Scand* 1988; 723 (Suppl):91-4.
130. Lucas A, Baker B, Desai M, Hales N. Nutrition in pregnant or lactating rats programs lipid metabolism in the offspring. *Br J Nutr* 1996; 76: 605-612.
131. Lucas A, Morley R, Isaacs E. Nutrition and mental development. *Nutr Rev* 2001; 59 (8): S24-S33.
132. Lucas A, Fewtrell MS, Cole TJ. Fetal origins of adult disease: the hypothesis revisited. *Br Med J* 1999; 319:245-249.
133. Lucas A. Programming by Early Nutrition: An Experimental Approach. *J Nutr* 1998; 128(2); 401S-406S.
134. Lummaa V. Early Developmental conditions and reproductive success in humans: downstream effects of prenatal famine, birthweight, and timing of birth. *Am J Hum Biol* 2003; 15: 370-379.
135. Magarey A, Daniels L, Boulton T. Predict obesity in early adulthood from childhood and parental obesity. *Int J Obes* 2003; 27: 505-513.
136. Maggio CA, Greenwood MR Adipose tissue lipoprotein lipase (LPL) and triglyceride uptake in zucker rats. *Physiol Behav* 1982; 29(6):1147-52.

137. Malenfant P, Joanisse DR, Theriault R, Goodpaster BH, Kelley DE, Simoneau JA. Fat content in individual muscle fibers of lean and obese subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001 Sep;25(9):1316-21
138. Mantha L, Palacios E, Deshaies Y. Modulation of triglyceride metabolism by glucocorticoids in diet-induced obesity *Am J Physiol* 1999;277(2Pts 2):R455-64.
139. Mantzoros C, Moschos S. Leptin: in search of role(s) in human physiology and pathophysiology. *Clin Endocrinol* 1998; 49: 551-567.
140. Martorell R, Stein R, Schroeder D. Early nutrition and later adiposity. *J Nutr* 2001; 131:874S-880S.
141. Masuno H, Sakayama K, Okuda H. Effect of long-term treatment of 3T3-L1 adipocytes with chlorate on the synthesis, glycosylation, intracellular transport and secretion of lipoprotein lipase. *Biochem J* 1998; 329: 461-468.
142. McNamara J, Azain M, Kasser Tr, Martin J. Lipoprotein lipase and lipid metabolism in muscle and adipose tissues of Zucker rats. *Am Physiol Soc* 1982; R258-R264.
143. Mead J, Irvine S, Ramji D. Lipoprotein lipase: structure, function, regulation and role in disease. *J Mol Med* 2002; 80: 753-769.
144. Medina Anguita R, Sigulem D, Sawaya A. Intrauterine food restriction is associated with obesity in young rats. *J Nutr* 1993; 123: 1421-1428.
145. Mercer S, Trayhurn P. Effect of high fat diets on energy balance and thermogenesis in brown adipose tissue of lean and genetically obese ob/ob mice. *J Nutr* 1987; 117: 2147-2153.
146. Mervyn S, Stein Z. Timing in prenatal nutrition: A reprise of the Dutch famine *Nutr Rev* 1994; 52 (3): 84-94.
147. Mia JT, Engelbregt M, Houdijk M, Popp-Snijders H, Delemarre-Van De Waa H. The effects of intra-uterine growth retardation and postnatal undernutrition on onset of puberty in male and female rats. *Pediatric Res* 2000; 48: 803-807.

148. Michaelis OE 4th, Scholfield DJ, Gardner LB, Cataland S Metabolic responses of Zucker fatty and lean rats fed carbohydrate diets ad libitum or in meals. *J Nutr* 1980; 110(7):1409-20.
149. Minocci A, Lucantoni R, Berselli M. Leptin plasma concentrations are dependent on body fat distribution in obese patients. *Int J Obes* 2000; 24: 1139-1144.
150. Moor V, Davies M Early life influences on later health: the role of nutrition. *Asia Pac J Clin Nutr* 2001; 10(2):113-117.
151. Murase T, Tanaka K, Iwamoto Y, Akanuma Y, Kosaka K. Reciprocal changes, caused by insulin and glucagon, of adipose tissue lipoprotein lipase in rats in vitro. *Horm Metab Res* 1981; 13(4):212-3.
152. Murphy M, Zampelas A, Puddicombe S, Furlonger N, Morgan L, Williams C. Pretranslation regulation of the expression of lipoprotein lipase (E.C.3.1.1.34) gene by fatty acids in the rat. *Br J Nutr* 1993; 70: 727-736.
153. Murphy MC, Zampelas A, Puddicombe SM, Furlonger NP, Morgan LM, Williams CM. Adipose tissue site specificity of lipoprotein lipase mRNA expression in rats fed diets containing different fatty acid compositions. *Biochem Soc Trans* 1993; 21(2):145S.
154. Nemeth P, Rosser B, Choski R, Norris B, Baker K. Metabolic response to a high-fat diet in neonatal and adult rat muscle. *Am J Physiol* 1992; 262 (31): C282-C286.
155. Nicklas B.J, Rogus E.M, Berman D.M, Dennis K.E, Goldberg A.P. Responses of adipose tissue lipoprotein lipase to weight loss affect lipid levels and weight regain in women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 279(Issue 5): E1012-E1019.
156. Nilsson-Ehle P, Schotz MC. A stable, radioactive substrate emulsion for assay of lipoprotein lipase. *J Lipid Res* 1976; 17: 536-541.

157. Obunike J, Edwards I, Rumsey S, Curtiss L, Wagner W, Deckelbaum R, Goldberg I. Cellular differences in lipoprotein lipase-mediate uptake of low density lipoproteins. *J Biol Chem* 1994; 269 (18): 13129-13135.
158. Odeleye O, de Courten M, Pettit D, Ravussin E. Fasting hyperinsulinemia is a predictor of increased body weight gain and obesity in Pima Indian Children. *Diabetes* 1997; 46: 1341-1345.
159. Olivecrona T, Chernick S, Bengtsson-Olivecrona G, Garrison M, Scow R. Synthesis and secretion of lipoprotein lipase in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem* 1987; 262(22): 10748-10759.
160. Olivecrona T, Liu G, Hultin M, Bengtsson-Olivecrona G. Regulation of lipoprotein lipase. *Biochem Soc Trans* 1993; 21: 509-513.
161. Ong J, Kern P. The role of glucose and glycosylation in the regulation of lipoprotein lipase synthesis and secretion in rat adipocytes. *J Biol Chem* 1989; 264 (6): 3177-3182.
162. Ong J, Kirchgessner T, Schotz M, Kern P. Insulin increases the synthetic rate and messenger RNA level of lipoprotein lipase in isolated rat adipocytes. *J Biol Chem* 1988; 263 (26): 12933-12938.
163. Ong J, Saffari B, Simsolo R, Kern P. Epinephrine inhibits lipoprotein lipase gene expression in rat adipocytes through multiple steps in posttranscriptional processing. *Mol Endocrinol* 1992; 6(1): 61-69.
164. Ong K, Ahmed M, Emmett P, Preece M, Dunger D. Association between postnatal catch-up growth and obesity in childhood: prospective cohort study. *Br Med J* 2000; 320(8): 967-971.
165. Ozaki T, Nishina H, Hanson M, Poston L. Dietary restriction in pregnant rats causes gender-related hypertension and vascular dysfunction in offspring. *J Physiol* 2001; 530.1:141-152.

166. Ozanne S E, Wang C, Coleman N, Smith G. Altered muscle insulin sensitivity in the male offspring of protein-malnourished rats. *Am J Physiol* 1996; 271: E1128-E1134.
167. Ozanne S E. Metabolic programming in animals. *Br Med Bull* 2001; 60: 143-152.
168. Ozanne S E. Programming of hepatic and peripheral tissue insulin sensitivity by maternal protein restriction. *Biochem Soc Trans* 1999; 27(2):94-97.
169. Ozanne S, Hales N. Catch up growth and obesity in male mice. *Nature* 2004; 427(29): 411-412.
170. Ozanne SE, Hales N. The long-term consequences of intr-uterine protein malnutrition for glucose metabolism. *Proceed Nutr Soc* 1999; 58: 615-619.
171. Ozanne SE, Wang CL, Dorling MW, Petry CJ. Dissection of the metabolic actions of insulin in adipocytes from early growth-retarded male rats. *J Endocrinol* 1999; 162: 313-319.
172. Pagliassotti MJ, Knobel SM, Shahrokhi KA, Manzo AM, Hill JO Time course of adaptation to a high-fat diet in obesity-resistant and obesity-prone rats. *Am J Physiol*. 1994 Sep; 267(3 Pt 2):R659-64.
173. Palacios E, Racotta I, Racotta R. Obesidad, resistencia a la insulina y asociación con enfermedades.
174. Pan J, Berdanier C. Dietary fat saturation affects glucose metabolism without affecting insulin receptor number and affinity in adipocytes from BHE rats. *J Nutr* 1991; 121(11): 1811-1819.
175. Parks EJ, Hellerstein MK. Carbohydrate-induced hypertriglycerolemia: historical perspective and review of biological mechanisms. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(2): 412-433.
176. Patel M, Srinivasan M. Metabolic Programming: Causes and Consequences. *J Biol Chem* 2002; 277(3): 1629 -1632.

177. Pellemounter M, Cullen M, Baker M, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F. Effects of the obese Gene Product on Body Weight Regulation in ob/ob Mice. *Science* 1995; 269(5223): 540-543.
178. Peterson J, Fujimoto W, Brunzell J. Human lipoprotein lipase: relationship of activity, heparin affinity, and conformation as studied with monoclonal antibodies. *J Lipid Res* 1992; 33: 1165-1170.
179. Peterson J, Olivecrona T, Bengtsson-Olivecrona G. Distribution of lipoprotein lipase and hepatic lipase between plasma and tissues: effect of hypertriglyceridemia. *Biochem Biophys Acta* 1985; 262-270.
180. Petry CJ, Ozanne S, Hales C. Programming of intermediary metabolism. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 185(1-2): 81-91.
181. Picard F, Boivin A, Lalonde J, Deshaies Y. Resistance of adipose tissue lipoprotein lipase to insulin action in rats fed an obesity-promoting diet. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 282(2):E412-418.
182. Piers L, Walker K, Stoney R, Soares M, O'Dea K. The influence of the type of dietary fat on postprandial fat oxidation rates: monounsaturated (olive oil) vs saturated fat (cream). *Int J Obes* 2002; 26: 814-821.
183. Pilegard H, Saltin B, Neuffer PD. Effect of short-term fasting and refeeding on transcriptional regulation of metabolic genes in human skeletal muscle. *Diabetes* 2003; 52(3) Mar: 657-62.
184. Poirer P, Marcell T, Huey P, Uelmen, Schlaepfer I, Owens G, Eckel R. A new model for the study of lipoprotein lipase in muscle. *Diabetes* 2000; 49(1): A424-A425.
185. Portillo M, Tueros A, Perona J, Ruiz-Gutiérrez V, Torres I, Macarulla M.T. Modifications induced by dietary lipid source in adipose tissue phospholipid fatty acids and their consequences in lipid mobilization. *Br J Nutr* 1999; 82: 319-327.

186. Portillo MP, Cantoral R, Torres MI, De Diego MA, Macarulla MT. Fatty acid profiles in subcutaneous and mesenteric adipose tissues from Zucker rats after energy restriction. Influence of dietary fat. *Rev Esp Fisiol* 1997; 53(3):317-25.
187. Portillo MP, Chavarri M, Duran D, Rodriguez VM, Macarulla MT. Differential effects of diets that provide different lipid sources on hepatic lipogenic activities in rats under ad libitum or restricted feeding. *Nutrition* 2001; 17(6):467-73.
188. Prentice A. Obesity and its potential mechanistic basis. *Br Med Bull* 2001; 60: 51-67.
189. Raju J, Bird R. Energy restriction reduces the number of advanced aberrant crypt foci and attenuates the expression of colonic transforming growth factor α and cyclooxygenase isoforms in Zucker obese (fa/fa) rats. *Cancer Res* 2003; 63: 6595-6601.
190. Ranganathan G, Kaakaji R, Kern P. Role of protein kinase C in the translational regulation of lipoprotein lipase in adipocytes. *J Biol Chem* 1999; 274(13): 9122-9127.
191. Ranganathan G, Li C, Kern P. The Translational Regulation of Lipoprotein Lipase in Diabetic Rats Involves the 3'-Untranslated Region of the Lipoprotein Lipase mRNA. *J Biol Chem* 2000; 275(52):40986-40991.
192. Ranganathan G, Pokrovskaya I, Ranganathan S, Kern P. Role of A kinase anchor proteins in the tissue specific regulation of lipoprotein lipase. *Mol Endocrinol* 2005; 19(10): 2527-34.
193. Ranganathan G, Vu D, Kern PA (1997) Translation regulation of lipoprotein lipase by epinephrine involves a *trans*-acting binding protein interacting with the 3' untranslated region. *J Biol Chem* 272:2515–2519.
194. Ranganathan G., Ong J. M., Yukht A., Saghizadeh M., Sinsolo R. B., Pauers A., Kern P. A. Tissue-specific expression of human lipoprotein lipase. Effect of the 3'-untranslated region on translation. *J Biol Chem* 1995; 270: 7149-7155.

195. Ravelli A, Jan HP van der Meulen, Osmond C, Barker D, Bleker O. Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *Am J Clin Nutr* 1999; 70(5): 811-816.
196. Ravelli ACJ, Van der Meuler JHP, Michels RPJ, Osmond C, Barker, Hales CN, Bleker OP. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 1998; 351 (17): 173-177.
197. Rebuffé-Scrive M, Enk L, Crona N, Lönnroth P, Abrahamsson L, Smith U, Björntorp P. Fat cell metabolism in different regions in women. *J Clin Invest* 1985; 75: 1973-1976.
198. Remesar X, Rafecas I, Fernández-López J, Alemany M. Is leptin an insulin counter-regulatory hormone? *FEBS* 1997; 402: 9-11.
199. Roberts CK, Barnard RJ, Liang KH, Vaziri ND Effect of diet on adipose tissue and skeletal muscle VLDL receptor and LPL: implications for obesity and hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2002; 161(1):133-41.
200. Roberts S, McDonald R. The Evolution of a new research field: Metabolic Programming by early nutrition. *J Nutrition* 1998; 128(2): 400S-400S.
201. Rogers I, Euro-BLCS Study Group. The influence of birthweight and intrauterine environment on adiposity and fat distribution in later life. *Int J Obes* 2003; 27: 755-777.
202. Roseboom T, van der Meulen J, Osmond C, Barker D, Ravelli A, Bleker O. Plasma lipid profiles in adults after prenatal exposure to the Dutch famine. *Am J Clin Nut* 2000; 72(5): 1101-1106.
203. Rosenbaum M, Leibel R, Hirsch J. Obesity. *N Eng J Med* 1997; 337 (7): 396-406.
204. Ruge T, Bergö M, Hultin M, Olivecrona G, Olivecrona T. Nutritional regulation of binding sites for lipoprotein lipase in rat heart. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278: E211-E218.
205. Ruge T, Wu G, Olivecrona T, OlivecronaG. Nutricional regulation of lipoprotein lipase in mice. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; 36: 320-329.

206. Saladin R, De Vos P, Guerre-Millo M, Leturque. Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature* 1995; 377(6549): 527-529.
207. Scarpace P, Matheny M, Pollock B, Tümer N. Leptin increases uncoupling protein expression and energy expenditure. *Am J Physiol* 1997; 273 (36): E226-E230.
208. Schaefer EJ. Lipoproteins, nutrition, and heart disease. *Am J Clin Nutr* 2002; 75(2):191-212
209. Schmidt I, Schoelch C, Ziska T, Scheider D, Eckhart S, Plagemann A. Interaction of genetic and environmental programming of the leptin system and of obesity disposition. *Physiological Genomics* 2000; 3: 113-120.
210. Schwartz M, Baskin D, Bukowski T, Kuijper J, Foster D, Lasser G, Prunkard D, Porte D, Woods S, Seeley R, Weigle D. Specificity of Leptin Action on Elevated Blood Glucose Levels and Hypothalamic Neuropeptide Y Gene Expression in ob/ob Mice *Diabetes* 1996; 45(4): 531-535.
211. Sebban-Kreuzer C, Ayvazian L, Juhel C, Salles JP, Chapus C, Kerfelec B. Inhibitory effect of the pancreatic lipase C-terminal domain on intestinal lipolysis in rats fed a high-fat diet: chronic study. *Int J Obes* 2003; 27: 319-325.
212. Semb H, Olivecrona T. Nutritional regulation of lipoprotein lipase in guinea pig tissues. *Biochem Biophys Acta* 1986; 876: 249-255.
213. Semb H., Olivecrona T. Two different mechanisms are involved in the nutritional regulation of lipoprotein lipase in guinea pig adipose tissue. *Biochem J* 1989; 262: 505-511.
214. Semenkovich C, Wims M, Noe L, Etienne J, Chan L. Insulin regulation of lipoprotein lipase activity in 3T3-L1 adipocytes is mediated at posttranscriptional and posttranslational levels. *J Biol Chem* 1989; 264(15): 9030-9038.
215. Shulman Gerald I. Cellular mechanisms of insulin resistance *J Clin Invest* 2000; 106 (2): 171-176.

216. Sichieri R, Siqueira K, Moura A. Obesity and abdominal fatness associated with undernutrition early in life in a survey in Rio de Janeiro. *Int J Obes* 2000; 24: 614-618.
217. Simmons R, Templeton L, Gertz S. Intrauterine growth retardation leads to the development of type 2 Diabetes in the rat. *Diabetes* 2001; 50: 2279-2286.
218. Sinsolo R, Ong J, Kern P. Characterization of lipoprotein lipase activity, secretion, and degradation at different sites of post-translational processing in primary cultures of rat adipocytes. *J Lipid Res* 1992; 33: 1777-1784.
219. Singal A, Farooqi I, O'Rahilly S, Cole T, Fewtrell M, Lucas A. Early Nutrition and leptin concentrations in later life. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 993-999.
220. Singhal A, Wells J, Cole TJ, Fewtrell M, Lucas A. Programming of lean body mass: a link between birth weight, obesity, and cardiovascular disease? *Am J Clin Nutr* 2003; 77(3):726-30.
221. Siri P, Candela N, Zhang Y, Ko C, Eusufzasi S, Ginsberg H, Huang L. Post-transcriptional stimulation of the assembly and secretion of triglyceride-rich apolipoprotein B lipoproteins in a mouse with selective deficiency of brown adipose tissue, obesity, and insulin resistance. *J Biol Chem* 2001; 276(49): 46064-46072.
222. Snoeck A, Remacle C, Reusens B, Hoet J. Effect of a low protein diet during pregnancy on the fetal rat endocrine pancreas. *Biol neonate* 1990; 57: 107-118.
223. Sparén P, Vägerö D, Shestov D, Plavinskaja S, Parfenova N, Hoptiar V, Paturot D, Galanti MR. Long term mortality after severe starvation during the siege of Leningrad: prospective cohort study. *Br Med J* 2004; 328 (7430):1-5.
224. Srinivasan M, Aalinkeel R, Song F, Patel M. Programming of islet functions in the progeny of hyperinsulinemic/obese rats. *Diabetes* 2003; 52: 984-990.
225. Srinivasan M, Laychock S, Hill D, Patel M. Neonatal nutrition: metabolic programming of pancreatic islets and obesity. *Exp Biol Med* 2003; 228: 15-23.

226. Stanner s, Bulmer K, Andrés C, Lantseva O, Borodina V, Poteen V, Yudkin J. Does malnutrition in utero determine diabetes and coronary heart disease in adulthood? Results from the Leningrad siege study, a cross sectional study. *Br Med J* 1997; 315 (22): 1342-1349.
227. Stansbie D, Brownsery RW, Crettaz M, Denton RM. Acute effects in vivo of anti-insulin serum rates of fatty acid synthesis and activities of acetyl-coenzyme A carboxylase and pyruvate dehydrogenase in liver and epididimal adipose tissue of fed rats. *Biochem J* 1976; 160: 413-416.
228. Su W, Jones PJ Dietary fatty acid composition influences energy accretion in rats. *J Nutr* 1993; 123(12):2109-14.
229. Sugden M. C., Holness M. J., Howard R. M. Changes in lipoprotein lipase activities in adipose tissue, heart and skeletal muscle during continuous or interrupted feeding. *Biochem J* 1993; 292:113-119.
230. Susser M, Stein Z. Timing in prenatal nutrition: a reprise of the Dutch famine study. *Nutr Rev* 1994; 52(3): 84-94.
231. Swierczynski J, Goyke E, Wach L, Pankiewicz A, Kochan Z, Adamonis W, Sledzinski Z, Aleksandrowicz Z Comparative study of the lipogenic potential of human and rat adipose tissue. *Metabolism* 2000; 49(5): 594-9.
232. Takahashi Y, Ide T. Effect of dietary fats differing in degree of unsaturation on gene expression in rat adipose tissue. *Ann Nutr Metab* 1999; 43(2):86-97.
233. Tavangar K, Murata Y, Patel S, Kalinyaj J, Pedersen M, Goers J, Hoffman A, Kraemer F. Developmental regulation of lipoprotein lipase in rats. *Am J Physiol* 1992; 262(25): E330-E337.
234. Teachey M, Taylor Z, Maier T, Saengsirisuwan V, Slongier J, Jacob S, Klatt M, Kraemer K, Hasselwander O, Henriksen E. Interactions of conjugated linoleic acid and

- lipoic acid on insulin action in the obese Zucker rat. *Metabolism* 2003; 52 (9): 1167-1174.
235. Terauchi Y, Kubota N, Tamemoto H, Sakura H, Nagai R, Akanuma Y, Kimura S, Kadowaki T. Insulin Effect during embryogenesis determines fetal growth. A possible molecular link between birth weight and susceptibility to type 2 Diabetes. *Diabetes* 2000; 49: 82-86.
236. Terrettaz J, Cusin I, Etienne J, Jeanrenaud B. In vivo regulation of adipose tissue lipoprotein lipase in normal rats made hyperinsulinemic and in hyperinsulinemic genetically-obese (fa/fa) rats. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1994; 18(1): 9-15.
237. Teusink B, Voshol PJ, Dahlmas VE, Rensen PC, Pijl H, Romijn JA, Havekes LM. Contribution of fatty acids released from lipolysis of plasma triglycerides to total plasma fatty acid uptake. *Diabetes* 2003; 52(3): 614-20.
238. Toth M, Poehlman E, Matthews D, Tchernof A, MacCoss M. Effects of estradiol and progesterone on body composition, protein synthesis, and lipoprotein lipase in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280: E496-E501.
239. Ukkola O, Pérusse L, Chagnon Y. Interactions among the glucocorticoid receptor, lipoprotein lipase and adrenergic receptor genes and abdominal fat in the Québec Family Study. *Int J Obes* 2001; 25: 1332-1339.
240. Valenzuela A. *Obesidad. Segunda Edición Mediterráneo. Santiago de Chile* 1996
241. Valero-Garrido D, Lopez-Frias M, Llopis J, Lopez-Jurado M. Influence of dietary fat on the lipid composition of perirenal adipose tissue in rats. *Ann Nutr Metab* 1990; 34(6): 327-32.
242. Valette A, Mercier L, Benoit V, Meignen JM, Boyer J. Nutritional dependence of the effect of estrogen on fat cell lipoprotein lipase. *J Steroid Biochem* 1987; 28(4): 445-7.

243. Valiente Bisset D, Alfonso Zerquera C, Bernardo Fuentes M, Molina García J, González Cabrales V. Crecimiento y composición corporal de las crías de ratas sometidas a restricción alimentaria. *Rev Cubana Invest Biomed* 1999; 18(2): 104-10.
244. Van Assche F. A., Holemans K., Aerts L. Fetal growth and consequences for later life. *J Perinatal Med* 1998; 26: 337-346.
245. Van den Brandt PA, Trayhurn P. Suppression of fatty acids synthesis in brown adipose tissue of mice fed diets rich in long chain fatty acids. *Biochim Biophys Acta* 1981; 665(3): 602-607.
246. Vickers M, Breier B, Cutfield W, Hofman P, Gluckman P. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 279(1): E83-E87.
247. Vickers M, Breier B, Cutfield W, Hofman P, Gluckman P. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *Diabetes* 2001; 50(5):1064-8.
248. Vilaró S, Reina M, Ramírez I, Llobera M. Intralipid administration induces a lipoprotein lipase-like activity in the livers of starved rats. *Biochem J* 1986; 236: 273-278.
249. Von Kries R, Koletzko B, Sauerwald T, von Mutius E, Barnert D, Grunert V, von Voss H. Breast feeding and obesity: cross sectional study. *Br Med J* 1999; 319: 147-150.
250. Wada K, Hida, J, H. Zhang, K. Hiragushi, Y. Tsuchiyama, K. Shikata, and H. Makino. Identification of genes specifically expressed in the accumulated visceral adipose tissue of OLETF rats. *J Lipid Res* 2000; 41: 1615–1622.
251. Wainwright P, McCutcheon D. Effects of preweaning nutrition on weight gain during pregnancy in mice. *Physiol Behav* 1988; 42: 109-111.

252. Wanfang S, Jones P. Dietary fatty acid composition influences energy accretion in rats. *J Nutr* 1993; 123: 2109-2114.
253. Wang Q, Bing C, Al-Baranzaji, et al. Williams G. Interactions between leptin and hypothalamic neuropeptide Y neurons in the control of food intake and energy homeostasis in the rat. *Diabetes* 1997; 46: 335-341.
254. Wang T, Zang Y, Ling W, Corkey B, Guo W. Metabolic partitioning of endogenous fatty acid in adipocytes. *Obes Res* 2003; 11(7): 880-887.
255. Wang YW, Jones PJH. Conjugated linoleic acid and obesity control: efficacy and mechanisms. *Int J Obes* 2004; 28: 941-955.
256. Waterland R, Garza C. Early post-natal nutrition determines adult pancreatic glucose-responsive insulin secretion and islet gene expression in rats. *J Nutr* 2002; 132: 357-364.
257. Waterland R.A., Garza C. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease *Am J Clin Nutrition* 1999; 69(2): 179-197.
258. Willet W. Is dietary fat a major determinant of body fat? *Am J Clin Nutr* 1998; 67 (suppl): 556S-562S.
259. Willett W, Leibel R. Dietary fat is not a major determinant of body fat. *Am J Med* 2002; 113 (9b): 47S-59S.
260. Williams M, Williams S, Milne B, Hancox R, Poulton R. Association between C-reactive protein, metabolic cardiovascular risk factors, obesity and oral contraceptive use in young adults. *Int J Obes* 2004; 28: 998-1003.
261. Wintour Em, Johnson K, Koukoulas I, Moritz k, tersteeg M, Dodic M. Programming the cardiovascular system, kidney and the brain- a review. *Placenta* 2003; 17(Suppl A): S65-S71.
262. Wnfang Su, Jones P. Dietary fatty acid composition influences energy accretion in rats. *J Nutr* 1993; 123:2109-2114.

263. Woodall S.M, Johnston B.M, Breier B.H, Gluckman P.D. Chronic maternal undernutrition in the rat leads to delay postnatal growth and elevated blood pressure of offspring. *Pediatr Res* 1996; 40: 438-443.
264. Woods S, Seeley R, Rushing P. A controlled high fat diet induces and obese syndrome in rats. *J Nutr* 2003; 132: 1081-1087.
265. Wu G, Olivecrona G, Olivecrona T. Extracellular degradation of lipoprotein lipase in rat adipose tissue. *BMC Cell Biol* 2005; 6: 4-12.
266. Wu G, Olivecrona G, Olivecrona T. The distribution of lipoprotein lipase in rat adipose tissue. *J Biol Chem* 2003; 278 (14): 11925-11930.
267. Yee Kwong W, Wild A, Roberts P, Willis A, Fleming T. Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension. *Development* 2000; 127: 4195-4202.
268. Yost TJ, Jensen DR, Haugen BR, Eckel RH Effect of dietary macronutrient composition on tissue-specific lipoprotein lipase activity and insulin action in normal-weight subjects. *Am J Clin Nutr* 1998; 68(2): 296-302.
269. Yukht A, Davis R, Ong J, Ranganathan G, Kern P. Regulation of lipoprotein lipase translation by epinephrine in 3T3-L1 cells. Importance of the 3' untranslated region. *J Clin Invest* 1995; 96: 2438-2444.
270. Zakrzewska K, Cusin I, Sainsbury A, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B. Glucocorticoids as counterregulatory hormones leptin. *Diabetes* 1997; 46: 717-719.
271. ZengKui Guo, Donald D, Hensrud C, Johnson M, Jensen M. Regional postprandial fatty acid metabolism in different obesity phenotypes. *Diabetes* 1999; 48: 1586-1592.
272. Guyton A, Hall J. *Tratado de Fisiología Médica*. Novena Edición. Interamericana Mc Graw Hill México 1997