



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**OBESIDAD MATERNA DE LA RATA Y
PREDISPOSICIÓN DE LA PROGENIE A
ALTERACIONES METABÓLICAS: VENTAJAS DE LA
INTERVENCIÓN NUTRICIONAL**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA
CARLOS ALBERTO IBÁÑEZ CHÁVEZ**



MÉXICO, D.F.

2011



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Laura Elizabeth Peniche Villalpando

VOCAL: Profesor: Elena Zambrano González

SECRETARIO: Profesor: Vanessa Rebeca Maya Ampudia

1er. SUPLENTE: Profesor: Luz María Del Rocío Valdés Gómez

2° SUPLENTE: Profesor: Teresa Neri Gómez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN (INCMNSZ), DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN.

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Elena Zambrano González

SUSTENTANTE:

Carlos Alberto Ibáñez Chávez

A Dios que me llena de bendiciones cada día.

A mis padres María Elena Chávez Meléndez y Rafael Ibáñez Camacho quienes han hecho todos sus esfuerzos para brindarme todo.

A mis hermanos Ana María y José Rafael que han sido una guía y buen ejemplo para mí.

Con todo respeto, a los animales que con su vida pagan la salud del hombre.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por la formación humana y académica brindada.

Al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, en especial al Departamento de Biología de la Reproducción por haberme permitido realizar el presente trabajo.

A la Dra. Elena Zambrano González y los miembros de su equipo de trabajo, en especial a: QFB. Claudia J. Bautista Carbajal, M. en C. Paola M. Martínez Samayoa, EBC. Luis A. Reyes Castro y M. en B.E. Guadalupe Leticia Rodríguez González por todo el apoyo y asesoría brindados.

Al Dr. Fernando Larrea Gallo, Jefe del Departamento de Biología de la Reproducción del INCMNSZ, por el apoyo y todas las facilidades otorgadas.

A los integrantes del H. Jurado por su valiosa revisión y evaluación de esta tesis.

Este trabajo de tesis fue apoyado por las becas otorgadas por el Consejo Nacional Ciencia y Tecnología.

ÍNDICE

Contenido.	Pág.
I. RESUMEN	7
1. INTRODUCCIÓN	8
1.1. <i>Obesidad</i>	8
1.1.1. <i>Leptina e Insulina</i>	11
1.2. <i>Embarazo y Obesidad</i>	15
1.2.1. <i>Efectos en la Madre.....</i>	17
1.2.2. <i>Efectos en la Progenie</i>	18
1.3 <i>Nutrición en la gestación y lactancia</i>	18
1.3.1. <i>Nutrición Fetal</i>	19
1.3.2. <i>Nutrición durante la Lactancia</i>	20
1.4. <i>Programación del Desarrollo.</i>	21
1.4.1. <i>Obesidad y Programación.....</i>	24
1.5. <i>Planteamiento del Problema.....</i>	26
2. JUSTIFICACIÓN	28
3. OBJETIVOS	31
3.1. <i>Objetivos Generales</i>	31
3.2. <i>Objetivos Particulares.....</i>	31
4. HIPÓTESIS	33
5. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	34
6. METODOLOGÍA	38
6.1. <i>Animales Experimentales</i>	38
6.3. <i>Medición de peso corporal e ingesta</i>	41
6.4. <i>Apareamiento y Determinación de la Preñez</i>	42
6.5. <i>Medidas morfométricas</i>	43
6.6. <i>Extracción de suero de las ratas experimentales</i>	44
6.7. <i>Extracción de Hígado y Tejido Adiposo.....</i>	45
6.8. <i>Química Sanguínea.....</i>	46

6.8.1. Glucosa	47
6.8.2. Colesterol	48
6.8.3. Triacilgliceroles.....	49
6.9. <i>Determinación de Hormonas</i>	51
6.9.1. Leptina.....	52
6.9.2. Insulina.	53
6.10. <i>Análisis Estadístico</i>	53
7. RESULTADOS	56
7.1. <i>Madres Experimentales F0</i>	56
7.1.1. Parámetros Obtenidos Antes de la Gestación	56
7.1.2. Parámetros Obtenidos Durante la Gestación y Lactancia.....	60
7.1.3. Parámetros Obtenidos al día 21 de Lactancia	64
7.2. <i>Crías F1</i>	70
7.2.1. Parámetros Obtenidos en la Lactancia	70
7.2.2. Parámetros Obtenidos Después del Destete (21 Días de Edad) 74	
7.2.3. Parámetros Obtenidos a los 36 Días de Edad	76
7.2.4. Parámetros a los 70 días de Edad.	82
7.2.5. Parámetros a los 110 días de Edad.	85
8. DISCUSIÓN.	89
9. CONCLUSIÓN.	103
10. BIBLIOGRAFÍA.	104
A. ÁPENDICES	113
A.1. <i>Procedimiento para la elaboración de dietas experimentales.</i>	113
A.2. <i>Determinación de Hormonas.</i>	116
A. 2.1. Cuantificación de Leptina.....	116
A. 2.2. Cuantificación de Insulina	120
A. 3. <i>Resultados Presentados en Congresos Nacionales e Internacionales</i> 124	
A. 3.1. Dietary interventions to reverse effects of maternal (M) obesity (MO) and high energy obesogenic diets (HEOD) have very different outcomes according to the timing of the intervention.....	124
A. 3.2. Obesidad e Intervención Nutricional Antes y Durante la Gestación y sus Efectos en el Metabolismo Materno.....	125
A. 3.3. Efectos de la Intervención Nutricional Previa y Durante la Gestación en la Obesidad Materna Sobre el Metabolismo de la Rata	127

I. RESUMEN

La obesidad y el sobrepeso tanto en países altamente industrializados como en los países en vías de desarrollo han alcanzado cifras alarmantes que incluyen a mujeres en edad reproductiva. Tras la concepción, estas mujeres convertidas en madres obesas se caracterizan por tener comprometida su salud y la del producto, en especial a largo plazo, mediante una predisposición a enfermedades metabólicas en la edad adulta, ya que las alteraciones nutricionales de un individuo durante periodos críticos del desarrollo como la gestación y lactancia pueden modificar su fisiología y metabolismo permanentemente. Dada esta situación, es necesario tomar medidas que permitan prevenir los efectos adversos originados por la obesidad materna, siendo prometedora la intervención nutricional materna antes y a partir de la gestación. Sin embargo, actualmente se han explorado poco los efectos de dicha intervención tanto en la misma madre (F0) como en la descendencia (F1), por lo que en el presente trabajo se propuso su estudio en un modelo experimental con ratas Wistar.

Como madres experimentales se usaron hembras (F0) recién destetadas de 21 días de edad (d), que fueron asignadas previamente dentro 4 grupos de acuerdo a su patrón de alimentación, siendo el grupo Control (C) alimentado con dieta estándar para roedor (comercial de 4 Kcal/g), el Grupo de Obesidad Materna (OM) con dieta alta en grasa (preparada en el laboratorio de 5 Kcal/g), el grupo de Intervención Previa a la Gestación (IPG) con alta en grasa hasta un mes previo a la gestación, momento a partir del cual se dio dieta control y el grupo de Intervención en Gestación (IG) el cual recibió dieta experimental durante el experimento excepto durante la gestación y la lactancia, períodos en los cuales se dio dieta control. Todos los grupos experimentales fueron apareados con un macho sano a los 120 d. Una vez que nacieron las crías (F1), se asignaron al mismo grupo de la madre, con la que permanecieron solo durante la lactancia y a partir del destete a los 21 d de F1, fueron alimentadas con dieta control hasta el final del experimento.

La dieta alta en grasa ocasionó una mayor acumulación de grasa corporal en las madres (F0), la cual fue revertida después de la intervención nutricional iniciada antes y en la gestación. Por otra parte en la descendencia (F1) de las madres obesas intervenidas, se observó una reducción en la acumulación de tejido adiposo visceral, así mismo se redujo la concentración de triacilgliceroles en la edad adulta. La intervención nutricional en la obesidad materna tuvo un efecto importante en la atenuación y reducción en los desordenes metabólicos de la programación del desarrollo reduciendo la predisposición a la obesidad de la descendencia.

1. INTRODUCCIÓN

La nutrición a lo largo del curso de la vida es una de las principales determinantes de la salud, del desempeño físico, mental y de la productividad. La mala nutrición (tanto la desnutrición como el exceso en la ingesta) tiene causas complejas que involucran determinantes biológicos, socioeconómicos y culturales. Así, un desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético puede resultar en el sobrepeso o la obesidad. La causa de este desequilibrio es frecuentemente la ingestión de dietas con alta densidad energética y de bebidas azucaradas en combinación con una escasa actividad física, originando la predisposición de las personas que la padecen a una gran cantidad de padecimientos bien documentados en la actualidad y desafortunadamente se ha observado que ésta predisposición también se puede “transmitir” en la descendencia de las madres obesas (González-Barranco, 2004).

1.1. Obesidad

Desde una perspectiva clínica la obesidad y el sobrepeso se determinan de manera indirecta considerando el exceso de peso corporal para una talla dada, siendo un elemento de diagnóstico sencillo y aceptado el Índice de Masa Corporal

(IMC)¹, así un valor ≥ 25.00 determina la presencia de sobrepeso y uno ≥ 30.00 de obesidad para ambos sexos independientemente de la edad (OMS, 1996). También es frecuentemente definida como una condición de una acumulación anormal o excesiva de grasa en el tejido adiposo, al grado de que puede ser perjudicial para la salud (OMS, 2006), que involucra varios mecanismos etiopatogénicos los cuales no se conocen con exactitud aún, pero el efecto neto de tales mecanismos resulta de una alteración del balance entre la ingesta y el gasto energético.

Por otra parte, se sabe que el tejido adiposo, principal responsable del almacenamiento de la energía en forma de triacilgliceroles, en la obesidad sufre diversas modificaciones. Independientemente del incremento de su masa se presentan alteraciones histológicas, neurales y vasculares relacionadas al metabolismo de lípidos y su función endócrina. Sin perder de vista la acumulación de grasa en el hígado y músculo esquelético y sus respectivas consecuencias (Coppack, 2005).

En los mamíferos, un conjunto complejo de señales hormonales y neuronales actúan para mantener la ingesta y gasto energético en balance, de tal manera que la cantidad de tejido adiposo se mantenga en un nivel determinado

¹ El IMC o Índice de Quetelet es el valor obtenido de dividir el peso corporal en Kg entre el cuadrado de la estatura en m². $IMC = \frac{Peso(Kg)}{[Estatura(m)]^2}$

como se postula en la teoría del “*lipostato*”. En dicha teoría se establece un mecanismo que inhibe el comportamiento alimentario e incrementa el consumo de energía, siempre y cuando el peso corporal exceda un cierto valor, que funciona como un “*punto de ajuste*”, la inhibición es disminuida cuando el peso corporal disminuye debajo de este “*punto de ajuste*”. Esta teoría predice que una señal de retroalimentación originada en el tejido adiposo influye en los centros cerebrales que controlan el comportamiento alimentario y la actividad (metabólica y motora) (Kennedy, 1953). De esta forma se ha demostrado que la ingesta de alimentos está regulada no sólo comida a comida, sino de tal forma que en general se mantiene el peso corporal en un punto determinado. Pues se ha observado que al obligar a animales experimentales a comer para volverlos obesos y después permitirles comer a voluntad, su ingesta espontánea de alimento disminuye hasta que su peso es reducido al nivel del control; por el contrario, si se impide la ingesta de alimentos y luego se permite al animal experimental comer con libertad su ingesta espontánea aumentará hasta recuperar el peso perdido (Stricker, 1978).

Dentro del sistema nervioso central, el hipotálamo es el centro primario para la regulación de la conducta alimentaria y metabolismo energético. El apetito responde a una regulación que depende principalmente de la interacción de dos de sus áreas: “un centro del hambre” ubicado en el núcleo lateral y un “centro de saciedad” en el núcleo ventromedial. Así, al estimular el centro del hambre se induce la ingestión de alimentos en animales conscientes y su destrucción causa

anorexia grave. Mientras que la estimulación en el centro de la saciedad produce el cese de la ingesta y una lesión produce hiperfagia y el síndrome de obesidad hipotalámica, siempre y cuando el suministro de alimento sea abundante (Mayer y Thomas, 1967; Ganong, 2003; Stellar, 1954). Sin embargo, como se ha hecho evidente, el cerebro no está organizado en centros discretos que controlen por ellos mismos funciones específicas, sino que los circuitos neurales mediadores de las funciones homeostáticas como la alimentación están distribuidos entre varias estructuras, de esta manera los efectos de las lesiones hipotalámicas laterales o ventromediales en la alimentación se cree que en parte son debidas a disfunciones que resultan del daño a otras estructuras (Kandel *et al.*, 2000). La estimulación o inhibición de dichos circuitos se efectúa a través de diversas sustancias hipotalámicas que resultan muy importantes en la regulación central del apetito y control adipocitario y son reconocidas en regiones hipotalámicas específicas (Ganong, 2003; González-Barranco, 2004; Beck, 2006; Ilnytska y Argyropoulos; 2008 Arai *et al.*; 2010).

1.1.1. Leptina e Insulina

Podemos decir que los núcleos hipotalámicos reciben señales positivas y negativas relacionadas a la ingesta y gasto energético, en los cuales la leptina y la insulina son los actores principales por su efecto catabólico o anabólico que al ser percibidas en el hipotálamo en estas áreas activan los mecanismos centrales de regulación (González-Barranco, 2004). La leptina (del griego *leptos*, “delgado”)

descubierta por Friedman en 1994, es una proteína pequeña de 127 aminoácidos, que se produce en los adipocitos principalmente (la placenta y el tracto gastrointestinal entre otros), fue identificada como el producto del gen designado OB (obeso) en ratones de laboratorio, ya que ratones con dos copias dañadas del de este gen (genotipo *ob/ob*) presentaban un comportamiento y fisiología de animales en un estado de inanición constante: sus niveles de cortisol eran elevados, eran incapaces de mantener su temperatura corporal, crecían de manera anormal, no se reproducían y exhibían un apetito irrestricto; como consecuencia se volvían severamente obesos, pesando tres veces más que los ratones normales, estos también tenían alteraciones metabólicas muy similares a las presentadas por animales diabéticos. Cuando se administró leptina a los ratones *ob/ob*, estos perdieron peso e incrementaron su actividad locomotora y su termogénesis. Un segundo gen, designado DB (*diabético*) también se encontró que tenía un papel en la regulación del apetito. Los ratones con dos copias dañadas de este gen (*db/db*) eran obesas y diabéticas. El gen DB codifica el receptor de leptina, cuando el receptor de leptina es alterado la función de señalización se pierde. El receptor de leptina se expresa en el hipotálamo, de esta forma la leptina lleva el mensaje de que las reservas de grasa son suficientes y promueve la reducción en la ingesta calórica y aumento en el gasto de energía, incrementa la presión sanguínea, la frecuencia cardíaca y la termogénesis (Figura 1.1.) (Zhang *et al.*; 1994, Prolo *et al.*, 1998).

La obesidad humana puede ser debida a una falla en la expresión de la leptina, aunque este caso es realmente poco frecuente, pues se ha observado una concentración incrementada en individuos obesos. La cantidad de leptina liberada por el tejido adiposo depende tanto del número como del tamaño de los adipocitos, cuando la pérdida de peso disminuye la masa del tejido adiposo los niveles de leptina disminuyen. Seguramente el sistema de respuesta a la leptina “corriente abajo” debe de estar dañado en los individuos obesos y la elevación en la concentración de la hormona es el resultado de un intento fallido para contrarrestar la resistencia originada por dicho daño (Friedman y Halaas, 1998).

Por lo que respecta a la secreción de insulina, esta refleja tanto el tamaño de las reservas de grasa como el estado energético (implicando la concentración de glucosa en sangre). La insulina y su sistema de señalización están implicados tanto en mecanismos centrales y periféricos que gobiernan la ingesta, distribución, metabolismo y almacenaje de nutrientes. Es sabido que los estímulos del ambiente respectivos a la disponibilidad y tipo de nutrientes es detectada e integrada con información humoral (dada en parte por la insulina). De esta manera la insulina actúa en los receptores hipotalámicos para inhibir la ingesta de alimento (Fig. 1.1)(Porte *et al.*, 2005). Por otro lado la deposición de grasa requiere de insulina, ya que la ganancia de peso corporal no puede ocurrir en presencia de deficiencia de insulina aun cuando se consuman grandes cantidades de comida (Schwartz *et al.*, 2000). Se dice que los humanos y animales obesos son

resistentes a la insulina por que se requiere más insulina respecto a los controles sanos para mantener el nivel normal de glucosa, siendo importante este hecho porque esta resistencia se correlaciona con la cantidad de tejido adiposo visceral, concentración de insulina, *diabetes mellitus* tipo 2 y obesidad (Benoit *et al.*, 2004).

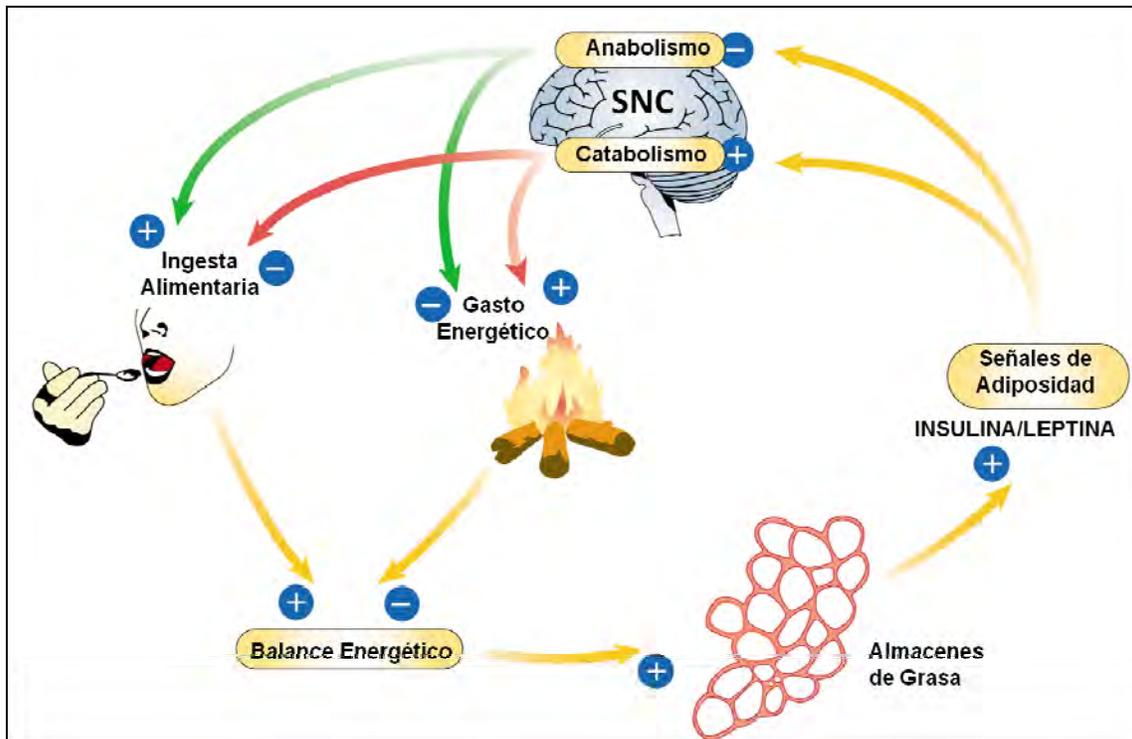


Figura 1.1. Regulación del balance energético por insulina y leptina. La leptina e insulina secretadas en proporción al contenido corporal de grasa, actúan en el sistema nervioso central (SNC) a través del hipotálamo estimulando el catabolismo, mientras inhiben las rutas efectoras del anabolismo. Estas rutas con efectos opuestos en el balance energético determinan la cantidad de energía almacenada como grasa. Tomado de (Schwartz *et al.*, 2000).

1.2. Embarazo y Obesidad

La nutrición de la mujer tiene ciertas peculiaridades respecto del adulto en general, entre ellas las que se refieren al proceso reproductivo, siendo el caso que más nos atañe el de la mujer obesa que se embaraza. El embarazo representa una prueba de esfuerzo metabólico importante, que tiende a adaptar al organismo femenino para optimizar el paso de nutrientes a través de la placenta (Casanueva *et al.*, 2001). Estos ajustes generalmente se etiquetan como alteraciones fisiológicas, pero los procesos metabólicos de adaptación ocasionados por la gestación pueden hacer muy lábil a la homeostasis materna, la cual no se mantendrá ante un reto metabólico añadido como consecuencia de una ganancia de peso excesiva (González-Barranco, 2004).

En respuesta a las mayores demandas del feto y la placenta en crecimiento rápido, la mujer gestante presenta cambios diversos e intensos, uno de los más evidentes es sin duda el aumento de peso, el cual en su mayor parte es atribuido al útero y su contenido, las mamas, los aumentos en el volumen sanguíneo y el líquido extracelular extravascular. Una fracción más pequeña del aumento de peso es producto de alteraciones metabólicas que causan el incremento de agua celular, depósito de grasa y proteínas, (las llamadas reservas maternas). Otra condición fisiológica normal del embarazo es como se ha mencionado una retención incrementada de agua, mediada al menos en parte por un decremento

en la osmolaridad plasmática. La concentración de glucosa plasmática en ayuno decrece algo, tal vez como resultado de las mayores cifras plasmáticas de insulina, esta cifra basal aumentada durante el embarazo normal puede ser compatible con una respuesta de resistencia a la leptina, cuyo propósito tal vez sea asegurar un aporte postprandial sostenido de glucosa para el feto. Así mismo durante el ayuno, la concentración plasmática de ácidos grasos libres, triacilgliceroles y colesterol es mayor. Las cifras séricas de leptina aumentan de manera progresiva, alcanzando la máxima concentración durante el segundo trimestre y se estabilizan a término en concentraciones de tres a cuatro veces mayores que las mujeres no embarazadas. Este aumento se debe solo en parte al aumento de peso normalmente vinculado con el embarazo, porque también la placenta produce leptina (Cunningham y Williams, 2005).

La mujer obesa que se embaraza es aquella que inicia su gestación con una cantidad de grasa mayor a la recomendada como normal, definida en función del IMC. Aunque la obesidad representa por sí misma un riesgo, las mujeres con obesidad que se embarazan y sus fetos tienen predisposición a una variedad de complicaciones relacionadas con la gestación. La mayoría de ellas son la presentación de diversas enfermedades, dentro de las que cabe destacar a la *diabetes mellitus*, la hipertensión arterial, las infecciones de las vías urinarias así como las intervenciones como sus complicaciones tales como las cesáreas (Vargas-Ancona *et al.*, 1999; Cunningham y Williams, 2005).

1.2.1. Efectos en la Madre

Cada vez existe mayor evidencia de que el sobrepeso durante la pregravidéz es una de las condiciones más comunes de alto riesgo obstétrico, dándose así un compromiso elevado para padecer una variedad de padecimientos maternos (Lucas *et al.*, 1988; Naeye, 1990; Cnattingius *et al.*, 1998; Castro y Avina, 2002). Algunos de estos efectos se pueden relacionar con los cambios metabólicos maternos presentes durante el embarazo, relativos a la obesidad (aumento tanto en la concentración sanguínea de insulina en ayuno como de respuesta a carga).

De esta forma la *diabetes mellitus* se presenta con mayor frecuencia en las embarazadas obesas que en las que no lo son (la incidencia se reporta del 4 al 18% en mujeres obesas y del 1 al 3% en mujeres no obesas). El análisis de diversos estudios que han comparado el riesgo relativo de hipertensión entre pacientes obesas y de peso normal permiten establecer un riesgo mayor hasta de 5.2 veces en las pacientes con sobrepeso (Vargas-Ancona *et al.*, 1999). Aún cuando no existe acuerdo sobre el papel de la obesidad como detonante de la pre-eclampsia, es cada vez más claro que los mecanismos por los que se desarrolla comparten mucho de la fisiología de la hipertensión arterial. Por otro lado, los efectos maternos a largo plazo incluyen morbilidad y mortalidad significativas y más cuantiosas (Cunningham y Williams, 2005).

1.2.2. Efectos en la Progenie

Tanto las complicaciones fetales como neonatales aumentan en mujeres con obesidad. Por ejemplo, se ha comunicado en un estudio de casos y testigos un incremento de 3.5 tantos en defectos del tubo neural en mujeres obesas, también una incidencia de dos a tres veces mayor de onfalocele, defectos cardiacos y anomalías múltiples (Watkins *et al.*, 2003). También se sabe que la hipertensión crónica es causa de restricción de crecimiento fetal, así mismo la diabetes gestacional se complica por un número excesivo de fetos grandes para su edad gestacional y macrosómicos, cualquiera que sea la causa, la prevalencia de macrosomia está aumentada en mujeres con obesidad (Cedergren, 2004). Finalmente se ha confirmado que existe una tasa de casi el triple de pérdida fetal tardía en mujeres con un IMC ≥ 25 atribuyéndose el aumento a la privación socioeconómica y las complicaciones del embarazo en particular pre-eclampsia y diabetes (Stephansson *et al.*, 2001).

1.3 Nutrición en la gestación y lactancia

El crecimiento del feto asume prioridad sobre varios elementos nutricionales del cuerpo materno y muchas porciones del feto continuaran creciendo aun cuando la madre relativamente no coma una dieta lo suficientemente nutritiva. Sin embargo, desde el inicio del embarazo el cuerpo materno ha estado almacenando

nutrientes que serán usados en los meses posteriores del embarazo (Guyton, 1992).

1.3.1. Nutrición Fetal

Se sabe que la mayor función de la placenta es permitir la difusión de nutrientes desde la circulación materna a la circulación fetal, así como la difusión de los productos de excreción desde el feto de regreso a la madre. En los primeros meses del desarrollo, la permeabilidad de la placenta es reducida respecto a posteriores etapas del embarazo, debido a que la membrana vellosa aún no ha alcanzado su grosor mínimo; conforme la placenta crece, la permeabilidad aumenta hasta el final del embarazo.

De la misma manera que ocurre difusión de oxígeno y dióxido de carbono a través de la placenta, también difunden otros metabolitos a la circulación fetal como la glucosa que es metabolizada rápidamente, cuya concentración es aproximadamente del 20 al 30 % inferior a la concentración sanguínea materna. También es sabido que debido a la alta solubilidad de los ácidos grasos en las membranas celulares, estos difunden en gran medida de la circulación materna a la circulación fetal, de la misma manera que los iones potasio, sodio y cloruro. Por otro lado, también existe absorción activa por la membrana placentaria debido a que las células ubicadas en las membranas exteriores de las vellosidades, pueden absorber activamente ciertos nutrientes de la circulación materna, por lo menos durante la primera mitad de la gestación y tal vez durante todo el embarazo, de

hecho la concentración de aminoácidos de la sangre fetal es mayor que en la circulación materna, así mismo ocurre con el calcio y el fosfato inorgánico (Cunningham y Williams, 2005; Guyton, 1992).

1.3.2. Nutrición durante la Lactancia

Después de la vida en el seno materno es ampliamente aceptado que la leche materna es el mejor alimento para los recién nacidos. La leche materna es isotónica respecto al medio intracelular, su contenido de agua permite la suspensión y solubilización de azúcares, proteínas, sodio, potasio, citrato, magnesio, calcio, cloruro y vitaminas solubles. En la rata noruega se ha determinado que la lactancia dura alrededor de 3 semanas, este proceso induce la movilización de las reservas maternas y un gran aumento en la ingesta de alimento dependiente del tamaño la camada lactante (Yokoyama y Ota, 1967; Naismith *et al.*, 1982). En la leche de madres Wistar se ha determinado un contenido de 38 mg/mL de lactosa, 168 mg/mL de lípidos y contenido total de proteína de 80 mg/mL (Grigor *et al.*, 1986). Por lo que respecta a ratas lactantes alimentadas con dietas altas en grasa, se ha reportado que producen cantidades mayores con un contenido elevado de lípidos respecto a ratas con alimentación baja en grasa (Del Prado *et al.*, 1999). En humanos el perfil de ácidos grasos de la leche materna, pero no el contenido de grasa varía de acuerdo con la dieta de la madre (Connor *et al.*, 1996). Cuando se consumen dietas ricas en grasas poliinsaturadas, se encuentran más ácidos grasos poliinsaturados en la leche.

Cuando se consumen dietas muy bajas en grasa con calorías adecuadas provenientes de carbohidratos y proteínas se sintetizan más ácidos grasos de cadena media. Cuando la madre pierde peso el perfil de ácidos grasos de sus depósitos de grasa se refleja en su leche. (Insull y Ahrens, 1959; Brown, 2005). Por otro lado, la concentración del colesterol en la leche materna varía de 10 a 20 mg/dL y al parecer el consumo temprano de este nutriente durante la lactancia podría relacionarse con cifras menores de este en etapas posteriores de la vida (Owen *et al.*, 2002).

En los lactantes típicos, el requerimiento de energía relativo al peso corporal es mayor que en cualquier etapa de la vida; sin embargo, existen pocos análisis sobre el gasto de energía en los niños para lograr un consenso en cuanto a los cambiantes requerimientos energéticos (Brown, 2005).

1.4. Programación del Desarrollo.

Actualmente se sabe que el medio ambiente sub-óptimo en el útero altera el crecimiento y predispone al individuo hacia problemas de salud durante toda su vida. Así, el concepto de programación del desarrollo describe aquellas situaciones que durante la gestación y la vida neonatal condicionan una respuesta fisiológica persistente en la descendencia (Alcántara-Gómez, 2008), todo esto está sustentado por estudios realizados en animales de experimentación y

epidemiológicos que han demostrado que la calidad de vida fetal influye de manera profunda e irreversible en las características fisiológicas y metabólicas en la vida adulta. Así pues el fenotipo del adulto es por consiguiente la suma de factores genéticos y de la influencia del ambiente fetal y pos natal (González-Barranco, 2004; Nathanielsz, 1996; Alcántara-Gómez, 2008; Zambrano, 2009).

Una de las primeras aportaciones, llevadas a cabo respecto a este fenómeno, fueron basadas en observaciones epidemiológicas realizadas de la aparición de obesidad en individuos concebidos durante el *Invierno del Hambre Holandés*, como se le conoce al periodo de la hambruna ocurrido durante la ocupación alemana de los Países Bajos durante la II Guerra Mundial, de noviembre de 1944 a mayo de 1945, durante estos 6 meses las raciones de alimento se redujeron de 1800 Kcal/día a 600 Kcal/día y posteriormente aumentaron a 1700 Kcal/día al terminar la invasión; sin embargo, el peso al nacer de esos sujetos no pareció afectado por dicho “reto” en su desarrollo, pero la etapa de exposición a esta grave situación, en especial los dos primeros trimestres de la gestación, mostró una clara relación con el peso de estos individuos en la adultez temprana, ésta nutrición deficiente durante los primeros meses del embarazo les confirió un riesgo dos veces mayor de sufrir obesidad en la edad adulta (Ravelli *et al.*, 1976). En 1986 las observaciones realizadas por el Dr. David Baker, de la Universidad de Southampton en el Reino Unido demostraron que existe una correlación entre bajo peso al nacimiento y riesgo de enfermedades

coronarias en la vida adulta (Barker y Osmond, 1986), las cuales llevaron al Dr. Barker y a sus colaboradores a proponer la hipótesis de que los factores ambientales adversos en la vida temprana causan un trastorno en el crecimiento y desarrollo normal resultando en un fenotipo adulto propenso a enfermedad cardiovascular (Barker, 1995; Paneth y Susser, 1995), estudios posteriores realizados en otras cohortes inglesas como en otros países hicieron que esta hipótesis tomara mayor fuerza y credibilidad.

De esta manera la obesidad infantil y del adulto actualmente se consideran como padecimientos que pueden ser programados en la vida temprana, y un neonato sujeto ya sea a una privación nutricional o a un ambiente excesivamente rico en nutrientes, (aunque tal vez parezca contrario a la intuición), parecen ser riesgosos (Taylor y Poston, 2007), ya que evidencias epidemiológicas demuestran una curva en forma de “U” al relacionar los pesos al nacimiento respecto al riesgo de padecer obesidad en la edad adulta (Curhan *et al.*, 1996).

1.4.1. Obesidad y Programación

Como se ha mencionado el estudio de los efectos de la programación del desarrollo en la población humana presenta ciertas limitantes, pero el uso de modelos con animales experimentales ha proporcionado una aproximación suplementaria que ha probado ser bastante informativa de manera especial para el caso de la obesidad materna (Taylor y Poston, 2007). Los modelos animales para el estudio de las consecuencias de la obesidad durante la gestación han sugerido que la nutrición supra normal materna es perjudicial en la salud de la progenie y puede resultar en: un fenotipo característico del síndrome metabólico (Armitage *et al.*, 2005, Nivoit *et al.*, 2009).

Se ha demostrado con roedores que la alimentación materna alta en grasa administrada desde antes y durante la gestación resulta en un riesgo significativo e incrementado para la progenie en la vida adulta de desarrollar un fenotipo característico de obesidad (Shankar *et al.*, 2008), pues se ha reportado un incremento de aproximadamente el doble de la cantidad de tejido adiposo extraído de estas crías respecto a los controles (crías de madres sanas) independientemente del tipo de dieta consumida después del destete. Asimismo se ha detectado hiperfagia y resistencia a la insulina (Nivoit *et al.*, 2009), lo cual puede asociarse a la hiperleptinemia e hiperinsulinemia que se han hallado usando este modelo tanto en hembras como en machos (Howie *et al.*, 2009). También se ha probado que la

dieta materna alta en grasa ya sea en la gestación o en la lactancia tiene efectos adversos a largo plazo en la presión sanguínea y la función endotelial de la descendencia (Khan *et al.*, 2005).

Al parecer la alimentación materna durante la gestación y la lactancia es uno de los factores determinantes en el desarrollo futuro de la progenie. En efecto, se sabe por el estudio en modelos experimentales que la alimentación alta en grasa y en particular durante el embarazo produce hiperinsulinemia materna, de la cual se ha sugerido que funcione como un estímulo programador, ya que esta se puede asociar con la ganancia de peso de la descendencia en la vida adulta (García-García *et al.*, 2010). Sin embargo, se ha reportado con ratas Sprawn-Dowley, que la descendencia de madres experimentales obesas aún antes de alcanzar la adultez presentan resistencia a la insulina, además de alteraciones en la señalización de la saciedad en el hipotálamo y una elevada expresión de mRNA para la leptina en el tejido adiposo (Kirk *et al.*, 2009).

1.5. Planteamiento del Problema

Se acepta que el estado nutricional temprano afecta el peso futuro de los individuos, su adiposidad, sus conductas alimentarias y su predisposición a la obesidad; sin perder de vista que existen factores más complejos que pueden contribuir a todas estas posibilidades incluso desde antes de la concepción y no sólo durante los desarrollos embrionario y fetal. Dicho fenotipo marcadamente obeso es completamente independiente de la nutrición postnatal (Howie *et al.*, 2009). Así pues, en el ámbito clínico se fomenta realizar acciones que lleven a una mujer obesa a condiciones de peso normal antes del embarazo, como un esfuerzo encaminado a intervenir para evitar complicaciones (Vargas-Ancona *et al.*, 1999). Sin embargo, aun es necesario validar y determinar cómo lograr la máxima eficacia de dicha intervención sin arriesgar la salud materna y de su descendencia.

Aunque la investigación en cohortes humanas ha sido de gran valor al determinar las asociaciones entre el estado nutricional materno y las consecuencias en la descendencia es complejo, costoso y confuso por la influencia de variables incontrolables de origen genético y ambiental. No obstante, en la actualidad no se dispone de mucha información sobre los efectos en la intervención dietética en la hembra obesa pero se ha demostrado que ésta, en el periodo previo a la gestación puede revertir de manera importante los efectos metabólicos adversos ocasionados por la obesidad materna sobre las crías, como

la cantidad de grasa subcutánea incrementada, niveles elevados de triacilgliceroles, leptina e insulina (Zambrano *et al.*, 2010). Sin embargo, es de gran importancia conocer más acerca de los efectos de los diferentes grados de recuperación en función del periodo de intervención nutricional materna, ya que la información disponible a este respecto aún es escasa, en particular la intervención que se aplica una vez iniciada la gestación, lo cual será de gran utilidad al tratar de entender el mecanismo “programador” en la salud de la descendencia de las madres con obesidad o sobrepeso.

2. JUSTIFICACIÓN

El sobrepeso y la obesidad que antes se consideraban como problemas exclusivos de los países de altos ingresos, están aumentando espectacularmente en los países de ingresos bajos y medios, sobre todo en el medio urbano. Los últimos cálculos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que en 2005 había en todo el mundo aproximadamente 1600 millones de adultos (mayores de 15 años) con sobrepeso y al menos 400 millones de adultos obesos (OMS, 2006). Durante la última década se ha observado un aumento alarmante en la prevalencia de obesidad en México que incluye a mujeres en edad reproductiva, de tal forma que en mujeres de 20 a 49 años de edad, la prevalencia de la suma de sobrepeso y obesidad aumentó de 34.5% en 1988 a 61% en 1999 y a 69.3% en 2006 (Fig. 2.1) (Olaiz-Fernández *et al.*, 2006)

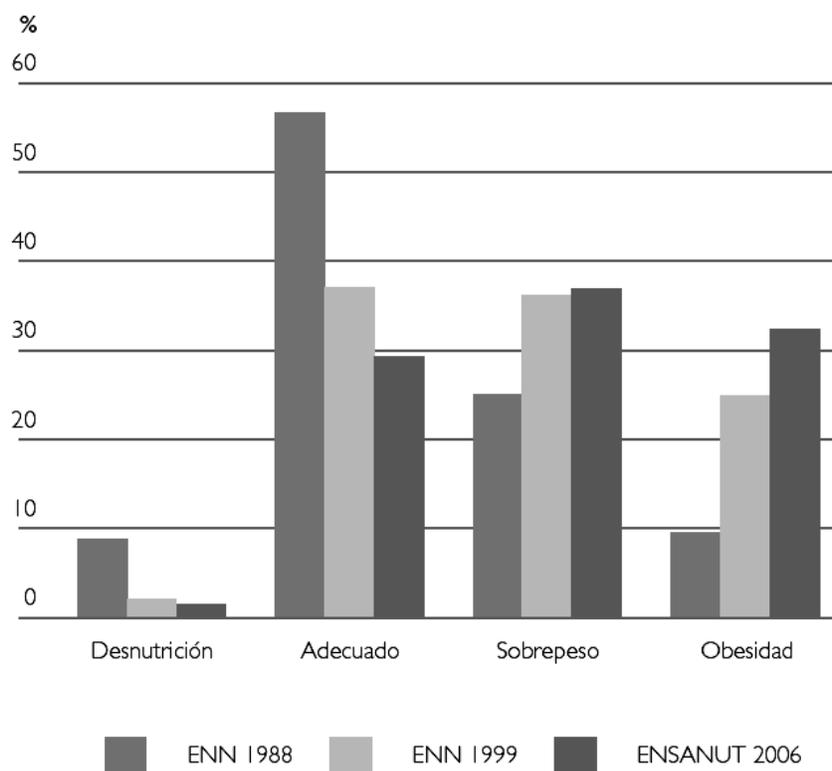


Figura 1.1. Distribución del estado nutricional en mujeres de 20 a 49 años de edad en México para 1988, 1999 y 2006. Prevalencia (%) basada en el IMC Según las encuestas nacionales de nutrición. Tomado de ENSANUT 2006 (Olaiz-Fernández *et al.*, 2006).

La importancia de ocuparnos de las consecuencias de la obesidad y sobrepeso en la mujer de edad reproductiva radica en los efectos adversos que se puedan generar cuando en su momento se dé el embarazo, implicados tanto en la madre como en el producto. Actualmente estudios epidemiológicos mediante el seguimiento de distintas cohortes muestra una correlación directa entre el peso de la madre y el peso de su descendencia (García-García *et al.*, 2010), lo cual puede dar pie a proponer que se dé un círculo vicioso, que agrava el problema de la obesidad y sobrepeso así como las concomitantes alteraciones metabólicas asociadas a estas. Sin embargo, abordar este problema de manera experimental

en humanos es bastante complejo, particularmente por los riesgos que conllevan tanto para la madre como para el producto el intervenir la nutrición de la mujer embarazada. Aún resulta necesario realizar este tipo de análisis en modelos experimentales, siendo la opción más viable los modelos con roedores, por el número de crías obtenidas por camada y el corto periodo de su gestación y lactancia.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivos Generales

- Determinar algunos efectos de la intervención nutricional iniciada un mes previo a la preñez y al inicio de la gestación en ratas madre (F0) con obesidad experimental; así como las consecuencias en el metabolismo energético y adiposidad de su progenie (F1) en el período posterior a la lactancia.

3.2. Objetivos Particulares

- Provocar experimentalmente obesidad en ratas hembras mediante la alimentación con una dieta alta en grasa e intervenirla con dieta control un mes previo a la preñez y al inicio de la gestación.
- Determinar la ganancia de peso corporal y la ingesta de alimento antes y durante la preñez y lactancia, en las ratas F0 de alimentación alta en grasa; así como de las de intervención dietética con dieta control desde antes y del inicio de la gestación.

- Medir las concentraciones basales de insulina y leptina en las ratas F0
- Medir la concentración sérica basal de colesterol, triacilgliceroles y glucosa en las ratas F0 antes y después de la gestación
- Obtener de las madres experimentales F0: el peso corporal, del hígado y tejido adiposo.
- Monitorizar el peso corporal de las crías F1 durante la lactancia, así como después del destete.
- Monitorizar la concentración sérica basal de: leptina, colesterol, triacilgliceroles y glucosa de la progenie de las ratas experimentales.
- Monitorizar en la progenie de las ratas experimentales: el peso del hígado e índice de adiposidad después del destete.

4. HIPÓTESIS

La alimentación alta en grasa en las hembras F0 ocasionará que presenten un fenotipo característico de la obesidad, el cual será revertido al menos parcialmente después de la intervención nutricional. De esta manera las posibles alteraciones metabólicas en la progenie F1 de igual manera se verán revertidas en función del periodo de la intervención nutricional.

5. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se emplearon ratas hembra de 21 d de edad (recién destetadas), que a los 120 d fueron apareadas con un macho adulto de la misma cepa. Previamente, las ratas experimentales fueron asignadas dentro de 4 grupos experimentales (evitando tener hermanas dentro de un mismo grupo) según su patrón de alimentación, ya sea con dieta Alta en Grasa (alimento preparado experimentalmente en el laboratorio con un exceso de grasa en su composición) o con dieta Control (alimento comercial especial para roedor) a partir del destete, el cual se describe a continuación:

- Grupo Control (**C**): Se le dio dieta Control desde el destete hasta el final de la lactancia de F1 (De los 21 d hasta los 165 d de F0).
- Grupo de Obesidad Materna (**OM**): Se le dio dieta Grasa desde el destete hasta el final de la lactancia de F1 (De los 21d hasta los 165d de F0).
- Grupo de Intervención Previa a la Gestación (**IPG**): Se le dio dieta grasa desde el destete hasta un mes previo a la gestación. (De los 21 d hasta los 90 d de F0), y recibió dieta control a partir de los 90 d de edad hasta el final de la lactancia de F1 (165 d de edad).
- Grupo de Intervención en la Gestación (**IG**): Se le dio dieta grasa desde el destete hasta una vez iniciada la gestación (De los 21 d hasta los ~120 d) y

recibió dieta control durante la gestación y la lactancia de F1 (hasta los ~165 d de edad).

El patrón de alimentación de los grupos mencionados se esquematiza en la Fig. 5.1.

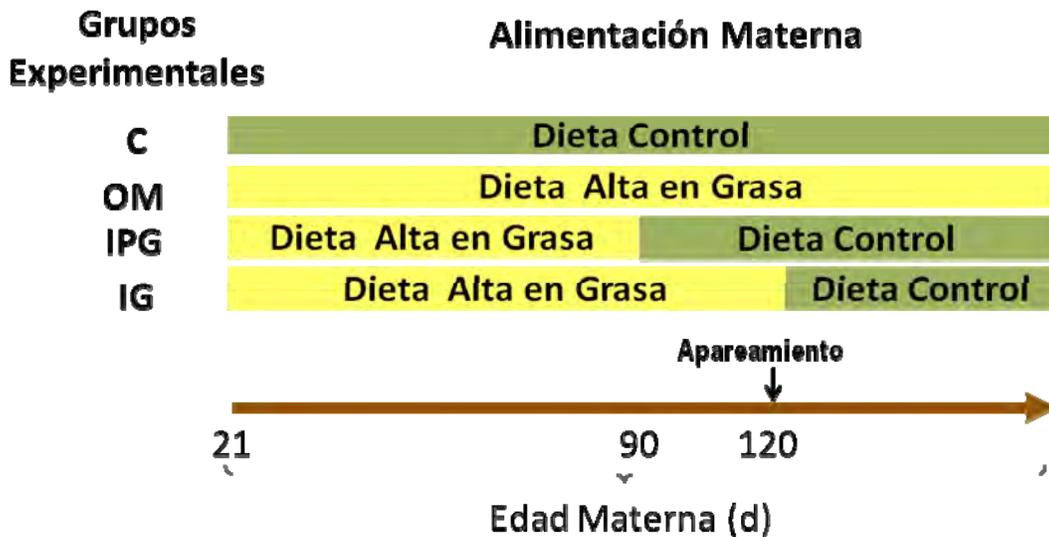


Figura 5.1. Patrón de alimentación materno en los diferentes grupos experimentales. Arriba de la recta numérica que representa la edad materna, se muestra la alimentación recibida en cada grupo experimental en el periodo indicado.

Una vez establecido el patrón de alimentación de las hembras F0, se monitorizó su peso corporal durante el experimento. Se midió la ingesta de alimento de todos los grupos, en particular después de la intervención en IPG (90-105 d), durante la gestación y la lactancia (120-165 d). Asimismo, se determinó la química sanguínea (medición de la concentración de glucosa, colesterol y

triacilgliceroles) y la concentración sérica de las hormonas leptina e insulina tanto 10 días antes del apareamiento (110 d) como al final de la lactancia (165 d) momento en el que se realizó la eutanasia a las madres F0 y se extrajo el hígado y diferentes tipos de tejido adiposo los cuales fueron pesados. Las mediciones correspondientes a las madres experimentales se esquematizan en el transcurso del experimento en la Fig. 5.2.A.

Las crías F1 se asignaron al mismo grupo al que pertenecieron sus madres F0 durante el experimento, al nacimiento se les tomaron la principales medidas morfométricas. Las crías F1 permanecieron con su madre F0 durante la lactancia de los 0 d (F1) a los 21 d (F1) cuando fueron destetadas y a partir de ese momento se les dio dieta control a cada una hasta el final del experimento independientemente del grupo al que pertenecieran.

El peso de las crías fue registrado desde el nacimiento 0 d (F1) hasta el final del experimento en los días seleccionados. A los 36 d (F1) se determinó la química sanguínea y se cuantificó la concentración de leptina; asimismo con eutanasia previa se extrajo el hígado y tejido adiposo los cuales fueron pesados. También se midió la ingesta de alimento de los 70 a los 75d (F1). La realización de las mediciones correspondientes a las crías se esquematiza en el transcurso del experimento en la Fig. 5.2. B.

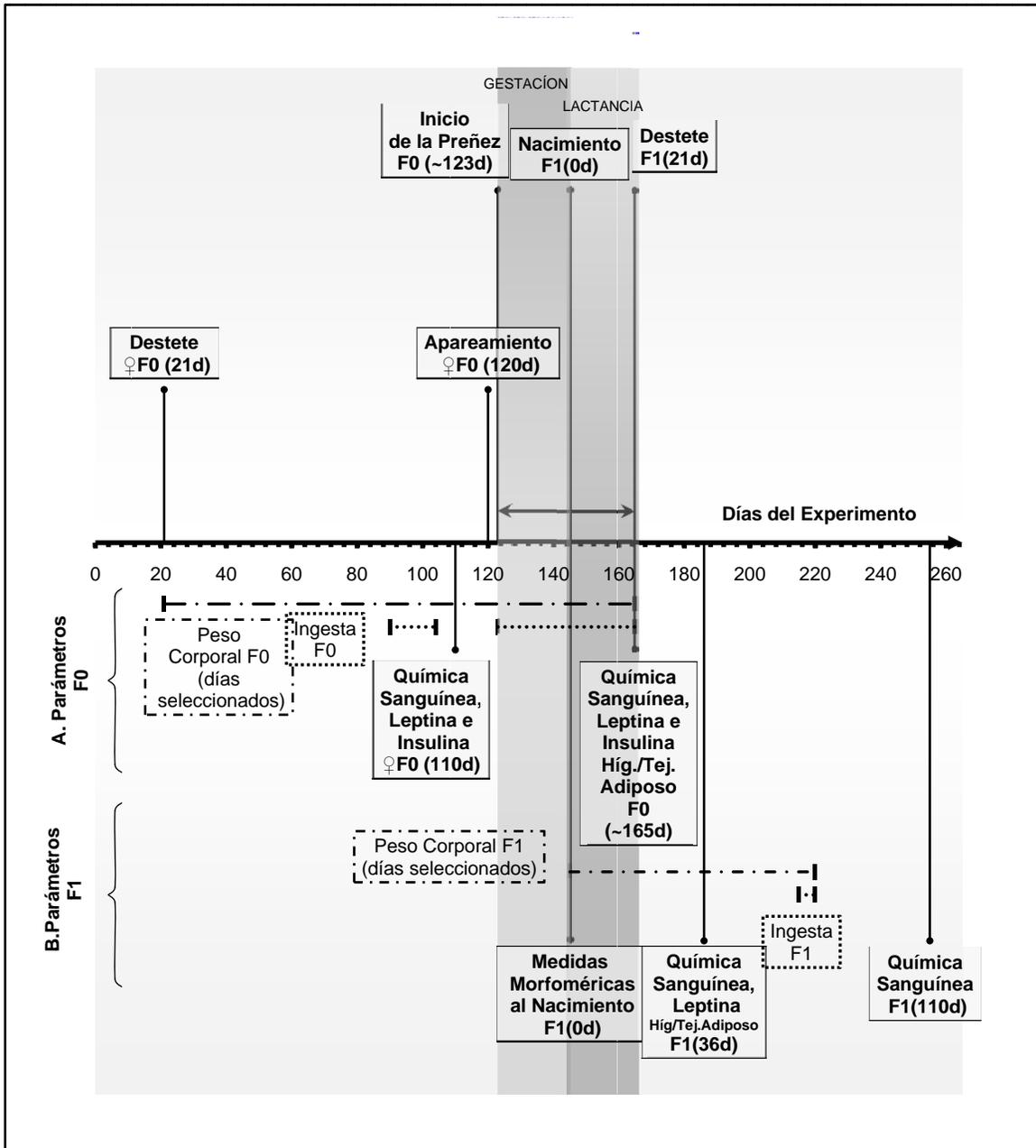


Figura 5.2. Línea del Tiempo del Experimento. Se esquematiza a lo largo del transcurso del experimento en días, representado por la recta numérica central, en las diferentes secciones: **A.** La medición de los parámetros maternos (de F0) y en **B.** Los parámetros de la progenie (de F1).

6. METODOLOGÍA

6.1. Animales Experimentales

Los animales que se utilizaron para este estudio fueron ratas albinas especie *Rattus norvegicus* de la cepa Wistar (obtenidos de Charles River Laboratories, Inc.), provenientes de la colonia mantenida en el Departamento de Investigación Experimental y Bioterio (DIEB) del Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ). Cabe señalar que todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité de Investigación en Animales (CINVA) del mismo instituto.

Tanto la dieta como el agua de bebida² se administraron *ad libitum*. Los machos empleados para aparear a las hembras fueron alimentados con dieta control y durante todo el estudio todas las ratas permanecieron en el área concedida dentro de las instalaciones del bioterio del DIEB, donde se mantuvieron en condiciones de humedad relativa y temperatura controladas 75% y 22±2° C, respectivamente con ciclos de luz/obscuridad de 12 horas (luces encendidas: 06:00-18:00 horas).

²Agua potable de la red de abastecimiento público, acidificada (hasta un pH=2.5) con HCl, para la prevención de crecimiento bacteriano.

Los animales fueron alojados en cajas estándar de acrílico (adecuadas para ratas, conocidas comúnmente como de tamaño *jumbo*) con una cama de aserrín de madera virgen (Aspen Chip Laboratory Bedding de Northeastern Products Corp.) cambiada periódicamente. Se colocaron de 3 a 5 animales por cada caja hasta antes del apareamiento, período periodo a partir del cual sólo se colocó a una hembra F0 por caja hasta el final del estudio.

6.2. Dietas

La dieta Control consistió en: alimento comercial para roedor Rodent RQ 22-5 de Zeigler®, formulada para mantenimiento, crecimiento, reproducción y lactancia de ratas y ratones convencionales conteniendo 5%_(p/p) de grasa y un contenido energético de 4 Kcal/g (Tabla 6.1.). Mientras que la dieta Alta en Grasa fue elaborada en la planta piloto del Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (DCyTA) del INNSZ, cuyo contenido de grasa fue del 20 %_(p/p), y el energético de 5 Kcal/g (Tabla 6.1), con una formulación diseñada en base a la recomendación AIN-93 del American Institute of Nutrition (Reeves *et al.*, 1993) así como modificaciones hechas a esta, por la Dra. Elena Zambrano y colaboradores (Tabla 6.2) (Zambrano *et al.*, 2010). Para su elaboración se utilizó una mezcladora de paletas Hobart modelo A-200 de 20 L de capacidad, potencia de 1/3 HP y 1425 rpm; el procedimiento de elaboración se describe con mayor detalle en el apéndice A.1.

Tabla 6.1. Composición Nutricional de las Dietas.

Nutriente	(% _(p/p))	
	Dieta Control [†]	Dieta Alta en Grasa [‡]
Proteína	22.0	23.4
Grasa	5.0	25.0
Polisacáridos	31.0	20.59
Azúcares simples	31.0	20.59
Fibra dietética	4.0	5.0
Minerales	6.0	5.0
Vitaminas	1.0	1.0
Contenido Energético	4 Kcal /g	5 Kcal/g

[†]Datos obtenidos del análisis garantizado de la dieta Rodent RQ 22-5 por el fabricante.

[‡]Datos calculados a partir de la formulación (ver tabla 6.2).

Tabla 6.2 Formulación de la Dieta Alta en Grasa.

Componente [†]	Concentración (g/100g de Dieta)
Caseína	11.55
Caseinato de Calcio	11.55
L-Cistina, Diclorhidrato	0.3
Mezcla de Minerales AIN-76	5.0
Mezcla de Vitaminas AIN-93 VX	1.0
Colina, Clorhidrato	0.17
α-Celulosa	5.0
Almidón de maíz	20.59
Glucosa Anhidra	20.59
Aceite de Soya	5.0
Manteca de cerdo	20.0

[†] Lás características de cada reactivo usado como componente de la dieta se abordan con mayor detalle en el apéndice A.1. Procedimiento para la elaboración de dietas experimentales.

6.3. Medición de peso corporal e ingesta

A partir de los 21 d edad de las hembras experimentales F0, se midió y registró el peso corporal de cada una semanalmente; del día 90 al 105 se midió su ingesta y de manera diaria durante la gestación y la lactancia. En las crías F1 la ingesta se midió de los 70-75 d de edad, dicha determinación se realizó, colocando 3 o 4 animales del mismo grupo en una misma caja y pesando la cantidad de alimento presente en el comedero cada día a las 10:00 horas, reponiéndolo de tal manera que la cantidad de este no fuera inferior a 50 g. Los cálculos se realizaron de acuerdo a la Ec.6.1, las pesadas se realizaron en una balanza analítica ADAM® modelo PGW 1502e, (capacidad=1500g, d=0.01g), usándola en la función de pesaje de animales para el caso del peso corporal.

Ec. 6.1 Ingesta Individual de Alimento por Día

$$Ingesta_{individual} = \frac{A_i - A_f}{n}$$

Donde:

A_i= Alimento inicial (g de alimento en el comedero el día anterior a la determinación)

A_f= Alimento final (g alimento en el comedero el día de la determinación)

n= Animales en la caja durante la determinación.

6.4. Apareamiento y Determinación de la Preñez

Una vez que las hembras alcanzaron la edad de 120 d, fueron colocadas en cajas separadas de manera individual, en la misma caja se puso un macho sano de edad adulta de fertilidad probada a fin de que se llevara a cabo el apareamiento.

Para comprobar que se realizó el apareamiento posterior a la colocación del macho, se llevó a cabo un *frotis* vaginal cada 24 horas (a las 08:00 hrs). La observación de espermatozoides se consideró como resultado positivo para el apareamiento (tomando el día del hallazgo como el día cero de gestación), momento en el cual el macho fue retirado de la caja de la hembra. Las ratas negativas para esta prueba por más de tres días consecutivos fueron descartadas del experimento. Los *frotis* fueron teñidos con solución de Lugol (obtenida de la Farmacia del Área de Hospitalización del INNSZ) y observados a 100x (Fig. 6.1) con un microscopio fotónico (Axiostar Plus de Carl Zeiss®).

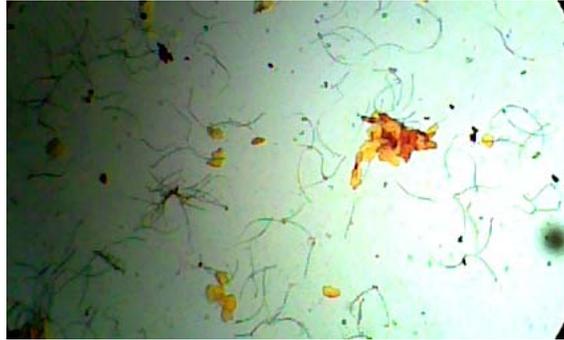


Figura 6.1 Ejemplo de la observación de un frotis vaginal positivo para el apareamiento. Tinción con solución de Lugol, Realizado después de dejar a la hembra con el macho por 24 horas en una misma caja. Es posible observar espermatozoides (como filamentos delgados opacos en el campo iluminado). Imagen vista a 100x y tomada con una cámara VGA a través del lente ocular.

6.5. Medidas morfométricas

De las crías F1, al día del nacimiento se tomaron diversas medidas morfométricas por medio de un calibrador con vernier (de Scala®, d=0.1mm) las cuales consistieron en la talla medida desde la punta de la nariz hasta la base de la cola (Fig. 6.2.A.), la distancia cefálica, medida a la altura de las orejas (Fig. 6.2 B.), la abdominal medida en la base de las costillas (Fig. 6.2.C.), y la ano-genital, tomada desde el ano hasta el poro genital (Fig. 6.2.D.). También se calculó el cociente de la distancia cefálica entre la distancia abdominal (Relación Cef./Abd.) de cada una de las crías correspondientes a cada camada.

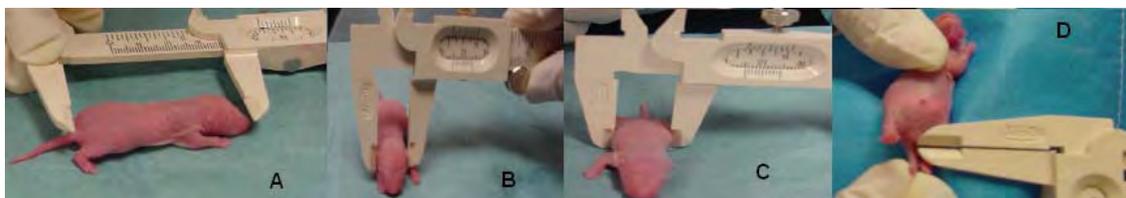


Figura 6.2. Medidas morfométricas tomadas con el vernier. A. Talla, Distancia B. Cefálica, C. Abdominal y D. Anogenital. Ver detalles en el texto.

6.6. Extracción de suero de las ratas experimentales

Previo a la sangría se retiró el alimento por 12 horas a las ratas seleccionadas al azar para formar parte de la muestra, dejándoles sólo acceso al agua *ad libitum*. Se realizaron extracciones sanguíneas a las madres F0 y crías F1 en ambos casos a la edad de 110 d, de la cuenca ocular por rasgadura leve de la glándula lagrimal (para evitar al máximo la hemólisis de la muestra y traumatismo en el animal), para ello los animales fueron anestesiados colocándolos dentro de una cámara de vidrio conteniendo un paño empapado con éter etílico (Analyzed ACS Reagent de J.T. Baker®), una vez anestesiado el animal, por medio de un tubo capilar para microhematocrito heparinizado, se realizó la extracción de aproximadamente 750 μ L de sangre.

También se recolectó la sangre obtenida de la región cervical, al momento de realizar la eutanasia por decapitación rápida, con una guillotina para roedor (Thomas Scientific), tanto de las hembras F0 (a los ~165 d) al final de la lactancia, como de las crías F1 seleccionadas a los 36 y 110 d.

Las muestras sanguíneas fueron recolectadas en ambos casos, en tubos de polipropileno para microcentrífuga de 1.5 mL, donde se dejó formar un coágulo por 45 minutos a temperatura ambiente. A fin de extraer el suero, las muestras fueron procesadas en una microcentrífuga 5415C de Eppendorf® a 10000 rpm (8154xg) durante 10 minutos, para después decantar la muestra y obtener el sobrenadante el cual se congeló inmediatamente a -20°C, permaneciendo así por algunos días hasta su procesamiento.

6.7. Extracción de Hígado y Tejido Adiposo

Las hembras F0 a los ~165d y las crías F1 a los 36 y 110 d fueron sacrificadas por decapitación, con un ayuno previo de 12 horas pero con acceso al agua *ad libitum* en todos los grupos. Después de la recolección de sangre antes mencionada se procedió a la disección del cuerpo, momento en el que se extrajo el hígado y el tejido adiposo de diferente localización anatómica incluyendo: del esternón (solo en ratas de más de 100 d), páncreas, retro-peritoneal, ovárico y uterino (en hembra) y del epidídimo (en machos); todos ellos fueron pesados individualmente, en una balanza analítica BP 310S de Sartorius® (Cap.max.=320g, d=0.001 g).

6.8. Química Sanguínea

Las muestras séricas conservadas inmediatamente después de su obtención a -20°C , fueron descongeladas a temperatura ambiente durante 15 minutos previos al inicio del análisis, momento en el cual fueron cargados en las cubetas del equipo, el cual se encargó de procesarlas automáticamente al iniciar la corrida.

La medición de la concentración sanguínea de Glucosa, Colesterol Total, y Triacilgliceroles, fue realizado con el sistema automatizado SYNCHRON CX® 5 Delta de Beckman-Coulter el cual utiliza el multicalibrador MULTI™ SYNCHRON CX diseñado para este sistema (que incluye los parámetros que nos interesan entre otros), también se corrieron las muestras de control de calidad correspondientes. Las determinaciones se llevaron a cabo con reactivos diseñados especialmente para este sistema y los parámetros antes mencionados fueron programados en el equipo, el cual básicamente realiza un análisis espectrofotométrico a partir de ensayos enzimáticos que se describen a continuación:

6.8.1. Glucosa

La concentración se determinó por un método de punto final a tiempo fijo utilizando un reactivo denominado GLU (Ref.: 467825), compuesto por: ATP 3.8 mM, NAD⁺ 2.7 mM, hexocinasa (HK) 2,0 KUI/L glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) 3,0 KUI/L, además de otras sustancias no reactivas necesarias para el funcionamiento óptimo del sistema. El sistema dispensa en forma automática los volúmenes de muestra y reactivo. La proporción es 1 parte de muestra a 100 partes de reactivo.

En las reacciones dadas en el sistema de análisis durante la corrida (Fig. 6.3.) la HK cataliza la transferencia de un grupo fosfato a partir del ATP a la glucosa formándose ADP y glucosa-6-fosfato. Luego la glucosa-6-fosfato se oxida a 6-fosfogluconolactona con la reducción concomitante de NAD a NADH por la acción catalítica de la G6PDH.

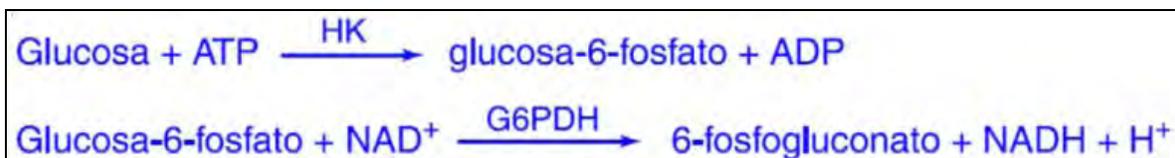


Fig. 6.3. Reacciones Químicas Empleadas en la Cuantificación de Glucosa Sérica.

El sistema monitoriza el cambio de absorbancia a $\lambda=340$ nm. El cambio de absorbancia es directamente proporcional a la concentración de glucosa en la muestra y es usado por el sistema para calcularla y expresarla en mg/dL.

6.8.2. Colesterol

Se utiliza un método de punto final a tiempo fijo empleando el reactivo CHOL (No. Ref.: 467825) el cual se compone de 4-aminoatirpirina (4-AAP) 0.28 mM, fenol 8,06 mM, colesterol esterasa (CE) 211 UI/L, colesterol oxidasa (CO) 216 UI/L, peróxidasa 6667 UI/L, además de otras sustancias no reactivas necesarias para el funcionamiento óptimo del sistema. El SYNCHRON CX® dispensa en forma automática los volúmenes apropiados de muestra y reactivo en una cubeta, en proporción de 1 parte de muestra a 100 partes de reactivo.

En las reacciones efectuadas (Fig. 6.5.) en el equipo la CE hidroliza los ésteres de colesterol a colesterol libre y ácidos grasos, el colesterol libre es oxidado a colestén-3-ona y peróxido de hidrógeno por medio de la CO, la peroxidasa cataliza la reacción del peróxido de hidrógeno con 4-AAP y fenol produciendo quinoneína, un producto de color.

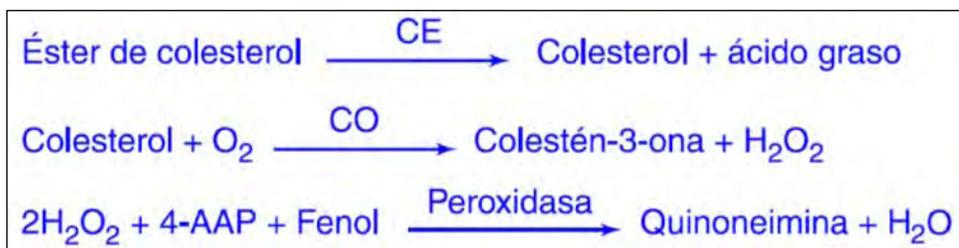


Fig. 6.5. Reacciones Químicas Empleadas en la Cuantificación de Colesterol Sérico.

Así, el sistema determina el cambio de absorbancia a $\lambda=582$ nm, ya que este es proporcional a la cantidad de colesterol en la muestra, de este modo el sistema puede calcular y expresar la concentración de colesterol en mg/dL.

6.8.3. Triacilgliceroles

Para esta determinación se utiliza el reactivo GPO (ref.: 445850), mediante un método de punto final a tiempo fijo el Sistema dispensa automáticamente los volúmenes en proporción de 1 parte de muestra por cada 100 partes de reactivo. El reactivo se compone de: lipasa 68 U/L, ATP 2,56 mM, glicerol cinasa (GK) 4 KUI/L, glicerofosfato oxidasa (GPO) 1,1 KUI/L, 4-AAP 0,71 mM, ácido 3,5-dicloro-2-hidroxibenzeno sulfónico (DHBS) 1,56 mM, peróxidasa de rábano (HPO) 9 KUI/L, además de otras sustancias no reactivas necesarias para el funcionamiento óptimo del sistema.

Los triacilgliceroles de la muestra por la adición del reactivo (Fig. 6.5.) son hidrolizados a glicerol y ácidos grasos libres por medio de la lipasa (Fig. 6.5. (a)).

Se da así una secuencia de tres pasos enzimáticos justamente, por la GK (Fig. 6.5. (b)) el glicerol se transforma en glicerol-3-fosfato, y este por acción de la GPO (Fig. 6.5. (c)) se transforma en dihidroxiacetona y H_2O_2 y así la HPO (Fig. 6.5. (d)) causa el acoplamiento oxidante a partir del peróxido de hidrógeno generado junto con el DHBS y la 4-AAP forman un colorante rojo de quinoneímina.

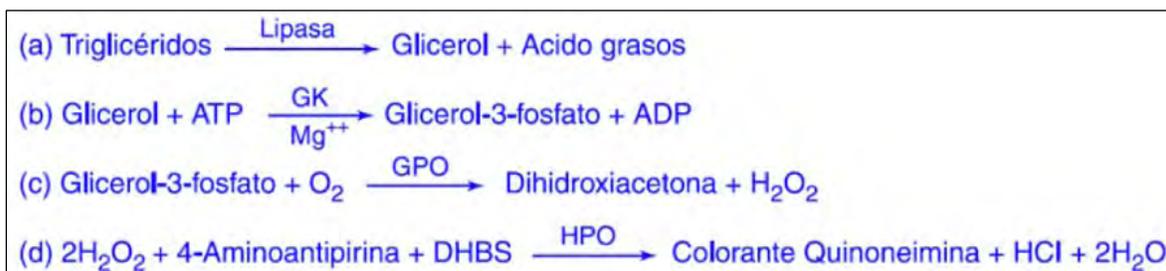


Fig. 6.5. Reacciones Químicas Empleadas en la Cuantificación de Triacilgliceroles.

El sistema monitoriza la variación de la absorbancia a $\lambda=520$ nm justo antes de la adición de lipasa y durante un intervalo fijo de tiempo tras su adición. Esta variación de la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de triacilgliceroles en la muestra y el sistema la utiliza para calcular y expresar la concentración de triacilgliceroles en mg/dL.

6.9. Determinación de Hormonas

Se determinó la concentración de insulina y leptina por Radio-Inmuno Ensayo (RIA por sus siglas en inglés), la cual resulta una técnica altamente sensible y específica. En dicha técnica, una concentración establecida de antígeno marcado (radiactivamente) mezclada con una concentración desconocida de antígeno considerado como el analito (de la muestra) es incubada con una dilución constante de antisuero de tal forma que la concentración de sitios de unión al antígeno en los anticuerpos es limitada, (por ejemplo, cuando sólo el 50% del antígeno puede ser unido al anticuerpo). De tal forma que en este sistema habrá una competencia entre los antígenos marcados y no marcados (provenientes de la muestra), por el número limitado y constante de los sitios de unión disponibles en el antisuero (Fig.6.6). Así, la cantidad de antígeno marcado unido al anticuerpo disminuirá a medida que la concentración de antígeno no marcado aumente. Esto puede ser medido después de separar el complejo antígeno-anticuerpo formado del antígeno marcado libre (por inmunoprecipitación por ejemplo), midiendo la radiactividad ya sea de una u otra fracción o bien de ambas, pudiéndose establecer una curva patrón con una serie de estándares que incrementen su concentración de antígeno no marcado y a partir de ésta curva, la cantidad desconocida de antígeno en la muestras puede ser calculada (Lehninger et al., 2008).

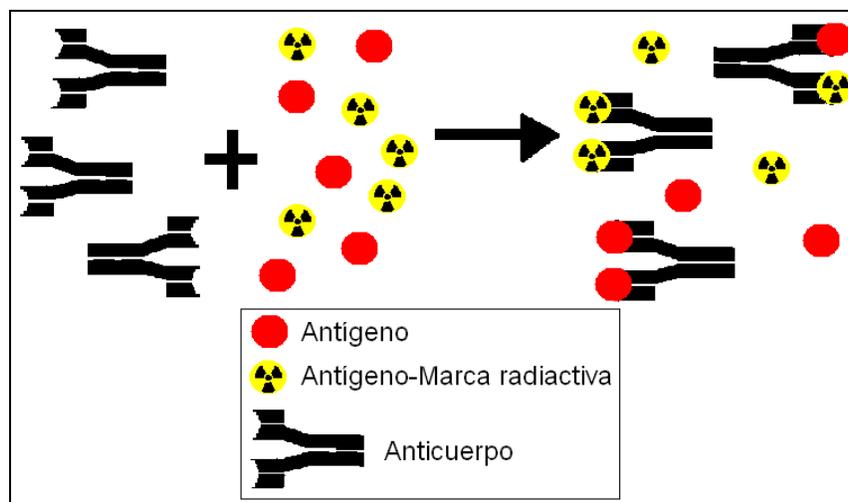


Fig.6.6. Esquema del principio del RIA. Se representa la reacción antígeno-anticuerpo del anticuerpo (Ac) específico para el antígeno marcado (Ag-marca radiactiva) y no marcado (Ag) los cuales “compiten” por los sitios de unión debido a la cantidad limitada de anticuerpo en el sistema.

Las muestras séricas conservadas a -20°C , fueron descongeladas a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de poner una cantidad de $100\mu\text{L}$ de muestra en tubos de boro-silicato para centelleo según el protocolo de la determinación con el estuche correspondiente.

6.9.1. Leptina

Se utilizó un estuche de RIA para leptina de rata de LINCO® Research No. de catálogo: RL-83K, el cual utiliza leptina de rata marcada con el isótopo radiactivo ^{125}I y un antisuero específico para leptina de rata con una sensibilidad de 0.5 ng/mL , así como un contador de radiaciones γ (Packard Instruments Co.). Cabe señalar que el estuche contiene sus propios patrones de leptina con los

cuales se elaboró la curva patrón (el procedimiento y la curva patrón se describen con mayor detalle en el apéndice A. 2.1).

6.9.2. Insulina.

Se utilizó un estuche de RIA para insulina de rata de LINCO® Research No. de catálogo: RI-13K, en el cual se emplea insulina de rata marcada con el isótopo radiactivo ^{125}I y un antisuero específico para leptina de rata con una sensibilidad de 0.1 ng/mL, el estuche contiene sus propios estándares de Insulina con los cuales se elaboró la curva patrón; asimismo se usó un contador de radiaciones γ (Packard Instruments Co.) (el procedimiento y la curva patrón se describen con mayor detalle en el apéndice A. 2.2.).

6.10. Análisis Estadístico

Todas los animales fueron seleccionados al azar para formar las muestras consideradas para las diversas mediciones realizadas este estudio, los datos se expresan como la media aritmética \pm el error estándar (EE). La n además del número de animales experimentales de la muestra en cuestión, también puede referirse al número de cajas empleadas para las determinaciones de la ingesta alimentaria, (alojando de 3 a 4 animales como máximo para evitar competencia

por la comida), asimismo también puede referirse al número de camadas (que aunque es el total de las crías paridas por cada madre, en nuestro estudio se toman los parámetros ya sea de los machos o de las hembras por separado para su análisis), en cada caso se realizara la indicación pertinente.

El efecto del patrón de alimentación materno (F0) entre los grupos experimentales tanto en las crías F1 como en las mismas madres F0 fue analizado en los diversos parámetros considerados en este estudio por medio del análisis de varianza de una vía (ANOVA por sus siglas en inglés) y las diferencias entre medias se determinaron con la prueba de Tukey *post hoc*. Un valor de $P < 0.05$ se consideró como significativo.

Los valores de los diversos parámetros, obtenidos antes de la gestación (antes de los 120 d), en las hembras experimentales F0 integrantes del grupo IG fueron considerados para su análisis estadístico como integrantes del grupo OM por tener el mismo tratamiento (consumo de la misma dieta experimental) hasta ese momento.

Para el caso de la cantidad de tejido adiposo extraído tanto en las madres F0 como en las crías F1 después de la eutanasia, se reportan los datos correspondientes al peso absoluto de cada tejido extraído de sus diferentes localizaciones, así como el índice de adiposidad, el cual se reporta como % del

peso corporal con lo cual se pretende tener una mejor estimación del desarrollo del fenotipo obeso en los animales experimentales, debido a que este parámetro está estrechamente relacionado con el contenido de tejido adiposo en el cuerpo (Taylor y Phillips, 1996; Kumar *et al.*, 1999). Este valor es calculado en hembras y machos por medio de la Ec 6.2.A. y B.

Ec. 6.2. Determinación del Índice de adiposidad

$$A. \text{ Índice de Adiposidad}_{\text{Hembras}} = \left(\frac{a + b + c + d}{f} \right) 100$$

$$B. \text{ Índice de Adiposidad}_{\text{Machos}} = \left(\frac{a + b + e}{f} \right) 100$$

Donde:

a=Tejido Adiposo Retroperitoneal en g

b=Tejido Adiposo Pancreático en g

c=Tejido Adiposo Ovárico en g

d=Tejido Adiposo Uterino en g

e=Tejido Adiposo del Epidídimo en g

f= Peso corporal en g

7. RESULTADOS

7.1. Madres Experimentales F0

7.1.1. Parámetros Obtenidos Antes de la Gestación

7.1.1.1. Peso Corporal

Los datos demuestran que la ganancia de peso corporal de las hembras F0 desde la primera semana después del destete hasta los 119 d, respecto al grupo C (n=13) es mayor en los grupos que fueron alimentados con dieta alta en grasa, OM (n=22) e IPG (n=9); sin embargo, en el peso promedio diario sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas a partir de los 28 d para el grupo de OM y a partir de los 77 d para el grupo de IPG el cual mantuvo dichas diferencias sólo hasta los 93 d, momento en el cual la ganancia de peso disminuyó, demostrando así el efecto de la intervención nutricional iniciada a partir del día 90 en este grupo, que para el día 119 mostró tener el peso promedio más cercano al del grupo C durante el experimento.

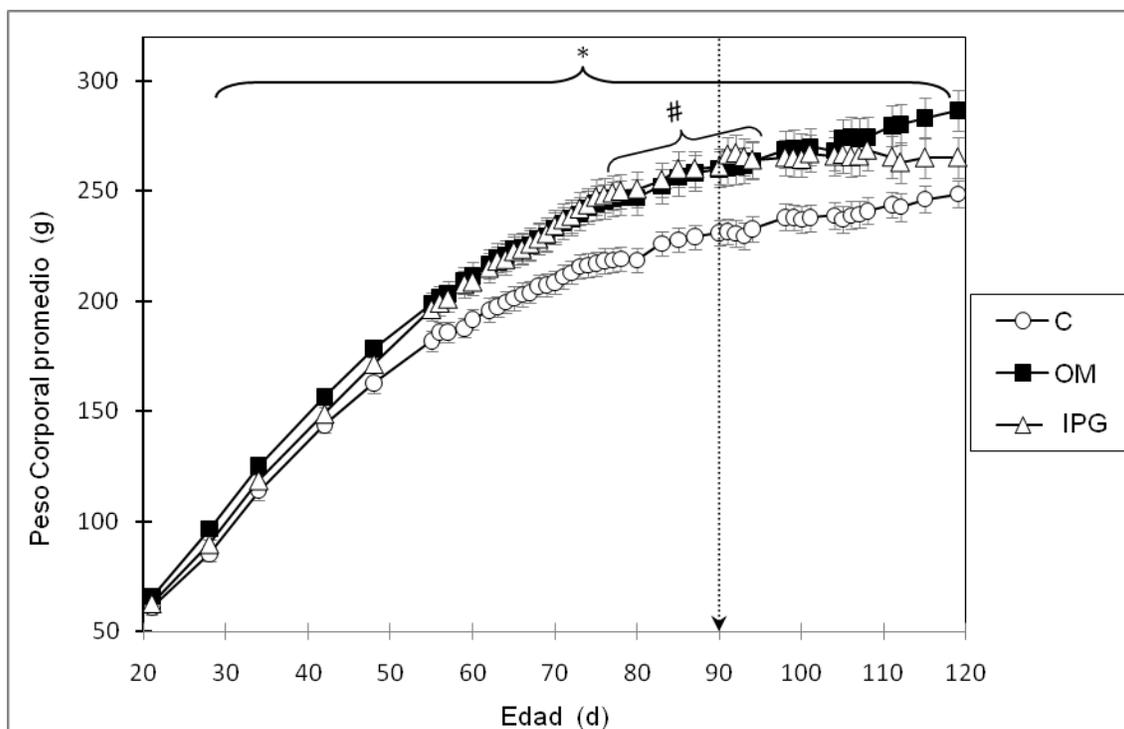


Fig. 7.1. Peso Corporal Materno (F0) Antes de la Gestación. Los datos se expresan como la Media \pm EE, los símbolos denotan diferencias significativas ($P < 0.05$), “*” para OM vs C y “#” para IPG vs C. $n=13$ (C), $n=22$ (OM), $n=9$ (IPG). La flecha con la línea punteada indica el día de la intervención nutricional en IPG a los 90d.

7.1.1.2. Ingesta de Alimento

El promedio de la ingesta de alimento de las hembras experimentales F0 de los 90-104 d (después de intervención en el grupo IPG) demuestra que el grupo OM consumió una menor cantidad de alimento de manera individual (10.3 ± 0.1 g $\text{rata}^{-1} \text{d}^{-1}$, $n=7$ cajas³) que los grupos que consumían dieta control en ese periodo: IPG (12.5 ± 0.3 g $\text{rata}^{-1} \text{d}^{-1}$, $n=4$ cajas) y C (13.7 ± 0.2 g $\text{rata}^{-1} \text{d}^{-1}$, $n=6$ cajas), de tal

³ Durante la medición de la ingesta, de 3 a 4 animales fueron colocados en cada caja, en base a los cuales se calculó la ingesta individual promedio.

forma que los valores entre cada uno de los grupos fueron estadísticamente diferentes. Sin embargo, al calcular la ingesta energética (basados en el contenido calórico de cada dieta) se encontró que el C ingiere ($54.7 \pm 0.8 \text{ Kcal rata}^{-1} \text{ d}^{-1}$), es decir una mayor cantidad de energía contenida en el alimento respecto a los grupos OM ($50.3 \pm 0.8 \text{ Kcal rata}^{-1} \text{ d}^{-1}$) e IPG ($50.0 \pm 1.3 \text{ Kcal rata}^{-1} \text{ d}^{-1}$) (Fig. 7.2).

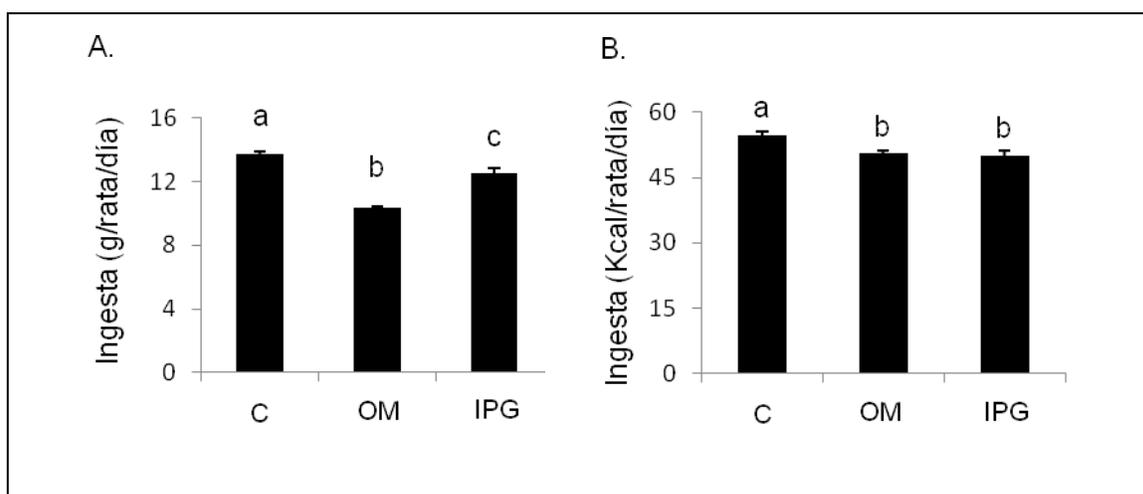


Fig.7.2. Ingesta diaria de las hembras F0 antes de la gestación (promedio 90d-104d). A. Ingesta de la cantidad de alimento B. ingesta energética Los datos están expresados como la Media \pm EE, grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.1.1.3. Química Sanguínea

La química sanguínea determinada a los 110 d a las hembras F0 demostró que las concentraciones séricas de glucosa, colesterol y triacilgliceroles no muestran diferencias estadísticas entre los grupos analizados (Fig. 7.3.).

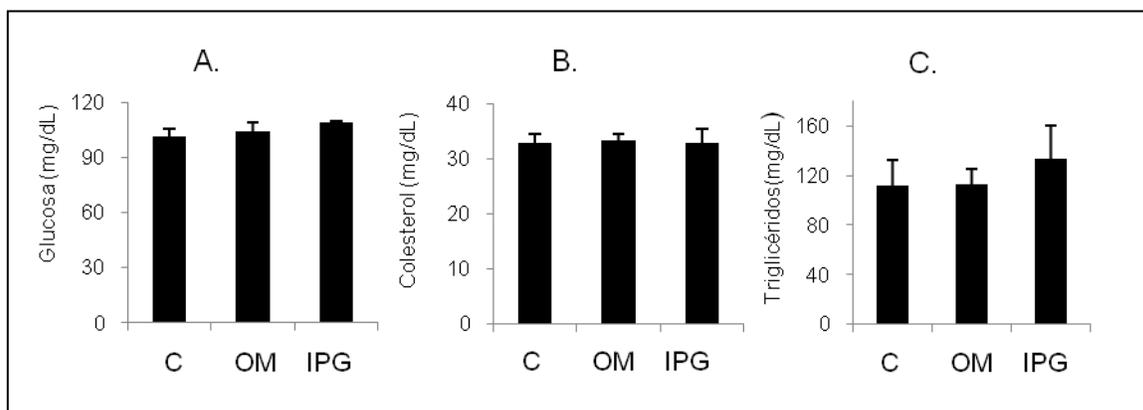


Fig. 7.3. Química sanguínea a los 110d de las hembras F0 antes de la gestación (110 d). A. Glucosa, B. Colesterol, C. Triacilgliceroles. Los datos se muestran como la media \pm EE.

7.1.1.4. Leptina e Insulina

Los valores promedio de la concentración de leptina e insulina materna medidas a los 110 d mostraron un comportamiento similar dentro de cada grupo, obteniéndose en el caso de la leptina los valores más bajos en el grupo C (5.1 ± 1.5 ng/mL, n=5), seguidos por el de IPG (9.4 ± 4.1 ng/mL, n=5) y de OM (22.0 ± 2.0 ng/mL, n=8), este último grupo fue el único significativamente diferente del C, pero no mostró diferencias significativas respecto al IPG (Fig. 7.4.A.). Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas entre grupos para el caso de la insulina en el grupo C (0.25 ± 0.08 ng/mL, n=4), en IPG (0.31 ± 0.01 ng/mL, n=5) y en el de OM (0.48 ± 0.08 ng/mL, n=9) (Fig. 7.4.B.).

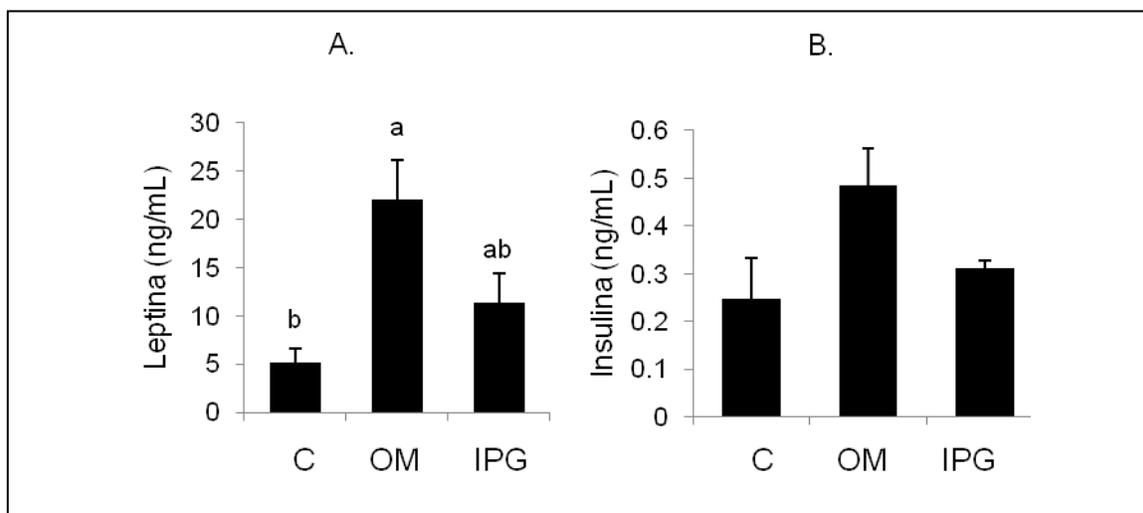


Fig. 7.4. Leptina e insulina de las hembras f0 antes de la gestación (110 d). A. Leptina, B. Insulina. Los datos se muestran como la Media \pm EE, grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.1.2. Parámetros Obtenidos Durante la Gestación y Lactancia

7.1.2.1. Ingesta de Alimento

La cantidad promedio de alimento ingerido de manera individual a lo largo de la gestación y la lactancia en general es menor en el grupo OM ($n=5$) respecto a los demás grupos estudiados, en particular del C ($n=8$) aunque sólo hay diferencias significativas en algunos días; asimismo la ingesta del grupo OM también fue significativamente diferente del grupo IPG ($n=8$) principalmente al final de la gestación y a lo largo la lactancia. Por lo que respecta al grupo IG ($n=4$) se puede observar un comportamiento similar al grupo OM durante la gestación aunque su ingesta es mayor durante la lactancia sólo que no se detectaron diferencias significativas entre estos dos grupos (Fig. 7.5).

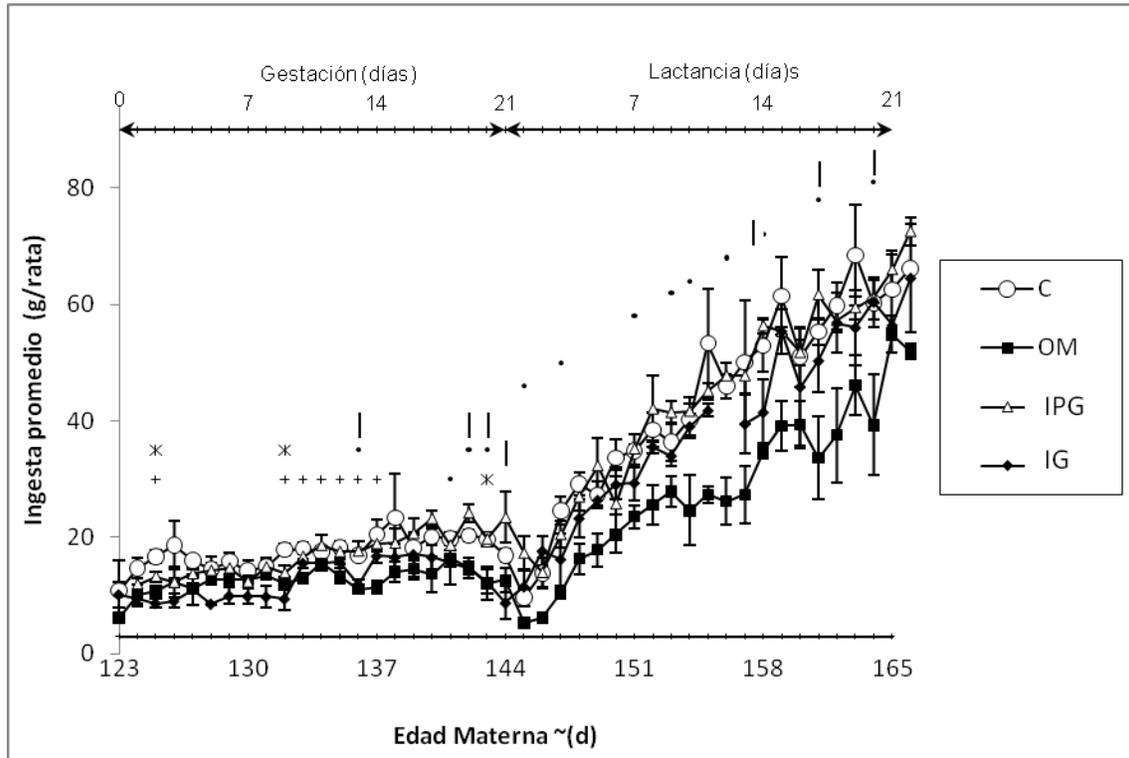


Fig. 7.5. Ingesta de alimento de las madres F0 durante la gestación y lactancia. Los datos se muestran como la Media \pm EE. Los símbolos denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) en el día indicado: + (OM vs C), ж (RG vs C) • (OM vs IPG) y | (IPG vs IG).

7.1.2.2. Ingesta Energética

La ingesta energética promedio de cada rata experimental, calculada a partir de la cantidad de alimento ingerida y su contenido calórico, mostró que a diferencia de los grupos C, OM e IPG que ingirieron cantidades energéticas similares, el grupo IG ingirió menor cantidad de calorías obteniendo diferencias significativas respecto a OM en el día 3 y en algunos otros días de la segunda mitad de la gestación respecto a C e IPG. Cabe señalar que también se observaron

diferencias significativas en dos días al final de la gestación entre IPG respecto a OM.

Durante la lactancia se observó que el grupo OM presenta menor ingesta energética respecto a los demás grupos pudiéndose observar diferencia significativa respecto al C únicamente al día 13.

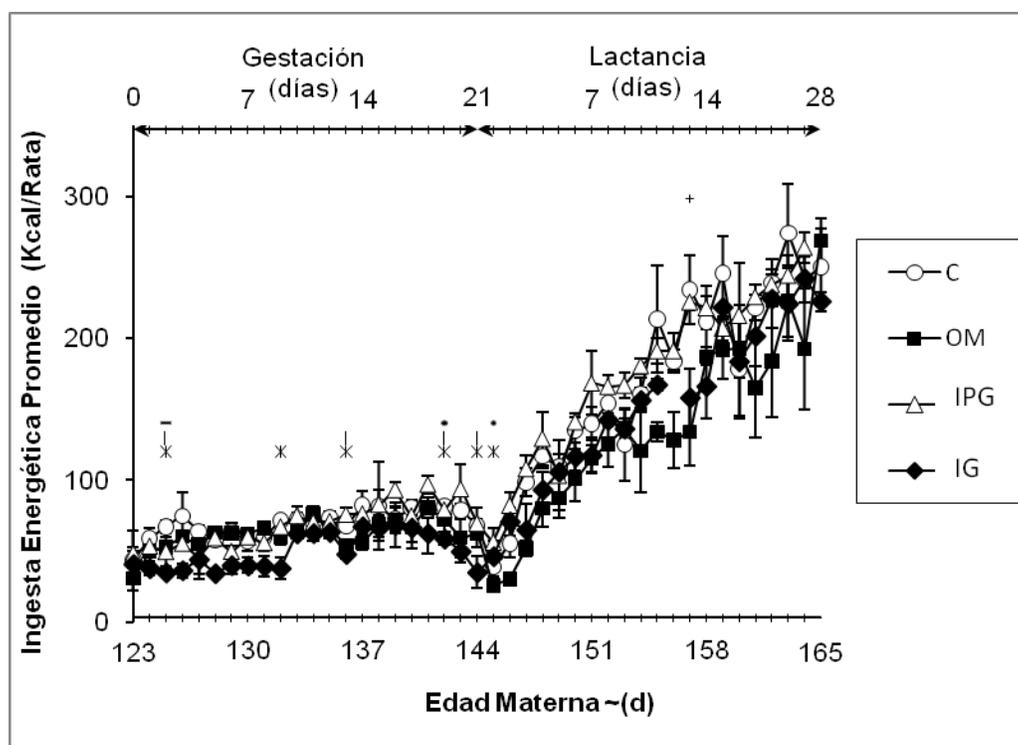


Fig. 7.6. Ingesta Energética de las Madres F0 Durante la Gestación y Lactancia. Los datos se muestran como la Media \pm EE. Los símbolos denotan diferencias significativas ($P < 0.05$) en el día indicado: + (OM vs C), ж (IG vs C), • (IPG vs OM), - (RG vs OM), | (IPG vs IG), $n=8, 5, 8, 4$ animales para: C, OM, IPG, e IG respectivamente.

7.1.2.3. Peso Corporal

El inicio de la gestación determinado por frotis vaginal ocurrió en un rango de 123 ± 2 d edad de las ratas experimentales de todos los grupos. El registro diario del peso corporal durante la gestación y la lactancia mostró que el promedio más alto obtenido durante estos períodos correspondió al grupo OM (n=5), para el cual se observaron diferencias estadísticamente significativas respecto al C (n=10) desde el primer día de gestación hasta el final de la lactancia; asimismo, se observaron diferencias respecto a IPG (n=8), principalmente en la gestación y respecto a IG (n=4) durante la gestación y la lactancia. Sin embargo, los grupos IPG e IG no mostraron diferencias significativas entre ellos ni respecto al C, aunque llama la atención que el peso corporal materno en IG durante la lactancia es menor que el control (Fig. 7.7.).

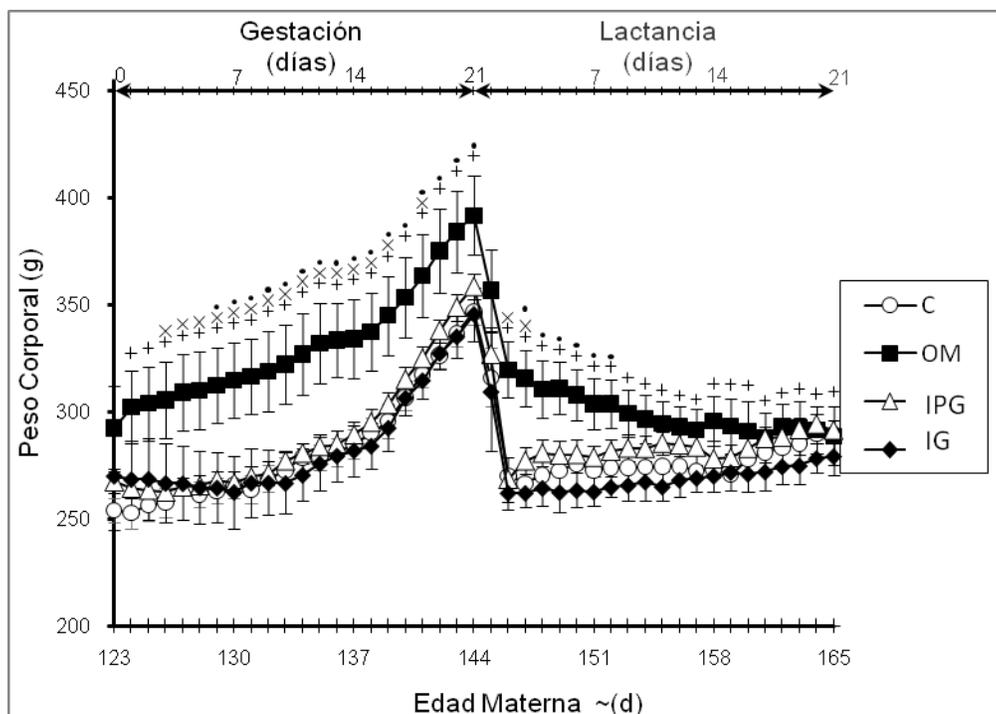


Fig. 7.7. Peso Corporal de las madres F0 durante la gestación y lactancia. Los datos se muestran como la Media \pm EE. Los símbolos denotan diferencias significativas en el día indicado: "+" OM vs C, "o" OM vs IPG y "-" OM vs IG respectivamente.

7.1.3. Parámetros Obtenidos al día 21 de Lactancia

7.1.3.1. Química Sanguínea

Para la determinación de la química sanguínea, el tamaño de la muestra fue de $n=5$ animales/grupo. Los resultados obtenidos de las concentraciones promedio de glucosa no presentan diferencias estadísticamente significativas entre grupos, aunque es posible observar que el valor más alto corresponde al de

OM. Sin embargo, para el caso de la concentración de colesterol, en OM (27 ± 3 mg/dL) es menor y significativamente diferente de los demás grupos C (42 ± 2 mg/dL), IPG (46 ± 5 mg/dL) e IG (45 ± 2 mg/dL), cuyos valores no muestran diferencias significativas entre ellos. Asimismo, el valor más bajo en la concentración de triacilglicérols corresponde al grupo OM (17 ± 4 mg/dL) siendo significativamente diferente del C (41 ± 7 mg/dL) y del IPG (47 ± 2 mg/dL) pero no del IG (35 ± 3 mg/dL) (Fig.7.8).

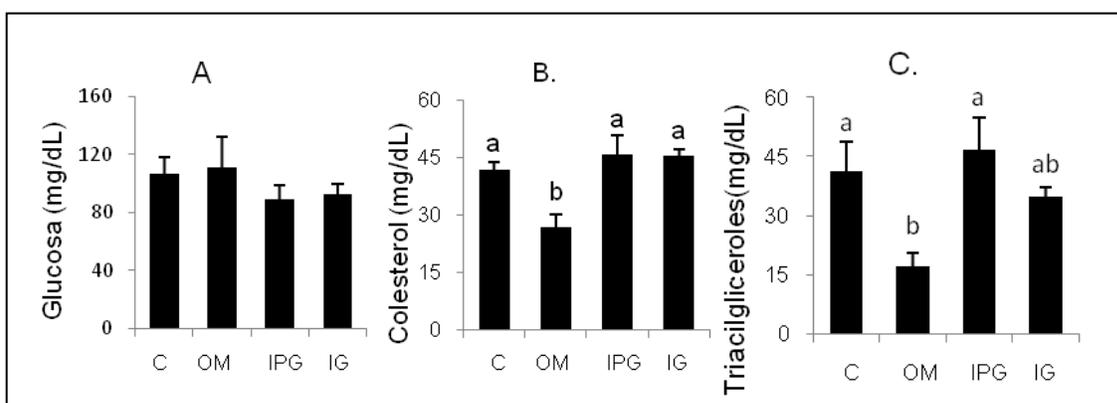


Fig. 7.8. Química sanguínea de las hembras F0 a los 21 días de lactancia ~(165d). A. Glucosa, B. Colesterol, C. Triacilglicérols, los datos se muestran como la media \pm EE., grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.1.3.2. Leptina e Insulina

La concentración de leptina a los 21 días de lactancia presenta el valor más alto en el grupo OM (5.1 ± 0.7 ng/mL, $n=5$) el cual es significativamente diferente de C (1.1 ± 0.3 ng/mL, $n=5$), IPG (0.7 ± 0.2 ng/mL, $n=5$) e IG (1.1 ± 0.4 ng/mL,

n=4), siendo estos últimos valores muy similares entre sí, sin presentar diferencias significativas entre ellos.

Para el caso de la insulina no es posible observar diferencias significativas para las medias obtenidas; sin embargo, el grupo C (0.28 ± 0.06 ng/mL, n=3) presenta el valor más bajo respecto a los otros grupos, siendo el grupo OM (0.39 ± 0.10 ng/mL, n=5) al que le corresponde el valor más alto seguido del grupo IG (0.38 ± 0.04 ng/mL, n=4) y el grupo IPG (0.36 ± 0.11 ng/mL, n=5).

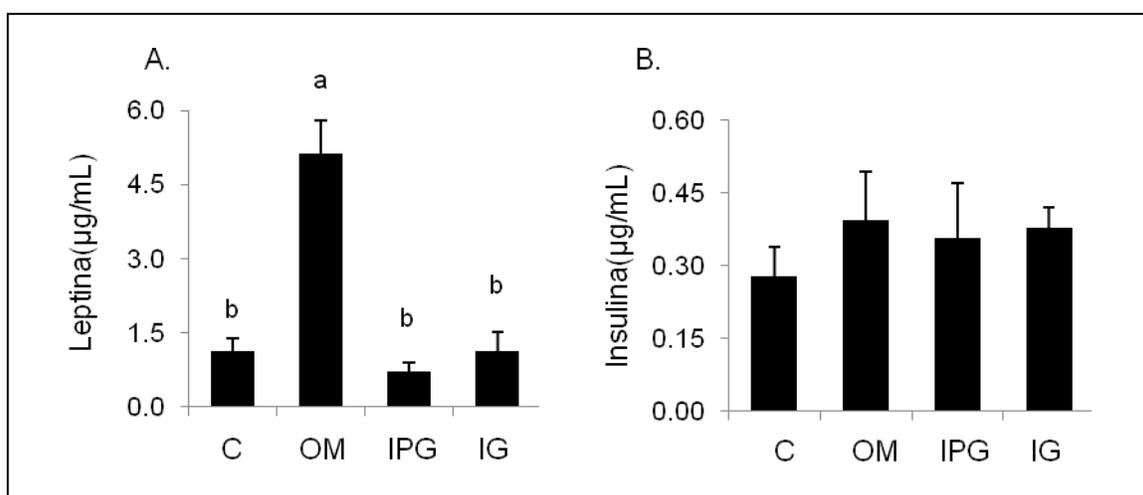


Fig. 7.9. Leptina e insulina de las madres F0 a los 21 días de lactancia ~ (165d). A. Leptina, B. Insulina. Los datos se muestran como Media \pm EE, grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.1.3.3. Peso del Hígado

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos en el peso absoluto del hígado extraído de las madres experimentales al final de la lactancia, aunque es posible detectar que el C (10.7 ± 0.3 g, $n=11$) tiene el valor más bajo mientras que el OM (12.0 ± 0.9 g, $n=10$) presenta el valor más alto, seguido por los valores del IG (10.9 ± 0.6 g, $n=4$) y el grupo IPG (10.7 ± 0.2 g, $n=10$). Sin embargo, el peso del hígado relativo al peso corporal en los grupos muestra que el OM (5.3 ± 0.3 %) presenta el valor más alto y es significativamente diferente de C ($4.0 \pm 0.1\%$), IPG ($4.0 \pm 0.1\%$), y el IG ($4.0 \pm 0.2\%$), entre los cuales no se observaron diferencias significativas.

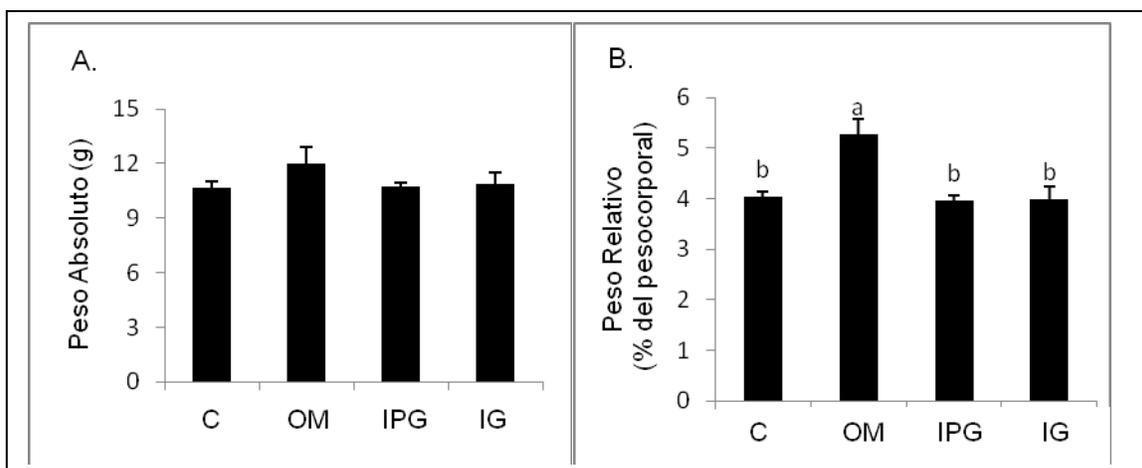


Fig. 7.10. Peso del hígado materno F0 a los 21 días de lactancia ~ (165d). A. Peso Absoluto, B. Peso Relativo, los datos se muestran como Media \pm EE., grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.1.3.4. Tejido Adiposo Materno

Podemos observar que el tejido adiposo extraído de las diferentes localizaciones, así como la cantidad total de éste (Tabla 7.1.) en el grupo OM es mayor y estadísticamente diferente respecto a los demás grupos C, IPG e IG cuyas medias no presentan diferencias significativas entre ellos (Fig. 7.11.A.). De esta manera, estos valores se reflejan en el índice de adiposidad calculado como la cantidad de tejido adiposo visceral extraído expresado como el % del peso corporal ya que el grupo de OM (4.0 ± 0.5 %) también fue mayor y estadísticamente diferente de los demás grupos C (1.1 ± 0.2 %), IPG (1.3 ± 0.2 %) e IG (1.2 ± 0.2 %) que tampoco resultaron diferentes estadísticamente (Fig. 7.11.B.).

Tabla 7.1. Distribución del tejido adiposo materno extraído a los 21 días de lactancia ~(165d). Los datos se muestran como Media \pm EE., grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Localización del Tejido Adiposo	Grupos Experimentales			
	C n=10	OM n=11	IPG n=10	IG n=4
	Peso (g)			
Retroperitoneal	$0.83 \pm 0.14a$	$3.78 \pm 0.68b$	$1.08 \pm 0.20a$	$1.21 \pm 0.39a$
Ovárico	$0.67 \pm 0.12a$	$2.68 \pm 0.37b$	$0.98 \pm 0.16a$	$0.89 \pm 0.31a$
Esternón	$0.07 \pm 0.01a$	$0.27 \pm 0.05b$	$0.09 \pm 0.02a$	$0.11 \pm 0.02a$
Pancreático	$0.36 \pm 0.15a$	$1.13 \pm 0.17b$	$0.45 \pm 0.04a$	$0.41 \pm 0.07a$
Uterino	$0.97 \pm 0.15a$	$3.17 \pm 0.57b$	$1.13 \pm 0.15a$	$0.76 \pm 0.16a$

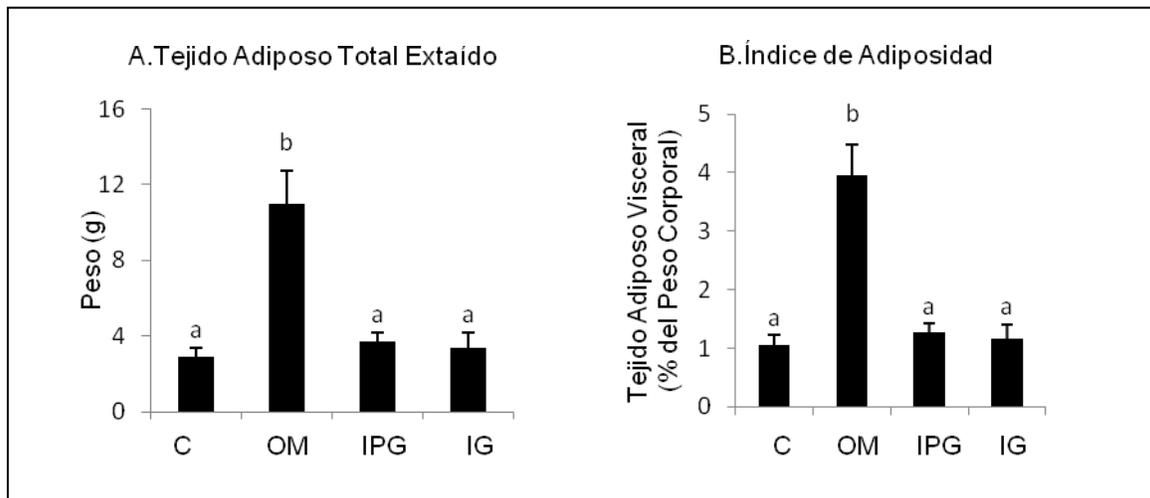


Figura 7.11 A. Peso total del tejido adiposo materno extraído, B. Índice de adiposidad materno. a los 21 días de lactancia~(165d). Los datos se muestran como Media \pm EE., grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2. Crías F1

7.2.1. Parámetros Obtenidos en la Lactancia

7.2.1.1. Peso Corporal y Medidas Morfométricas al Nacimiento

Los datos registrados correspondientes a los machos F1, mostraron que no existen diferencias significativas entre grupos en cuanto al peso corporal, talla, distancia abdominal y ano-genital; sin embargo, la distancia cefálica del IG mostró ser inferior y significativamente diferente del C, aunque respecto a los grupos a OM e IPG no se observaron diferencias significativas. Este mismo comportamiento entre grupos se pudo observar para la relación Cef./ Abd. Para el caso de las hembras no se observaron diferencias significativas en el peso corporal, las medidas morfométricas ni en la relación Cef/Abd (Tabla 7.2.).

Tabla. 7.2. Medidas morfométricas al nacimiento de los machos y las hembras F1. Los datos se expresan como Media \pm EE. Los que no comparten la misma letra son significativamente diferentes.

Grupo Camadas	C 13	OM 7	IPG 10	IG 4
Machos F1 al nacimiento				
n(♂/camada)	4 \pm 0.6	5 \pm 0.8	3 \pm 0.5	5 \pm 1.5
Peso (g)	6.74 \pm 0.19	6.35 \pm 0.18	6.66 \pm 0.23	6.50 \pm 0.39
Talla(cm)	5.20 \pm 0.06	5.27 \pm 0.06	5.20 \pm 0.06	5.10 \pm 0.11
Dist. Cefálica (cm)	1.21 \pm 0.03a	1.14 \pm 0.03ab	1.16 \pm 0.03ab	1.04 \pm 0.03b
Dist. Abdominal (cm)	1.37 \pm 0.05	1.33 \pm 0.04	1.35 \pm 0.05	1.42 \pm 0.03
Dist. Ano-genital (cm)	0.38 \pm 0.02	0.39 \pm 0.02	0.37 \pm 0.01	0.33 \pm 0.08
Relación Cef./Abd.	0.90 \pm 0.04a	0.86 \pm 0.04ab	0.86 \pm 0.03ab	0.73 \pm 0.03b
Hembras F1 al nacimiento				
n(♀/camada)	5 \pm 0.5	4 \pm 0.5	6 \pm 0.8	5 \pm 0.6
Peso (g)	6.50 \pm 0.17	5.88 \pm 0.18	6.28 \pm 0.21	6.37 \pm 0.31
Talla(cm)	5.08 \pm 0.06	5.10 \pm 0.06	5.06 \pm 0.08	5.08 \pm 0.07
Dist. Cefálica (cm)	1.20 \pm 0.03	1.09 \pm 0.03	1.15 \pm 0.03	1.08 \pm 0.05
Dist. Abdominal (cm)	1.34 \pm 0.04	1.26 \pm 0.02	1.36 \pm 0.05	1.36 \pm 0.03
Dist. Ano-genital (cm)	0.19 \pm 0.01	0.19 \pm 0.02	0.24 \pm 0.03	0.20 \pm 0.02
Relación Cef./Abd.	0.91 \pm 0.03	0.87 \pm 0.03	0.86 \pm 0.03	0.81 \pm 0.03

7.2.1.2. Peso Corporal durante la Lactancia

De acuerdo a los registros obtenidos del peso corporal de las crías F1 durante el periodo de lactancia, el grupo OM (n=26) presenta los valores más bajos durante los primeros 5 días respecto a los demás grupos C (n=49), IPG (n=35) y el IG (n=10) pudiéndose observar diferencias significativas respecto a ellos solo en los primeros tres días. Sin embargo, alrededor del sexto día se puede decir que los valores son similares entre grupos para después observar un incremento en el peso corporal de las crías del grupo OM comparado con los

grupos restantes, detectando diferencias significativas en este grupo respecto a IPG y al IG aproximadamente a partir del día 11 al 14 de lactancia respecto al C.

Por otro lado, podemos decir que el peso corporal del grupo IPG fue inferior al del C a lo largo de la lactancia, aunque esta diferencia no fue significativa estadísticamente; no obstante, el grupo IG, el cual también fue inferior respecto al C si presentó diferencias significativas a partir del día 2 hasta el 13 de lactancia (Fig.7.12. A.).

El registro del peso corporal de las hembras F1 demostró de igual manera que el grupo de OM (n=22) presenta un valor inferior comparado con el resto de los grupos C (n=61), IPG (n=40) e IG (n=10) durante los primeros 5 días y encontrando diferencias significativas respecto al C en el día 2 y al IG en el día 1, a pesar de ello alrededor del día 6 se puede observar que el peso corporal del grupo OM empieza a mostrar una mayor ganancia respecto al C, IPG y el IG, detectando diferencias significativas a partir del día 7. Para el caso del grupo IPG prácticamente no se observaron diferencias respecto al C, mientras que el grupo IG presentó un peso corporal inferior a este, pero solo alcanzó a ser significativo en el día 14 (Fig. 7.12.B.).

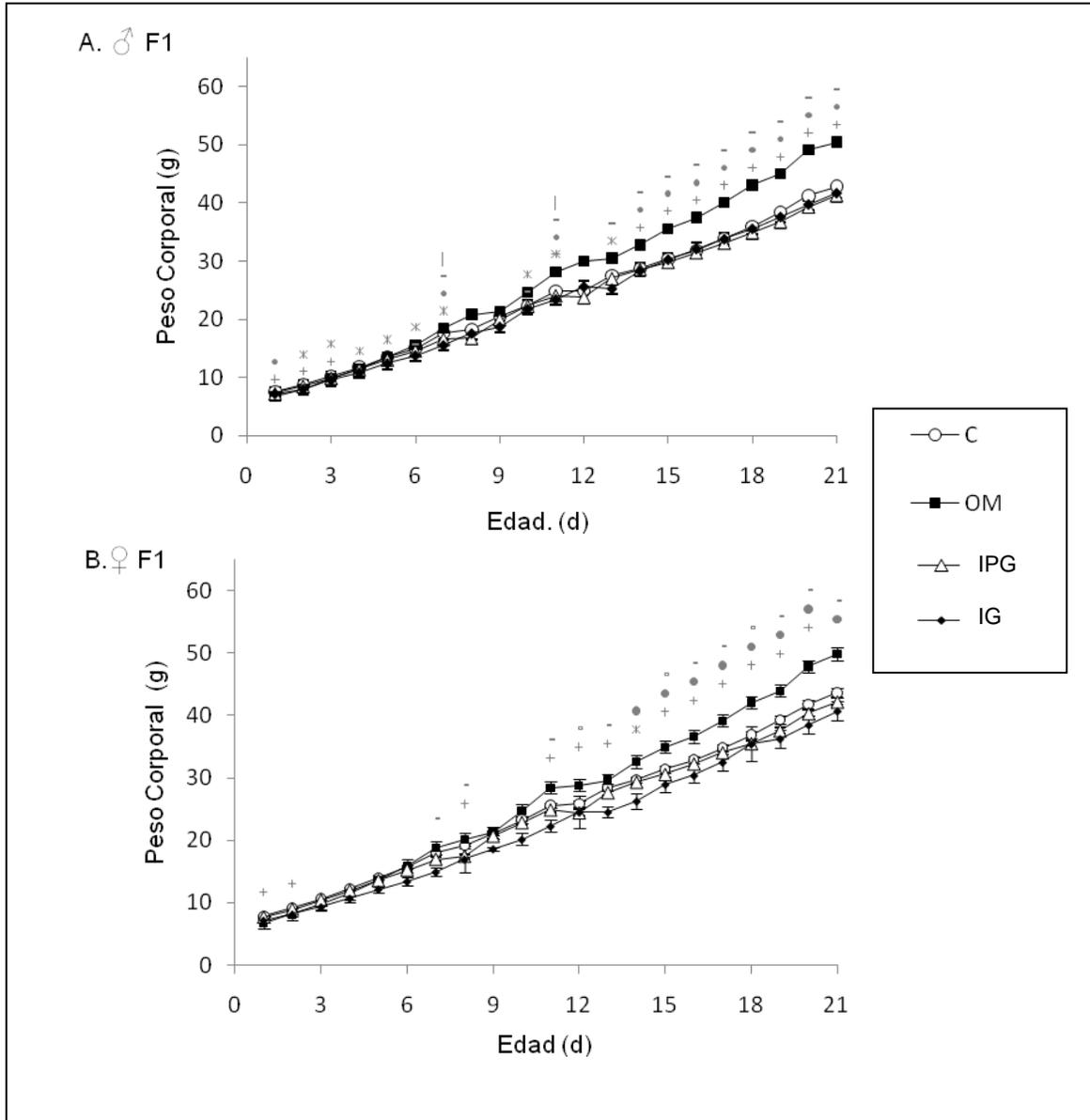


Fig. 7.12. Peso corporal de las crías F1 durante la lactancia. A. Machos, B. Hembras. Los datos se muestran como la Media \pm EE. Los símbolos denotan diferencias estadísticamente significativas: + (OM vs C), * (IG vs C), ° (OM vs IPG), - (OM vs IG) y | (IG vs IPG), $P < 0.05$.

7.2.2. Parámetros Obtenidos Después del Destete (21 Días de Edad)

7.2.2.1. Peso Corporal de los 21 a 72 días de edad

El peso corporal después del destete de las crías F1 demuestra que en los machos a lo largo de su crecimiento prácticamente no se presentan diferencias significativas entre C (n=30), OM (n=21), IPG (n=33) y el IG (n=14), aunque es posible notar que el mayor peso a lo largo de éste periodo lo presentan las crías del grupo OM.

En cuanto a las hembras, podemos decir que el peso del grupo OM (n=14) es mayor respecto a los demás grupos C (n=38), IPG (n=40) y el IG (n=10), habiendo diferencias significativas a lo largo de este periodo de crecimiento respecto al C; también es posible notar que el peso del grupo IG es inferior a este de manera significativa durante la primera mitad del periodo analizado.

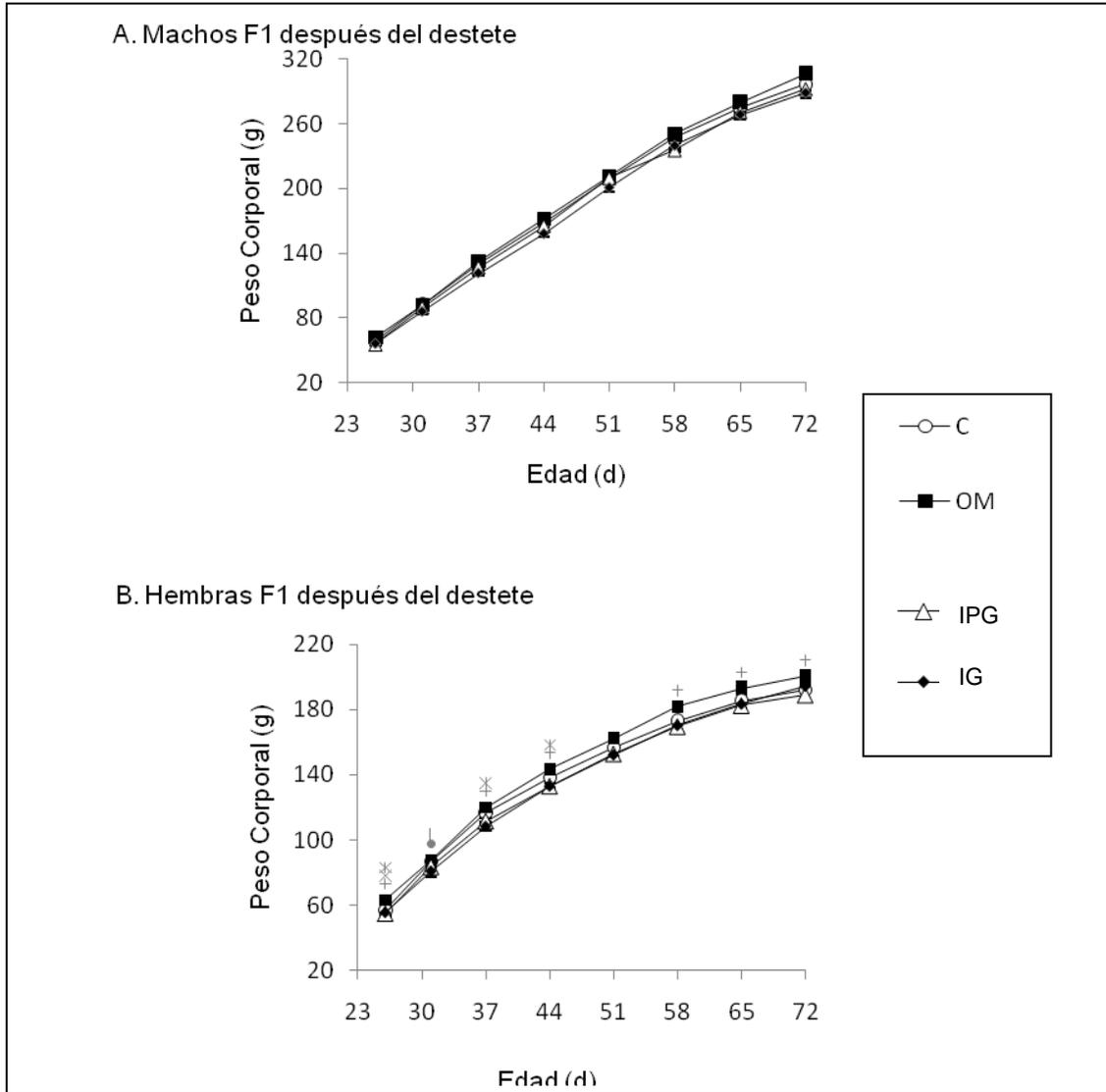


Fig. 7.13. Peso corporal de las crías F1 hembra después del destete (21-72 d). Los datos se muestran como la Media \pm EE. Los símbolos denotan diferencias estadísticamente significativas: + (OM vs C), * (IG vs C) y • (OM vs IPG) $P < 0.05$.

7.2.3. Parámetros Obtenidos a los 36 Días de Edad

7.2.3.1. Química Sanguínea

La determinación de la química sanguínea a los 36 d de las crías F1 de el C, OM, IPG e IG (n=5/grupo) tanto en hembras como en machos mostró que la concentración de glucosa no presenta diferencias significativas entre grupos, aunque los valores mas altos se obtuvieron para el grupo OM mientras que IPG y IG mantuvieron valores similares al C. La concentración de colesterol tampoco presentó diferencias significativas entre grupos para ambos sexos. Mientras tanto la determinación de triacilgliceroles demuestra que en el caso de los machos no hay diferencias significativas; no obstante, en el caso de las hembras el grupo OM tuvo la mayor concentración, siendo diferente significativamente del C (Fig. 7.14.).

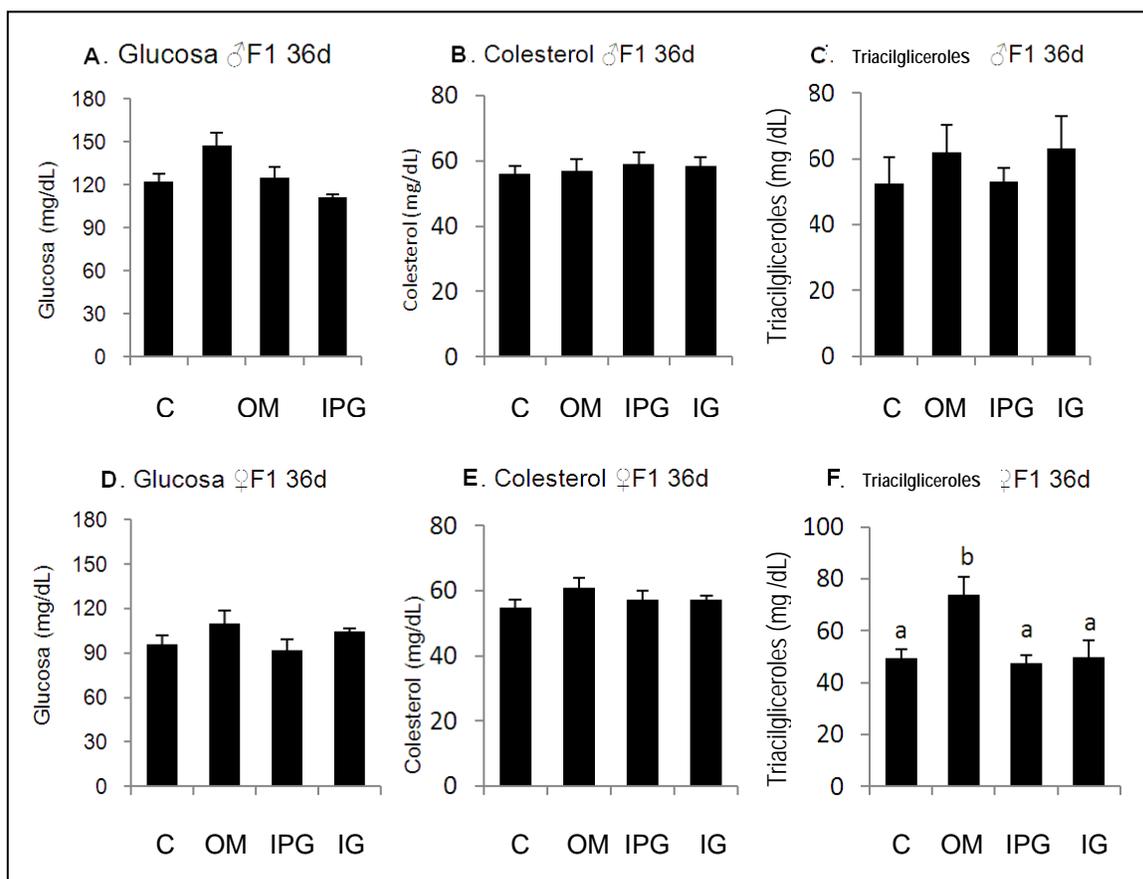


Fig. 7.14. Química Sanguínea (Glucosa, Colesterol y Triacilgliceroles) de las Crías F1 a los 36 d. A., B. y C. muestran los parámetros correspondientes a los machos, D. E. y F. a las Hembras. Los datos se muestran como Media \pm EE., grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2.3.2. Leptina

La concentración de leptina de las crías F1 macho a los 36 d no mostró diferencias estadísticas entre grupos, para C (1.8 ± 0.2 ng/mL, $n=10$), OM (1.8 ± 0.1 ng/mL, $n=6$), IPG (1.5 ± 0.1 ng/mL, $n=10$) e IG (1.7 ± 0.3 ng/mL, $n=6$). De la misma manera tampoco se detectaron diferencias estadísticas en las hembras C

(1.5 ± 0.1 ng/mL, n=10), OM (1.6 ± 0.1 ng/mL, n=6), IPG (1.5 ± 0.1 ng/mL, n=10), IG (1.7 ± 0.1 ng/mL, n=6) (Fig. 7.15.)

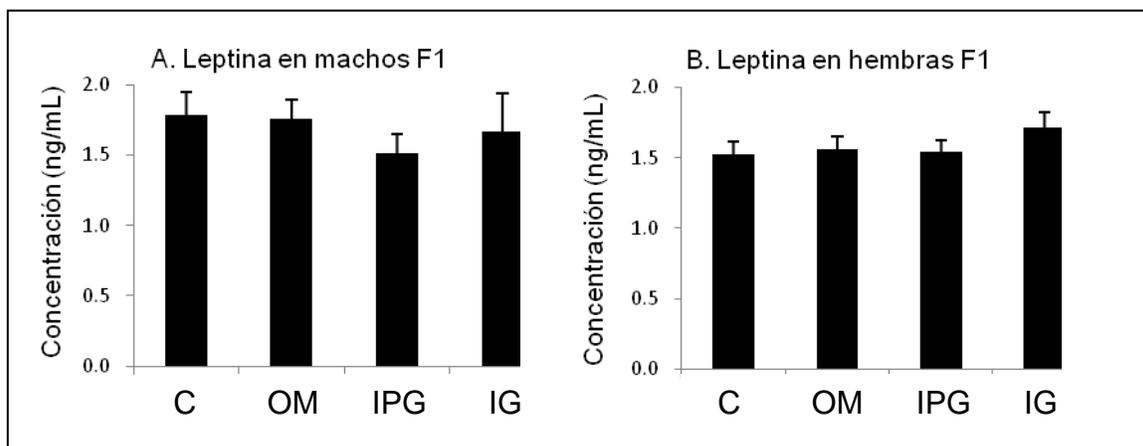


Figura 7.15. Leptina de las Crías F1 a los 36 d. A. Leptina en Hembras, B. Leptina en Machos. Los datos se muestran como Media \pm EE., grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2.3.3. Peso del Hígado

En cuanto a la masa del hígado de las crías F1 a los 36 d podemos decir que no se encontraron diferencias en el peso absoluto de los machos entre los grupos C (5.04 ± 0.16 g, n=11), OM (4.88 ± 0.22 g, n=6), IPG (4.62 ± 0.19 g, n=10) y el IG (4.48 ± 0.16 , n=6); tampoco en el peso relativo calculado en relación al peso corporal C ($3.95 \pm 0.11\%$), OM ($3.75 \pm 0.13\%$), IPG ($3.80 \pm 0.10\%$) e IG ($3.72 \pm 0.07\%$). Asimismo, en el peso absoluto promedio del hígado de las crías hembra no se detectaron diferencias significativas entre grupos C (4.20 ± 0.14 g, n=11), OM (4.30 ± 0.15 g, n=6), IPG (3.85 ± 0.06 g, n=10) e IG (4.00 ± 0.06 g, n=6) ni en

el peso relativo calculado C ($3.68 \pm 0.06\%$), OM ($3.72 \pm 0.13\%$), IPG ($3.58 \pm 0.07\%$) e IG ($3.64 \pm 0.04\%$) (Fig. 7.16.).

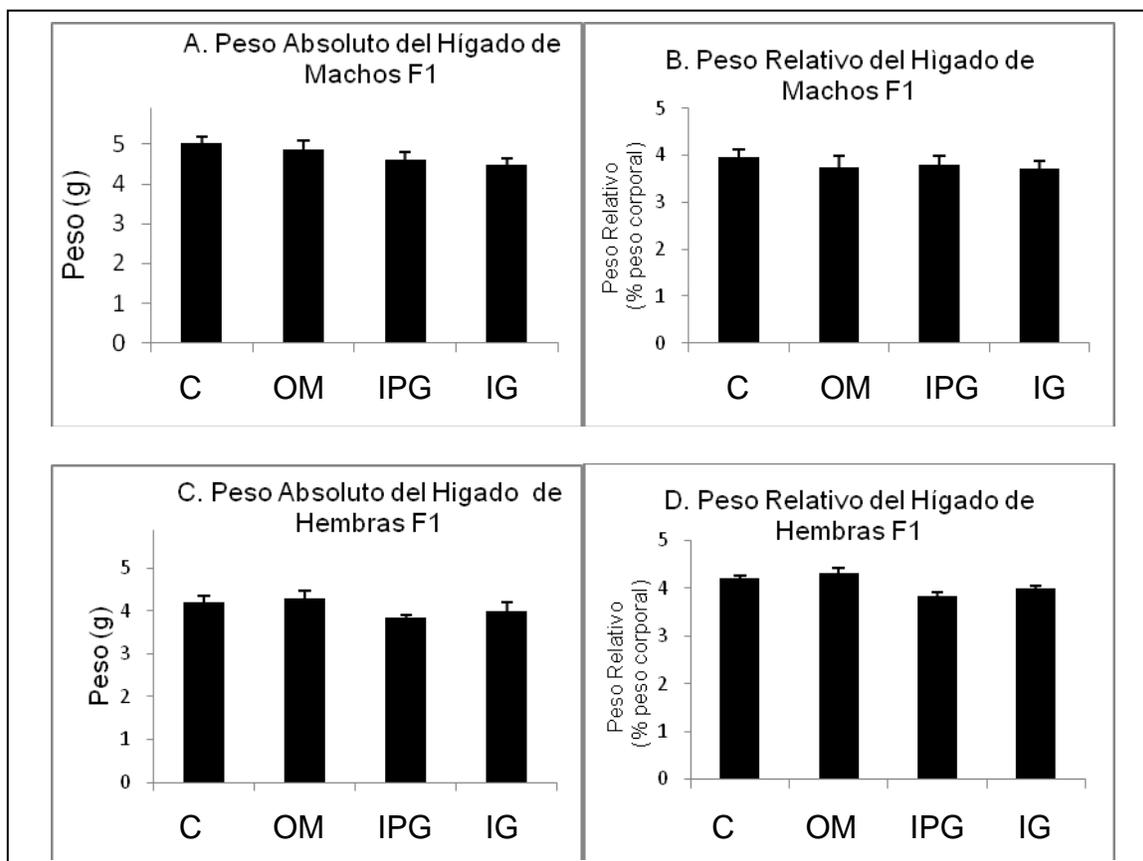


Figura 7.16. Hígado de las Crías F1 a los 36 d. A. Peso Absoluto del Hígado de Machos, B. Peso Relativo del Hígado de Machos, C. Peso Absoluto del Hígado de Hembras, D. Peso Relativo del Hígado en Hembras. Los datos se muestran como Media \pm EE.

7.2.3.4. Tejido Adiposo de la Progenie (36d)

Por lo que respecta a la cantidad de tejido adiposo total, extraído *post mortem* en la progenie a los 36 d de edad, tanto en el caso de los machos como de las hembras el grupo C es el que acumula la menor cantidad de tejido adiposo en general, seguido por el grupo IPG que presenta una cantidad similar, mientras

que en el grupo IG se obtuvo una cantidad mayor a estos, solo superada por grupo de OM del cual se recolectó más grasa, cuyo valor en el caso de las hembras únicamente mostró ser significativamente diferente del C y los demás grupos. A pesar de estas diferencias observadas respecto al peso del tejido adiposo extraído, en ningún caso se detectaron diferencias significativas en el peso corporal.

La cantidad de tejido adiposo en cada una de las regiones anatómicas analizadas presenta diferencias significativas sólo en algunos casos: en el de los machos se observa que solo los valores obtenidos de la grasa pancreática muestran diferencias estadísticas; mientras que en las hembras es posible observar diferencias significativas en la acumulación de tejido adiposo de la región retroperitoneal, periuterina y pancreática. (Tabla 7.3.).

Tabla 7.3. Distribución del tejido adiposo de la progenie extraído y peso corporal a los 36 d. Los datos se muestran como Media \pm EE., grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Localización del Tejido Adiposo	Grupos Experimentales			
	C	OM	IPG	IG
	Peso (g)			
	Machos			
	n=11	n=6	n=12	n=6
Retroperitoneal	0.30 \pm 0.03	0.39 \pm 0.07	0.26 \pm 0.03	0.33 \pm 0.07
Pancreático	0.06 \pm 0.01a	0.15 \pm 0.04b	0.08 \pm 0.005ab	0.08 \pm 0.02ab
Epidídimo	0.47 \pm 0.04	0.59 \pm 0.11	0.42 \pm 0.02	0.43 \pm 0.05
Visceral Total	0.84 \pm 0.08	1.13 \pm 0.20	0.76 \pm 0.04	0.85 \pm 0.12
Peso Corporal	128 \pm 3	131 \pm 6	121 \pm 9	121 \pm 4
	Hembras			
	n=6	n=6	n=6	n=6
Retroperitoneal	0.25 \pm 0.02a	0.43 \pm 0.04b	0.23 \pm 0.01a	0.24 \pm 0.02a
Pancreático	0.04 \pm 0.006a	0.08 \pm 0.02ab	0.07 \pm 0.01ab	0.09 \pm 0.01b
Periovárico	0.14 \pm 0.006	0.23 \pm 0.05	0.14 \pm 0.01	0.16 \pm 0.05
Periuterino	0.20 \pm 0.02a	0.39 \pm 0.07b	0.19 \pm 0.02a	0.24 \pm 0.04ab
Total	0.62 \pm 0.04a	1.13 \pm 0.15b	0.62 \pm 0.03a	0.72 \pm 0.11a
Peso Corporal	114 \pm 3	116 \pm 4	107 \pm 2	110 \pm 5

Con las mediciones obtenidas del tejido adiposo (visceral) extraído se calculó el índice de adiposidad (como % del peso corporal). Para el caso de los machos no se detectaron diferencias significativas entre grupos, el C (0.65 ± 0.06 %), OM (0.88 ± 0.17 %), IPG (0.63 ± 0.04 %), e IG (0.69 ± 0.07 %), de los cuales destaca el valor del grupo OM que es superior al resto de los grupos. En cambio en el caso de las hembras si se observaron diferencias significativas ya que el índice de adiposidad del grupo OM (0.98 ± 0.13 %) fue diferente de los grupos C

(0.55 ± 0.03 %), IPG (0.57 ± 0.03 %) y IG (0.65 ± 0.07 %) cuyos valores no presentaron diferencias estadísticas entre ellos (Fig. 7.17.).

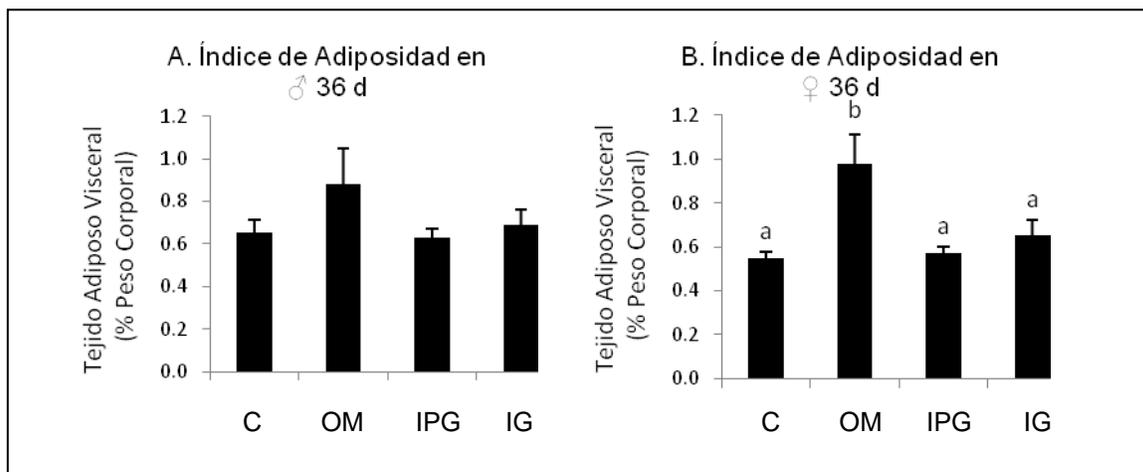


Figura 7.17. Índice de adiposidad a los 36 d. A. de machos B. de hembras. Los datos se muestran como Media \pm EE. Grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2.4. Parámetros a los 70 días de Edad.

7.2.4.1. Ingesta y Peso Corporal

De los registros del peso corporal e ingesta de las crías F1, tomados a partir de los 70 d durante 4 días consecutivos, se puede observar que el consumo diario de alimento en los machos no presenta diferencias significativas entre grupos: C (n=8 cajas), OM (n=6 cajas) IPG (n=6 cajas) e IG (n=4 cajas). Mientras que el peso corporal medido a estos, durante este periodo, tampoco muestra diferencias significativas aunque es posible observar que el menor peso en las

mediciones corresponde al C (n=22) respecto a los grupos OM (n=22), IPG (n=25) e IG (n=14).

Para el caso de las hembras, la ingesta de alimento no presenta diferencias significativas entre grupos a lo largo del periodo de medición entre los grupos experimentales C (n=9 cajas), OM (n=4 cajas) IPG (n=10 cajas) e IG (n= 3cajas). De igual forma tampoco se detectaron diferencias estadísticas en el peso corporal entre grupos C (n=36), OM (n=14), IPG (n=37) e IG (n=9); no obstante, es evidente que durante el tiempo de medición el grupo OM mantiene un valor mayor respecto a los demás grupos.

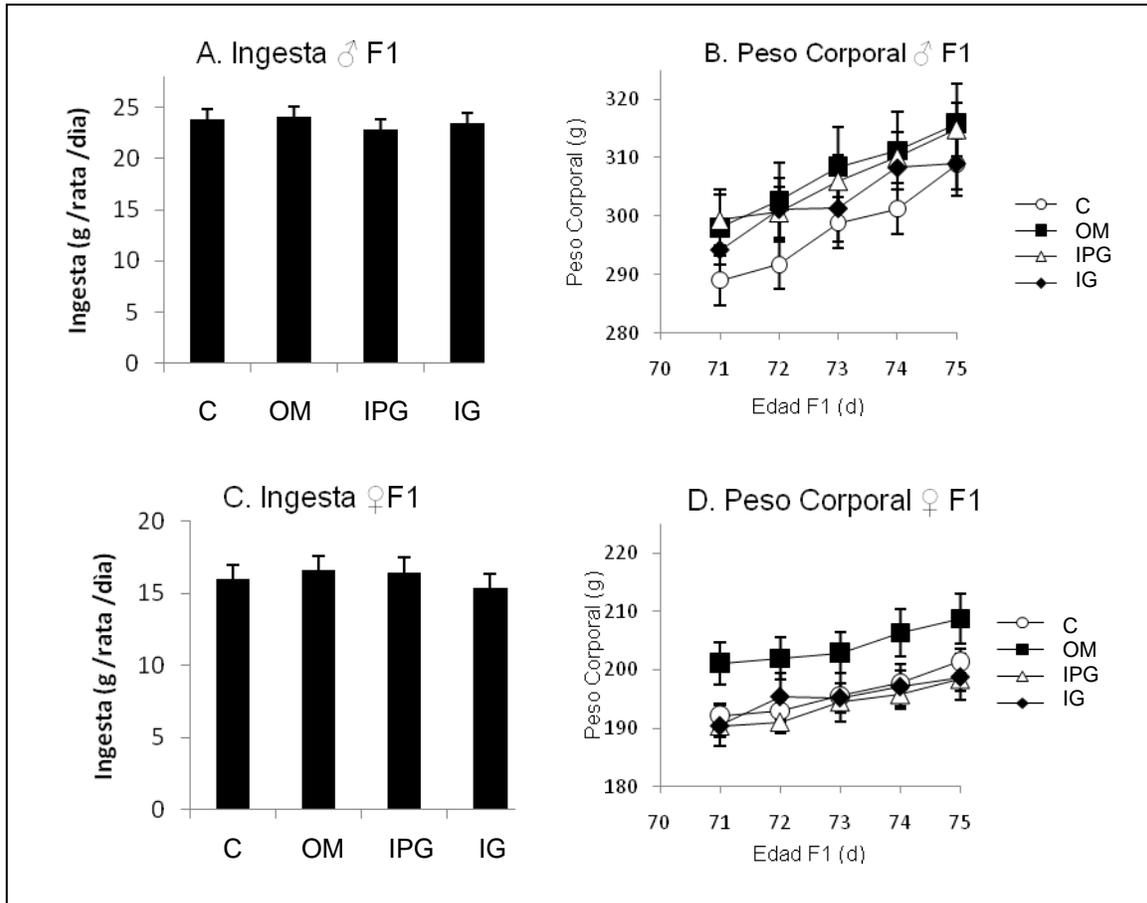


Figura 7.18. Ingesta y Peso Corporal de las Crías F1 de los 71 a los 75 d. A. Ingesta de Machos B. Peso Corporal de Machos, C. Ingesta de Hembras, D. Peso Corporal de Hembras. Los datos se muestran como Media \pm EE.

7.2.5. Parámetros a los 110 días de Edad.

7.2.5.1. Química Sanguínea

La determinación de la química sanguínea a los 110 d de las crías F1 en el C, OM, IPG e IG (n=6/grupo) (Fig. 7.19.), mostró que en los machos, la concentración de glucosa no presenta diferencias significativas entre grupos a excepción del grupo IPG el cual presentó un valor inferior. En cuanto a la concentración de colesterol, no se detectaron diferencias significativas aunque es posible notar que el grupo de OM presenta el valor más elevado respecto al C y los grupos IPG e IG que muestran tener un valor intermedio. En el caso de los triacilglicérolos, se encontró que el grupo de OM presenta un valor mayor que el resto de los grupos incluyendo al C, respecto a los cuales es estadísticamente diferente.

Para el caso de las hembras, la concentración tanto de glucosa como de colesterol entre los diferentes no presenta diferencias significativas. No obstante, en el caso de los triacilglicérolos el grupo OM presentó un valor elevado respecto al resto de los grupos, aunque sólo fue posible detectar diferencias significativas al compararlo con el grupo IG del cual se obtuvo el valor más bajo.

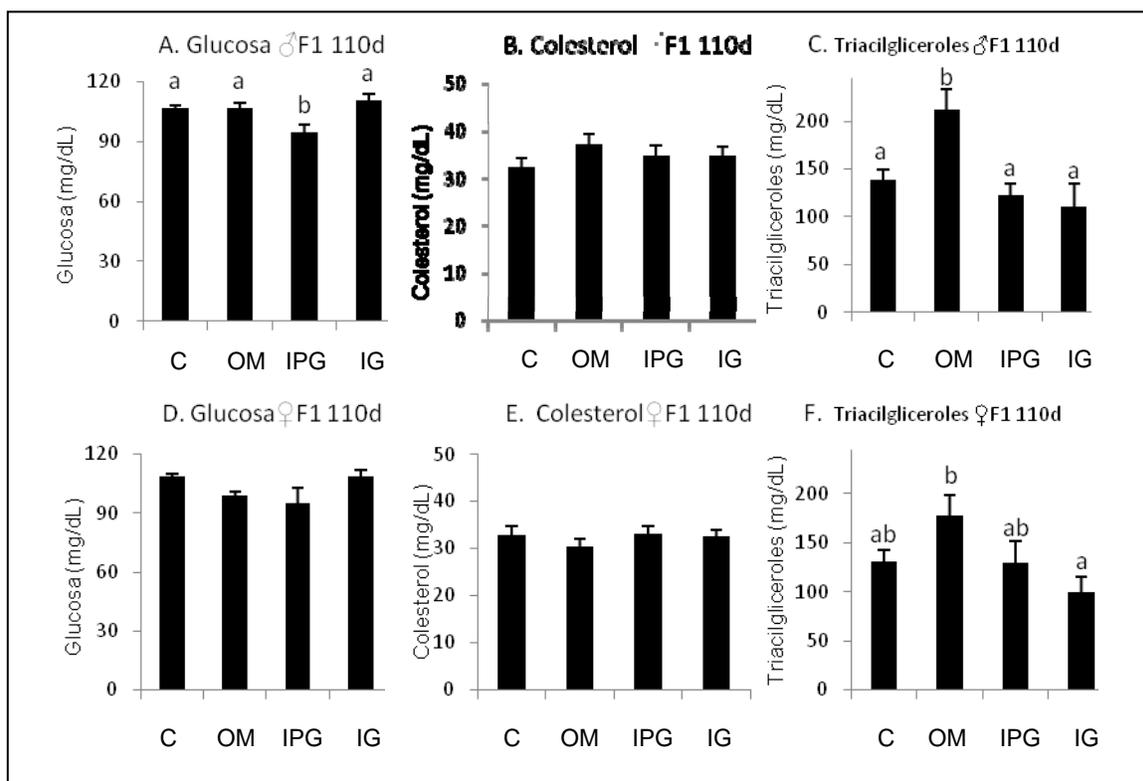


Fig. 7.19. Química Sanguínea (Glucosa, Colesterol y Triacilglicerol) de las Crías F1 a los 110 d. A., B. y C. muestran los parámetros correspondientes a los machos, D., E. y F. a las hembras. Los datos se muestran como Media \pm EE., grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2.5.2. Tejido Adiposo

Por lo que respecta a la cantidad del tejido adiposo extraído de las diferentes localizaciones analizadas en la progenie (hembras y machos) a los 110d, podemos decir que en general el grupo C es el que acumula la menor cantidad, seguido por el grupo IPG que presenta una cantidad similar, mientras

que en el grupo IG se obtuvo una cantidad mayor, solo superada por grupo de OM del cual se recolectó la mayor cantidad que el resto de los grupos.

Sin embargo solo en los casos del tejido adiposo retroperitoneal y el tejido adiposo visceral total se encontraron diferencias significativas entre los grupos de los machos. En las hembras, las diferencias significativas se encontraron solamente en los valores obtenidos del tejido adiposo pancreático, periovárico y visceral total. En cuanto al peso corporal no se detectaron diferencias significativas entre grupos tanto en hembras como en machos. Ver tabla 7.4.

Tabla 7.4. distribución del tejido adiposo de la progenie extraído y peso corporal a los 110 d. Los datos se muestran como Media \pm EE., grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Localización del Tejido Adiposo	Grupos Experimentales			
	C	OM	IPG	IG
	Peso (g)			
	Machos			
	n=11	n=6	n=12	n=6
Torácico (esternón)	0.25 \pm 0.03	0.33 \pm 0.07	0.28 \pm 0.03	0.27 \pm 0.02
Retroperitoneal	5.5 \pm 0.5a	9.4 \pm 0.7b	7.5 \pm 0.7ab	6.9 \pm 0.5a
Pancreático	0.9 \pm 0.08	1.3 \pm 0.17	1.1 \pm 0.2	1.3 \pm 0.1
Epidídimo	6.2 \pm 0.4	8.1 \pm 0.8	7.6 \pm 0.4	7.0 \pm 0.3
Visceral Total	12.6 \pm 0.8a	18.8 \pm 1.3b	16.2 \pm 1.1ab	15.1 \pm 0.8ab
Peso Corporal	384 \pm 11	378 \pm 13	397 \pm 18	362 \pm 11
	Hembras			
	n=6	n=6	n=6	n=6
Torácico(esternón)	0.13 \pm 0.02	0.32 \pm 0.11	0.14 \pm 0.02	0.10 \pm 0.01
Retroperitoneal	2.7 \pm 0.3	3.4 \pm 0.9	2.6 \pm 0.4	2.3 \pm 0.1
Pancreático	0.45 \pm 0.06a	0.92 \pm 0.11b	0.74 \pm 0.07b	0.80 \pm 0.06b
Periovárico	0.8 \pm 0.2a	2.0 \pm 0.2b	2.3 \pm 0.3b	1.7 \pm 0.1b
Periuterino	1.9 \pm 0.3	3.6 \pm 0.8	2.8 \pm 0.1	2.1 \pm 0.2
Visceral Total	6.0 \pm 0.6a	10.3 \pm 1.8b	8.6 \pm 0.7ab	7.0 \pm 0.4ab
Peso Corporal	287 \pm 5.4	278 \pm 11.0	289 \pm 4.2	279 \pm 6.9

Con las mediciones obtenidas del tejido adiposo total (visceral) extraído se calculó el índice de adiposidad. Para el caso de los machos se encontró que este valor fue más alto en el grupo de OM (5.04 ± 0.25 %) estadísticamente diferente de los grupos IG (4.25 ± 0.18 %) e IPG (4.14 ± 0.16 %) con valores intermedios y del C (3.36 ± 0.23 %) con el valor más bajo (Fig. 7.13.A). Los valores obtenidos de las hembras muestran que el valor más alto lo presenta el grupo OM (4.20 ± 0.60 %) y es estadísticamente diferente del C (2.62 ± 0.22 %) cuyo valor es el más bajo, mientras que en los grupos IPG (3.53 ± 0.25 %) e IG (3.09 ± 0.19 %) se obtuvieron valores intermedios.

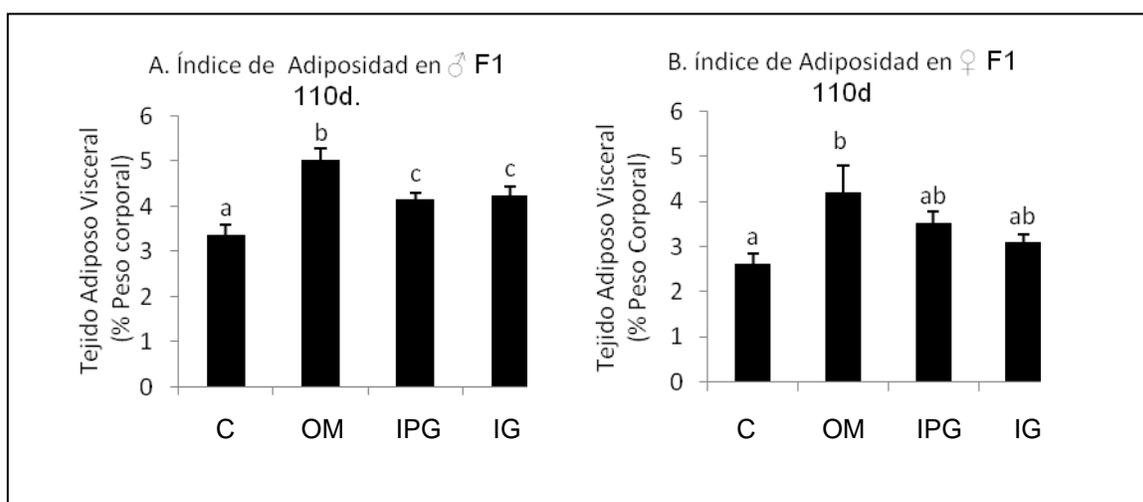


Figura 7.20 Índice de adiposidad a los 110d. A. de machos B. de hembras. Los datos se muestran como la Media \pm EE., grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

8. DISCUSIÓN.

La obesidad es resultado de un desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético, siendo un prerrequisito la disponibilidad de alimentos ricos en energía; de esta manera, una dieta alta en grasa administrada *ad libitum* en el modelo experimental de obesidad usado en el presente estudio, fue capaz de provocar una ganancia de peso importante en hembras F0 durante su crecimiento.

La obesidad experimental inducida por dieta, usualmente es asociada con la sobrealimentación; no obstante, en este estudio se observó que el consumo energético de las hembras F0 alimentadas con dieta alta en grasa fue menor que las que fueron alimentadas con dieta control. Esta observación es acorde con lo que actualmente se sabe de estos modelos, ya que la obesidad experimental se puede dar en ausencia de la ingesta calórica incrementada cuando existen cambios en la composición nutrimental de la dieta. Así, un exceso de lípidos es capaz de alterar la eficiencia de la utilización de alimento y de esta manera incrementar la cantidad de grasa almacenada por caloría consumida (Stunkard y Wadden, 1993).

La ganancia de peso inducida en las hembras F0 en el modelo experimental usado en el presente trabajo, puede asociarse a la acumulación de grasa corporal, pues esta ganancia estuvo acompañada de una elevación en la concentración

sanguínea de insulina y leptina, cuyas concentraciones en la circulación sanguínea están fuertemente correlacionada con la cantidad de tejido adiposo (Benoit *et al.*, 2004).

Llama la atención que en el grupo con obesidad materna existe una disminución de la concentración sanguínea de colesterol y triacilglicéridos al día 21 de lactancia. Se ha sugerido que dicha modificación en la cantidad de lípidos circulantes tiene explicación por su movilización hacia la glándula mamaria. Se ha reportado con ratas experimentales que cuando existe un incremento en el consumo de grasa la concentración de ésta se eleva en la leche, dicha movilización podría estar encaminada a garantizar los componentes lipídicos de la leche y satisfacer el desarrollo de la glándula mamaria (Bautista-Carbajal y Zambrano, 2010) junto con ciertos mecanismos que sirven para subsanar el exceso de grasas ingeridas en la dieta; que posiblemente estén activados desde antes de la gestación ya que a los 110d (periodo en cual la disponibilidad de lípidos no está comprometida), la química sanguínea prácticamente permanece sin cambios. Estos mecanismos compensatorios del exceso energético podrían incluir la síntesis endógena y/o absorción disminuidas e incluso una expresión aumentada de la cantidad de receptores de las lipoproteínas involucradas en su transporte y metabolismo principalmente expresados en el tejido adiposo e hígado (Smith *et al.*, 1998), de los cuales se observó un aumento importante en su masa en el presente estudio.

Asimismo es posible detectar al final de la lactancia indicios de resistencia a la insulina en las madres F0 que acumularon más grasa, pues se observó cierta elevación en la concentración de insulina sin la modificación de la concentración basal de glucosa.

Por lo que respecta a la intervención nutricional, podemos decir que el cambio de una dieta alta en grasa hipercalórica a una dieta control isocalórica provoca la disminución en el consumo energético (observada a través de la cantidad de alimento ingerida tanto un mes previo y durante la gestación). Este hecho se puede atribuir a la falta de predilección por la dieta control, la cual probablemente no tenga el mismo nivel de palatabilidad⁴, debido al contenido de glucosa como única fuente de azúcares simples en la dieta alta en grasa; pues es sabido que la rata tiene una preferencia innata por el sabor dulce; por otra parte el animal experimental puede asociar el sabor con los efectos metabólicos y gastrointestinales de la comida (Stunkard y Wadden, 1993) dentro de los cuales podría estar implicada la disponibilidad energética; asimismo, se ha reportado en ratones que la exposición a una dieta alta en grasa desde edades tempranas (de 3 a 4 semanas) incrementa la atracción por dietas densamente calóricas en la edad adulta implicando la modificación de algunos mecanismos neurológicos centrales (Teegarden *et al.*, 2009).

⁴ Se entiende como palatabilidad la característica de un alimento que resulta agradable al gusto del animal experimental, la cual se acepta como una propiedad dinámica, que no solo depende de la textura, consistencia, olor o sabor.

Es así como la intervención nutricional llevada a cabo en este estudio no sólo se comprende de la modificación del tipo de alimento sino además por el consumo disminuído en la cantidad total de este.

La intervención nutricional iniciada desde antes de la gestación fue capaz de modificar algunos de los parámetros maternos analizados en el presente estudio, cuyos valores reflejaron la disminución de la acumulación de tejido adiposo, pues tanto la ganancia de peso corporal como los valores de leptina e insulina fueron inferiores respecto grupo con obesidad. Del mismo modo, la intervención iniciada durante la gestación también provocó la reducción en la ganancia de peso corporal, observado partir de los primeros días de la preñez. Dicha reducción se reflejó en una cantidad menor de tejido adiposo acumulado, así como una baja en la concentración sanguínea de leptina más no en la de insulina cuyo valor tiende a ser elevado respecto al grupo con obesidad al final de la lactancia. Este comportamiento experimental fue similar al observado en un experimento previo realizado por nuestro grupo de trabajo (mencionado en el apéndice A.3.1-2), donde se emplearon hembras F0 con obesidad experimental intervenidas antes y durante la gestación, pero que fueron sacrificadas y analizadas al día 19 de gestación (Nathanielsz *et al.*, 2010); sugiriendo que en la obesidad materna la elevación en el valor de insulina no es “reversible” por la intervención nutricional iniciada en la gestación en comparación a la iniciada de manera anticipada (30 días previos). Incluso se sabe que en condiciones

experimentales normales la concentración de insulina materna disminuye en la gestación y la lactancia, según observaciones en hembras Sprawn Dowley (Mizoguchi e Imamichi, 1986).

Por otro lado es probable que el desarrollo intrauterino de la progenie este amenazado por la intervención nutricional iniciada durante la gestación, ya que las medidas morfométricas indicaron que ésta afecta negativamente el diámetro cefálico al nacimiento de los machos, pudiendo asociar este efecto a la menor ingesta de alimento y por lo tanto de nutrientes. Además es importante señalar que la obesidad durante la restricción alimentaria materna no es capaz de prevenir el retraso en el desarrollo de la cría (Lederman y Rosso, 1981).

No obstante, el peso corporal al nacimiento de las crías F1 de nuestro estudio no mostró diferencias entre grupos. Este hallazgo es consistente con los resultados obtenidos en diversos modelos experimentales diseñados para el estudio de los efectos de la dieta materna en la programación del desarrollo (Armitage *et al.*, 2005; Shankar *et al.*, 2008; Zambrano *et al.* 2010). Por este hecho es aceptado que la evaluación de la descendencia en estos modelos debe de estar basada en la composición corporal más que en el peso, el cual resulta una medición pobre de la calidad del ambiente intrauterino.

Sin embargo, la tendencia observada al nacimiento de la progenie nos indica (tal vez de manera contraria a la intuición), que tanto en hembras como en machos el menor peso corporal se obtiene en el grupo proveniente de las madres alimentadas con dieta alta en grasa, seguidas por las crías de las madres intervenidas antes y durante la gestación; mientras que en las del grupo control se obtienen los mayores valores como fue descrito en el texto (tabla 7.4). Estas tendencias del peso corporal entre grupos se mantienen sólo dentro de los primeros 3 días de edad en los cuales incluso, se encontraron diferencias significativas (Fig.7.5), pudiendo estar ligado a los hallazgos que demuestran que la obesidad materna origina la reducción en el tamaño fetal de la cría (Jungheim *et al.*, 2010). Se podría sugerir que ésta reducción se origina a partir de la masa de algún tipo de tejido susceptible a la hipertrofia temprana debida a las condiciones intrauterinas adversas, provocadas por nuestra dieta alta en grasa o bien por la obesidad misma, pues se sabe que esta es acompañada por un cierto grado de inflamación crónica leve (Steinberg, 2007; Shoelson *et al.* 2007; Farley *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2010). Por otra parte, se ha demostrado reportado que un estado inflamatorio puede afectar negativamente el desarrollo del músculo esquelético de la progenie (Nathanielsz *et al.*, 2009; Du *et al.*, 2010) y originar posiblemente la fuerza contráctil disminuida, de acuerdo a observaciones en crías Wistar de madres con alimentación a base de comida chatarra (Bayol *et al.*, 2009). El músculo esquelético debe de considerarse como un tejido clave en la composición de la masa corporal de la descendencia, ya que éste puede constituir

del 40 al 50 % del peso del animal (Spargo *et al.*, 1979). La afectación en la funcionalidad y constitución de este tejido no puede perderse de vista de la acumulación de grasa corporal a corto y a largo plazo, ya que es uno de los principales órganos encargados de la movilización de lípidos y carbohidratos, contribuyendo así a la génesis de la obesidad.

En contraste a las observaciones del peso corporal de las crías F1 en los primeros días de vida, a partir de los 7 días de edad y hasta el final de la lactancia, las crías provenientes de madres obesas (tanto hembras como machos) presentan ganancia de peso más acelerada respecto a las pertenecientes al resto de los demás grupos. Posiblemente el mayor efecto a favor de la ganancia de peso corporal fue la lactancia de madres alimentadas con dieta alta grasa, pues se ha determinado que la dieta alta en grasa en este modelo experimental, hace que la leche presente mayor contenido de lípidos y menor de agua (Bautista-Carbajal y Zambrano, 2010).

Después del destete es posible observar efectos en el peso corporal que no se pueden tomar como consecuencias directas de lactancia. Se puede sugerir que dichos efectos sean atribuibles a la programación del desarrollo que se ponen en evidencia gradualmente, los cuales aparecen de manera tardía o bien nunca se presentan en los grupos intervenidos nutricionalmente.

En los machos provenientes de madres del grupo de obesidad materna, se observa una tendencia a ganar más peso respecto a los demás grupos, aún después del destete; en especial sobre el grupo proveniente de madres intervenidas durante la gestación el cual tiende a presentar valores incluso inferiores al control. En el caso de las crías hembras, el peso corporal de las provenientes del grupo de obesidad materna es mayor significativamente respecto al resto de los grupos en gran parte del experimento (incluida la lactancia y parte del crecimiento después del destete), en especial del proveniente de madres intervenidas durante la gestación cuyos pesos son inferiores al control durante el primer mes después del destete. Posteriormente se observa cierta recuperación, para en el segundo mes, el peso corporal del grupo de intervención en la gestación prácticamente es igual al control. Lo que demuestra que la intervención durante la gestación provoca un retraso en la ganancia de peso en la descendencia a lo largo de su desarrollo.

No obstante, la ingesta de alimento de ambos sexos prácticamente es la misma entre los grupos experimentales, siendo mayor en el caso de los machos, lo cual no aporta evidencia suficiente para poder sugerir un aumento en la masa corporal en los grupos correspondientes debida a hiperfagia.

En tanto que los efectos observados de manera diferencial entre sexos respecto a la acumulación de masa corporal, pueden deberse al propio dimorfismo

sexual, el cual marca un desarrollo característico para la hembra y el macho. Los resultados obtenidos son acordes a los hallazgos que indican que los daños en la progenie asociados a la obesidad materna no se presentan de la misma manera en ambos sexos, como se ha reportado en diverso estudios. De acuerdo a evidencias experimentales, se podría sugerir mayor susceptibilidad en las hembras en cuanto al desarrollo de resistencia a la insulina, esteatosis hepática y acumulación pancreática de grasa (Srinivasan *et al.*, 2008; Han *et al.*, 2005; Oben *et al.*, 2010). De esta forma, se sugiere un metabolismo de lípidos afectado por la concentración elevada de triacilgliceroles en las hembras F1 de madres F0 obesas los 36 y 110 d; a diferencia de los machos en los que se observa este comportamiento sólo hasta los 110 d. Sin embargo, se obtuvo una recuperación franca de este parámetro sanguíneo en los grupos intervenidos antes y durante la gestación, (alcanzando concentraciones de triacilgliceroles similares al control), en ambos sexos.

No obstante, la acumulación de tejido adiposo visceral en hembras y machos se observa incrementada en crías provenientes de madres obesas; en los grupos de intervención parecen recuperarse a los 36 días de edad (al obtener cantidades similares al control). En cambio a los 110 días el índice de adiposidad en los grupos de madres intervenidas está disminuido respecto al grupo de obesidad materna indica que la recuperación no es “completa” ya que aún presentan valores mayores al grupo control. La observación de alteraciones

producidas por el ambiente perinatal que se hacen evidentes hasta la edad adulta, es consistente con la hipótesis de la programación del desarrollo (Wadhwa *et al.*, 2009). Este fenómeno puede ser un tanto peligroso visto desde el punto de vista clínico, pues un individuo “programado” puede pasar gran parte de su vida sin ninguna alteración patológica evidente y por lo tanto sin saber que está predispuesto a cierta alteración fisiológica que en el futuro lo enferme, por lo que será difícil que se pueda tomar alguna acción preventiva específica que pueda encaminarlo a “neutralizar” tal efecto.

Por otra parte, de acuerdo a la cierta recuperación observada en los grupos con intervención nutricional materna, no es posible identificar diferencias en el grado de recuperación en función del periodo de inicio de la intervención, lo cual puede sugerir que esta alteración tiene su origen en el periodo anterior a la concepción. Se ha reportado en roedores que en la obesidad materna la calidad del oocito es deficiente (Jungheim *et al.*, 2010), por lo que no sería extraño hallar alteraciones en su desarrollo como óvulo maduro, de tal forma que pudieran alterar el fenotipo del individuo que formará después de su fecundación.

Sin embargo, la intervención nutricional no puede despreciarse por el hecho de no revertir totalmente la adiposidad en la progenie por la obesidad materna, pues su eficacia en la reducción de la concentración de triacilgliceroles en sangre resulta bastante útil en la prevención diversos problemas asociados al

metabolismo de lípidos, como por ejemplo: la resistencia a la insulina (Coppack, 2005; Rosen y Spiegelman, 2006), acumulación de grasa hepática (Bayol *et al.*, 2010), que aunque no se observó su desarrollo en nuestro estudio, su aparición tardía no puede descartarse por la obesidad materna, en entre otras afectaciones como las cardiovasculares que han sido ampliamente estudiadas en este modelo (Khan *et al.*, 2005; Calvert *et al.*, 2009; Drake y Reynolds, 2010).

En la actualidad se sabe relativamente poco acerca de los mecanismos involucrados en el origen de la programación del desarrollo en la obesidad materna; sin embargo, se ha reconocido que alteraciones epigénéticas tienen un papel importante aunque pobremente definido (Heerwagen *et al.*, 2010). La regulación epigenética se caracteriza por modificaciones covalentes en el DNA y la cromatina, que alteran la expresión de los genes independientemente de su secuencia. Las modificaciones epigénéticas originan cambios que modifican la expresión génica durante períodos de tiempo largos por medio de la coordinación compleja de múltiples proteínas de unión y enzimas que interactúan entre ellas mismas mediante circuitos de retroalimentación positiva y negativa que eventualmente resultan en la alteración estable de la estructura de la cromatina (Jaenisch y Bird, 2003; Zambrano, 2009).

Se sabe que la diferenciación del tejido embrionario que origina la miogénesis, adipogénesis y fibrogénesis está controlada crucialmente por la

expresión de uno o más genes, pudiendo originar alteraciones en el desarrollo de éstos a través de cambios epigenéticos en la cría fetal. Actualmente una de las propuestas más importante acerca de este fenómeno y en la cual nuestros datos obtenidos pueden encontrar explicación, es la asociación entre la inflamación y cambios epigenéticos en genes clave reguladores de la adipogénesis y miogénesis (figura 9.1) (Du *et al.*, 2010).

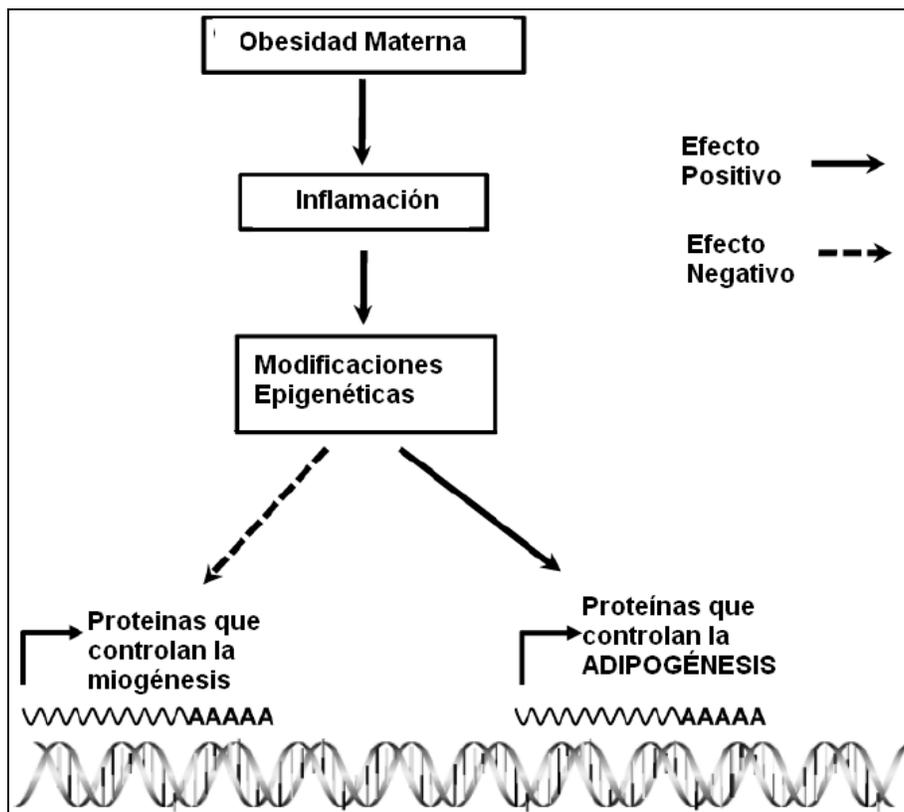


Figura 9.1. Obesidad, inflamación y modificaciones epigenéticas involucradas en la miogénesis y adipogénesis. Un proceso inflamatorio, característico de la obesidad puede inducir cambios en las células fetales indiferenciadas involucradas en la formación del músculo y tejido adiposo generando cambios permanentes que pueden repercutir en el fenotipo obeso de la vida adulta. Tomado de (Du, Yan *et al.*, 2010).

No obstante, el proceso inflamatorio propuesto para el caso de la obesidad materna podría no ser el único mecanismo “programador” en el desarrollo de las crías, pues actualmente existe una amplia gama de posibilidades en las que seguramente estarán implicadas las condiciones metabólicas de la madre. Ya que éstas afectan directamente a los productos de la concepción (feto y placenta), cuya fisiología debe ser analizada con más detalle en presencia de obesidad. Tampoco podemos dejar de lado el ambiente postnatal y su interacción con los

posibles efectos programados, su estudio podría demostrar la susceptibilidad a ciertos “retos metabólicos” en los organismos provenientes de madres obesas, tales como la exposición a una dieta hipercalórica, por ejemplo. El estudio de estos efectos podría contribuir de manera importante en la descripción y sobre todo en la explicación mecanística de la programación del desarrollo en la obesidad materna, abriendo paso a la posible aplicación clínica para la detección de sujetos predispuestos a enfermedades metabólicas y el diseño de métodos de prevención cada vez más efectivos en la población humana.

9. CONCLUSIÓN.

La intervención nutricional previa y durante la gestación es capaz de reducir la obesidad materna de la rata. Concomitantemente los efectos adversos en la progenie originados por la obesidad, se revierten de manera parcial o total debido a dicha reducción. No obstante, la intervención nutricional de inicio previo a la gestación ofrece mejores resultados y menos efectos desfavorables para el desarrollo que la intervención iniciada con la gestación.

10. BIBLIOGRAFÍA.

- ALCÁNTARA-GÓMEZ, L. E. 2008. *Mecanismos transgeneracionales en la programación del desarrollo de alteraciones del metabolismo de carbohidratos*. Especialista en Bioquímica Clínica, UNAM.
- ARAI, Y., GRADWOHL, G. & KAMEDA, Y. 2010. Expression of neuropeptide Y and agouti-related peptide in the hypothalamic arcuate nucleus of newborn neurogenin3 null mutant mice. *Cell Tissue Res*, 340, 137-45.
- ARMITAGE, J. A., TAYLOR, P. D. & POSTON, L. 2005. Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development. *J Physiol*, 565, 3-8.
- BARKER, D. J. 1995. Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ*, 311, 171-4.
- BAUTISTA-CARBAJAL, C. J. & ZAMBRANO, E. 2010. MATERNAL OBESITY (MO) PRODUCES MARKED CHANGES IN MILK COMPOSITION WHICH ARE VARIABLY REVERSED BY DIETARY INTERVENTIONS. . *Datos Enviados para la ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR GYNECOLOGIC INVESTIGATION (SGI) del 16 al 19 de marzo de 2011 en Miami, Florida*. Mexico DF.: INCMNSZ.
- BAYOL, S. A., MACHARIA, R., FARRINGTON, S. J., SIMBI, B. H. & STICKLAND, N. C. 2009. Evidence that a maternal "junk food" diet during pregnancy and lactation can reduce muscle force in offspring. *Eur J Nutr*, 48, 62-5.
- BAYOL, S. A., SIMBI, B. H., FOWKES, R. C. & STICKLAND, N. C. 2010. A maternal "junk food" diet in pregnancy and lactation promotes nonalcoholic Fatty liver disease in rat offspring. *Endocrinology*, 151, 1451-61.
- BECK, B. 2006. Neuropeptide Y in normal eating and in genetic and dietary-induced obesity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 361, 1159-85.
- BENOIT, S. C., CLEGG, D. J., SEELEY, R. J. & WOODS, S. C. 2004. Insulin and leptin as adiposity signals. *Recent Prog Horm Res*, 59, 267-85.

- BROWN, J. E. 2005. *Nutrition through the life cycle*, Australia ; Belmont, CA, Thomson/Wadsworth.
- CALVERT, J. W., LEFER, D. J., GUNDEWAR, S., POSTON, L. & COETZEE, W. A. 2009. Developmental programming resulting from maternal obesity in mice: effects on myocardial ischaemia-reperfusion injury. *Exp Physiol*, 94, 805-14.
- CASANUEVA, E., KAUFER-HORWITZ, M., PÉREZ-LIZAU, A. B. & ARROLLO, P. (eds.) 2001. *Nutriología Médica*: Fundación Mexicana para la Salud/Editorial Médica Panamericana.
- CASTRO, L. C. & AVINA, R. L. 2002. Maternal obesity and pregnancy outcomes. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 14, 601-6.
- CEDERGREN, M. I. 2004. Maternal morbid obesity and the risk of adverse pregnancy outcome. *Obstet Gynecol*, 103, 219-24.
- CNATTINGIUS, S., BERGSTROM, R., LIPWORTH, L. & KRAMER, M. S. 1998. Prepregnancy weight and the risk of adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med*, 338, 147-52.
- CONNOR, W. E., LOWENSOHN, R. & HATCHER, L. 1996. Increased docosahexaenoic acid levels in human newborn infants by administration of sardines and fish oil during pregnancy. *Lipids*, 31 Suppl, S183-7.
- COPPACK, S. W. 2005. Adipose tissue changes in obesity. *Biochem Soc Trans*, 33, 1049-52.
- CUNNINGHAM, F. G. & WILLIAMS, J. W. 2005. *Williams obstetrics*, New York, McGraw-Hill Professional.
- CURHAN, G. C., CHERTOW, G. M., WILLETT, W. C., SPIEGELMAN, D., COLDITZ, G. A., MANSON, J. E., SPEIZER, F. E. & STAMPFER, M. J. 1996. Birth weight and adult hypertension and obesity in women. *Circulation*, 94, 1310-5.
- DEL PRADO, M., VILLALPANDO, S., GORDILLO, J. & HERNANDEZ-MONTES, H. 1999. A high dietary lipid intake during pregnancy and lactation enhances mammary gland lipid uptake and lipoprotein lipase activity in rats. *J Nutr*, 129, 1574-8.

- DRAKE, A. J. & REYNOLDS, R. M. 2010. Impact of maternal obesity on offspring obesity and cardiometabolic disease risk. *Reproduction*, 140, 387-98.
- DU, M., YAN, X., TONG, J. F., ZHAO, J. & ZHU, M. J. 2010. Maternal obesity, inflammation, and fetal skeletal muscle development. *Biol Reprod*, 82, 4-12.
- FARLEY, D., TEJERO, M. E., COMUZZIE, A. G., HIGGINS, P. B., COX, L., WERNER, S. L., JENKINS, S. L., LI, C., CHOI, J., DICK, E. J., JR., HUBBARD, G. B., FROST, P., DUDLEY, D. J., BALLESTEROS, B., WU, G., NATHANIELSZ, P. W. & SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH, N. E. 2009. Feto-placental adaptations to maternal obesity in the baboon. *Placenta*, 30, 752-60.
- FRIEDMAN, J. M. & HALAAS, J. L. 1998. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 395, 763-70.
- GANONG, W. F. (ed.) 2003. *Fisiología Médica: El Manual Moderno*.
- GARCÍA-GARCÍA, KAUFER-HORWITZ, PARDÍO & ARROYO (eds.) 2010. *La obesidad. Perspectivas para su comprensión y tratamiento*: Editorial Médica Panamericana.
- GONZÁLEZ-BARRANCO, J. (ed.) 2004. *Obesidad*, Mexico: Mc Graw Hill.
- GRIGOR, M. R., ALLAN, J., CARNE, A., CARRINGTON, J. M. & GEURSEN, A. 1986. Milk composition of rats feeding restricted litters. *Biochem J*, 233, 917-9.
- GUYTON, A. C. 1992. *Human physiology and mechanisms of disease*, Philadelphia ; London, Saunders.
- HAN, J., XU, J., EPSTEIN, P. N. & LIU, Y. Q. 2005. Long-term effect of maternal obesity on pancreatic beta cells of offspring: reduced beta cell adaptation to high glucose and high-fat diet challenges in adult female mouse offspring. *Diabetologia*, 48, 1810-8.
- HEERWAGEN, M. J., MILLER, M. R., BARBOUR, L. A. & FRIEDMAN, J. E. 2010. Maternal obesity and fetal metabolic programming: a fertile epigenetic soil. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 299, R711-22.

- HOWIE, G. J., SLOBODA, D. M., KAMAL, T. & VICKERS, M. H. 2009. Maternal nutritional history predicts obesity in adult offspring independent of postnatal diet. *J Physiol*, 587, 905-15.
- ILNYTSKA, O. & ARGYROPOULOS, G. 2008. The role of the Agouti-Related Protein in energy balance regulation. *Cell Mol Life Sci*, 65, 2721-31.
- INSULL, W., JR. & AHRENS, E. H., JR. 1959. The fatty acids of human milk from mothers on diets taken ad libitum. *Biochem J*, 72, 27-33.
- JAENISCH, R. & BIRD, A. 2003. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet*, 33 Suppl, 245-54.
- JUNGHEIM, E. S., SCHOELLER, E. L., MARQUARD, K. L., LOUDEN, E. D., SCHAFFER, J. E. & MOLEY, K. H. 2010. Diet-induced obesity model: abnormal oocytes and persistent growth abnormalities in the offspring. *Endocrinology*, 151, 4039-46.
- KANDEL, E. R., SCHWARTZ, J. H. & JESSELL, T. M. 2000. *Principles of neural science*, New York, McGraw-Hill, Health Professions Division.
- KENNEDY, G. C. 1953. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 140, 578-96.
- KHAN, I. Y., DEKOU, V., DOUGLAS, G., JENSEN, R., HANSON, M. A., POSTON, L. & TAYLOR, P. D. 2005. A high-fat diet during rat pregnancy or suckling induces cardiovascular dysfunction in adult offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 288, R127-33.
- KIRK, S. L., SAMUELSSON, A. M., ARGENTON, M., DHONYE, H., KALAMATIANOS, T., POSTON, L., TAYLOR, P. D. & COEN, C. W. 2009. Maternal obesity induced by diet in rats permanently influences central processes regulating food intake in offspring. *PLoS One*, 4, e5870.
- KUMAR, M. V., SUNVOLD, G. D. & SCARPACE, P. J. 1999. Dietary vitamin A supplementation in rats: suppression of leptin and induction of UCP1 mRNA. *J Lipid Res*, 40, 824-9.

- LEDERMAN, S. A. & ROSSO, P. 1981. Effects of obesity, food restriction and pregnancy on fetal and maternal weight and on body composition in rats. *J Nutr*, 111, 2162-71.
- LEHNINGER, A. L., NELSON, D. L. & COX, M. M. 2008. *Lehninger principles of biochemistry*, New York, W.H. Freeman.
- LUCAS, A., MORLEY, R., COLE, T. J., BAMFORD, M. F., BOON, A., CROWLE, P., DOSSETOR, J. F. & PEARSE, R. 1988. Maternal fatness and viability of preterm infants. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 296, 1495-7.
- MAYER, J. & THOMAS, D. W. 1967. Regulation of food intake and obesity. *Science*, 156, 328-37.
- MIZOGUCHI, J. & IMAMICHI, T. 1986. Decrease in plasma insulin concentration in lactating rat. *Nippon Juigaku Zasshi*, 48, 837-9.
- NAEYE, R. L. 1990. Maternal body weight and pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr*, 52, 273-9.
- NAISMITH, D. J., RICHARDSON, D. P. & PRITCHARD, A. E. 1982. The utilization of protein and energy during lactation in the rat, with particular regard to the use of fat accumulated in pregnancy. *Br J Nutr*, 48, 433-41.
- NATHANIELSZ, P. W. 1996. *Life before birth : the challenges of fetal development*, New York, W.H. Freeman.
- NATHANIELSZ, P. W., MARTÍNEZ, P., IBÁÑEZ, C., RODRIGUEZ, G. L. & ZAMBRANO, E. 2010. Abstracts of the 57th Annual Scientific Meeting of the Society for Gynecologic Investigation. March 24-27, 2010. Orlando, Florida, USA. Dietary Interventions To reverse Effects of Maternal (M) Obesity (MO) and High Energy Obesogenic Diet (HEOD) Have Very Different Outcomes According To the Timing of The intervention. *Reprod Sci*, 17, 67A-363A.
- NATHANIELSZ, P. W., TONG, J. F., YAN, X., ZHU, M. J., FORD, S. P. & DU, M. 2009. Maternal obesity downregulates myogenesis and beta-catenin signaling in fetal skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 296, E917-24.
- NIVOIT, P., MORENS, C., VAN ASSCHE, F. A., JANSEN, E., POSTON, L., REMACLE, C. & REUSENS, B. 2009. Established diet-induced obesity in

- female rats leads to offspring hyperphagia, adiposity and insulin resistance. *Diabetologia*, 52, 1133-42.
- OBEN, J. A., PATEL, T., MOURALIDARANE, A., SAMUELSSON, A. M., MATTHEWS, P., POMBO, J., MORGAN, M., MCKEE, C., SOEDA, J., NOVELLI, M., POSTON, L. & TAYLOR, P. 2010. Maternal obesity programmes offspring development of non-alcoholic fatty pancreas disease. *Biochem Biophys Res Commun*, 394, 24-8.
- OLAIZ-FERNÁNDEZ, G., RIVERA-DOMMARCO, J., SHAMAH-LEVY, T., VILLALPANDO-HERNÁNDEZ, S., HERNÁNDEZ-AVILA, M. & SEPÚLVEDA-AMOR, J. (eds.) 2006. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006*.: Instituto Nacional de Salud Pública.
- OMS (ed.) 1996. *OBESITY PREVENTING AND MANAGING THE GLOBAL EPIDEMIC*, Geneva.
- OMS. 2006. *Obesity and overweight* [Online]. WHO. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/print.html> [Accesado en mayo 2010].
- OTA, K. & YOKOYAMA, A. 1967. Body weight and food consumption of lactating rats nursing various sizes of litters. *J Endocrinol*, 38, 263-8.
- OWEN, C. G., WHINCUP, P. H., ODOKI, K., GILG, J. A. & COOK, D. G. 2002. Infant feeding and blood cholesterol: a study in adolescents and a systematic review. *Pediatrics*, 110, 597-608.
- PANETH, N. & SUSSER, M. 1995. Early origin of coronary heart disease (the "Barker hypothesis"). *BMJ*, 310, 411-2.
- PORTE, D., JR., BASKIN, D. G. & SCHWARTZ, M. W. 2005. Insulin signaling in the central nervous system: a critical role in metabolic homeostasis and disease from *C. elegans* to humans. *Diabetes*, 54, 1264-76.
- PROLO, P., WONG, M. L. & LICINIO, J. 1998. Leptin. *Int J Biochem Cell Biol*, 30, 1285-90.
- RAVELLI, G. P., STEIN, Z. A. & SUSSER, M. W. 1976. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *N Engl J Med*, 295, 349-53.

- REEVES, P. G., NIELSEN, F. H. & FAHEY, G. C., JR. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*, 123, 1939-51.
- ROSEN, E. D. & SPIEGELMAN, B. M. 2006. Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature*, 444, 847-53.
- SCHWARTZ, M. W., WOODS, S. C., PORTE, D., JR., SEELEY, R. J. & BASKIN, D. G. 2000. Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404, 661-71.
- SHANKAR, K., HARRELL, A., LIU, X., GILCHRIST, J. M., RONIS, M. J. & BADGER, T. M. 2008. Maternal obesity at conception programs obesity in the offspring. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 294, R528-38.
- SHOELSON, S. E., HERRERO, L. & NAAZ, A. 2007. Obesity, inflammation, and insulin resistance. *Gastroenterology*, 132, 2169-80.
- SMITH, J. L., LEAR, S. R., FORTE, T. M., KO, W., MASSIMI, M. & ERICKSON, S. K. 1998. Effect of pregnancy and lactation on lipoprotein and cholesterol metabolism in the rat. *J Lipid Res*, 39, 2237-49.
- SPARGO, E., PRATT, O. E. & DANIEL, P. M. 1979. Metabolic functions of skeletal muscles of man, mammals, birds and fishes: a review. *J R Soc Med*, 72, 921-5.
- SRINIVASAN, M., DODDS, C., GHANIM, H., GAO, T., ROSS, P. J., BROWNE, R. W., DANDONA, P. & PATEL, M. S. 2008. Maternal obesity and fetal programming: effects of a high-carbohydrate nutritional modification in the immediate postnatal life of female rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 295, E895-903.
- STEINBERG, G. R. 2007. Inflammation in obesity is the common link between defects in fatty acid metabolism and insulin resistance. *Cell Cycle*, 6, 888-94.
- STELLAR, E. 1954. The physiology of motivation. *Psychol Rev*, 61, 5-22.

- STEPHANSSON, O., DICKMAN, P. W., JOHANSSON, A. & CNATTINGIUS, S. 2001. Maternal weight, pregnancy weight gain, and the risk of antepartum stillbirth. *Am J Obstet Gynecol*, 184, 463-9.
- STRICKER, E. M. 1978. Hyperphagia. *N Engl J Med*, 298, 1010-3.
- STUNKARD, A. J. & WADDEN, T. A. 1993. *Obesity : theory and therapy*, New York, Raven Press.
- TAYLOR, B. A. & PHILLIPS, S. J. 1996. Detection of obesity QTLs on mouse chromosomes 1 and 7 by selective DNA pooling. *Genomics*, 34, 389-98.
- TAYLOR, P. D. & POSTON, L. 2007. Developmental programming of obesity in mammals. *Exp Physiol*, 92, 287-98.
- TEEGARDEN, S. L., SCOTT, A. N. & BALE, T. L. 2009. Early life exposure to a high fat diet promotes long-term changes in dietary preferences and central reward signaling. *Neuroscience*, 162, 924-32.
- VARGAS-ANCONA, L., BASTARRACHEA-SOSA, R., LAVIADA-MOLINA, H., GONZÁLEZ-BARRANCO, J. & ÁVILA-ROSAS, H. (eds.) 1999. *Obesidad en México: Fundación Mexicana para la Salud A. C. Universidad Autónoma de Yucatán*.
- WADHWA, P. D., BUSS, C., ENTRINGER, S. & SWANSON, J. M. 2009. Developmental origins of health and disease: brief history of the approach and current focus on epigenetic mechanisms. *Semin Reprod Med*, 27, 358-68.
- WATKINS, M. L., RASMUSSEN, S. A., HONEIN, M. A., BOTTO, L. D. & MOORE, C. A. 2003. Maternal obesity and risk for birth defects. *Pediatrics*, 111, 1152-8.
- ZAMBRANO, E. 2009. [The transgenerational mechanisms in developmental programming of metabolic diseases]. *Rev Invest Clin*, 61, 41-52.
- ZAMBRANO, E., MARTINEZ-SAMAYOA, P. M., RODRIGUEZ-GONZALEZ, G. L. & NATHANIELSZ, P. W. 2010. Dietary intervention prior to pregnancy reverses metabolic programming in male offspring of obese rats. *J Physiol*, 588, 1791-9.

ZHANG, Y., PROENCA, R., MAFFEI, M., BARONE, M., LEOPOLD, L. & FRIEDMAN, J. M. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372, 425-32.

ZHU, M. J., DU, M., NATHANIELSZ, P. W. & FORD, S. P. 2010. Maternal obesity up-regulates inflammatory signaling pathways and enhances cytokine expression in the mid-gestation sheep placenta. *Placenta*, 31, 387-91.

A. **ÁPENDICES**

A.1. Procedimiento para la elaboración de dietas experimentales.

Los reactivos Utilizados para la elaboración de las dietas se enlistan a continuación:

- Caseína libre de vitaminas, de Harlan Teklad
- L-Cistina Diclorhidrato, de Sigma Aldrich
- Mezcla de Minerales AIN-76, de Harlan México S.A. de C.V.
- Mezcla de Vitaminas AIN-93 VX, de Harlan México S.A. de C.V.
- Colina, Clorhidrato de Sigma Aldrich
- α -Celulosa de Sigma Aldrich
- Almidón de maíz de Droguería Cosmopolita S.A. de C.V
- Glucosa Anhidra de Droguería Cosmopolita S.A. de C.V
- Aceite Comestible Puro de Soya Nutrioli® de Ragasa Industrias S.A. de C.V.
- Manteca de cerdo de JC Fortes®
- Azúcar refinada de Great Value®

La dieta fue elaborada de la siguiente manera

1. Se pesó según la formulación mencionada en el texto la cantidad correspondiente de cada componente por separado usando la balanza analítica Sartorius® ED623SCW así como la báscula EURA® 2000/100 (cap. máx.=100 Kg y d=50g), según la sensibilidad requerida en cada caso.
2. Se adicionó primero la cantidad requerida de manteca de cerdo en la mezcladora de paletas y se accionó en velocidad intermedia durante 5 minutos o bien hasta que la manteca se distribuyera uniformemente en el fondo.
3. Se mezclaron todos los componentes sólidos durante 5 minutos en velocidad baja en la mezcladora (siendo las mezclas: de vitaminas AIN-76 y de minerales AIN-93VX las últimas en incorporarse).
4. Después, sin detener el mezclado se agregó la cantidad correspondiente del aceite de soya.

5. A velocidad intermedia se mezcló por 5 minutos más o hasta haber obtenido una masa homogénea de consistencia adecuada para ser roída por los animales y a la vez ser moldeada con las manos.

6. La dieta se almacenó en bolsas de polietileno opacas, por lapsos no mayores a un mes en un cuarto frío de 4° C.

A.2. Determinación de Hormonas.

A. 2.1. Cuantificación de Leptina

A.2.1.1 Reactivos

El estuche de para determinación de leptina consistió en los siguientes reactivos:

- A. *Amortiguador para Ensayo*: PBS 0.05 M de pH=7.4, con EDTA 0.025M, azida de sodio al 0.08%, BSA grado RIA al 1% y tritón X-100 al 0.05%.

- B. *Anticuerpo Específico para Leptina de Rata*. Suero de cobayo anti-leptina de rata mezclado con reactivo A.

- C. *Marca Radiactiva (Leptina-¹²⁵I)*: Leptina de rata marcada con ¹²⁵I (<3μCi) 111 kBq liofilizada para reconstituirse con el reactivo D.

- D. *Amortiguador para marca radiactiva*. Reactivo A mezclado con suero normal de cobayo.

E. *Estándares de Leptina*: Leptina de rata recombinante disuelta en reactivo A a las siguientes concentraciones: 0.5, 1, 2, 5, 10, 20 y 50 ng/mL

F. *Controles de Calidad 1 y 2*: Leptina de rata recombinante a las concentraciones determinadas disueltas en reactivo A.

G. *Reactivo Precipitante*: Suero de cabra anti-suero de cobayo, PEG al 3% y tritón X-100 al 0.05% en PBS 0.05M, EDTA 0.025M y azida de sodio al 0.08%.

A.2.1.2. Procedimiento

La cuantificación por RIA se llevó a cabo de acuerdo a las recomendaciones del fabricante, la determinación fue realizada durante tres días y el procedimiento se describe de manera breve a continuación.

Día 1: Se usaron tubos de ensayo de borosilicato de 12 x 75 mm y se depositó en cada uno de ellos 100 μ L ya sea: de cada muestra sérica, de estándares (por duplicado), de controles de calidad o de amortiguador de ensayo (por triplicado) para la determinación de uniones totales, posteriormente a todos estos se agregaron 100 μ L de anticuerpo anti-leptina y se mezcló con *vortex*.

También ese mismo día en otros tubos se colocaron 300 y 200 μL de amortiguador de ensayo únicamente y por duplicado para la determinación de uniones inespecíficas y cuentas totales respectivamente. Todos los tubos se incubaron por 24 h a temperatura ambiente.

Día 2: A todos los tubos después de la incubación se les agregó 100 μL de la marca radiactiva reconstituida con el amortiguador para marca radiactiva. Todos los tubos se mezclaron con *vortex* y se incubaron nuevamente por 24h a temperatura ambiente.

Día 3: Se agregó a todos los tubos después de la incubación el reactivo precipitante, se mezcló con *vortex* y se incubaron por 20 min a 4 °C. Todos los tubos fueron centrifugados a 3000 \times g por 20 min a 4 °C. El sobrenadante obtenido excepto el de los tubos correspondientes a las cuentas totales fue decantado cuidadosamente para así mantener únicamente el precipitado resultante en el tubo, el cual fue procesado en un contador de radiaciones γ de Packard Instruments Company, programado para tener un tiempo de conteo de un minuto por cada muestra; asimismo, los datos fueron analizados automáticamente por el equipo para obtener la curva de calibración y a partir de esta calcular la concentración de cada muestra en ng/mL.

A.2.1.3. Curva de Calibración de Leptina

El equipo determinó automáticamente una ecuación que relaciona la concentración de leptina (x) y la radiactividad emitida del precipitado (y) en forma de función logística de cuatro parámetros para la curva patrón (Fig. A.1.).

Ecuación A.1 Curva de Calibración de Leptina

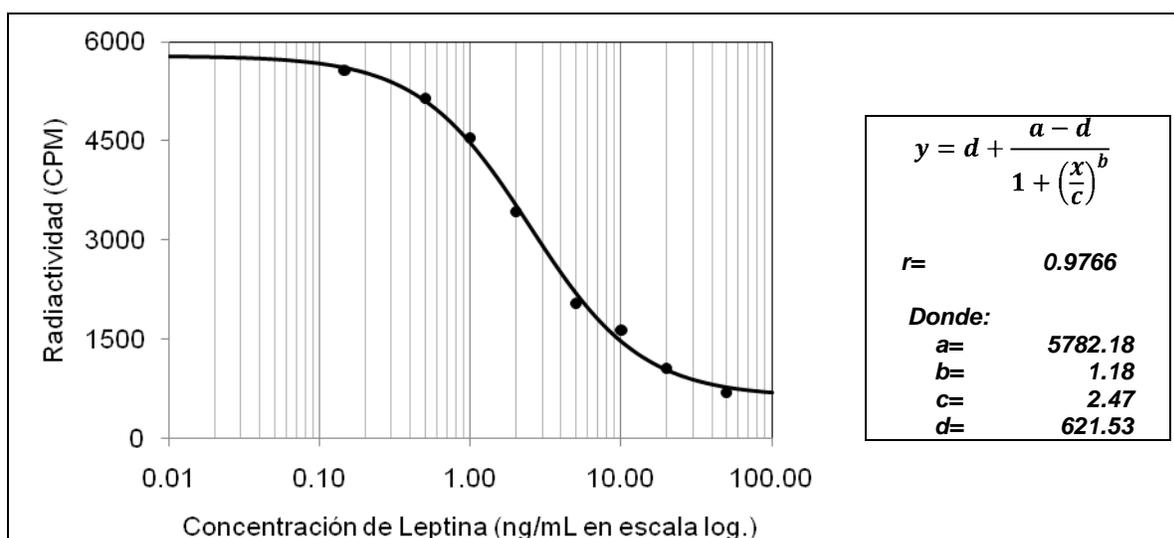


Figura A.1 Curva de calibración para la determinación de leptina. La línea continua corresponde a la función logística mostrada. Los datos de los estándares son mostrados con un punto. El eje de las abscisas se muestra en escala logarítmica.

A. 2.2. Cuantificación de Insulina

A.2.2.1. Reactivos

El estuche de para determinación de insulina consistió en los siguientes reactivos:

- A. *Amortiguador para Ensayo*: PBS 0.05 M de pH=7.4, con EDTA 0.025M, azida de sodio al 0.08%, BSA grado RIA al 1%.
- B. *Anticuerpo Específico para Insulina de Rata*. Suero de cobayo antiinsulina de rata mezclado con reactivo A.
- C. *Marca Radiactiva (Insulina-¹²⁵I)*: Insulina de rata marcada con ¹²⁵I (<5μCi) 185 kBq liofilizada para reconstituirse con el reactivo D.
- D. *Amortiguador para marca radiactiva*. Reactivo A mezclado con IgG de cobayo como vehículo.
- E. *Estándares de Insulina*: Insulina de rata purificada en Amortiguador para estándar a las siguientes concentraciones: 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 y 10.0 ng/mL

F. *Controles de Calidad 1 y 2*: Insulina de rata purificada disuelta en reactivo A a la concentración establecida.

G. *Reactivo Precipitante*: Suero de cabra anti-suero de cobayo (IgG) PEG al 3% y tritón X-100 al 0.05% en PBS 0.05M, EDTA 0.025M y azida de sodio al 0.08%.

A.2.2.2. Procedimiento

La cuantificación por RIA se llevo a cabo de acuerdo a las recomendaciones del fabricante, la determinación se llevó a cabo durante tres días y el procedimiento se describe de manera breve a continuación

Día 1: Se usaron tubos de ensayo de borosilicato de 12 x 75 mm y se depositó en cada uno de ellos 100 μ L ya sea: de cada muestra sérica, de estándares (por duplicado), de controles de calidad o de amortiguador de ensayo (por triplicado) para la determinación de uniones totales, posteriormente a todos estos se agregaron 100 μ L de marca radiactiva (insulina-¹²⁵I), y se mezcló con *vortex*. Posteriormente, de igual manera se agregó a todos los tubo 100 μ L del anticuerpo específico para insulina. También ese mismo día en otros tubos se colocaron 200 y 100 μ L de amortiguador de ensayo únicamente y por duplicado

para la determinación de uniones inespecíficas y cuentas totales respectivamente. Todos los tubos se mezclaron con *vortex* y se incubaron por 24 h a 4 °C.

Día 2: Se agregó a todos los tubos (excepto a los de cuentas totales) después de la incubación 1.0 mL del reactivo precipitante, se mezcló con *vortex* y se incubaron por 20 min. a 4 °C. Todos los tubos (excepto los de cuentas totales) fueron centrifugados a 3000xg por 20 min. a 4 °C. El sobrenadante obtenido excepto el de los tubos correspondientes a las cuentas totales fue decantado cuidadosamente para así mantener únicamente el precipitado resultante en el tubo, el cual fue procesado en un contador de radiaciones γ de Packard Instruments Company, programado para tener un tiempo de conteo de un minuto por cada muestra; asimismo, los datos fueron analizados automáticamente por el equipo para obtener la curva de calibración y a partir de esta calcular la concentración de cada muestra en ng/mL.

A.2.2.3. Curva de Calibración de Insulina

El equipo determinó automáticamente una ecuación que relaciona la concentración de insulina (x) y la radiactividad emitida del precipitado (y) en forma de función logística de cuatro parámetros para la curva patrón (Fig. A.2.).

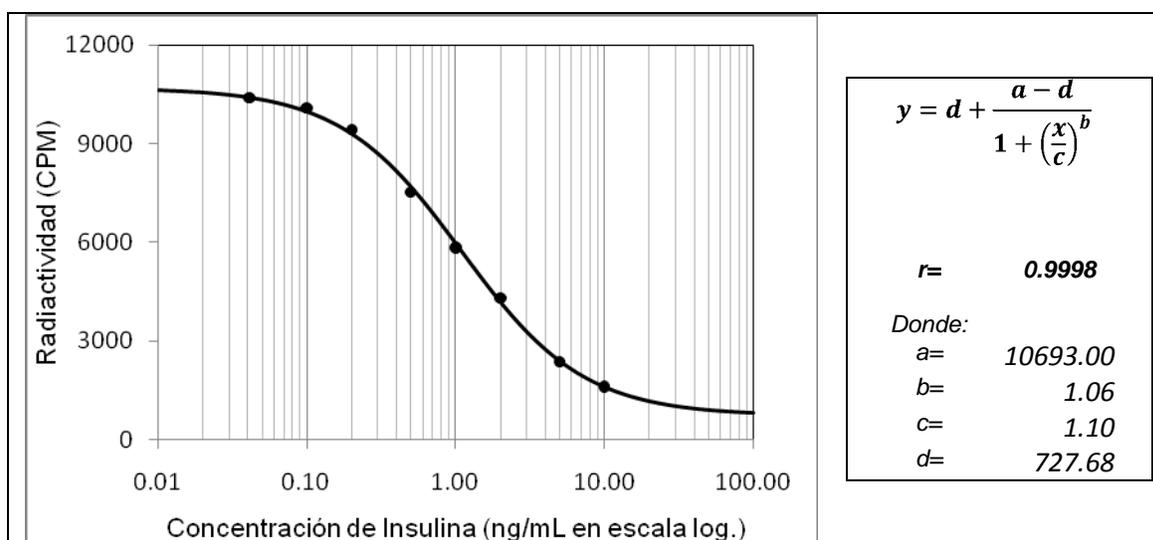


Figura A.2 Curva de calibración para la determinación de insulina. La línea continua corresponde a la función logística mostrada. Los datos de los estándares son mostrados con un punto. El eje de las abscisas se muestra en escala logarítmica.

A. 3. Resultados Presentados en Congresos Nacionales e Internacionales

A. 3.1. Dietary interventions to reverse effects of maternal (M) obesity (MO) and high energy obesogenic diets (HEOD) have very different outcomes according to the timing of the intervention.

Presentado en “57th Annual Meeting of the Society for Gynecologic Investigation”, el 26 de marzo de 2010 en Orlando Florida.

Session: Clinical Perinatology (Friday, 3/26/2010, 10:00 AM - 12:00 PM)
 200A Reproductive Sciences Vol. 17, No. 3 (Supplement), March 2010
 472

Dietary Interventions To Reverse Effects of Maternal (M) Obesity (MO) and High Energy Obesogenic Diets (HEOD) Have Very Different Outcomes According to the Timing of the Intervention. Peter W Nathanielsz,¹ Paola Martinez,² Carlos Ibanez,² Guadalupe L Rodriguez,³ Elena Zambrano,² ¹Dept. OB/GYN, UTHSCSA, San Antonio, TX, USA; ²Reproductive Biology, INNSZ, Mexico, DF, Mexico.

Introduction. MO and HEOD prior to and during gestation have adverse effects on both M and fetus (F). There is currently much clinical interest in the development of effective dietary interventions to reverse these adverse outcomes. We produced MO by feeding a HEOD. We hypothesized that pre-pregnancy recuperation (PPR) on a normal diet for one month before breeding results in different M and F outcomes to recuperation during pregnancy (PR).

Methods. After weaning (CTR, n=5) female Wistar rats were fed control rodent diet 5001 (5% fat, 4.0 Kcal/g) and 15 received HEOD (25% fat, 4.9 Kcal/g) One month before breeding 5 HEOD rats were returned to CTR diet (PPR). Another 5 HEOD rats were returned to the CTR diet at conception (PR). 5 MO rats remained on HEOD through pregnancy. Rats were euthanized at 19 d gestation (dG), M liver weight serum leptin and insulin (RIA), placental and F weight were measured. Data M ± SEM. Analysis ANOVA.

Results. There were no differences in M body weight at conception or 19 dG (Fig 1A). At 19dG MO liver weight was lower vs all other groups (data not shown). Maternal serum insulin was higher and not different between MO, PPR and PR groups compared with CTR (Fig. 1B). Maternal leptin was recuperated in PPR but not PR (Fig. 1C). There were no differences between groups in placental and F weight, but total placental and F weight per mother was also recuperated in PPR (CTR: 23.4 ± 1.4a, MO: 27.3 ± 1.9bc, PPR: 23.9 ± 3.3ab, PR: 30.5 ± 1.5c, g, p<0.05).

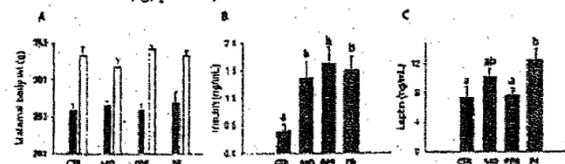


Fig1. A) Maternal weight at conception (black bars) and 19dG (white bars); B) plasma insulin at 19d and C) plasma leptin at 19d. CTR, MO, PPR and RC defined in text. M ± SEM; n=5. Different letters, p < 0.05.

Conclusions. Dietary intervention one month prior to but not at conception decreased adverse effects of MO and HEOD on total weight of products of conception and M leptin but not insulin. Grant by SMNE (Mexico), NIH-HD21350 USA).

A. 3.2. Obesidad e Intervención Nutricional Antes y Durante la Gestación y sus Efectos en el Metabolismo Materno.

Presentado en la “LII Reunión Anual de la Asociación de Médicos del Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán” el 15 de octubre de 2010 en Acapulco, Guerrero.



Una copia del cartel presentado durante el evento se muestra en la siguiente página

OBESIDAD E INTERVENCIÓN NUTRICIONAL ANTES Y DURANTE LA GESTACIÓN Y SUS EFECTOS EN EL METABOLISMO MATERNO.



Ibáñez C*, Martínez PM, Rodríguez-González GL, Zambrano E.
Departamento de Biología de la Reproducción, INCMNSZ

INTRODUCCIÓN

La obesidad representa un problema cada vez mayor, tanto en los países altamente industrializados como aquellos en vías de desarrollo afectando a mujeres en edad reproductiva, lo que en su momento se traduce en obesidad materna, la cual junto con una dieta altamente energética puede tener efectos en la programación del desarrollo de la progenie, pudiendo generar un fenotipo característico de enfermedades asociadas a la obesidad independientemente del ambiente posnatal. Aunque se ha estudiado ampliamente este fenómeno en modelos con animales experimentales, se conoce muy poco acerca de la efectividad de la intervención nutricional y sus efectos en el metabolismo materno, así como sus efectos en la progenie.

OBJETIVO

Evaluar algunas hormonas relacionadas con el metabolismo de lípidos y carbohidratos en ratas gestantes alimentadas con una dieta alta en grasa e intervenidas nutricionalmente previamente y durante la preñez.

METODOLOGÍA

Tabla 1. Composición y contenido energético de las dietas experimentales.

Componente (%)	Dieta Control	Dieta Alta en Grasa
Proteína	22.0	23.5
Manteca de Cerdo	0.0	20.0
Grasa (vegetal)	5.0	5.0
Polisacáridos	31.0	20.2
Azúcares Simples	51.0	20.2
Fibra	4.0	5.0
Vitaminas	1.0	1.0
Minerales	6.0	5.0
Contenido Energético	4 Kcal/g	5 Kcal/g

Figura 1. Patrón de alimentación de las hembras experimentales.

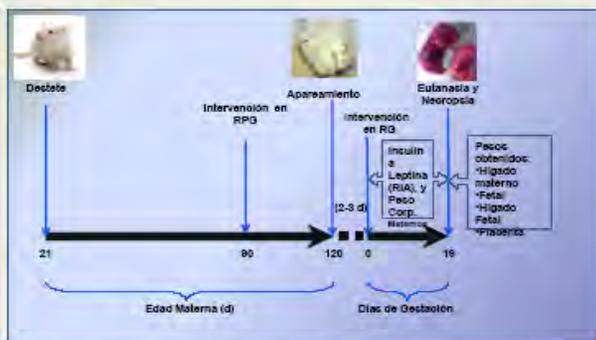
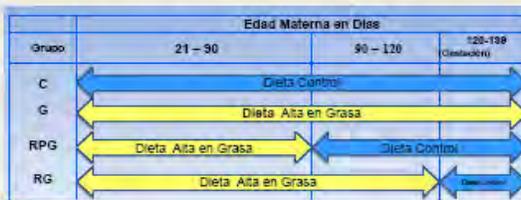


Figura 2. Línea del Tiempo del Experimento. Los eventos se señalan con las fechas sobre las líneas horizontal y los parámetros medidos se indican en los recuadros señalando el momento de su obtención.

RESULTADOS

Aunque no se observaron cambios en el peso corporal materno entre grupos al día 0 de gestación (dg), la concentración de insulina (fig.3) se restauró en el grupo RPG no así en el grupo RG (fig.4).

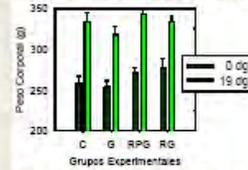


Figura 3. Peso Corporal Materno. Se muestra el peso corporal materno de los grupos experimentales al día 0 y 19 de gestación (dg). Los datos se muestran como la media ± error estándar, n=5 animales por grupo.

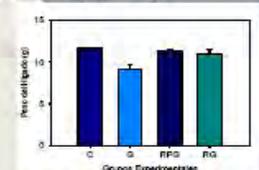


Figura 5. Peso del Hígado Materno a los 19 días de Gestación. Los datos se expresan como la media ± error estándar.

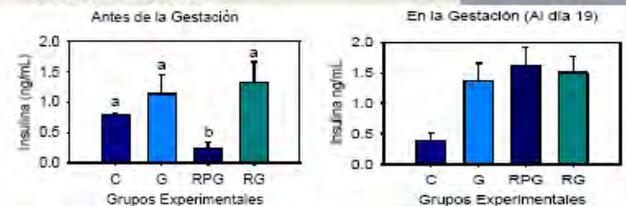


Figura 4. Insulina antes y al día 19 de gestación. Se muestra la concentración de insulina en suero de las madres de los diferentes grupos. Los datos se muestran como la media ± error estándar, n=5 animales por grupo, datos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes.

La concentración de leptina antes de la gestación se observó incrementada en el grupo RPG sin embargo, a los 19dg se recuperó en el grupo RPG pero no en el grupo RG (fig.5).

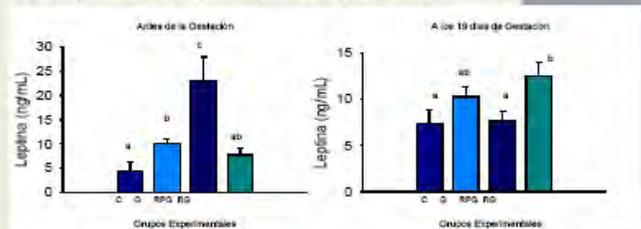


Figura 6. Leptina antes y al día 19 de gestación. Se muestra la concentración de insulina en suero de las madres de los diferentes grupos. Los datos se muestran como la media ± error estándar, n=5 animales por grupo, datos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes.

Tabla 2. Parámetros fetales al los 19 dg. Los datos se expresan como la media ± error estándar, n= 5 madres experimentales por grupo, datos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes (p<0.05).

Grupo Experimental	C	G	RPG	RG
Hembras Fetales	4.8 ± 0.6	5.0 ± 0.5	4.8 ± 0.5	3.2 ± 0.7
Machos Fetales	4.7 ± 0.5	4.5 ± 0.8	5.2 ± 0.4	5.0 ± 0.8
No. de Fetos /Madre	9.2 ± 0.8	9.5 ± 1.2	10 ± 0.9	10.2 ± 1.2
Peso Fetal Total (g)/Madre	19.1 ± 1.3a	22.6 ± 1.9ab	19.3 ± 3.1ab	25.2 ± 1.4b
Peso Fetal (g)	2.3 ± 0.2	2.2 ± 0.06	2.1 ± 0.2	2.7 ± 0.3
Peso de la Placenta (g)	0.5 ± 0.02	0.4 ± 0.02	0.4 ± 0.01	0.5 ± 0.04
Peso total de las placentas (g)/Madre	4.3 ± 0.05	4.7 ± 0.4	4.7 ± 0.3	5.2 ± 0.4
Peso Fetal y Placentario (g)	3.8 ± 0.2	2.7 ± 0.08	2.4 ± 0.3	3.1 ± 0.3
Peso Fetal y Placentario total (g)/Madre	23.4 ± 1.4a	27.3 ± 1.9b	22.9 ± 3.2ab	30.5 ± 1.5c
Peso Relativo del hígado fetal (%)	7.6 ± 1.1	8.8 ± 0.7	7.7 ± 0.1	7.4 ± 0.4
Peso Absoluto del hígado fetal (g)	0.17 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.20 ± 0.04

CONCLUSIÓN

La intervención nutricional iniciada un mes previo a la concepción pero no durante la gestación disminuye los efectos adversos de la dieta alta en grasa y la obesidad materna en el peso total de los productos de la concepción, así mismo la concentración de leptina materna al final de la preñez.



A. 3.3. Efectos de la Intervención Nutricional Previa y Durante la Gestación en la Obesidad Materna Sobre el Metabolismo de la Rata

Presentado oralmente como parte de las actividades del “L Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología” el 4 de diciembre de 2010 en Acapulco, Guerrero.

Revista de Endocrinología y Nutrición (Suplemento) Noviembre 2010, Pág. 47

SOCIEDAD MEXICANA DE NUTRICIÓN Y ENDOCRINOLOGÍA
 Antes de llenar la hoja, lea cuidadosamente los lineamientos
 Entregarla antes del 31 de Agosto del 2010. **NO HABRA PRORROGA**

EFFECTOS DE LA INTERVENCIÓN NUTRICIONAL PREVIA Y DURANTE LA GESTACION EN LA OBESIDAD MATERNA SOBRE EL METABOLISMO DE LA RATA

Ibáñez Carlos A¹, Martínez Samayoa Paola M^{*1}, Rodríguez González Guadalupe L^{*1}, Reyes-Castro LA¹, P.W. Nathanielsz^{*2}, Zambrano González E². Departamento de Biología de la Reproducción, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición S. Zubirán, México. ²Center for Pregnancy and Newborn Research, University of Texas Health Sciences Center San Antonio, TX.

Introducción. La obesidad materna es un problema de salud pública cuya prevalencia en mujeres en edad reproductiva ha incrementado dramáticamente. La obesidad materna y el consumo de dietas hipercalóricas antes y durante la gestación y la lactancia, programan la fisiología de la descendencia aumentando el riesgo de desarrollar alteraciones del metabolismo. Dicho efecto podría ser revertido con la intervención nutricional materna previa a la concepción, sin embargo este tema continúa siendo una pregunta de importancia clínica y fisiológica.

Objetivo. Estudiar el efecto de la intervención nutricional previa y durante la preñez sobre el metabolismo de la rata gestante con obesidad materna.

Material y métodos. Se utilizaron ratas hembra de la cepa Wistar para formar los siguientes grupos experimentales: el grupo de ratas madre control (Grupo C) que recibió dieta control durante todo el estudio. Los grupos donde se indujo obesidad, con una dieta grasa desde el destete hasta el apareamiento y durante la gestación y la lactancia (Grupo G). Otro grupo de ratas obesas recibió intervención nutricional un mes previo al embarazo (Grupo GC), cambiando a dieta control. Otro grupo obeso recibió dieta control al inicio de la gestación (Grupo GRg). Se registró el peso corporal e ingesta de alimento, se determinó la concentración de glucosa, colesterol, triglicéridos, así como insulina y leptina

antes y durante la gestación y la lactancia. Al final de la lactancia se extrajeron y pesaron los diferentes tipos de tejido adiposo. Los datos están expresados como la Media ± EE, se realizó el análisis estadístico por ANOVA de una vía.

Resultados. Antes del apareamiento el grupo G mostró mayor peso corporal (C= 249 ± 6, G= 287 ± 9, GC= 265 ± 4 g) y mayor concentración de leptina (C= 5.1 ± 1.5, G= 22.0 ± 4.1, GC= 9.4 ± 2.0 ng/mL) con respecto a los otros grupos. Estas variables fueron parcialmente recuperadas en el grupo GC. No hubo diferencias en la concentración de glucosa, insulina, colesterol y triglicéridos entre los grupos. Durante la gestación el grupo G presentó mayor peso corporal en comparación con los otros grupos, mientras que el grupo GC y GRg mantuvieron un peso similar al grupo C. Al final de la lactancia no se observaron diferencias en peso, sin embargo el grupo G mostró mayor concentración de leptina y este parámetro fue revertido en el grupo GC y GRg. La grasa total se recuperó parcialmente en GC y GRg (Figura 1); sin embargo, la grasa retroperitoneal se recupera en GRg parcialmente y en GC por completo (Tabla 1).

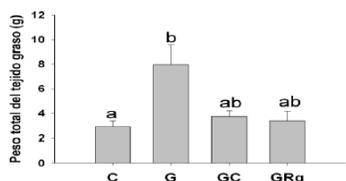


Figura 1. Tejido adiposo materno total a los 21 días de lactancia. p<0.05, datos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes

Tabla 1. Diferentes tipos de tejido adiposo materno a los 21 días de lactancia

GRASA	C	G	GC	GRg
Esternón	0.06±0.01a	0.2±0.04b	0.09±0.02a	0.1±0.02ab
Retroperitoneal	0.8±0.1a	2.8±0.6b	1.1±0.2a	1.2±0.4ab
Páncreas	0.4±0.2a	0.8±0.2b	0.5±0.04a	0.4±0.07a
Ovárica	0.7±0.1a	1.9±0.4b	0.8±0.1a	0.9±0.3ab
Uterina	1.0±0.2a	2.2±0.5b	0.9±0.08a	0.8±0.2ab

p<0.05, datos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes

Conclusiones. La intervención nutricional previa y durante la gestación de la rata con obesidad influye en la recuperación de variables metabólicas adversas que podrían alterar el ambiente intrauterino al que son sometidas las crías. Sin embargo, la recuperación es mayor cuando la intervención se realiza previa a la gestación.