



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS  
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**EL EFECTO DE LA SOBRENUTRICIÓN MATERNA POR EL CONSUMO CRÓNICO  
DE UNA DIETA DESEQUILIBRADA SOBRE EL ESTADO METABÓLICO DE LA  
DESCENDENCIA, EN *ORYCTOLAGUS CUNICULUS***

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**NANCY GRACIELA VIVEROS MORENO**

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. IVETTE CALDELAS SÁNCHEZ**

Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

**COMITÉ TUTOR: DRA. ANA MARÍA SALAZAR MARTÍNEZ**

Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

**DR. MAURICIO DÍAZ MUÑOZ**

Instituto de Neurobiología, UNAM

**MÉXICO, D.F. FEBRERO, 2016**



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.





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS  
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**EL EFECTO DE LA SOBRENUTRICIÓN MATERNA POR EL CONSUMO CRÓNICO  
DE UNA DIETA DESEQUILIBRADA SOBRE EL ESTADO METABÓLICO DE LA  
DESCENDENCIA, EN *ORYCTOLAGUS CUNICULUS***

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:

**NANCY GRACIELA VIVEROS MORENO**

**TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. IVETTE CALDELAS SÁNCHEZ**

Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

**COMITÉ TUTOR: DRA. ANA MARÍA SALAZAR MARTÍNEZ**

Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

**DR. MAURICIO DÍAZ MUÑOZ**

Instituto de Neurobiología, UNAM

**MÉXICO, D.F. FEBRERO, 2016**



Dr. Isidro Ávila Martínez  
Director General de Administración Escolar, UNAM.  
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 26 de octubre del 2015, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **VIVEROS MORENO NANCY GRACIELA** con número de cuenta **51401266-1** con la tesis titulada **"El efecto de la sobrenutrición materna por el consumo crónico de una dieta desequilibrada sobre el estado metabólico de la descendencia en *Oryctolagus cuniculus*"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. IVETTE CALDELAS SÁNCHEZ**:

Presidente: DR. JUAN MIRANDA RÍOS  
Vocal: DRA. MARÍA CRISTINA REGINA FERNÁNDEZ MEJÍA  
Secretaria: DRA. ANA MARÍA SALAZAR MARTÍNEZ  
Suplente: DRA. MARÍA CRISTINA REVILLA MONSALVE  
Suplente: DRA. ANDREA SACHI DÍAZ VILLASEÑOR

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F., a 22 de enero del 2016.

*M. del Coro Arizmendi*

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA  
COORDINADORA DEL PROGRAMA



## AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico brindado mediante la beca número 545837 durante el periodo de 01 de agosto de 2013 al 31 de julio de 2015.

A mi tutora principal; la Dra. Ivette Caldelas Sánchez y a mi comité tutor; la Dra. Ana María Salazar y al Dr. Mauricio Díaz Muñoz por su apoyo, orientación y comentarios para mejorar este trabajo.

## **AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS**

A los estudiantes del laboratorio que colaboraron con el manejo y mantenimiento de los animales, así como en la recolección de muestras de la parte experimental: P. MVZ. Juan Roberto Ortega Bernal, P. MVZ. César Moisés Ayala Hernández, P. Biól. Miguel Ángel García Aguirre, P. Psic. Yosset Barb Caldelas, N. Emma Beatriz Vázquez Barrientos, Biól. Lucero Anabel Trejo Muñoz, P. QFB. Karla Monserrat López Ortega y José Alberto Gutiérrez Bejarano.

A la M en C Erika Navarrete Monroy, por su apoyo técnico para la realización de la parte experimental de esta tesis.

A la Dra. Verónica Díaz, por realizar personalmente el sexado de las crías y en el asesoramiento de la parte experimental.

Al Lic. en Comp. Jonathan Facundo Viveros Moreno, por sus asesorías durante toda la maestría.

Al Biol. Exp. Eduardo Peña Mercado, por sus lecciones académicas.

A la Quím. Delia Arlete Castillo Mata, por la realización de las determinaciones de los diferentes metabolitos en las muestras.

### ***Agradecimientos especiales:***

A mis compañeras de laboratorio: Karla, Lucero y Yoss, porque mi mente y mi espíritu se enriqueció en cada sobremesa y en esos viajes interminables camino a casa.

A la señora Ale y a su familia. Porque ahora tengo una familia más grande con quienes compartir mis logros y mis frustraciones.

A mi familia. A mis padres, mis hermanos y mi pareja. Por su apoyo, su confianza, su motivación, su preocupación y su amor. Porque lo son todo. Gracias

Facundo y Graciela, lo que soy es por ustedes.

Amor y confianza.

Jonh, en las buenas y en las no tan buenas,  
en la cercanía y en la distancia.

Todo se toma con filosofía

Tony, mi alegría, mi amor y mi motivación en la vida.

Reírnos es tan divertido como molestarnos en ratos

## ÍNDICE

GLOSARIO .....	VIII
RESUMEN .....	IX
ABSTRACT .....	XI
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1. SÍNDROME METABÓLICO: GENERALIDADES .....	1
1.1 Definición de síndrome metabólico y antecedentes.....	1
1.2 Epidemiología del síndrome metabólico. Énfasis en la prevalencia femenina .....	4
1.3 Fisiopatología del síndrome metabólico .....	6
1.3.1 Obesidad .....	7
1.3.2 Resistencia a la Insulina .....	8
1.3.3 Estado proinflamatorio.....	8
1.3.4 Dislipidemia.....	9
1.3.5 Hipertensión arterial.....	11
2. ETIOLOGÍA DEL SÍNDROME METABÓLICO.....	11
2.1 Susceptibilidad genética .....	11
2.2 Consumo de dietas grasas y estilo de vida sedentario.....	12
2.3 Nutrición perinatal y la programación metabólica fetal .....	13
3. PROGRAMACIÓN METABÓLICA FETAL.....	14
3.1 Programación metabólica: Antecedentes .....	14
3.2 Programación metabólica inducida por obesidad y sobrenutrición materna .....	15
3.3 Mecanismos que subyacen a la programación metabólica.....	17
4. MODELO DE ESTUDIO PARA LAS ALTERACIONES METABÓLICAS .....	20
II. ANTECEDENTES.....	22
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	23
IV. HIPÓTESIS.....	24
V. OBJETIVO GENERAL.....	24

VI.	OBJETIVOS PARTICULARES.....	24
VII.	METODOLOGÍA .....	25
	7.1 Obtención y dieta de las hembras.....	25
	7.1.1 Obtención y tratamiento de muestras de las hembras .....	27
	7.2 Obtención y tratamiento de la descendencia.....	29
	7.2.1 Obtención y tratamiento de muestras de la descendencia .....	29
	7.3 Análisis estadístico .....	30
	7.3.1 Hembras.....	30
	7.3.2 Descendencia .....	30
VIII.	RESULTADOS .....	32
	8.1 Hembras.....	32
	8.1.1 Peso corporal de las hembras .....	32
	8.1.2 Ingesta de alimento y agua de las hembras.....	33
	8.1.3 Perfil metabólico de las hembras .....	35
	8.1.4 Presión arterial .....	39
	8.1.5 Peso de órganos y depósitos de grasa de las hembras al posparto .....	39
	8.2 Descendencia .....	40
	8.2.1 Patrón de crecimiento corporal de las crías.....	40
	8.2.2 Patrón de consumo de leche durante la lactancia en las crías .....	41
	8.2.3 Perfil metabólico de las crías al destete .....	42
	8.2.4 Peso de órganos y depósitos de grasa de las crías al destete .....	43
IX.	DISCUSIÓN .....	44
X.	CONCLUSIONES.....	50
XI.	LITERATURA CITADA.....	51

## LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1. Patrón de crecimiento corporal de las hembras.</i> .....	32
<i>Figura 2. Patrón de alimentación de las hembras.</i> .....	34
<i>Figura 3. Perfil metabólico de las hembras.</i> .....	38
<i>Figura 4. Peso de órganos y depósito de grasa de las hembras.</i> .....	39
<i>Figura 5. Patrón de crecimiento corporal de las crías.</i> .....	40
<i>Figura 6. Ingesta de leche materna durante la lactancia.</i> .....	41
<i>Figura 7. Perfil metabólico de crías al destete.</i> .....	42
<i>Figura 8. Porcentaje corporal de órganos y depósitos de grasa de crías al destete.</i> .....	43

## LISTA DE TABLAS

<i>Tabla 1. Definiciones del síndrome metabólico</i> .....	2
<i>Tabla 2. Definiciones del síndrome metabólico (Continuación)</i> .....	3
<i>Tabla 3. Criterios adicionales para el diagnóstico temprano de síndrome metabólico</i> .....	4
<i>Tabla 4. Evidencia epidemiológica de programación metabólica por sobrenutrición</i> .....	16
<i>Tabla 5. Composición nutrimental de la dieta</i> .....	26
<i>Tabla 6. Diseño experimental de las hembras de conejo Europeo</i> .....	31
<i>Tabla 7. Diseño experimental de las crías de conejo Europeo</i> .....	31
<i>Tabla 8. Resultados obtenidos de la prueba estadística ANOVA de dos vías del consumo de macronutrientes de las hembras durante los segmentos crecimiento y gestación</i> .....	35
<i>Tabla 9. Resultados obtenidos de la prueba estadística ANOVA de medidas repetidas de dos vías del perfil lipídico en hembras</i> .....	37
<i>Tabla 10. Presión sanguínea durante el crecimiento de hembras</i> .....	39
<i>Tabla 11. Ganancia de peso corporal de crías lactantes</i> .....	41

## GLOSARIO

**Desnutrición:** Condición resultante de una ingesta de alimentos que es, de forma continuada, insuficiente para satisfacer las necesidades de energía alimentaria, de una absorción deficiente y/o de uso biológico deficiente de los nutrientes consumidos. Habitualmente genera una pérdida de peso corporal.

**Dislipidemia:** Condición patológica asintomática, que es causada por concentraciones anormales de lipoproteínas sanguíneas.

**Hipercolesterolemia:** Condición patológica que se refiere al exceso de colesterol en sangre.

**Hiperglucemia:** Condición patológica que se refiere al exceso de glucosa en sangre.

**Hiperinsulinemia:** Condición patológica que se refiere al exceso de insulina en sangre.

**Hipertrigliceridemia:** Condición patológica que se refiere al exceso de triglicéridos en sangre.

**Insulina:** Hormona polipeptídica que se produce en el páncreas y su función es facilitar la absorción de la glucosa en diferentes tejidos.

**Lipoproteinlipasa:** Proteína que hidroliza triglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad en glicerol y ácidos grasos libres.

**Orexígeno:** Sustancia que aumenta o estimula el apetito.

**Periodo crítico del desarrollo:** Estadios del desarrollo en que el organismo es más receptivo o vulnerable a las influencias ambientales.

**Placenta hemocorial:** Tipo de placenta que conecta directamente al corion del tejido fetal con la sangre materna.

**Resistencia a la insulina:** Condición patológica que se refiere a la disminución de la capacidad de la insulina para producir la respuesta fisiológica sobre el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa.

**Sobrenutrición:** Estado crónico en el que la ingesta de alimentos es superior a las necesidades de energía alimentaria, generando sobrepeso u obesidad.

## RESUMEN

Evidencia epidemiológica y experimental indica que las manipulaciones en la dieta materna durante la gestación predispone a la descendencia al desarrollo de enfermedades metabólicas durante la vida postnatal, a través de un fenómeno denominado programación metabólica fetal. Este término hace referencia a la serie de adaptaciones fisiológicas, estructurales y moleculares de un organismo frente a un evento específico durante una ventana de tiempo crítica del desarrollo. Los efectos sobre el metabolismo de la progenitora y su descendencia se relacionan con la composición nutrimental y el tiempo de exposición a una dieta inadecuada. La evaluación del consumo materno de una dieta desequilibrada sobre la salud de la descendencia es de importante relevancia, debido a que esta dieta reproduce las prácticas alimentarias de las poblaciones humanas con alta prevalencia de obesidad e hiperlipidemia. El presente trabajo pretende determinar el efecto del consumo materno de una dieta con alto contenido de lípidos e hidratos de carbono, así como baja en proteínas y minerales, sobre el crecimiento corporal y el perfil metabólico de la descendencia durante etapas tempranas de la vida postnatal en el conejo Europeo. Hembras primíparas de conejo fueron alimentadas *ad libitum* con una dieta estándar, control (n=3), o con una dieta alta en aceite de soya (4%), colesterol (0.1%) y sacarosa (15%), sobrenutridas (n=7), desde la semana 10 de edad. A las 20 semanas de edad, las hembras de ambos grupos se aparearon con machos alimentados con dieta estándar. Posterior al parto, las hembras fueron sacrificadas para la obtención de tejido. Durante el crecimiento, gestación y posterior al parto, se registró el peso corporal, la ingesta de alimento y agua, la presión arterial, el perfil metabólico, así como el peso de órganos y depósitos de grasa, para evaluar el efecto de la ingesta de la dieta desequilibrada. Al nacer las crías de conejo de ambos grupos (crías control, n=13 y crías sobrenutridas, n=18) fueron alimentadas por hembras nodrizas que consumieron dieta estándar durante toda su vida. Desde el nacimiento hasta el destete, se evaluó el crecimiento corporal y la ingesta de leche materna. Al destete se registró el perfil metabólico, así como el peso de órganos y depósitos de grasa. En las hembras, el consumo prolongado de la dieta desequilibrada originó el incremento de colesterol total, lipoproteínas de baja densidad, así como el decremento de lipoproteínas de alta densidad antes y durante la gestación. Así mismo el peso de órganos como el hígado y el corazón se incrementó. Sin embargo, variables como la presión sanguínea, el peso corporal y la ingesta de agua no presentaron cambios. La exposición *in utero* a la dieta desequilibrada y a la dislipidemia materna no modificó el peso corporal, la ingesta de leche, el perfil metabólico, así como el peso de órganos y depósitos de grasas de las crías durante

la lactancia y al momento del destete. Estos resultados sugieren que los efectos de la exposición *in utero* a una dieta desequilibrada, así como a la dislipidemia materna no son observables en edades tempranas del desarrollo postnatal en el modelo de sobrenutrición materna inducida por la dieta desequilibrada en conejo.



## ABSTRACT

Epidemiological and experimental evidence indicates that the maternal dietary manipulations predisposes their offspring to the development of metabolic diseases during postnatal life, through a phenomenon called fetal metabolic programming. This term refers to a series of physiological, structural and molecular adaptations of an organism during a critical time in a specific window of development. Metabolic effects reported in dams and offspring are related to the nutritional composition and duration of dietary intake. Maternal nutritional imbalance mimic obese human habits during pregnancy, therefore the assessment of maternal consumption of an unbalanced diet on the offspring health is relevant. The aim of the current work was to determine in a rabbit model whether the intake of a high-lipid and -carbohydrates and low protein and -minerals diet during pregnancy leads to alteration in body growth and metabolic profile during early life in the offspring. Primiparous females of the European rabbit were fed *ad libitum* with a standard diet (CON, n=3) or with a soybean oil (4%), cholesterol (0.1%) and sucrose (15%) diet (SN, n=7) beginning in the 10<sup>th</sup> week until the 26<sup>th</sup> week of age. At 20 weeks of age the females mated with males who consumed the standard diet throughout their lives. After delivery, the females were sacrificed for tissue collection. To assess the effect of the diet on dams, body weight, feed and water intake, blood pressure, metabolic profile and weight of liver, adrenal glands, kidneys, stomach, heart and fat deposits were measured. At birth, the rabbit pups of both groups (offspring CON, n=13 and SN, n=18) were nursed by foster mothers who consumed a standard diet throughout life. From birth to weaning, the body growth and the ingestion of breast milk were evaluated. At weaning, the metabolic profile of each rabbit and weight of liver, kidneys, stomach and fat deposits were recorded. The results were that the prolonged consumption of the unbalanced diet did not modify the body weight, the water intake, or the blood pressure. However, females SN presented dyslipidemia before and during pregnancy. At the same time, the weight of organs such as the liver and heart increased. The exposure in the uterus to the unbalanced diet and to the maternal dyslipidemia did not modify the body weight, the milk intake, the metabolic profile or deposits of fat. These results suggest that the effects of in utero exposure to an unbalanced diet, as well as to the maternal dyslipidemia are not observable at early ages on a rabbit model.

## I. INTRODUCCIÓN

### 1. SÍNDROME METABÓLICO: GENERALIDADES

#### *1.1 Definición de síndrome metabólico y antecedentes*

El síndrome metabólico se define como el conjunto de anormalidades metabólicas consideradas como factores de riesgo cardiovascular y de diabetes tipo 2. Entre los componentes centrales del síndrome metabólico se encuentran: la obesidad, la hipertensión, la resistencia a la insulina, la intolerancia a la glucosa y la dislipidemia [1]. La presencia de diversas alteraciones metabólicas encontradas en el mismo individuo fue documentada a partir de la observación de pacientes con hipertensión, hiperglicemia e hiperuricemia en 1920, por Kylin E [2]. Décadas después, en 1988 Raven G. acuñó el término “Síndrome X”, para designar al conjunto de anormalidades metabólicas observadas en pacientes con diabetes tipo 2. El denominado “Síndrome X” incluye padecimientos tales como: resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, hipertensión, incremento en suero de triglicéridos, así como decremento en los niveles de lipoproteínas de alta densidad. Adicionalmente, Raven señaló que la resistencia a la insulina es el principal mecanismo desencadenante del “Síndrome X” [3].

Diversas organizaciones internacionales han propuesto criterios diagnósticos del síndrome metabólico con el objetivo de proveer una herramienta de diagnóstico útil para la práctica clínica [1]. Entre las definiciones aceptadas mundialmente se encuentran las producidas por: la Organización Mundial de la Salud [4], el Grupo Europeo de Estudio de Insulinorresistencia [5], el Programa Nacional de Educación en Colesterol-Tercer panel de tratamiento para el adulto [6], la Asociación Americana de Endocrinología Clínica [7], la Federación Internacional de Diabetes [8], la Asociación Americana del Corazón/Instituto Nacional del Corazón, Pulmones y Sangre [9] y la definición armonizada del síndrome metabólico [10] (Tabla 1 y 2). De manera conjunta, se ha observado que la obesidad y la resistencia a la insulina son los principales mecanismos desencadenantes del síndrome metabólico [8]. En general, para el diagnóstico clínico se requiere de la presencia del mecanismo desencadenante y de 2 o más componentes adicionales [1].

Tabla 1. Definiciones del síndrome metabólico

		Organización			
		WHO (1999) [4]	EGIR (1999) [5]	NCEP ATP III (2001) [6]	AACE (2002) <sup>a</sup> [7]
<b>Interés principal de la definición</b>	Recomendaciones designadas para formular una guía de trabajo.	Definición enfocada hacia la población no diabética.	Definición diseñada para facilitar el diagnóstico clínico.	Listar componentes que permitan el diagnóstico clínico a juicio médico.	
<b>Mecanismo desencadenante de síndrome metabólico</b>	<b>Resistencia a la insulina</b> O bien: Intolerancia a la glucosa, Alteración de la tolerancia a la glucosa o diabetes	<b>Niveles de insulina en ayuno</b> (Definido como hiperinsulinemia, valores superiores al 25% presentes en la población no diabética)	Trata a todas las anomalías metabólicas con la misma importancia. <b>Para el diagnóstico sugiere la presencia de tres o más elementos</b>	Trata a todas las anomalías metabólicas con la misma importancia. <b>Permite al especialista determinar la presencia de síndrome metabólico</b>	
<b>Componentes adicionales</b>	<b>Glucosa en ayuno</b>		≥ 6.1 mmol/l (110 mg/dl)	≥ 5.6 mmol/l (100 mg/dl)	≥ 6.1-6.9 mmol/l (110-125 mg/dl) O bien: 2 h posterior a un bolo de glucosa: 7.8-11.1 mmol/l (140-200 mg/dl)
	<b>Presión arterial</b>	≥ 140/90 mmHg	≥ 140/90 mmHg	≥ 130/85 mmHg	≥ 130/85 mmHg
	<b>Triglicéridos</b>	≥ 1.7 mmol/l	> 2.0 mmol/l (178 mg/dl)	≥ 1.7 mmol/l (150 mg/dl)	≥ 1.7 mmol/l (150 mg/dl)
	<b>Niveles de lipoproteínas de alta densidad</b>	Hombres: <0.9 mmol/l (35 mg/dl) Mujeres: <1.0 mmol/l (39 mg/dl)	< 1.0 mmol/l (39 mg/dl)	Hombres: < 1.03 mmol/l (40 mg/dl) y Mujeres: < 1.29 mmol/l (50 mg/dl)	Hombres: < 1.03 mmol/l (40 mg/dl) Mujeres: < 1.29 mmol/l (50 mg/dl)
	<b>Obesidad</b>	Hombres: relación cintura-cadera >0.90 y Mujeres: relación cintura-cadera >0.85	Hombres: circunferencia de la cintura ≥ 94 cm Mujeres: circunferencia de la cintura ≥ 80 cm	Hombres: circunferencia de la cintura > 102 cm Mujeres: circunferencia de la cintura ≥ 88 cm	IMC>25 kg/m <sup>2</sup>
<b>Microalbuminuria</b>	Tasa de excreción urinaria de albúmina ≥ 20 µg/min o bien: Tasa de albúmina:creatinina ≥ 30 mg/g				

<sup>a</sup>Organización que nombra como síndrome de insulinoresistencia a un cúmulo de alteraciones metabólicas, adicionalmente incluye criterios como: historia familiar de diabetes tipo 2, síndrome de ovario poliquístico, estilo de vida sedentario, edad avanzada y grupo étnico susceptible a diabetes tipo 2. **WHO**, La Organización Mundial de la Salud (World Health Organization). **EGIR**, Grupo Europeo de Estudio de Insulinoresistencia (The European Group for the Study of Insulin Resistance). **NCEP ATP III**, Programa Nacional de Educación en Colesterol-Tercer panel de tratamiento para el adulto (National Cholesterol Education Program-Third Adult Treatment Panel), **AACE**, Asociación Americana de Endocrinología Clínica (American Association of Clinical Endocrinology).

Tabla 2. Definiciones del síndrome metabólico (Continuación)

		Organización		
		IDF (2004) [8]	AHA/NHLBI (2005) [9]	Definición Armonizada (2009) [10]
<b>Interés principal de la definición</b>		Generar una definición consenso a nivel mundial e incorporar valores específicos para cada grupo étnico.	Generar una guía actualizada para los profesionales del diagnóstico y tratamiento del SM.	Unificar los criterios diagnósticos del síndrome metabólico
<b>Mecanismo desencadenante de síndrome metabólico</b>		<b>Obesidad central</b>	<b>Obesidad abdominal y Resistencia a la Insulina</b>	<b>Obesidad abdominal y resistencia a la insulina</b> Requiere de la presencia de 3 de los 5 componentes
<b>Componentes adicionales</b>	<b>Glucosa en ayuno</b>	≥ 5.6 mmol/l (100 mg/dl)	≥ 5.6 mmol/l (100 mg/dl)	≥ 100 mg/dl
	<b>Presión arterial</b>	≥ 130/85 mmHg	≥ 130/85 mmHg	≥ 130/85 mmHg
	<b>Triglicéridos</b>	Niveles plasmáticos elevados: ≥ 1.7 mmol/l (150 mg/dl)	≥ 1.7 mmol/l (150 mg/dl)	≥ 1.7 mmol/l (150 mg/dl)
	<b>Niveles de lipoproteínas de alta densidad</b>	Hombres: < 1.03 mmol/l (40 mg/dl) Mujeres: < 1.29 mmol/l (50 mg/dl)	Hombres: < 1.03 mmol/l (40 mg/dl) Mujeres: < 1.3 mmol/l (50 mg/dl)	Hombres: < 1.0 mmol/l (40 mg/dl) Mujeres: < 1.3 mmol/l (50 mg/dl)
	<b>Obesidad</b>	Utiliza el criterio del tamaño de la circunferencias de la cintura y genera valores para cada grupo étnico Europeos, Africanos, Este Medio y Mediterráneo: Hombre: ≥ 94 cm y Mujer: ≥ 80 cm Asia del Sur, Japón, China, América Central y América del Sur: Hombre: ≥ 90 cm y Mujer: ≥ 80 cm	Circunferencia de la cintura elevada. Hombres: circunferencia de la cintura ≥ 102 cm Mujeres: circunferencia de la cintura ≥ 88 cm	Definiciones específicas para cada país y etnia

**IDF**, Federación Internacional de Diabetes (International Diabetes Federation). **AHA/NHLBI**, Asociación Americana del Corazón/Instituto Nacional del Corazón, Pulmones y Sangre (American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute). **Definición armonizada del SM** (IDF, AHA/NHLBI, American Heart Association, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society and International Association for the Study of Obesity)

Recientemente, se han propuesto criterios diagnósticos adicionales (Tabla 3). Estos criterios pueden ser usados como signos y síntomas tempranos del síndrome metabólico. Sin embargo, será necesario indagar su poder predictivo como factores de riesgo adicionales de diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares [8].

En la actualidad se busca unificar los criterios clínicos utilizados para la identificación de componentes del síndrome metabólico con la finalidad de proveer una herramienta útil para el diagnóstico clínico y el estudio de la prevalencia mundial [10].

**Tabla 3. Criterios adicionales para el diagnóstico temprano de síndrome metabólico**

<b>Criterio adicional</b>	<b>Característica</b>
Distribución de los depósitos de grasa corporal	Distribución de la grasa corporal a nivel general y central Biomarcadores de tejido adiposo: incremento de leptina y decremento de adiponectina Contenido de grasa en tejidos e hígado graso
Dislipidemia aterogénica	Niveles altos de Apolipoproteína B y lipoproteínas de muy baja densidad
Disglucemia	Alteraciones en la prueba de tolerancia a la glucosa oral
Resistencia a la insulina	Niveles altos en ayuno de insulina y proinsulina Niveles de ácidos grasos libres elevados durante la prueba oral de tolerancia a la glucosa
Desregulación vascular	Medidas de disfunción endotelial; microalbuminuria
Estado pro-inflamatorio	Sensibilidad elevada a la proteína C-reactiva; citocinas inflamatorias elevadas
Estado protrombótico	Factores fibrinolíticos (PAI-1 etc.); factores de coagulación (fibrinógeno etc.)

[Tomado de 8]

### **1.2 Epidemiología del síndrome metabólico. Énfasis en la prevalencia femenina**

El síndrome metabólico es un problema de salud pública, cuyo alcance incrementa rápidamente en la mayoría de los países del mundo. Se estima que un cuarto de la población adulta a nivel mundial lo padece [8]. Sin embargo, es difícil establecer datos epidemiológicos exactos debido a las diferentes definiciones existentes. Así mismo, no es posible realizar la comparación directa entre poblaciones, en parte por los criterios diagnósticos empleados y por las diferencias en la historia genética, el tipo de dieta, los niveles de actividad física, el estatus socioeconómico, la edad y el sexo de la población, características que influyen en la prevalencia del síndrome y en sus componentes [11 y 12].

A partir de estudios epidemiológicos se ha observado que el síndrome metabólico afecta a un tercio de la población de Estados Unidos, a un cuarto de la población de Europa y a la mitad de la población Mexicana mayor a 20 años [13 y 14]. En la mayoría de los países del mundo la prevalencia oscila entre el 20% y 30% aproximadamente [11, 12 y 13]. De manera sobresaliente, México es uno de los países con una prevalencia alta con valores que oscilan entre el 40% y 60%

**[15 y 16]**. Así mismo, se puede observar una diferencia en la prevalencia entre sexo, siendo mayor en las mujeres que en los hombres para los países de América, mayor en los hombres que en las mujeres para los países asiáticos y no encontrando diferencias entre sexo para los países europeos. Las mujeres mexicanas se ven principalmente afectadas por enfermedades metabólicas desde edades tempranas (20 años) hasta edades avanzadas (>40 años) **[17 y 18]**.

La disparidad entre género en la prevalencia de síndrome metabólico corresponde principalmente a características biológicas tales como:

1. El efecto de las hormonas sexuales. Los estrógenos median procesos como la utilización de la glucosa, el comportamiento alimentario, la deposición de la grasa visceral y la presión arterial en las mujeres **[12]**.
2. Distribución y almacén de la grasa corporal. A pesar de que la distribución de grasa corporal varía entre individuos, es común que las mujeres presenten alto porcentaje de grasa corporal depositada en la parte inferior del cuerpo y mayor tejido adiposo subcutáneo (ginoide), mientras que los hombres tienen alto porcentaje de grasa depositada en la parte superior del cuerpo y mayor tejido adiposo visceral (androide). El tejido adiposo del tipo ginoide contiene mayor cantidad lipoproteinlipasa, así como de receptores a epinefrina del tipo alfa adrenérgico los cuales inhiben la lipólisis mediada a través de la lipasa sensible a hormonas, características que promueven el almacén de grasa corporal. En general, se conoce que las mujeres tienen mayor porcentaje de grasa corporal (20-25%) en comparación con los hombres (10-15%), lo cual sirve como almacén de energía para el embarazo y la lactancia **[12 y 19]**.
3. Metabolismo lipídico. El perfil lipídico femenino se caracteriza por la presencia de cantidades mayores de lipoproteínas de alta densidad en comparación al perfil lipídico masculino, sin embargo la concentración de triglicéridos y de lipoproteínas de baja densidad es similar entre género. A pesar de que los altos niveles de lipoproteínas de alta densidad presentes en las mujeres representan un menor riesgo cardiovascular, el perfil lipídico en la mujer varía a lo largo de la vida y la dislipidemia puede ocurrir principalmente durante el embarazo y en la menopausia **[12]**.
4. El embarazo. Durante el periodo de gestación existe un aumento de hormonas como la leptina y resistina. Así mismo, la concentración de grelina aumenta durante el segundo trimestre y baja en el tercero. Estas modificaciones hormonales se originan con el fin de lograr un adecuado aporte energético para la mujer embarazada y el feto, sin embargo

favorecen al desarrollo de la obesidad. Adicionalmente, se considera al último trimestre de la gestación como un estadio de inflamación de baja intensidad, debido a que los cambios ocurridos durante este periodo coinciden parcialmente con los de una respuesta inflamatoria **[18 y 19]**.

5. La menopausia. Periodo donde ocurre una disminución en la secreción de estrógenos por pérdida de la función folicular, lo cual se acompaña de un incremento en la incidencia de padecimientos como el síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares, entre otros **[19]**.

El enfoque orientado hacia la salud de la mujer es de importancia, sobre todo en edad reproductiva, debido a que las enfermedades metabólicas asociadas al síndrome metabólico pueden tener su origen durante el desarrollo perinatal a través de un fenómeno denominado programación metabólica fetal. Evidencia epidemiológica y de modelos animales sugieren que las condiciones adversas vividas durante etapas importantes del desarrollo pueden condicionar a la aparición de alteraciones metabólicas durante la vida postnatal **[20 y 21]**. En particular se ha observado que la exposición a la desnutrición y/o sobrenutrición materna durante la gestación y la lactancia, promueven el desarrollo de síndrome metabólico durante la vida adulta **[20]**.

### ***1.3 Fisiopatología del síndrome metabólico***

Los principales mecanismos que subyacen el síndrome metabólico son la obesidad central y la resistencia a la insulina **[10]**. De manera general, un balance positivo de energía conduce a un incremento de almacenamiento de grasa en el tejido adiposo, con el desarrollo de obesidad, la habilidad de los adipocitos para almacenar triglicéridos se ve excedida. Como consecuencia, los lípidos permanecen en suero, generando dislipidemia o son almacenados en otros tipos celulares, los cuales incluyen al hígado y al músculo esquelético. La presencia de lípidos de manera ectópica en los tejidos causa resistencia a la insulina. Al mismo tiempo el tejido graso es infiltrado con macrófagos y otras células inmunes, esto es debido a la expresión de monocitos quimioatrayentes y otras citocinas por parte del tejido graso. Las citocinas circulantes liberadas contribuyen a la resistencia a la insulina en músculo, hígado y otros tejidos **[22 y 23]**.

La resistencia a la insulina puede ser el mecanismo etiopatogénico común que conduce a alteraciones en el metabolismo lipídico, lo cual contribuye al mantenimiento de ácidos grasos libres, triglicéridos y glucosa en suero. A nivel central, el daño en la señalización a la insulina inhibe la supresión del apetito y promueve el desarrollo de la obesidad **[23 y 24]**.

La obesidad, la dislipidemia, la resistencia a la insulina y el establecimiento de un estado inflamatorio crónico pueden generar hipertensión, así como disfunción endotelial lo cual deriva en el desarrollo de aterosclerosis [22].

### **1.3.1 Obesidad**

La obesidad se caracteriza por la acumulación de tejido adiposo causado por la hipertrofia y/o hiperplasia de los adipocitos. Se han descrito dos tipos de obesidad según la distribución del tejido adiposo: 1) la obesidad de la parte superior del cuerpo, también llamada obesidad central o abdominal, que se divide a su vez en obesidad visceral y subcutánea y 2) la obesidad de la parte inferior del cuerpo conocida como obesidad periférica o glúteo-femoral. La obesidad central se correlaciona con el aumento de enfermedades metabólicas y riesgo cardiovascular ya que el tejido adiposo abdominal es metabólicamente más activo que el periférico [22 y 24].

Los adipocitos liberan ácidos grasos libres hacia el torrente sanguíneo a través de la acción de la lipasa sensible a hormonas. Con el incremento del tejido adiposo visceral, se liberan ácidos grasos hacia el hígado vía circulación esplácnica, mientras que el incremento de grasa subcutánea libera productos lipolíticos a la circulación periférica. La liberación en exceso de ácidos grasos, así como su posterior alojamiento de manera ectópica, conducen a la aparición de lipotoxicidad, resistencia a la insulina e inflamación en los tejidos [24 y 25].

La lipotoxicidad se debe a que la  $\beta$  oxidación no es suficiente para mantener los niveles de ácidos grasos en equilibrio al interior de la célula. Como resultado, los ácidos grasos son redirigidos hacia vías metabólicas alternativas que generan la acumulación intracelular de metabolitos tóxicos, como las especies reactivas de oxígeno, las cuales provocan la muerte celular y la disfunción orgánica. En el páncreas, la lipotoxicidad genera disfunción de las células  $\beta$ , lo cual contribuye a la disminución de la insulina [25].

El incremento del tejido adiposo puede conducir al desarrollo de hígado y páncreas graso no alcohólico debido al continuo flujo y almacén de triglicéridos en dichos tejidos. La lipotoxicidad y la resistencia a la insulina, originadas a nivel local en el hígado y el páncreas contribuyen al desarrollo de un proceso inflamatorio y fibrosis, lo cual provoca cirrosis hepática no alcohólica o pancreatitis crónica respectivamente [24 y 25].

Los adipocitos hipertróficos son menos sensibles a la acción antilipolítica de la insulina, así mismo expresan un alto nivel de citocinas y quimiocinas proinflamatorias, que pueden interferir

con la acción de la insulina para suprimir la lipólisis. Lo anterior contribuye a la continua liberación de ácidos grasos libres [22 y 24].

La obesidad central se asocia con un decremento en la producción de adiponectina, adipocina que tiene funciones anti-diabéticas, anti-inflamatorias y anti-ateroesclerótica. La adiponectina promueve la sensibilidad a la insulina e inhibe pasos del proceso inflamatorio. En el hígado, inhibe la expresión de enzimas gluconeogénicas hepáticas y por lo tanto la producción de glucosa endógena. En el músculo, incrementa el transporte de glucosa y mejora la oxidación de los ácidos grasos [23 y 24].

### **1.3.2 Resistencia a la Insulina**

La resistencia a la insulina se caracteriza por la disminución de la capacidad de la insulina para ejercer sus acciones en los tejidos diana [26]. El principal factor que contribuye al desarrollo de la resistencia a la insulina es el exceso de ácidos grasos circulantes, que provienen de las reservas de triglicéridos. Los ácidos grasos inhiben la cascada de señalización de la insulina mediante la activación de la proteína cinasa C. Esta proteína fosforila las serinas del sustrato del receptor de insulina (IRS-1). Adicionalmente, proteínas como la cinasa c-Jun liberada durante el proceso inflamatorio, tienen la capacidad de fosforilar los residuos de serina del IRS-1. La inhibición de la cascada de señalización de la insulina conduce a un decremento en la translocación de los transportadores de glucosa ocasionando una disminución en la captación de la glucosa [22 y 26].

En condiciones de resistencia a la insulina, las células no pueden captar la glucosa sérica. En consecuencia, el páncreas produce una mayor cantidad de insulina para mantener los niveles normales de glucemia, lo cual se conoce como hiperinsulinemia compensatoria. Sin embargo la resistencia a la insulina conduce al agotamiento de las células beta del páncreas. Una vez que el páncreas no puede producir suficiente insulina, la glucosa en sangre aumenta provocando un estado de hiperglucemia que puede derivar en diabetes tipo 2 [8 y 26]. La progresión de resistencia a la insulina a diabetes tipo 2, depende de la habilidad de las células pancreáticas para mantener los niveles de insulina lo suficientemente altos para limitar la hiperglucemia [22 y 23].

### **1.3.3 Estado proinflamatorio**

La obesidad se asocia con el establecimiento de un estado crónico inflamatorio de bajo grado, el cual también está presente con otras enfermedades tales como diabetes tipo 2, hipertensión, dislipidemia y enfermedades cardíacas [22 y 23].

El tejido adiposo tiene la función del almacenamiento de reservas de energía y de la secreción de hormonas y péptidos implicados en la regulación del peso corporal, el sistema inmune y en la función vascular. El adipocito y los macrófagos del tejido adiposo secretan citocinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, proteína C reactiva, etc.), las cuales se encuentran incrementadas en la obesidad **[23 y 27]**.

El establecimiento del estado crónico inflamatorio en el tejido adiposo comienza por la infiltración de macrófagos en respuesta a:

- 1) La producción elevada de citocinas, adipocinas y quimiocinas (TNF- $\alpha$ , IL-6, resistina, inhibidor del activador del plasminógeno-1, angiotensinógeno, leptina, adiponectina y proteína 1 quimioatrayente de monocitos) por los adipocitos hipertróficos.
- 2) La hipoxia del tejido adiposo resultante de la insuficiencia de oxígeno en los adipocitos hipertróficos.
- 3) La necrosis del adipocito y la subsecuente liberación de su contenido celular en el espacio extracelular **[27]**.

Los macrófagos y los adipocitos promueven la expresión de genes proinflamatorios, tales como: proteína 1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1, por Monocyte Chemoattractant Protein-1), la molécula de adhesión vascular (VCAM-1, por Vascular Cell Adhesion Molecule-1), la molécula de adhesión intercelular (ICAM-1, por Intercellular Adhesion Molecule-1) y una variedad de interleucinas, promoviendo el reclutamiento de células del sistema inmune **[27]**.

En el proceso de inflamación del tejido adiposo, el desequilibrio entre las células inmunes se traduce en la producción de quimiocinas y citocinas proinflamatorias que promueven la inflamación sistémica y la resistencia periférica a la insulina **[23 y 27]**.

#### **1.3.4 Dislipidemia**

La dislipidemia se caracteriza por la elevación de triglicéridos, lipoproteínas de baja y muy baja densidad, así como el descenso de lipoproteínas de alta densidad, lo que se ha denominado como fenotipo lipoproteico aterogénico **[28]**.

En condiciones normales, el transporte de colesterol y triglicéridos provenientes de la dieta (exógeno) se da a través de los quilomicrones en circulación, los cuales transfieren los triglicéridos a las células del tejido adiposo y del músculo. Las partículas residuales de los quilomicrones

contienen colesterol, que es absorbido por el hígado para sintetizar las lipoproteínas de muy baja densidad o excretarlo con la bilis. Las lipoproteínas de muy baja densidad transportan los triglicéridos producidos por el hígado (endógeno) hacia el tejido adiposo y el músculo. Las partículas residuales de las lipoproteínas de muy baja densidad se transforman en lipoproteínas de baja densidad y transportan al colesterol hacia el hígado y a tejidos periféricos para utilizarlo en la reparación de la membrana celular y en la síntesis de hormonas. Las lipoproteínas de baja densidad se eliminan de la circulación por medio de sus receptores correspondientes o por medio de células depuradoras, como monocitos o macrófagos. Las lipoproteínas de alta densidad se sintetizan en el hígado y conducen al colesterol de los tejidos periféricos al hígado, donde es excretado en los ácidos biliares (transporte reverso de colesterol) **[24 y 28]**.

En condiciones de obesidad o debido al consumo de dietas altas en calorías, se incrementa la producción de las lipoproteínas de muy baja densidad lo que resulta en el aumento de triglicéridos y de lipoproteínas de baja densidad. Así mismo, el consumo excesivo de dietas ricas en colesterol, triglicéridos y grasas saturadas, aumentan la síntesis de colesterol e inhiben la producción de receptores de lipoproteínas de baja densidad, por lo cual se reduce su eliminación. Cuando el aumento en los niveles de lipoproteínas de baja densidad supera la disponibilidad de las células depuradoras, estas no son aclaradas. Por otro lado, el bloqueo de la lipólisis de las lipoproteínas de baja densidad conduce a una reducción en la concentración de las lipoproteínas de alta densidad, mediante la disminución de la transferencia de lípidos a su compartimento **[22 y 28]**.

En condiciones de resistencia a la insulina, los niveles de ácidos grasos se incrementan en sangre lo que conduce al incremento de las lipoproteínas de muy baja densidad. La insulina juega un papel importante en la degradación de las apolipoproteína (Apo) B de las lipoproteínas de muy baja densidad, la incapacidad de suprimir la degradación de la Apo B en condiciones de resistencia a la insulina, resulta en el incremento de las lipoproteínas de baja y muy baja densidad. Finalmente, la hiperinsulinemia disminuye la secreción de Apo A, lo cual genera la disminución de las lipoproteínas de alta densidad **[28]**.

Las lipoproteínas de baja densidad tienen mayor capacidad de penetración en la íntima de los vasos sanguíneos, además de presentar mayor susceptibilidad a la oxidación. La absorción de estas moléculas por macrófagos presentes en las paredes de las arterias puede causar la acumulación de células espumosas, lo cual conduce a la formación de una placa aterosclerótica y de riesgo de infarto **[22, 23 y 28]**.

### **1.3.5 Hipertensión arterial**

La hipertensión arterial se caracteriza por el aumento de la presión sanguínea en las arterias, lo cual es originado por la resistencia a la insulina, la obesidad y la inflamación [29].

La resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia resultante inducen la elevación de la presión arterial por la activación del sistema nervioso simpático y del sistema renina-angiotensina-aldosterona. En el primer caso la hiperinsulinemia aumenta la actividad simpática mediada por insulina a través del incremento de los niveles de norepinefrina, como consecuencia la frecuencia cardíaca y la presión arterial aumentan. En el caso de la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, los niveles elevados de insulina estimulan la producción de angiotensina II en los vasos sanguíneos y en el corazón. La angiotensina II actúa a través de los receptores de angiotensina I inhibiendo los efectos vasodilatadores de la insulina sobre los vasos sanguíneos. La hiperactividad del receptor angiotensina I conduce a la vasoconstricción y a la subsecuente hipertensión arterial. Adicionalmente, la angiotensina II impide la acción de la fosfatidilinositol cinasa-3 (PIK3), lo cual inhibe la síntesis de óxido nítrico y se reduce la captación de glucosa sérica por la disminución en la translocación de los transportadores de glucosa [22 y 29].

La obesidad y el consumo de dietas altas en grasa estimulan a los receptores adrenérgicos que elevan la actividad simpática y como consecuencia la presión arterial así como la frecuencia cardíaca. La circulación de ácidos grasos libres en exceso puede actuar como vasoconstrictores aumentando la presión arterial. La secreción en exceso de resistina y leptina, así como la disminución de adiponectina se han asociados con el incremento de la presión arterial y disfunción endotelial [23 y 29].

## **2. ETIOLOGÍA DEL SÍNDROME METABÓLICO**

La etiología del síndrome metabólico permanece en debate, sin embargo se atribuye a una serie de eventos multifactoriales tales como: la susceptibilidad genética [30 y 31], el consumo de dietas altas en grasas y azúcares refinados [32 y 33], el estilo de vida sedentario [34] y a la nutrición perinatal [35].

### **2.1 Susceptibilidad genética**

En el caso de la obesidad, se reconocen dos formas genéticas: la obesidad monogénica y la obesidad poligénica, esta última representa la forma más frecuente de la obesidad. La mayoría de

los genes alterados codifican para proteínas relacionadas con la regulación del equilibrio entre saciedad y apetito [30].

En el caso de la resistencia a la insulina, se sabe que una serie de desórdenes raros, como anomalías genéticas de los receptores o anticuerpos de los receptores de insulina pueden provocar la resistencia de los tejidos a la insulina. Sin embargo, los factores ambientales tienen mayor influencia en desarrollo de resistencia a la insulina y de diabetes tipo 2 [31].

## **2.2 Consumo de dietas grasas y estilo de vida sedentario**

La calidad más que la cantidad de la ingesta de grasas parece ser el principal factor determinante de la obesidad, resistencia a la insulina e hipertensión. El consumo de grasas saturadas aumenta los niveles de glucosa y ácidos grasos libres en suero, por lo que se ha asociado con el desarrollo de dislipidemia y resistencia a la insulina. El consumo de grasas mono y poli insaturadas reduce el riesgo de desarrollar hipertensión y enfermedades cardiovasculares [32 y 33].

A partir de estudios en modelos animales y de estudios *in vitro*, se ha observado que las grasas saturadas inhiben la captación celular de las lipoproteínas de baja densidad, en consecuencia estas incrementan en suero. En el hígado, los ácidos grasos saturados suprimen la actividad de la enzima acil coenzima A:colesterol aciltransferasa que participa en la formación de ésteres de colesterol, lo cual genera un incremento de la concentración de esta molécula en los hepatocitos. Por otro lado, el consumo de ácidos grasos mono- y poli- insaturados incrementan los niveles del receptor celular para las lipoproteínas de baja densidad y reducen los niveles de Apo B, por lo tanto las lipoproteínas de baja densidad pueden ser degradadas a una velocidad mayor. Así mismo, los ácidos grasos mono- y poli- insaturados promueven el incremento de la Apo A y en consecuencia los niveles de las lipoproteínas de alta densidad aumentan [32].

Evidencia epidemiológica sugiere que el consumo de dietas cuyos componentes nutricionales se encuentran en proporciones desequilibradas, promueven el desarrollo de enfermedades crónicas [32 y 36]. El consumo de la dieta tipo occidental, que se caracteriza por un bajo contenido de vitaminas y un alto contenido de sales, azúcares refinados y grasas saturadas, conducen a la síntesis de lipoproteínas de baja y muy baja densidad, al aumento de la presión arterial y al desarrollo de resistencia a la insulina. Por el contrario el consumo de una dieta tipo mediterránea caracterizada por ser equilibrada y contener una cantidad baja de grasas saturadas y una cantidad alta de grasas insaturadas, hidratos de carbono, fibra, vitamina y minerales procedentes de

cereales, aceites vegetales, frutas y verduras, disminuye la prevalencia de algunos trastornos metabólicos (obesidad, hipertensión) y de enfermedades coronarias [34 y 36].

En particular, la práctica alimentaria en la población mexicana se caracteriza por ser desequilibrada. La dieta promedio del mexicano es alta en grasas y azúcares refinados, pero baja en proteínas de origen animal y vegetal. El Instituto Mexicano del Seguro Social informó en julio del 2015, que el 95% de la obesidad en la población mexicana se debe al consumo excesivo de grasas y azúcares refinados [37].

Por otro lado, el comportamiento sedentario ha sido implicado como un factor de riesgo para el desarrollo de obesidad y diabetes tipo 2, debido a la disminución en el gasto energético y la inutilización de las reservas de lípidos e hidratos de carbono. En contraparte, durante la actividad física, el adipocito es sensibilizado a la acción de las catecolaminas, favoreciendo el catabolismo de los lípidos y el músculo captura la glucosa sérica para obtener energía, por lo cual se reduce la hiperglucemia [34].

### ***2.3 Nutrición perinatal y la programación metabólica fetal***

El desarrollo embrionario se considera como un periodo crítico, vulnerable a las influencias medioambientales [35]. Evidencia epidemiológica y estudios en modelos animales indican que la condición materna, como la desnutrición, la obesidad o el consumo de dietas hipocalóricas e hipercalóricas durante el embarazo, son un factor de riesgo de síndrome metabólico, enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2 en la descendencia durante la vida postnatal [20, 21 y 38]. Las alteraciones metabólicas observables en la descendencia son atribuidas al fenómeno llamado programación metabólica fetal [38]. Bajo esta concepción, los fenotipos salud o enfermedad son consecuencia de las interacciones entre la genética, la nutrición y el ambiente, empezando al momento de concepción [20].

### 3. PROGRAMACIÓN METABÓLICA FETAL

El término de programación fetal se refiere a los estímulos (hormonas, metabolitos y neurotransmisores) que actúan en un periodo crítico o sensible de la vida, y que ejercen un efecto a largo plazo en una estructura somática o un sistema fisiológico [35]. Un número importante de evidencia epidemiológica y de modelos animales han mostrado que las condiciones nutricionales durante estados del desarrollo predispone a la descendencia al desarrollo de enfermedades como obesidad, diabetes tipo 2 y alteraciones cardiovasculares [20, 39, 40 y 41]. En particular, se utiliza el término programación metabólica para nombrar al fenómeno por medio del cual se originan diversas alteraciones metabólicas durante la vida postnatal, debido a factores ambientales maternos. La programación metabólica hace referencia a la respuesta de un organismo frente a un “desafío/reto” específico durante una ventana de tiempo crítica del desarrollo que resulta en la alteración de la trayectoria del desarrollo con efectos sobre la salud que persisten a lo largo de la vida [41].

#### 3.1 Programación metabólica: Antecedentes

Barker en 1990 [40] mostró el vínculo entre el desarrollo fetal en un ambiente intrauterino inadecuado y la muerte por enfermedades cardiovasculares durante la edad adulta, a partir de estudios epidemiológicos de una cohorte de individuos nacidos de madres desnutridas en Reino Unido. Con base en estas observaciones propuso la hipótesis del “origen fetal de enfermedades del adulto”. Posteriormente, Lucas en 1991 [42] introdujo la palabra “programación”, término utilizado para describir el vínculo entre la vida fetal y sus consecuencias a largo plazo. Más tarde, Barker y Hales en 1992 [43], propusieron la hipótesis del fenotipo ahorrador para explicar la relación entre los patrones de crecimiento temprano y la salud a largo plazo. La idea central de esta hipótesis es que durante momentos de desnutrición, el feto en crecimiento adopta un número de estrategias para maximizar la probabilidad de sobrevivir después del parto en condiciones nutricionales similares [35 y 43]. En 1999 Waterland y Garza [revisado en 44] propusieron el término de “impronta metabólica” para describir la respuesta adaptativa a condiciones nutricionales específicas que ocurre en periodos de sensibilidad y que persisten hasta la edad adulta. Gluckman y Hanson en 2004 [45] propusieron la hipótesis de la respuesta adaptativa predictiva, la cual propone que un desajuste entre el ambiente pre- y postnatal, es el principal desencadenante de enfermedades metabólicas. El desequilibrio entre los ambientes pre- y postnatales pueden entrar en conflicto con la programación que se produjo durante la vida fetal

y predisponer a la descendencia hacia el desarrollo de enfermedades metabólicas en la edad adulta [20, 44 y 45]. Posteriormente, en el año 2005 se propuso la hipótesis del origen de la salud y enfermedad, la cual señala que la susceptibilidad a la enfermedad cardiovascular, la diabetes tipo 2 y el síndrome metabólico es programada *in utero* como respuesta a la malnutrición fetal. La hipótesis plantea que las alteraciones del desarrollo se producen a través de cambios en la actividad de genes mediante procesos epigenéticos. Los cambios en la expresión y/o la acción de genes pueden mediar respuestas a los desafíos en la edad adulta, como la mala alimentación o estilo de vida poco saludable y así afectar el riesgo de la enfermedad en todo el curso de la vida. Intervenciones oportunas pueden reducir el riesgo de enfermedad en los individuos y también limitar su transmisión a la siguiente generación [44 y 45].

Inicialmente, los estudios de programación metabólica bajo condiciones de malnutrición, se centraron en la evaluación de los efectos de la desnutrición materna en cohortes de recién nacidos durante los periodos de hambrunas ocurridas en diferentes partes del mundo, por ejemplo: la hambruna de invierno en Holanda en 1944, la hambruna de Leningrado de 1941 a 1944 y la hambruna en China de 1958 a 1961 [revisado en 46]. Estos estudios proveen información importante sobre los efectos transgeneracionales de la desnutrición materna y la subsecuente obesidad en la descendencia [revisado en 46]. En la actualidad, el interés mundial está orientado hacia el estudio de la programación del feto debido a la obesidad materna, el exceso de ganancia de peso y al consumo de dietas altas en calorías durante la gestación [47].

### ***3.2 Programación metabólica inducida por obesidad y sobrenutrición materna***

Como se mencionó, la prevalencia de signos y síntomas del síndrome metabólico entre las mujeres gestantes es un problema de salud mundial. En general, las mujeres con problemas de obesidad u otras alteraciones metabólicas antes del embarazo, consumen dietas altas en el contenido de grasa durante el embarazo, así mismo las mujeres embarazadas con problemas de sobrepeso previo al embarazo, ganan mayor porcentaje de peso de lo recomendado para cada trimestre del embarazo [17, 18 y 47]. Lo anterior genera un inmediato riesgo a la salud de la madre, como diabetes gestacional y preeclampsia, así como potenciales consecuencias al producto, como resistencia a la insulina, enfermedades cardiovasculares y aterosclerosis, alteraciones observables durante la infancia, la adolescencia y en la edad adulta (Tabla 4) [48, 52 y 54].

Tabla 4. Evidencia epidemiológica de programación metabólica por sobrenutrición

Lugar de estudio	Diseño experimental	Característica materna durante la gestación	Observaciones en la descendencia
Ohio 2004 [50]	Estudio de la descendencia nacida entre 1992 y 1996, durante los primeros 4 años de vida	Madres obesas gestantes con índice de masa corporal $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup> y no obesas gestantes con índice de masa corporal $< 30$ kg/m <sup>2</sup>	Obesidad en niños de 2, 3 y 4 años
Italia 2008 [51]	Estudio en jóvenes de 23 años	Madres obesas *	Obesidad y sobrepeso Resistencia a la insulina
Reino Unido 2010 [52]	Estudio en niños de 9 años que nacieron entre 1991 y 1992 a partir de madres obesas	Madres obesas antes y durante la gestación *	Incremento en los niveles de: Leptina, presión sistólica e índice de masa corporal
Finlandia 2010 [48]	Estudio en adolescentes de 16 años que nacidos en 1986	Madres obesas gestantes con índice de masa corporal $\geq 25$ Kg/m <sup>2</sup> y no obesas gestantes con índice de masa corporal $< 25$ Kg/m <sup>2</sup>	Obesidad, sobrepeso y grasa abdominal
Reino Unido 2011 [49]	Seguimiento durante la gestación de madres con diferentes grados de IMC y estudio en fetos e infantes	Madres con IMC entre 16.7 y 36 Kg/m <sup>2</sup>	Incremento de lípidos en hepatocitos y tejido adiposo de acuerdo al incremento del índice de masa corporal materno
Jerusalén 2012 [53]	Estudio en pacientes de 32 años de edad nacidos entre 1974 y 1976	Madres obesas*	Incremento de insulina en ayuno y triglicéridos en plasma
Escocia 2013 [54]	Estudio en adultos de 34 a 61 años nacidos entre 1950 y 197 con enfermedad cardiovascular	Madres obesas gestantes* con índice de masa corporal $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup> y no obesas gestantes con índice de masa corporal $< 30$ kg/m <sup>2</sup>	Asociación positiva entre el índice de masa corporal de la madre durante la gestación y muerte por enfermedades cardiovasculares

\*Condición materna conocida por registros médicos durante su embarazo

Los efectos de la exposición a condiciones alimenticias adversas *in utero*, sobre el funcionamiento corporal y los circuitos hipotalámicos reguladores del metabolismo e ingesta de alimento han sido principalmente explorados en modelos animales [revisado en 35]. Estos modelos establecen que las crías de madres que consumieron una dieta con alto contenido de grasa, así como las crías de madres obesas y de madres diabéticas presentan signos y síntomas asociados al síndrome metabólico tales como:

1. Bajo peso al nacer e incremento acelerado de peso corporal durante la lactancia [55, 56 y 57].
2. Obesidad definida por el incremento en el porcentaje de adiposidad visceral, perirrenal e interescapular, observable posterior al parto y durante la edad adulta [56, 58 y 59].
3. Incremento en la expresión de biomarcadores proinflamatorios en el tejido adiposo fetal y tejido adiposo de individuos adultos [56 y 60].

4. Hiperglucemia durante el desarrollo del feto, en estadios juveniles y durante la edad adulta **[51, 56 y 58]**.
5. Hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia e hiperleptinemia, observadas principalmente en la descendencia masculina en estadios juveniles y durante la edad adulta **[55 y 61]**.
6. Hiperinsulinemia o alteraciones en la sensibilidad a la insulina, en estadios juveniles y durante la edad adulta **[56, 57, 62 y 63]**.
7. Daños cardiovasculares como la formación de placas ateroscleróticas, morfología anormal en los vasos sanguíneos e incremento en el tamaño de la capa íntima y presión arterial elevada, observable durante la edad adulta **[56, 63 y 64]**.
8. Incremento de marcadores de estrés oxidativo y alto contenido de triglicéridos en hepatocitos, observable en estadios juveniles y en la edad adulta **[57, 64 y 65]**.
9. Alteraciones estructurales en páncreas, observables durante estadios juveniles y en la edad adulta **[58]**.
10. Mantenimiento de las señales positivas de las vías orexigénicas, así como hiperfagia, hipoactividad y preferencia por el consumo de dietas altas en grasa **[66 y 67]**.

### ***3.3 Mecanismos que subyacen a la programación metabólica***

Los mecanismos que subyacen la programación metabólica no son del todo conocidos, sin embargo se han propuesto varias hipótesis de cómo el ambiente materno influye en el desarrollo de alteraciones metabólicas en la descendencia:

1. *Programación metabólica fetal mediada por la exposición al síndrome metabólico materno durante la gestación.*

La presencia de síndrome metabólico materno durante el desarrollo del feto expone a la descendencia a altos niveles de ácidos grasos, glucosa, triglicéridos, insulina, leptina y citocinas proinflamatorias, los cuales pueden actuar directamente sobre el tejido fetal o pueden propiciar un ambiente inadecuado para el desarrollo del feto. El incremento de los metabolitos circulantes modula la programación a nivel central sobre los circuitos reguladores de la ingesta de alimento y a nivel periférico sobre la diferenciación del tejido adiposo y sobre la regulación de la glucosa, insulina y ácidos grasos **[67, 68 y 69]**.

La glucosa materna en exceso es transferida a través de la placenta hacia el torrente sanguíneo del feto. En consecuencia, se produce hiperglucemia en el feto debido a la producción endógena y al suministro materno. El feto produce altos niveles de insulina en respuesta a la hiperglucemia. La hiperinsulinemia fetal conduce a nivel central, a la inestable organización del núcleo hipotalámico ventromedial y del núcleo hipotalámico dorsomedial (circuitos del balance energético) lo que causa hiperfagia y obesidad después del nacimiento [67]. A nivel periférico se promueve el almacenamiento de glicógeno y ácidos grasos en el hígado, músculo y tejido adiposo fetal, que resulta en el incremento de los depósitos de grasa, estado proinflamatorio, hipertrofia cardíaca y resistencia a la insulina [68].

El ambiente inflamatorio materno produce citocinas que se difunden a través de la placenta hacia el torrente sanguíneo del feto. Las citocinas en el feto pueden conducir al desarrollo de un estado inflamatorio [68].

La hipertensión materna promueve la insuficiencia placentaria, que se caracteriza por el decremento en el transporte materno de nutrientes y oxígeno hacia el feto, lo cual origina descendencia con retraso en el crecimiento intrauterino. En la insuficiencia placentaria se incrementan las citocinas inflamatorias, por lo tanto se contribuye al desarrollo del ambiente inflamatorio en el feto [68 y 69].

La placenta produce leptina que se infiltra en la circulación del feto. En consecuencia, se genera hiperleptinemia que a nivel central tiene efectos anómalos sobre el desarrollo de los circuitos neuronales, originando el mantenimiento de las vías orexigénicas en la descendencia [67, y 69].

## *2. Programación metabólica fetal mediada por la remodelación tisular durante el desarrollo embrionario.*

La alteración de la estructura de los órganos durante el desarrollo embrionario se considera como el proceso más simple a través del cual la malnutrición materna podría programar la función a largo plazo de los órganos de la descendencia. Todos los órganos se desarrollan esencialmente de pequeños grupos de células progenitoras embrionarias. Estas líneas celulares pasan por fases de proliferación y diferenciación para producir un órgano. Los estímulos nutricionales que impacten sobre un órgano durante el desarrollo tendrán el potencial para remodelar su estructura. Las reducciones en el número de células o los cambios en el tipo de célula tendrán la capacidad de limitar el número de estructuras funcionales dentro del órgano, para alterar los

patrones de expresión de genes dentro de esas estructuras y para cambiar las vías de señalización celular que regulan las acciones del órgano [70].

A partir de estudios en modelos animales se ha observado que la exposición *in utero* a una dieta alta en grasas promueve la remodelación de los huesos [71], el páncreas [72], y los pulmones [73]. Lanham y col, en el 2010 reportaron alteraciones en la estructura trabecular y una disminución en el tamaño del hueso en ratones C57BL/6. La remodelación del tejido esquelético en las crías puede conducir al desarrollo de osteoporosis [71]. Posteriormente Martins y col, en el 2013 observaron un incremento en el número de células  $\beta$  e hipertrofia en los islotes pancreáticos de ratones C57BL/6. La remodelación tisular del páncreas se asoció con el incremento en la secreción de insulina y con alteraciones en el metabolismo de los lípidos e hidratos de carbono observados en la descendencia [72]. Song y col, en el 2015 reportaron deposición peribronquial de colágena en el tejido pulmonar de ratas Sprague Dawley, lo cual promovía al establecimiento de una respuesta inflamatoria a nivel local [73].

### 3. Programación metabólica fetal mediada por mecanismos epigenéticos.

Los mecanismos epigenéticos incluyen la activación o inactivación de genes asociados al metabolismo y diferenciación por la metilación del DNA, la acetilación de las histonas y la presencia de micro-RNAs [67 y 74].

Cambios estables en el epigenoma y la subsecuente alteración en la transcripción de genes durante el desarrollo embrionario pueden resultar en modificaciones en el linaje celular, en la tasa y el número de mitosis y/o apoptosis, así como en la expresión de las proteínas estructurales, de procesos metabólicos y del control homeostático. Estas consecuencias podrían causar déficits permanentes en la estructura y la función del órgano [75].

A partir de estudios en el tejido hepático de modelos animales se ha podido observar la participación de los mecanismos epigenéticos en la programación metabólica fetal. En ratas Wistar se ha observado que la desnutrición materna reduce la metilación del promotor de los receptores nucleares PPAR $\alpha$  y de los receptores de glucocorticoides hepáticos, cuyos genes diana juegan papeles clave en el metabolismo de la glucosa y de lípidos [76]. El consumo de una dieta alta en grasas durante la gestación aumenta de manera significativa la acetilación de las histonas H3K9 y H3K18, que se corresponde con los cambios en la expresión génica y la alteración del metabolismo de lípidos en tejido hepático fetal de primates no humanos [77]. Finalmente, se ha observado que el consumo de una dieta alta en grasa durante la gestación disminuye los niveles de microRNAs en

el hígado de las crías. La alteración en los niveles de microRNAs se asocia con la desregulación del metabolismo hepático [78].

#### 4. MODELO DE ESTUDIO PARA LAS ALTERACIONES METABÓLICAS

Diversos modelos animales han sido empleados para manipular el ambiente nutricional durante la gestación. Las ratas y ratones son los organismos comúnmente usados, sin embargo modelos como el conejo y como la oveja podrían ser candidatos alternativos [35].

El metabolismo lipídico, el sistema cardiovascular y el tipo de placenta encontrada en el conejo (*Oryctolagus cuniculus*) son similares a las observados en el humano. En los conejos, aprox. el 40% del colesterol en plasma está contenido en partículas como la apolipoproteína B y en las lipoproteínas de baja y muy baja densidad. Los receptores de lipoproteínas de baja densidad hepáticos son regulados según el nivel de absorción de colesterol en el hígado, así mismo los receptores de lipoproteínas de muy baja densidad que están implicados en la formación de células espumosas son altamente expresados en los macrófagos. Adicionalmente, los conejos presentan altos niveles de la proteína de transferencia del éster de colesterol, un importante regulador del transporte reverso del colesterol [79, 80 y 81]. Los conejos son susceptibles a aterosclerosis inducida por el consumo de una dieta alta en grasa. Las características de la aterosclerosis en conejos incluye: la adhesión de monocitos a las células endoteliales de la íntima y la migración de los monocitos en la subíntima de la aorta. Las lesiones observables en los conejos con aterosclerosis van desde lesiones en fase inicial en donde sólo se encuentran presentes un bajo número de macrófagos en la íntima, lesiones denominadas estrías grasas, la cuales se componen de células espumosas derivadas de macrófagos entremezclados con células de músculo liso y la matriz extracelular, así como lesiones avanzadas, las cuales contienen deposición de calcio [82, 83 y 84]. Recientemente, se ha establecido al conejo como modelo de hipertrigliceridemia postprandial y acumulación de grasa visceral. De hecho, la distribución del tejido adiposo en los conejos es semejante a la disposición en el ser humano [85 y 86]. Por último, el conejo comparte con los humanos, ratas y ratones el tipo de placenta denominada hemocorial. En este tipo de placenta se distingue el número de capas celulares que hacen la función de barrera entre el tejido materno y el tejido fetal. La placenta de conejo tiene dos capas celulares, lo que se designa placenta hemodicorial. En el caso de los humanos es de tipo hemomonocorial, con una capa celular y hemotricoral para las ratas y ratones, con tres capas celulares. El número de capas que separan al tejido materno del tejido fetal es considerado como un factor que puede modificar la

transferencia de los nutrientes entre madre-feto. Por lo tanto, la anatomía y fisiología de placenta en los conejos representa una ventaja en los estudios sobre el transporte materno *in utero* [87, 88 y 89].

## II. ANTECEDENTES

El estudio sobre los mecanismos subyacentes de la programación metabólica fetal es de especial interés, debido a la creciente evidencia epidemiológica y experimental que indica que el origen de las enfermedades metabólicas puede ocurrir durante condiciones nutricionales no óptimas del desarrollo [90].

Con la finalidad de inducir obesidad y síndrome metabólico materno en modelos animales se han implementado procedimientos genéticos y farmacológicos, así como manipulaciones en los componentes nutrimentales de las dietas ingeridas por los sujetos experimentales. Las estrategias dietéticas principalmente utilizadas para la inducción del síndrome metabólico materno son el consumo de dietas altas en grasa o hidratos de carbono así como el consumo de dietas desequilibradas [90 y 91].

Las dietas altas en grasa o altas en hidratos de carbono difieren en función a la cantidad y al tipo de macronutriente empleado. El efecto fisiopatológico asociado a su consumo depende de la composición de la dieta y se correlaciona con la aparición de alteraciones en el perfil lipídico, las cuales pueden progresar hacia enfermedades cardiovasculares, resistencia a la insulina y aterosclerosis si el consumo de la dieta es de forma prolongada. Las dietas desequilibradas se caracterizan por presentar alteraciones en la proporción de sus componentes nutrimentales y su consumo conduce a la alteración del metabolismo lipídico y de hidratos de carbono promoviendo el desarrollo de alteraciones cardiovasculares y resistencia a la insulina a corto plazo [92].

Los efectos metabólicos que han sido reportados en las progenitoras y en su descendencia asociados a las manipulaciones de las dietas, dependen de la duración de la ingesta y del porcentaje de grasas o hidratos de carbono consumidos en la dieta [90]. Así mismo, el modelo animal empleado puede presentar características fisiológicas que favorezcan al desarrollo de alteraciones metabólicas [35].

En particular, los estudios realizados en conejo se han centrado en la evaluación del consumo de dietas altas en grasas sobre el fenotipo materno y sobre la descendencia desde etapas embrionarias hasta la edad adulta. Los reportes de Napoli y col en el 2000 [83] y de Palinski y col en el 2001 [93] muestran el efecto de la hipercolesterolemia materna, inducida por el consumo de una dieta alta en grasa (9% kcal), sobre la predisposición a la aterosclerosis en la descendencia, así como el papel del tratamiento materno preventivo. La hiperecolesterolemia materna se ha asociado a la alteración de la transferencia de ácidos grasos en la placenta originando retraso en el

crecimiento intrauterino de la descendencia [94 y 95]. Picone y col en 2011 [59], mostraron que la hipercolesterolemia materna inducida por el consumo prolongado de una dieta hiperlipídica e hipercolesterolémica (8% kcal), conduce a la sobre-expresión de adipofilina en el feto y al retraso en el crecimiento intrauterino, así mismo se observó un incremento de grasa abdominal e interescapular durante la edad adulta de la descendencia. Posteriormente, Prior y col en 2014 [96], reportaron que las crías de conejo que consumieron una dieta alta en grasas (13.3% kcal) durante la gestación, presentaron un incremento en el peso corporal y en la presión arterial, así como resistencia a la leptina a los 4 meses de edad. Finalmente se ha observado que las crías de madres con hipercolesterolemia presentan un decremento en el peso de los testículos y en el epidídimo en el caso de los machos, así como la atresia folicular en el caso de las hembras durante la edad adulta [97 y 98].

En la mayoría de los estudios experimentales sobre programación metabólica se promueve la obesidad y sobrenutrición materna a través de la administración de dietas con alto contenido en grasa [92]. Dado que las poblaciones humanas con alta prevalencia de síndrome metabólico consumen dietas desequilibradas, la evaluación de la programación metabólica en modelos experimentales basados en el consumo de dietas altas en grasa es limitada. El consumo de una dieta desequilibrada durante la gestación implica la exposición del feto a un ambiente deficiente en proteínas y rico en grasas e hidratos de carbono. Por lo tanto, este trabajo pretende evaluar el consumo materno de una dieta desequilibrada en el modelo del conejo para proveer nueva información sobre los efectos en la progenie asociados al estado metabólico materno.

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Debido a que el síndrome metabólico representa un problema de salud a nivel mundial y nacional es fundamental estudiar el estado metabólico materno y las consecuencias en la salud de la descendencia. Por lo que con este trabajo se pretende establecer un modelo animal de programación metabólica inducida por el consumo de una dieta similar a las prácticas nutricionales de la población con síndrome metabólico, utilizando como modelo de estudio al conejo Europeo.

#### **IV. HIPÓTESIS**

El consumo materno de una dieta alta en lípidos e hidratos de carbono, previo y durante la gestación induce al desarrollo de alteraciones en el crecimiento corporal y en el perfil metabólico de la descendencia en etapas postnatales tempranas.

#### **V. OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto del consumo materno de una dieta desequilibrada sobre el crecimiento corporal y el perfil metabólico de la descendencia durante etapas tempranas de la vida postnatal, utilizando como modelo experimental al conejo Europeo (*Oryctolagus cuniculus*).

#### **VI. OBJETIVOS PARTICULARES**

- Evaluar el efecto del consumo de una dieta desequilibrada desde la etapa juvenil hasta la edad reproductiva, sobre el perfil lipídico y glucémico en hembras de conejo Europeo.
- Evaluar el efecto de la exposición *in utero* a una dieta desequilibrada sobre el crecimiento corporal y el consumo de leche materna en las crías durante el periodo de lactancia.
- Evaluar el efecto de la exposición *in utero* a una dieta desequilibrada sobre el perfil lipídico y glucémico en las crías al momento del destete.

## VII. METODOLOGÍA

Se estableció un modelo de sobrenutrición materna en conejo, inducido por una dieta desequilibrada desde la juventud y durante la gestación. Se utilizó como modelo experimental al conejo Europeo doméstico (*Oryctolagus cuniculus*). Los conejos se mantuvieron en el bioterio del Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. El estudio fue realizado de acuerdo a la Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (NIH Pub. No. 86-23, revisado 1996) y la guía para el Tratamiento de Animales en Investigación del Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). El protocolo contó con la aprobación del Subcomité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales en Experimentación, del Instituto de Investigaciones Biomédicas (Permiso número: 098).

### 7.1 Obtención y dieta de las hembras

Para la obtención de las hembras se realizó lo siguiente: hembras gestantes de conejos Europeo fueron alojadas en jaulas individuales (120 x 60 x 45 cm) y mantenidas bajo un fotoperiodo luz: oscuridad (16:08h) largo. Así mismo, se controló la temperatura de la sala ( $20 \pm 2$  °C) y la humedad relativa (40 - 60%). Tres días previos al parto programado, se colocó una madriguera artificial de PVC en cada jaula. Las hembras gestantes realizaron sus nidos dentro de las madrigueras, con pelo procedente de su cuerpo y con paja esterilizada. Se permitió a las conejas gestantes parir de manera natural. Al nacimiento se registró el número de crías nacidas. Con el objetivo de minimizar las variaciones en el crecimiento de las crías durante la lactancia, se ajustaron las camadas con 6 crías, cada una. Posterior al destete, se sexó a cada cría mediante la observación de los órganos sexuales masculinos y femeninos. Las hembras fueron alojadas en jaulas individuales (60 x 60 x 45) y fueron mantenidas con alimento para conejo (Conejo Ganador, Malta Cleyton, México) y agua *ad libitum* hasta la semana 10 de edad, donde se comenzó con el protocolo experimental.

Se dividió el protocolo experimental de las hembras en los siguientes segmentos:

- Crecimiento. De la semana 10 hasta la semana 20 de edad. Periodo que comprende el estado juvenil y la madurez sexual del conejo.
- Gestación. De la semana 21 hasta la semana 25 de edad.
- Obtención de tejido mediante el sacrificio de las hembras. Semana 26 de edad.

Durante el crecimiento las hembras tuvieron acceso a una dieta estándar o a una dieta desequilibrada de acuerdo a los siguientes grupos:

- Grupo control (CON), el cual fue alimentado con una dieta estándar (Conejos engorda, Malta Cleyton México) y agua *ad libitum*.
- Grupo sobrenutrido (SN), el cual fue alimentado por una dieta desequilibrada y agua *ad libitum*.

La dieta desequilibrada se realizó mediante la adición de 0.1% de colesterol, 4% de aceite de soya y 15% de sacarosa, al alimento estándar de conejo (Conejos engorda, Malta Cleyton México). Esta dieta simula la dieta promedio consumida por la población mexicana [37].

La composición nutrimental de cada tipo de dieta se muestra en la tabla 5. La dieta desequilibrada se caracterizó por ser alta en grasas (4.5% kcal) e hidratos de carbono (2.59 % kcal), y baja en proteínas (7.1% kcal) respecto al porcentaje de kcal de dichos macronutrientes presentes en la dieta estándar de conejo.

Tabla 5. Composición nutrimental de la dieta

COMPONENTE	DIETA ESTÁNDAR			DIETA DESEQUILIBRADA		
Materia seca	94.39%			87.20%		
Humedad	5.61%			12.80%		
	g (%)	Kcal	% Kcal	g (%)	Kcal	%Kcal
Proteína cruda	15.73	62.92	21.78	11.22	44.88	14.68
Lípidos (Extracto etéreo)	3.83	34.47	11.93	5.58	50.22	16.43
Minerales totales (Cenizas)	11.56			7.58		
Fibra cruda	15.39			10.21		
Hidratos de carbono digeribles (Extracto libre de nitrógeno)	47.87	191.48	66.28	52.61	210.44	68.87
<b>Energía Metabolizable</b>	<b>2542.57 Kcal/kg</b>			<b>2609.15 Kcal/kg</b>		

Composición química de las dietas en porcentaje por 100 g de alimento, base húmeda. La energía obtenida de proteínas, lípidos e hidratos de carbono fueron calculados a partir de los datos derivados del análisis químico proximal.

Se obtuvieron un total de 10 hembras, de las cuales 3 fueron hembras del grupo CON y 7 del grupo SN.

Durante la etapa de crecimiento se registró el peso corporal, la ingesta de agua y alimento, el perfil metabólico y la presión arterial. Después de dos meses de consumo ininterrumpido de la dieta desequilibrada, las hembras SN tuvieron acceso a la dieta desequilibrada una vez por semana durante 14 días, debido a que evidencia previa a partir de pilotos realizados en el laboratorio mostraron que el consumo crónico de la dieta desbalanceada afectaba la fertilidad así como el mantenimiento de la gestación en las conejas. Posterior a la modificación, se verificó el perfil metabólico de las hembras. Una vez que se corroboró el estado metabólico materno, a las 20 semanas de edad, las hembras se aparearon con machos de la colonia, los cuales consumieron durante toda su vida dieta estándar. Momentos antes del apareamiento, se administró vía intravenosa 30 IU de gonadotropina coriónica humana (hCG, Chorulon) a las hembras del grupo SN, como fue reportado por Picone y col en el 2011 [59], así mismo se administró vía intravenosa venosa vehículo (solución fisiológica) a las hembras del grupo CON. La hCG estimula la ovulación y promueve el mantenimiento del cuerpo lúteo durante el inicio de la gestación. La administración de hCG se realizó con la finalidad de promover un ambiente óptimo para la fecundación. Durante el periodo de gestación (31 días), las hembras del grupo SN tuvieron acceso a la dieta desequilibrada cada tercer día. Adicionalmente, se registró el peso corporal y la cantidad de alimento y agua ingerida. Las hembras gestantes se mantuvieron en las condiciones mencionadas anteriormente 3 días previos a la fecha programada de parto. Se realizó el perfil metabólico y se sacrificó a la hembra, 3 días posteriores al parto (Tabla 6).

#### **7.1.1 Obtención y tratamiento de muestras de las hembras**

*Ganancia de peso.* Se registró el peso corporal diario durante el periodo de crecimiento y se promedió para analizarlos semanalmente. Durante el periodo de gestación, se registró el peso corporal los días 8, 18 y 28 de gestación para evitar perturbar a las hembras diariamente.

*Ingesta de agua y alimento.* Durante todo el protocolo experimental se registró diariamente el consumo de alimento y la ingesta de agua. Los datos obtenidos fueron promediados para analizarlos semanalmente.

*Perfil metabólico.* Se obtuvieron muestras de suero durante las 14, 18, 20 y 26 semanas de edad. Posterior a un ayuno de 12 horas, se colectó sangre de la arteria central de la oreja de cada coneja en un tubo Vacutainer, con un punzocat de 24G. La sangre se centrifugó a 3300 rpm

durante 10 min. El suero obtenido se almacenó a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta la determinación en suero de los metabolitos: glucosa, colesterol total, lipoproteínas de alta densidad, lipoproteínas de baja densidad, triglicéridos y ácidos grasos libres mediante espectrofotometría de absorción, las cuales fueron realizadas por la Quim. Delia Arlette Castillo Mata, del Departamento de Patología, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la UNAM. Se calculó la concentración de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) en suero mediante la fórmula de Friedewald, 1972. La fórmula VLDL calculado ( $\text{VLDLc}$ )=  $\frac{\text{Triglicéridos}}{5}$ , permite estimar el valor de VLDL a partir de los valores plasmáticos de triglicéridos, debido a que la mayoría de los triglicéridos plasmáticos son transportados por las VLDL y la concentración de colesterol de las VLDL se corresponde a un quinto del valor de triglicéridos [revisado en 99].

Adicionalmente, se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa vía intravenosa (PTGiv) a las 20 semanas de edad. Posterior a un ayuno de 12 horas, se fijó en la arteria central de la oreja un punzocat de 24G por donde se colectó sangre durante la prueba. Se administró en la vena marginal de la oreja opuesta 0.6g/kg de peso corporal de solución glucosada al 50% (Brovel), como fue reportado en Zhao y col en el 2007 [85]. A los 5, 30, 60 y 120 minutos posteriores a la administración de glucosa, se tomó una muestra de sangre arterial. La sangre colectada se centrifugó a 3300 rpm durante 10 minutos. El suero obtenido se almacenó a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta la determinación de glucosa como se mencionó previamente.

*Presión arterial.* Mediante la ecografía Doppler y el método auscultatorio, se registró la presión arterial de las hembras en la semana 14 y 18 de edad. Para ello se habituó a cada conejo 4 días previos al registro de la presión arterial, para evitar alteraciones asociadas al manejo de los animales durante el registro. El primer día de habituación se rasuró la extremidad inferior izquierda para exponer el área distal de la región femoral. Las habituaciones posteriores consistieron en colocar un brazaletes inflable, un gel lubricante y un Doppler fetal (Echosounder, HADEKO) durante 3 minutos. El día del registro, se colocó el brazaletes inflable en la parte proximal de la región femoral izquierda, se detectó el pulso de la arteria femoral con ayuda del Doppler fetal y se registró la presión arterial mediante el método auscultatorio.

*Obtención de tejido mediante el sacrificio de las hembras.* Previo a un ayuno de 12 horas, las hembras fueron sacrificadas por sobredosis de pentobarbital (PISABENTAL) vía venosa (60 mg/kg). Se extrajeron cuidadosamente los órganos de interés y se registró el peso en fresco del hígado, riñones, corazón, glándulas adrenales, estómago y los depósitos de grasa: mesentérica,

retroperitoneal, interescapular y pericárdica. El peso en fresco de los órganos y depósitos de grasa se normalizaron en relación del peso del animal al momento del sacrificio para su comparación.

## **7.2 Obtención y tratamiento de la descendencia**

Se obtuvo un total de 31 crías vivas, de las cuales 13 fueron crías de las madres CON (CONC) y 18 de las madres SN (SNC). Se registró el peso corporal al momento del nacimiento y durante la lactancia. Adicionalmente, se registró la ingesta de leche y el perfil metabólico al destete.

El día posterior al parto (P1, día postnatal 1), se ajustaron las camadas a 5-6 crías cada una. Las crías fueron mantenidas bajo un fotoperiodo (12:12) y a una temperatura controlada entre  $22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  y a una humedad relativa de 40-60%. Las crías fueron alimentadas por hembras nodrizas que consumieron alimento estándar durante toda su vida. El amamantamiento tuvo lugar en el momento de encendido de las luces.

En el día P31, un total de  $n=31$  crías fueron sacrificadas para la extracción de tejidos y la obtención del peso en fresco del hígado, corazón, riñones y de los depósitos de grasa mesentérica, retroperitoneal e interescapular (Tabla 7).

### **7.2.1 Obtención y tratamiento de muestras de la descendencia**

*Ganancia de peso.* Momentos antes del amamantamiento se estimuló la micción en las crías frotando levemente la zona urogenital con un hisopo húmedo, posteriormente se registró el peso corporal. Las crías fueron introducidas en el nido de la madre y se permitió la entrada de la hembra lactante. Posterior al amamantamiento se registró nuevamente el peso corporal de las crías. El patrón de crecimiento corporal se realizó a partir de los valores obtenidos antes del amamantamiento. La ganancia de peso corporal se analizó semanalmente.

*Estimación de ingesta de leche.* La ingesta de leche consumida se estimó mediante la resta del peso corporal posterior y previo al amamantamiento. Así mismo, se obtuvo la tasa diaria de ingesta de leche mediante el cociente de la ingesta de leche en el día “x” entre el valor de la ingesta de leche del día previo.

*Perfil metabólico.* A los 31 días de edad, las crías fueron profundamente anestesiadas mediante la inhalación de Sevoflurano (Sevorano, Abbot) y se colectó sangre vía punción cardiaca. La sangre colectada se centrifugó a 3300 rpm durante 10 minutos. El suero obtenido se almacenó a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta la determinación en suero de los metabolitos glucosa, colesterol total, lipoproteínas de alta densidad, lipoproteínas de baja densidad, triglicéridos y ácidos grasos libres como se mencionó

previamente. Adicionalmente, se calculó la concentración de VLDL mediante la fórmula de Friedewald ya descrita.

*Obtención de tejido mediante el sacrificio de la descendencia.* Se extrajeron cuidadosamente los órganos de interés y se registró el peso en fresco del hígado, riñones, corazón y los depósitos de grasa mesentérica, retroperitoneal e interescapular. El peso en fresco de los órganos y depósitos de grasa se normalizaron en relación del peso del animal al momento del sacrificio para su comparación.

### **7.3 Análisis estadístico**

Se obtuvo la estadística descriptiva para cada parámetro evaluado en las hembras y en la descendencia. Los valores son expresados como la media  $\pm$  desviación estándar (DE). El análisis estadístico se realizó mediante el uso del software GraphPad Prism 6.

#### **7.3.1 Hembras**

En el caso de las curvas de crecimiento, la ingesta de alimento y agua, el perfil metabólico, la presión sanguínea, así como la PTGiv, las diferencias entre el grupo y la edad fueron analizadas mediante la prueba estadística de análisis de varianzas (ANOVA) de dos vías para muestras repetidas, seguido de una prueba *post hoc* de Bonferroni. En el caso del consumo de proteínas, lípidos e hidratos de carbono totales por segmento, las diferencias entre el grupo y la edad fueron probadas mediante la prueba estadística de análisis de varianzas (ANOVA) de dos vías, seguido de una prueba *post hoc* de Bonferroni. Para el área bajo la curva y en el porcentaje corporal de órganos y depósitos de grasa al momento del sacrificio, las diferencias entre grupos fueron probadas mediante la prueba t-student.

#### **7.3.2 Descendencia**

En el caso de las curvas de crecimiento, así como en la estimación de la ingesta de leche materna, las diferencias entre el grupo y la edad fueron probadas mediante la prueba estadística de análisis de varianzas (ANOVA) de dos vías para muestras repetidas, seguido de una prueba *post hoc* de Bonferroni. En el caso de la concentración en suero de glucosa, colesterol total, lipoproteínas de alta, baja y muy baja densidad, triglicéridos y ácidos grasos libres, así como en el porcentaje de órganos y depósitos de grasa al momento del sacrificio, las diferencias entre grupos fueron probadas mediante la prueba t-student.

**Tabla 6. Diseño experimental de las hembras de conejo Europeo**

Segmento	CON	SN	Edad (semanas) / Evaluación		
<b>Crecimiento</b> 10-20 semanas de edad	Consumo diario de dieta estándar	Consumo diario de la dieta desequilibrada	14	Registro del perfil metabólico y presión sanguínea	
			18	Registro del perfil metabólico y presión sanguínea	
		Consumo de dieta desequilibrada una vez por semana	20	Registro del perfil metabólico	
<b>Gestación</b> 21-25 semanas de edad	Consumo diario de dieta estándar	Consumo terciado de la dieta desequilibrada	Registro de peso corporal en el día 8, 18 y 28 de gestación		
<b>Sacrificio</b> 26 semanas de edad 3 días posteriores al parto	Consumo diario de dieta estándar	Consumo terciado de la dieta desequilibrada	26	Perfil metabólico y obtención de tejido	

Se registró diariamente la ingesta de alimento y agua. Las hembras SN tuvieron acceso a la dieta estándar durante los días que no consumieron la dieta desequilibrada. Con excepción de la gestación, se registró diariamente el peso corporal.

**Tabla 7. Diseño experimental de las crías de conejo Europeo**

Segmento	CON	SN	Edad (días) / Evaluación	
<b>Lactancia</b> 0-30 días de edad	Crías alimentadas por hembras nodrizas	Crías alimentadas por hembras nodrizas	Registro diario de peso corporal e ingesta de leche	
<b>Sacrificio</b> 31 días de edad	Ayuno	Ayuno	31	Perfil metabólico y obtención de tejido

## VIII. RESULTADOS

### 8.1 Hembras

#### 8.1.1 Peso corporal de las hembras

Durante el crecimiento, las hembras control tuvieron una ganancia semanal de peso corporal del  $3 \pm 2.5 \%$  ( $110 \pm 60$  g) y las hembras sobrenutridas del  $4 \pm 2.7 \%$  ( $138 \pm 64$  g). En total, la ganancia de peso corporal del grupo control fue del  $68.92 \%$  ( $1108 \pm 60$  g) y del  $95.5 \%$  ( $1386 \pm 64$  g) para el grupo sobrenutrido. En la gestación, las hembras del grupo control tuvieron una ganancia semanal de peso corporal del  $2 \pm 3.5 \%$  ( $105 \pm 124$  g) y las hembras del grupo sobrenutrido del  $0.9 \pm 1.67 \%$  ( $35 \pm 66$  g). Durante la gestación las hembras control tuvieron una ganancia total de peso corporal del  $31.07 \%$  ( $421 \pm 124$  g) y del  $11.10 \%$  ( $142 \pm 66$  g). En la semana 21 de edad las hembras sobrenutridas presentaron un incremento significativo en el peso corporal con respecto al grupo control (control<sub>21</sub>= $3390.33 \pm 311.77$  vs sobrenutrido<sub>21</sub>= $3919.14 \pm 211.15$  g;  $p < 0.05$ ). Posterior al parto las hembras presentaron una disminución semanal de peso corporal del  $4 \pm 6.59 \%$  ( $181 \pm 256$  g) para el grupo control y del  $5 \pm 4.73 \%$  ( $237 \pm 198$  g) para el grupo sobrenutrido (Figura 1). El análisis de varianza mostró diferencias significativas en el peso corporal de las hembras en función a la edad y a la interacción entre el grupo con la edad (Edad:  $F_{(16,128)}=133.8$ ,  $p < 0.0001$ ; Grupo:  $F_{(1,8)}=3.616$ ,  $p=0.0937$ ; Interacción:  $F_{(16,128)}=3.060$ ,  $p=0.0002$ ).

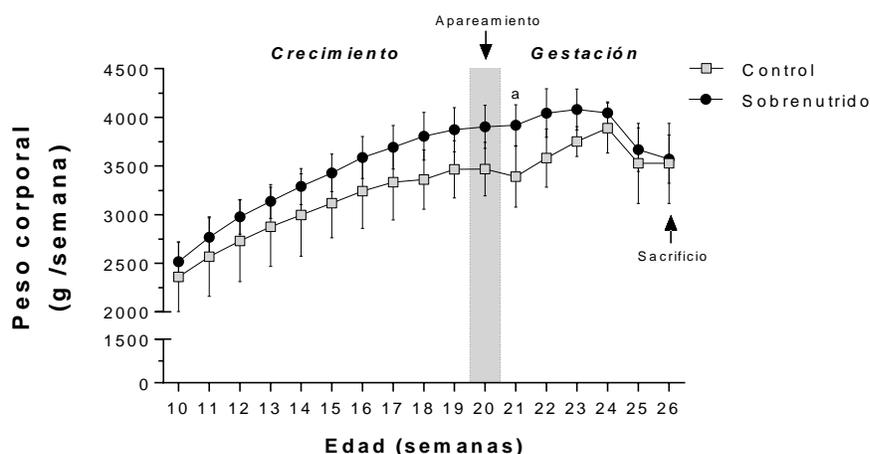


Figura 1. Patrón de crecimiento corporal de las hembras. Promedio  $\pm$  DE del peso corporal medido en hembras del grupo control ( $n=3$ ) y del grupo sobrenutrido ( $n=7$ ) durante los segmentos de crecimiento y gestación y al momento del sacrificio. La línea sombreada señala el momento del apareamiento. La letra a indica diferencia con respecto al grupo control,  $p < 0.05$ .

### 8.1.2 Ingesta de alimento y agua de las hembras

Durante el periodo de crecimiento, la ingesta calórica de ambos grupos se mantuvo constante alrededor de  $441 \pm 47$  Kcal y  $422 \pm 15$  Kcal para el grupo control y sobrenutrido respectivamente. Las hembras de ambos grupos redujeron la ingesta calórica a partir de la tercera semana de gestación hasta el parto (Figura 2A). En particular, durante la semana 23, 24 y 25 de edad (final de la gestación), las hembras del grupo sobrenutrido ingirieron menor cantidad de kcal en comparación al grupo control (control<sub>23</sub>= $466.13 \pm 53.7$  kcal vs sobrenutrido<sub>23</sub>=  $287.47 \pm 48$  kcal,  $p < 0.05$ ; control<sub>24</sub>=  $356.32 \pm 78.26$  kcal vs sobrenutrido<sub>24</sub>=  $198.28 \pm 51.69$  kcal,  $p < 0.05$ ; control<sub>25</sub> =  $318.59 \pm 135.72$  kcal vs sobrenutrido<sub>25</sub>=  $184.65 \pm 59.66$  kcal,  $p < 0.05$ ). El análisis de varianza mostró diferencias estadísticas en la ingesta calórica semanal en función al grupo, a la edad y a la interacción entre el grupo con la edad (Edad:  $F_{(15, 120)}=9.52$ ,  $p < 0.0001$ ; Grupo:  $F_{(1, 8)}=5.619$ ,  $p=0.0452$ ; Interacción  $F_{(15, 120)}=2.998$ ,  $p=0.0004$ ).

En relación al consumo calórico obtenido a partir de proteínas (Figura 2B), lípidos e hidratos de carbono se observó diferencia significativa en función al grupo y al segmento analizado (Tabla 8). Durante el crecimiento, las hembras del grupo sobrenutrido consumieron una menor cantidad de calorías a partir de proteínas y una mayor cantidad de calorías a partir de lípidos en comparación con el grupo control. Durante la gestación las hembras sobrenutridas consumieron una menor cantidad de calorías a partir de proteínas en comparación con el grupo control. El consumo calórico obtenido de macronutrientes durante el crecimiento y la gestación fue similar en el grupo control. Por el contrario, las hembras sobrenutridas ingirieron menor cantidad de calorías a partir de proteínas, lípidos e hidratos de carbono durante la gestación en comparación al crecimiento.

La ingesta semanal de agua se mantuvo constante durante el segmento de crecimiento en ambos grupos alrededor de  $309 \pm 52$  ml para el grupo control y de  $212.66 \pm 58.45$  ml para el grupo sobrenutrido. En la semana 17 de edad las hembras del grupo sobrenutrido consumieron menor cantidad de agua en comparación al grupo control (control=  $346.11 \pm 43.45$  vs sobrenutrido=  $200.16 \pm 60.72$ ,  $p < 0.05$ ). En ambos grupos, se observó una disminución en el consumo de agua a partir de la semana 22 de edad hasta el parto (Figura 2C). El análisis de varianza mostró diferencias estadísticas en función a la edad y al grupo de las hembras (Edad:  $F_{(15, 120)}=4.87$ ,  $p < 0.0001$ ; Grupo:  $F_{(1, 8)}=14.77$ ,  $p=0.0049$ ; Interacción:  $F_{(15, 120)}=0.55$ ,  $p=0.9053$ ). Sin embargo, en la figura 2C se puede observar una tendencia a mayor consumo de agua en las hembras del grupo control con respecto al grupo sobrenutrido.

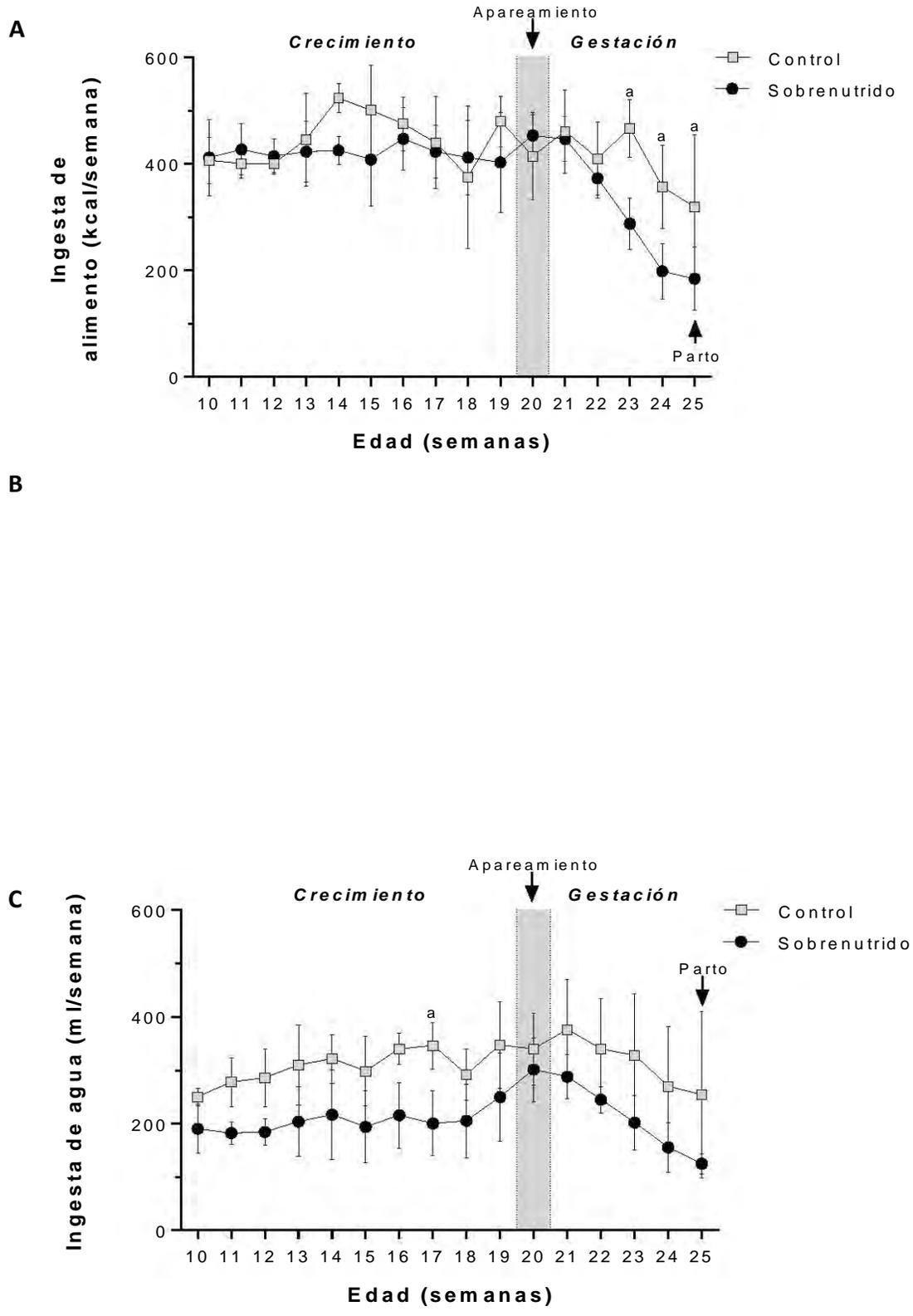


Figura 2. Patrón de alimentación de las hembras. Promedio  $\pm$  DE de A) ingesta calórica, B) consumo de macronutrientes por segmento y C) ingesta de agua medido en hembras del grupo control (n=3) y del grupo

sobrenutrido (n=7). La línea sombreada señala el momento del apareamiento. Las letras *a*, *b* y *c* indican diferencia estadística,  $p < 0.05$ .

**Tabla 8. Resultados obtenidos de la prueba estadística ANOVA de dos vías del consumo de macronutrientes de las hembras durante los segmentos crecimiento y gestación**

Variable	Fuente de variación	F (DFn, DFd)	Sig.
<b>Proteínas</b>	Interacción	$F_{(1, 16)} = 2.269$	NS
	Edad	$F_{(1, 16)} = 16.82$	$P = 0.0008$
	Grupo	$F_{(1, 16)} = 125.6$	$p < 0.0001$
<b>Lípidos</b>	Interacción	$F_{(1, 16)} = 9.137$	$P = 0.0081$
	Edad	$F_{(1, 16)} = 22.98$	$P = 0.0002$
	Grupo	$F_{(1, 16)} = 18.07$	$P = 0.0006$
<b>Hidratos de carbono</b>	Interacción	$F_{(1, 16)} = 6.103$	$P = 0.0251$
	Edad	$F_{(1, 16)} = 21.08$	$P = 0.0003$
	Grupo	$F_{(1, 16)} = 3.124$	NS

### 8.1.3 Perfil metabólico de las hembras

En el perfil lipídico de las hembras en ayuno, la concentración de colesterol total, lipoproteínas de baja y alta densidad variaron en función a la edad, al grupo y a la interacción entre el grupo y edad. En el caso de la concentración de lipoproteínas de muy baja densidad y triglicéridos solo se observó variación en función a la edad. No se observaron diferencias estadísticas en la concentración de ácidos grasos libres (Tabla 9).

Durante el crecimiento (semana 14 y 18 de edad), se observó diferencia significativa en la concentración de colesterol total (CHO) en función al grupo. La concentración de CHO total de las hembras sobrenutridas incrementó 10 veces aproximadamente en comparación al grupo control. Momentos antes del apareamiento (semana 20 de edad) y al momento del sacrificio (semana 26 de edad), el promedio de la concentración de CHO total del grupo sobrenutrido incrementó 5 y 2.5 veces en comparación al grupo control respectivamente, sin embargo no se observaron diferencias significativas asociadas al grupo durante estos segmentos. La concentración de CHO total de las hembras sobrenutridas disminuyó gradualmente a partir de las 18 semanas de edad. Por el contrario, la concentración en suero de CHO total de las hembras control se mantuvo constante alrededor de  $69 \pm 9$  mg/dL durante el experimento (Figura 3A).

Se observó diferencia significativa en la concentración de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en función al grupo durante el crecimiento (semana 14 y 18 de edad). La concentración de

LDL del grupo sobrenutrido incrementó 17 veces aproximadamente en comparación al grupo control. Durante el apareamiento y al momento del sacrificio (semana 20 y 26 de edad) no se observaron diferencias significativas en función al grupo, sin embargo la concentración promedio de LDL del grupo sobrenutrido fue 5 veces mayor que el grupo control. En el caso de las variaciones observadas en función a la edad, la concentración de LDL de las hembras sobrenutridas disminuyó 3 veces aproximadamente al momento del apareamiento y sacrificio en comparación con el crecimiento. Por el contrario, la concentración en suero de LDL de las hembras control se mantuvo constante alrededor de  $24 \pm 7$  mg/dL durante el experimento (Figura 3B).

Durante el crecimiento (semana 14 y 18 de edad), se observó diferencia significativa en la concentración de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en función al grupo, la concentración de HDL de las hembras sobrenutridas disminuyó 2.5 veces aproximadamente en comparación al grupo control. Al momento del apareamiento y sacrificio (semana 20 y 26 de edad) no se observaron diferencias significativas en función al grupo. En el caso de las variaciones observadas en función a la edad, la concentración de HDL en suero en las hembras sobrenutridas aumentó 2 veces aproximadamente en la semana 20 en comparación a la semana 14 de edad. En el caso del grupo control, los niveles de HDL disminuyeron en la semana 26 (postparto) 2 veces aproximadamente en comparación a las semanas anteriores (Figura 3C).

No se observaron cambios en función al grupo en la concentración en suero de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y triglicéridos (TG). En el caso del grupo sobrenutrido, ambos metabolitos incrementaron 2 veces aproximadamente durante la semana 26 (sacrificio) en comparación a la semana 14 de edad (crecimiento). Por el contrario, la concentración en suero de VLDL y TG de las hembras control se mantuvo constante alrededor de  $8 \pm 2$  y  $40 \pm 8$  mg/dL respectivamente durante el experimento (Figura 3D y E).

No se encontraron diferencias en función al tiempo y al grupo en la concentración de ácidos grasos libres (AGL) en suero. La concentración de AGL del grupo sobrenutrido y control se mantuvo constante alrededor de  $29 \pm 6$  mg/dL y  $25 \pm 6$  mg/dL respectivamente durante el experimento (Figura 3F).

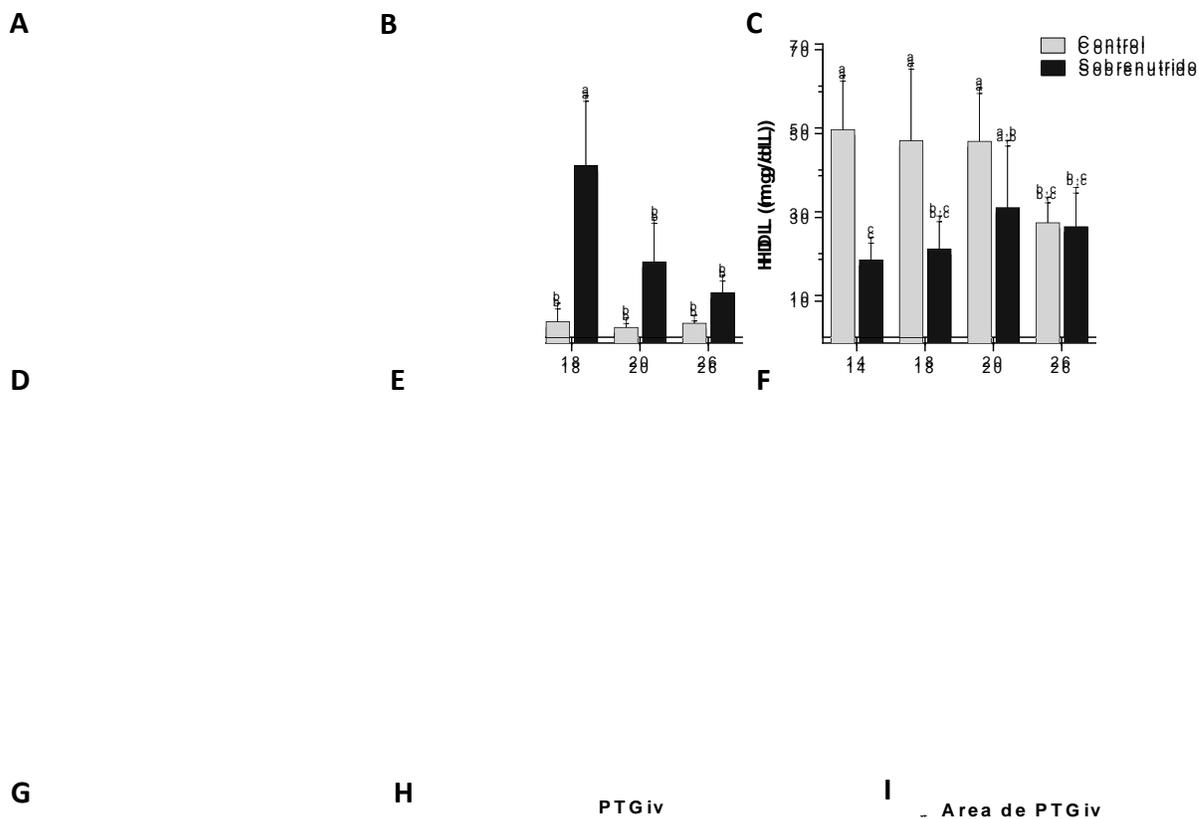
En el perfil glucémico en ayuno de las hembras varió en función al grupo y a la edad (Figura 3G). Las hembras sobrenutridas presentaron un incremento en la concentración de glucosa a las 18 semanas de edad respecto al grupo control. Se observó un incremento en la concentración de glucosa (GLU) en las hembras sobrenutridas en la semana 18 respecto a la semana 14,

posteriormente se observó una disminución en la semana 20 respecto a la semana 18 de edad. Los niveles de GLU en el grupo control se incrementaron en la semana 26 con respecto a la semana 20 de edad (apareamiento). Se observaron diferencias significativas en la concentración de GLU en función al grupo y a la edad (Edad:  $F_{(3, 24)}=6.669$ ,  $p=0.0020$ ; Grupo:  $F_{(1, 8)}=11.95$ ,  $p=0.0086$ ; Interacción:  $F_{(3, 24)}=2.299$ ,  $p=0.1030$ ).

Durante la curva de tolerancia a la glucosa (Figura 3H), la concentración máxima de GLU en suero se alcanzó a los 5 minutos para ambos grupos. Posteriormente la concentración de GLU en suero disminuyó hasta los niveles basales a los 120 minutos para el caso del grupo control y a los 60 minutos para el grupo sobrenutrido posteriores a la administración de GLU intravenosa (Tiempo:  $F_{(4, 32)}=128.6$ ,  $p<0.0001$ ; Grupo:  $F_{(1, 8)}=1.238$ ,  $p=0.2981$ ; Interacción:  $F_{(4, 32)}=1.809$ ,  $p=0.1514$ ). No se encontraron diferencias estadísticas asociadas al grupo en la curva y en el área bajo la curva de la PTGiv, sin embargo el área bajo la curva de las hembras sobrenutridas fue  $3.44 \times 10^4 \pm 4.53 \times 10^3$  unidades arbitrarias, mientras que el área bajo la curva de las hembras del grupo control fue  $3.91 \times 10^4 \pm 3.94 \times 10^3$  unidades arbitrarias (Figura 3I).

**Tabla 9. Resultados obtenidos de la prueba estadística ANOVA de medidas repetidas de dos vías del perfil lipídico en hembras**

Variable	Fuente de variación	F (DFn, DFd)	Sig.
CHO	Interacción	$F_{(3, 24)} = 11.18$	$P < 0.0001$
	Edad	$F_{(3, 24)} = 11.85$	$P < 0.0001$
	Grupo	$F_{(1, 8)} = 13.04$	$P = 0.0069$
LDL	Interacción	$F_{(3, 24)} = 14.02$	$P < 0.0001$
	Edad	$F_{(3, 24)} = 13.22$	$P < 0.0001$
	Grupo	$F_{(1, 8)} = 18.94$	$P = 0.0024$
HDL	Interacción	$F_{(3, 24)} = 5.614$	$P = 0.0046$
	Edad	$F_{(3, 24)} = 3.119$	$P = 0.0448$
	Grupo	$F_{(1, 8)} = 9.309$	$P = 0.0158$
VLDL	Interacción	$F_{(3, 24)} = 0.8079$	NS
	Edad	$F_{(3, 24)} = 4.307$	$P = 0.0145$
	Grupo	$F_{(1, 8)} = 0.9019$	NS
TG	Interacción	$F_{(3, 24)} = 0.8079$	NS
	Edad	$F_{(3, 24)} = 4.307$	$P = 0.0145$
	Grupo	$F_{(1, 8)} = 0.9019$	NS
AGL	Interacción	$F_{(3, 24)} = 1.850$	NS
	Edad	$F_{(3, 24)} = 0.6517$	NS
	Grupo	$F_{(1, 8)} = 1.302$	NS



**Figura 3. Perfil metabólico de las hembras.** Promedio  $\pm$  DE de A) colesterol total (CHO); lipoproteínas de B) baja densidad (LDL), C) alta densidad (HDL) y D) muy baja densidad (VLDL); E) triglicéridos (TG); F) ácidos grasos libres (AGL); G) glucosa (GLU); H) glucosa durante la PTGiv e I) área bajo la curva de PTGiv medido en hembras del grupo control (n=3) y del grupo sobrenutrido (n=7), durante el crecimiento: semana 14 y 18 de edad; apareamiento: semana 20 de edad y sacrificio (posparto): semana 26 de edad, tres días posteriores al parto. Las diferencias entre grupo y edad del perfil lipídico, la concentración de glucosa en suero y la PTGiv fueron analizadas mediante la prueba estadística ANOVA de dos vías para muestras repetidas. Las diferencias entre grupo del área bajo la curva de PTGiv fue analizada mediante la prueba t-student. Letras diferentes indican diferencia significativa a>b>c, p<0.05. \* y # indican diferencia significativa vs concentración de glucosa en el tiempo 0 para el grupo control y sobrenutrido respectivamente, p<0.05.

### 8.1.4 Presión arterial

No se registraron diferencias estadísticas en los niveles de presión sanguínea (Tabla 10) entre grupos, ni en relación a la edad (Presión sistólica, Edad:  $F_{(1, 8)}=0.1261$ ,  $p=0.7317$ ; Grupo:  $F_{(1, 8)}=0.8284$ ,  $p=0.3893$ ; Interacción:  $F_{(1, 8)}=0.0004879$ ,  $p=0.9829$  y presión diastólica, Edad:  $F_{(1, 8)}=0.01236$ ,  $p=0.9142$ ; Grupo:  $F_{(1, 8)}=0.001293$ ,  $p=0.9722$ ; Interacción:  $F_{(1, 8)}=0.8581$ ,  $p=0.3814$ ).

Tabla 10. Presión sanguínea durante el crecimiento de hembras

	14 semanas de edad		18 semanas de edad		p
	CON	SN	CON	SN	
<b>Sistólica</b>	142 ± 42.33	151 ± 20.80	146 ± 25.16	157 ± 23.60	NS
<b>Diastólica</b>	87 ± 10.26	84 ± 12.59	83 ± 5.77	87 ± 11.12	NS

Grupo control (n=3) y sobrenutrido (n=7). Datos expresados como la Media ± DE, NS indica sin diferencia significativa

### 8.1.5 Peso de órganos y depósitos de grasa de las hembras al posparto

Se observaron diferencias significativas en función al grupo. El corazón (control=  $0.199 \pm 0.03$  % vs sobrenutrido=  $0.29 \pm 0.50$  %,  $p<0.05$ ) y el hígado (control=  $1.959 \pm 0.12$  % vs sobrenutrido=  $2.410 \pm 0.29$  %,  $P<0.05$ ) de las hembras sobrenutridas tuvieron mayor porcentaje de peso en comparación al grupo control. El porcentaje de peso de los riñones, las glándulas adrenales y del estómago, así como de los depósitos de grasa no difirió entre grupos (Figura 4).

**A**

**B**

Figura 4. **Peso de órganos y depósito de grasa de las hembras.** Promedio ± DE de A) órganos y B) depósitos de grasa medido en hembras del grupo control (n=3) y del grupo sobrenutrido (n=7) tres días posteriores al parto. El peso en fresco de los órganos y depósitos de grasa se normalizaron en relación del peso del animal al momento del sacrificio. \* indica diferencia significativa vs control,  $p<0.05$ .

## 8.2 Descendencia

### 8.2.1 Patrón de crecimiento corporal de las crías

Se observó similitud estadística en el peso corporal de las crías al nacimiento y durante el periodo de lactancia. Al momento del destete, las crías de ambos grupos incrementaron su peso corporal 8.5 veces aproximadamente respecto al nacimiento (Figura 5). El análisis de varianza mostró diferencias estadísticas en el peso corporal de las crías durante la lactancia en función a la edad y a la interacción entre la edad con el grupo (Edad:  $F_{(30, 870)}=440.4$ ,  $p<0.0001$ ; Grupo:  $F_{(1, 29)}=1.70$ ,  $p=0.2017$ ; Interacción:  $F_{(30, 870)}=1.878$ ,  $p=0.0032$ ). No se encontraron diferencias asociadas al grupo.

Las crías de ambos grupos ganaron el mayor porcentaje de peso durante la primera semana de edad, alrededor del 13% aproximadamente. En las semanas posteriores, la ganancia de peso corporal fue menor respecto a las semanas siguientes de edad. No se encontraron diferencias entre grupos (Tabla 11).

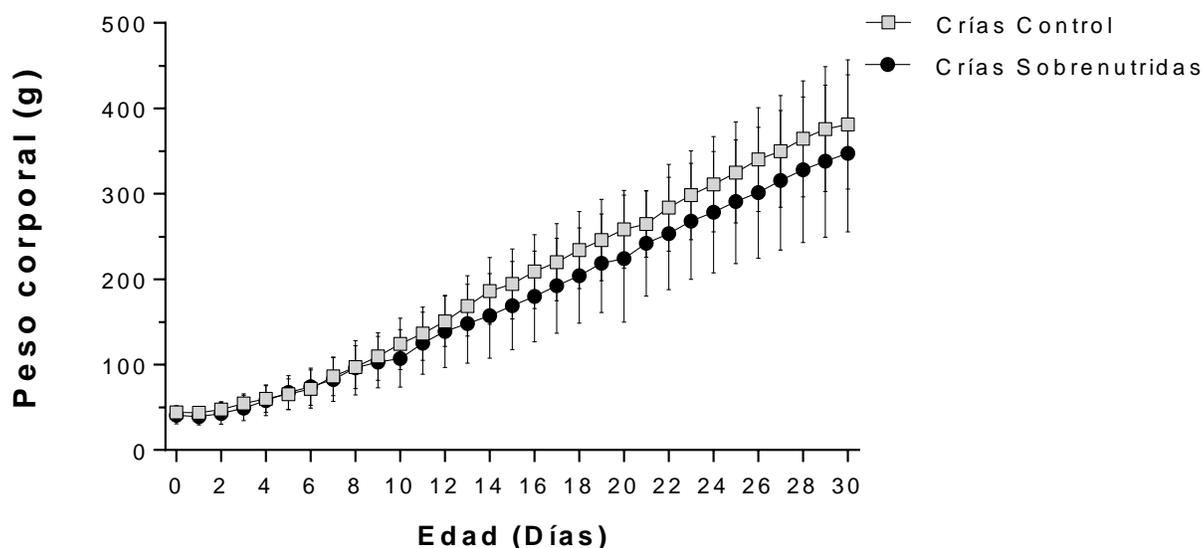


Figura 5. Patrón de crecimiento corporal de las crías. Promedio  $\pm$  DE del peso corporal diario de las crías durante la lactancia. Crías de madres control (n=13) y crías de madres sobrenutridas (n=18).

Tabla 11. Ganancia de peso corporal de crías lactantes

Semana	Crías CON		Crías SN		p
	%	g	%	g	
1	12.10 ± 4.9	61.2 ± 14.7	13.38 ± 3.2	59.03 ± 16.3	NS
2	11.62 ± 1.3	138.9 ± 31.9	9.69 ± 5.0	125.0 ± 23.6	NS
3	5.15 ± 1.6	232.3 ± 25.9	6.37 ± 1.8	204.2 ± 25.8	NS
4	4.68 ± 1.32	324.6 ± 28.8	4.45 ± 0.6	290.7 ± 26.4	NS
5	2.27 ± 1.19	378.4 ± 3.7	2.88 ± 0.17	342.6 ± 6.6	NS

Promedio semanal de la ganancia de peso en las crías durante el periodo de lactancia. Grupo crías control (n=13) y grupo crías sobrenutridas (n=18). Datos expresados como la Media ± DE, NS indica sin diferencia significativa

### 8.2.2 Patrón de consumo de leche durante la lactancia en las crías

La ingesta de leche incrementó en una tasa diaria del  $1.12 \pm 0.29$  ml para las crías del grupo control y a una tasa del  $1.10 \pm 0.21$  ml para las crías el grupo sobrenutrido hasta el día postnatal 21, donde se registra el consumo máximo de leche materna para ambos grupos (crías control=1.23 ml y crías sobrenutridas=1.20 ml). Posteriormente, la ingesta de leche disminuye de manera gradual hacia el final de la lactancia a una tasa del  $0.95 \pm 0.13$  ml para el grupo control y de  $0.95 \pm 0.10$  ml para el grupo sobrenutrido. Se observó diferencia estadística en la ingesta de leche en función a la edad para ambos grupos. No se encontraron diferencias estadísticas en función al grupo (Edad:  $F_{(29,841)}=13.25$ ,  $p<0.0001$ ; Grupo:  $F_{(1, 29)}=1.008$ ,  $p=0.3237$ ; Interacción:  $F_{(29, 841)}=1.122$ ,  $p=0.300$ ) (Figura 6).

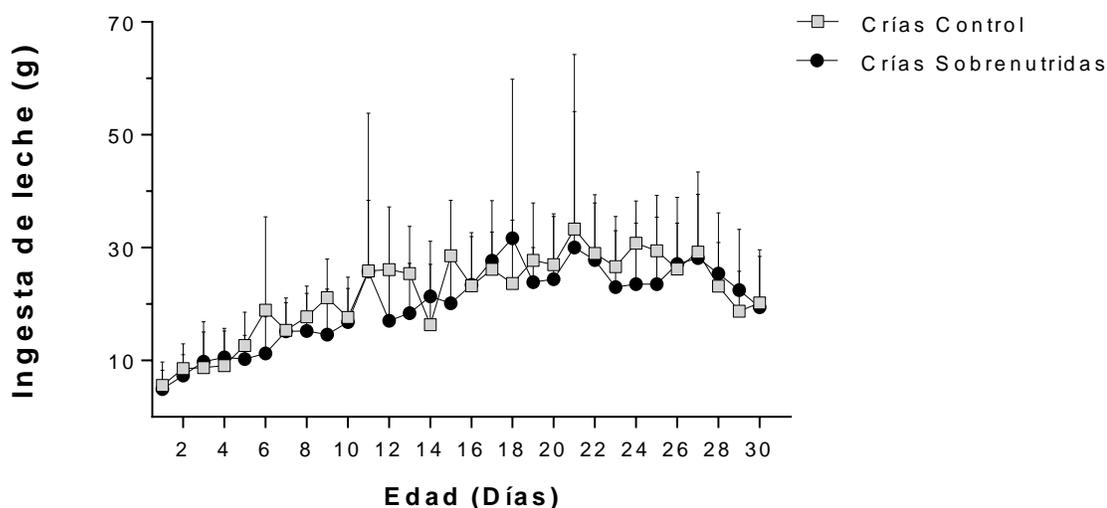
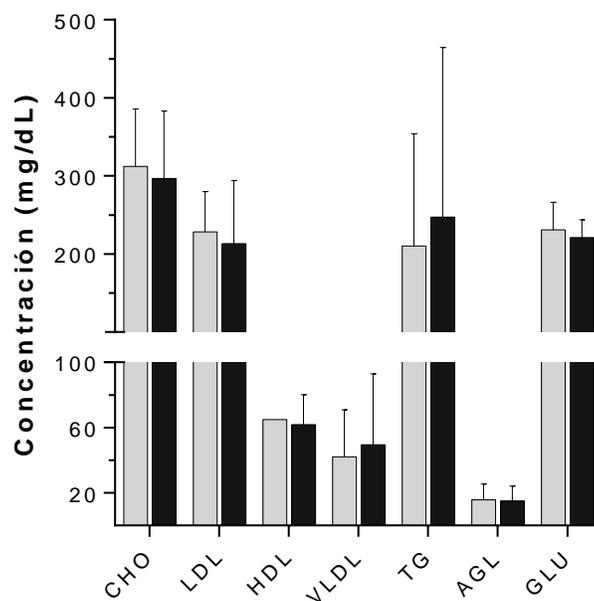


Figura 6. Ingesta de leche materna durante la lactancia. Promedio ± DE de la estimación de la ingesta de leche materna durante la lactancia. Crías de madres control (n=13) y crías de madres sobrenutridas (n=18).

### 8.2.3 Perfil metabólico de las crías al destete

No se observó diferencias estadísticas en el perfil metabólico entre grupos al destete (Figura 7).  
**Perfil metabólico al destete**



*Figura 7. Perfil metabólico de crías al destete.* Promedio  $\pm$  DE de la concentración en ayuno de colesterol total (CHO), lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), triglicéridos (TG), ácidos grasos libres (AGL) y glucosa (GLU). Crías de madres control (n=13) y crías de madres sobrenutridas (n=18).

#### 8.2.4 Peso de órganos y depósitos de grasa de las crías al destete

No se observó diferencia estadística en el porcentaje de peso de órganos y depósitos de grasa entre grupos al momento del destete (Figura 9).

**A**

**B**

*Figura 8. Porcentaje corporal de órganos y depósitos de grasa de crías al destete.* Promedio  $\pm$  DE de A) órganos y B) depósitos de grasa medido en crías de madres control (n=13) y de madres sobrenutridas (n=18). El peso en fresco de los órganos y depósitos de grasa se normalizaron en relación del peso del animal al momento del sacrificio.

## IX. DISCUSIÓN

El conejo ha demostrado ser un buen modelo para el estudio de enfermedades cardiovasculares y metabólicas debido a su parecido fisiológico con los humanos [80 y 84]. Adicionalmente, el tipo de placentación y la información detallada acerca del desarrollo del embrión hacen que el conejo sea un modelo atractivo para el estudio del origen del desarrollo de la salud y de las enfermedades [79, 81, y 89]. En este estudio se evaluó el efecto de la sobrenutrición materna inducida por una dieta desequilibrada sobre el crecimiento corporal y el perfil metabólico de la descendencia en etapas tempranas de la vida en un modelo de conejo.

Los modelos de sobrenutrición materna inducida por dieta se han centrado en desarrollar características asociadas al síndrome metabólico a través del consumo de diferentes tipos de dietas, entre las que se encuentran: dieta alta en grasa o alta en hidratos de carbono, dieta alta en grasas (colesterol) e hidratos de carbono (sacarosa) y dieta hiperlipídica e hipercolesterolémica (adición de diferentes grasas como el aceite de soya y colesterol) [90 y 91]. En este estudio la dieta elaborada se basó en la adición de hidratos de carbono como la sacarosa y de lípidos como el aceite de soya y el colesterol, lo que representa una novedad en la generación del modelo de estudio.

El consumo de cada tipo de dieta mencionada, origina signos y síntomas asociados al síndrome metabólico. Sin embargo, el efecto fisiopatológico en particular depende de la composición de dieta [91 y 96]. El consumo de la dieta desequilibrada implementada en este estudio, impactó de manera significativa el metabolismo lipídico de las hembras de conejo Europeo. En comparación con un estudio previo de sobrenutrición materna inducida por una dieta hiperlipídica e hipercolesterolémica realizado en conejos Nueva Zelanda [59], los niveles de colesterol materno en conejo Europeo se elevaron hasta 10 veces lo reportado previamente.

El consumo de la dieta desequilibrada no generó obesidad en las hembras sobrenutridas. Estudios sobre programación metabólica realizados en conejos reportan que el consumo prolongado, durante la pubertad y durante la gestación, de una dieta hiperlipídica e hipercolesterolémica no afecta el peso corporal de las hembras. Sin embargo, el consumo de dicha dieta induce el incremento de adiposidad medida *in vivo* [59, 97 y 98]. Adicionalmente, la estabilidad del peso corporal se ha reportado en diversas investigaciones sobre programación metabólica inducida por el consumo excesivo de calorías, en primates no humanos [65] y en ratas Sprague Dawley [55] que consumieron 18 y 50% de calorías adicionales, o por el consumo de

dietas isocalóricas desequilibradas, en ratas Sprague Dawley [100] y Wistar [101] que consumieron una dieta con exceso de grasa, así como de aceite de maíz y coco respectivamente. Contrario a las observaciones mencionadas, existen reportes de modelos murinos en los cuales el consumo de una dieta alta en grasas genera obesidad definida por el incremento de peso corporal y adiposidad en las madres durante periodos previos y durante la gestación [60, 102 y 103]. Las variaciones en los reportes sobre los efectos en el incremento de peso corporal asociado al consumo de dietas altas en grasa o dietas desequilibradas, puede estar relacionado con el tiempo de exposición así como a la composición de la dieta y a la susceptibilidad específica del modelo animal a desarrollar obesidad [35 y 90]. Adicionalmente, se ha reportado obesidad materna en modelos animales genéticamente modificados, tales como ratones ob/ob (Lepob/Lepob), ratones diabéticos (Lepdb/Lepdb), ratas Zucker, ratas diabéticas Zucker (ZDF), ratones Knockout POMC, ratones knockout POMC/AgRP, entre otros [104]. En este caso, las modificaciones genéticas propician el almacenamiento de grasa corporal y al desarrollo de diabetes.

Los reportes mencionados, así como reportes adicionales en la literatura han mostrado que el peso corporal está regulado por un control homeostático complejo, el cual involucra componentes hormonales, así como diferentes áreas del hipotálamo encargados de la regulación del apetito [105]. La única manera de mantener un nivel estable de peso corporal es equilibrar la ingesta diaria de energía, en relación a los gastos energéticos diarios. Tradicionalmente, la ingesta de alimento ha sido considerada como el factor clave que controla el proceso de regulación del peso corporal. Por lo tanto, si el peso se reduce, se eleva la ingesta de alimentos y viceversa [105]. Bajo este contexto, se observó que el consumo de la ingesta calórica en las hembras sobrenutridas fue similar a la ingesta calórica del grupo control durante el crecimiento, lo que significa que las conejas redujeron el consumo diario (g) de alimento hasta mantener un consumo calórico similar al grupo control. Observaciones similares se han reportado en estudios sobre programación metabólica en conejas alimentadas con una dieta alta en grasa y colesterol [55 y 97], así como en otros modelos animales tales como ratas [55 y 61] y ratones [66].

La gestación modificó parámetros como la ingesta calórica y el peso corporal en ambos grupos. En el primer caso, la disminución en la ingesta calórica está relacionado con la reducción en los requerimientos nutricionales durante esta etapa, en especial a partir de la tercera semana de gestación. En el caso del peso corporal, el aumento se relaciona con el crecimiento fetal que se da a partir del día 18 de gestación [106]. En particular, las hembras del grupo sobrenutrido disminuyen el consumo calórico y en consecuencia de los macronutrientes ingeridos con respecto

al grupo control hacia el final de la gestación. En los estudios realizados en conejos Japoneses blancos y Nueva Zelanda sometidos a una dieta alta en grasas durante un periodo prolongado [85] o durante la gestación [59], no se ha reportado disminución en el consumo calórico asociado al tratamiento. Sin embargo, se ha reportado que el consumo de las dietas altas en grasa incrementan los niveles de leptina, ocasionando un desajuste en la regulación hormonal de la ingesta de alimento, lo cual conduce a la disminución en el consumo calórico [107].

El consumo de la dieta desequilibrada originó dislipidemia en las hembras sobrenutridas, la cual se caracterizó por alteraciones asociadas en la concentración en ayuno de colesterol total, lipoproteínas de baja y alta densidad durante el crecimiento. Los niveles de colesterol total y de lipoproteínas de baja densidad observados en este estudio superan los reportados por estudios previos en conejos Nueva Zelanda alimentados con una dieta alta en grasas [59 y 108]. Los altos niveles de colesterol en este experimento se asocian a la adición de sacarosa en la dieta desequilibrada. Es bien conocido que el exceso hidratos de carbono que no son oxidados o almacenados en forma de glucógeno en el organismo son transformados a grasas por el hígado y el tejido adiposo a partir de un mecanismo bioquímico denominado lipogénesis *de novo* [109]; sin embargo, la hipótesis anterior necesitaría ser confirmada.

El perfil metabólico dislipidémico, como principal modificación metabólica inducida por dieta en modelos de sobrenutrición materna, ha sido reportado en diversos modelos animales adicionales al conejo [59], tales como: ratas [55], cerdos [56] y primates no humanos [65]. La alteración de glucosa y ácidos grasos libres en ayuno están menormente representados en estudios experimentales [58 y 66]. En particular, estudios previos de sobrenutrición materna en conejo, reportan estabilidad en los niveles de glucosa en ayuno a pesar del consumo prolongado de una dieta alta en grasas [59]. En este estudio, los niveles de glucosa en ayuno del grupo sobrenutrido difirieron del grupo control a las 18 semanas de edad. Sin embargo, no se reportaron diferencias al momento del apareamiento y al momento del parto o durante la PTGiv. En la literatura se ha reportado que la exposición prolongada a dietas altas en grasas y altas en hidratos de carbono, así como la implementación de tratamientos químicos, producen cambios en la concentración de glucosa materna [80]. Sin embargo, la exposición prolongada o el uso de fármacos pueden generar acumulación de colesterol en otros órganos causando infertilidad o incluso la muerte del individuo durante la fase de inducción [80 y 104].

La etapa de gestación y el parto tienen un efecto sobre el perfil metabólico de las hembras. De manera similar, se ha reportado variaciones en el perfil lipídico en conejos Nueva Zelanda a través de la gestación [106 y 110]. Los niveles en suero de colesterol y de lipoproteínas de baja densidad en las hembras del grupo sobrenutrido, así como los niveles de lipoproteínas de alta densidad en las hembras control disminuyeron en el posparto con respecto al crecimiento y al momento del apareamiento. La reducción en los niveles de metabolitos hacia el final de la gestación y durante el parto se relaciona con la utilización de los mismos para el mantenimiento de la gestación [110] y con el transporte materno hacia el feto a través de la placenta [68, 95 y 74]. Adicionalmente, el incremento de los niveles de triglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad de las hembras sobrenutridas en el posparto se puede asociar al consumo de la dieta desequilibrada.

El conejo ha sido utilizado como modelo de hipertensión debido a su relativa facilidad de inducción mediante el consumo de una dieta alta en grasa [108, 110, 111 y 112]. Sin embargo, en este estudio no se registraron cambios en la presión arterial de las hembras experimentales. La presión arterial se midió a través de un método no invasivo mediante el uso de un esfigmomanómetro y un Doppler fetal, este método mide de manera indirecta la presión arterial a través de la evaluación de los sonidos producidos por el flujo sanguíneo al ser liberado de la oclusión previa por el manguito inflable. Los resultados obtenidos de la evaluación de presión sanguínea en este estudio pudieran asociarse con el método empleado para su registro y no necesariamente representan la condición fisiológica de las hembras sobrenutridas. Probablemente, el método idóneo para la evaluación de la presión arterial en modelos animales, en especial en conejo, es el reportado en la literatura [59, 110, 111 y 112]. El método consiste en medir de manera directa la presión arterial, a través de un método invasivo mediante la cateterización cardiovascular o arterial de la oreja del conejo bajo un procedimiento quirúrgico [59 y 112], sin embargo la implementación de un método invasivo en un estudio a largo plazo puede originar complicaciones que ponen en riesgo la salud de los sujetos experimentales [104].

En el posparto, se evaluó el porcentaje corporal de órganos y depósitos de grasa de las hembras como indicador del estado fisiológico materno. El incremento en el peso en órganos del cuerpo y en los depósitos de grasa puede asociarse a daño fisiológico producido por hipertrofia, fibrosis, inflamación, almacén de grasa en el tejido entre otras alteraciones originadas por el consumo de diferentes tipos de dieta [113]. En el posparto, el peso del hígado y corazón fue mayor para el grupo sobrenutrido en comparación al grupo control. En relación a los depósitos de grasa no se encontró diferencia entre grupos. Zeeni y col, en 2015 [114], evaluaron el efecto del

consumo de una dieta tipo cafetería (alta en grasas e hidratos de carbono) y de una dieta alta en grasa sobre las alteraciones bioquímicas, funcionales y estructurales en diversos órganos y tejidos corporales de ratones macho BALB/c. Adicionalmente, se reporta sobrepeso corporal, definido por el aumento en el tejido adiposo abdominal, incremento en el peso del hígado debido a la presencia de esteatosis y fibrosis hepática y esteatosis en el miocardio de ratones alimentados con la dieta tipo cafetería **[114]**.

El modelo animal de sobrenutrición materna originado en este estudio presentó signos asociados al síndrome metabólico como alteraciones en el perfil de colesterol total, lipoproteínas de baja y alta densidad, triglicéridos y glucosa. Se ha documentado el efecto en la salud de la descendencia relacionado con el estado metabólico materno antes y durante la gestación **[55, 58 y 66]**. Así mismo, se ha documentado que el consumo de la dieta alta en grasa durante la gestación genera por sí sola alteraciones metabólicas en las crías a largo plazo, sin generar alteraciones metabólicas de manera inmediata en las madres **[56, 61, 65 y 115]**, debido al transporte de nutrientes vía placentaria o por la alteración de la función de la placenta durante la gestación **[88 y 116]**. En ambos casos la descendencia presenta alteraciones metabólicas, cognitivas, conductuales entre otros, en la vida postnatal **[55, 66 y 69]**.

La literatura sugiere que existen diversos “momentos” del desarrollo (gestación y lactancia), en los cuales la obesidad materna y/o la malnutrición materna pueden resultar en la programación metabólica de la descendencia **[117]**, por lo cual, el uso de nodrizas durante el periodo de lactancia permitió determinar la importancia del consumo de la dieta desequilibrada y del estado metabólico materno durante la gestación sobre la programación metabólica de la descendencia.

El estado metabólico materno y la exposición *in utero* a una dieta desequilibrada durante la gestación no afectaron el peso corporal al nacimiento y durante la lactancia de las crías sobrenutridas. La ganancia de peso corporal en función al incremento de edad en las crías de ambos grupos, corresponde a lo reportado anteriormente en conejo Europeo **[121 y revisado en 122]**. En contraparte, la literatura ha reportado que la hipercolesterolemia, así como la desnutrición materna induce al retraso en el crecimiento intrauterino (RCIU) en la descendencia. El RCIU se ha reportado principalmente en modelos de desnutrición materna, en donde el mecanismo desencadenante se relaciona con la insuficiencia de nutrientes transmitidos de la madre al feto **[118]**. En modelos de sobrenutrición materna el RCIU se asocia al incremento en la concentración de lípidos en la placenta que a su vez genera disfunción placentaria **[119 y 120]**.

La exposición *in utero* a la dieta desequilibrada y al estado metabólico materno no modificó la ingesta de leche durante la lactancia. Sin embargo, en la literatura se ha reportado que las crías de madres con hipercolesterolemia presentan un incremento en la ingesta de leche materna, que se acompaña con un crecimiento acelerado durante la lactancia [59 y 61]. La variación observada en la ingesta de leche con respecto al incremento en la edad de las crías de ambos grupos ha sido reportada anteriormente [123]. El consumo de leche materna disminuye de manera gradual después del día posnatal 21 debido a que comienza el periodo de destete (20-40 días de edad) en los conejos. El destete se caracteriza por el consumo de pequeñas cantidades de alimento sólido por parte de las crías y por una disminución gradual en la producción de leche materna [123].

Adicionalmente, el perfil metabólico, así como el peso de los órganos y los depósitos de grasa en la descendencia al destete fueron similares entre las crías de ambos grupos. Observaciones similares se han reportado en las crías de ratas Sprague Dawley expuestas durante el desarrollo embrionario a una dieta alta en grasas [55 y 124].

En particular, se ha puesto interés especial en evaluar los efectos de la malnutrición materna durante diferentes periodos críticos del desarrollo. Sun y col, en 2012 [124] y posteriormente Desai y col, en 2014 [55], evaluaron el efecto del consumo de una dieta alta en grasas durante la gestación, durante la lactancia o en ambos periodos en la descendencia de ratas Sprague Dawley. Las crías que fueron expuestas durante la gestación a la dieta alta en grasas presentaron alteraciones en el perfil lipídico y glucémico durante la edad adulta (12 y 24 semanas de edad respectivamente), mientras que las crías que fueron expuestas durante la lactancia, así como las crías que fueron expuestas durante la gestación y lactancia, presentaron alteraciones en el perfil lipídico y en el peso corporal desde el destete hasta la edad adulta. Por lo tanto, se ha postulado que el tiempo de exposición a un ambiente nutricional inadecuado es de importancia para determinar el fenotipo de la descendencia [55, 117 y 124]. Así mismo se ha planteado que la exposición a la malnutrición materna durante la lactancia puede producir alteraciones metabólicas en las crías a corto plazo [55 y 124]. Los efectos de la programación metabólica sobre la salud de la descendencia han sido reportados principalmente en edades juveniles y durante la edad adulta [20], por lo que la ausencia de manifestaciones patológicas en la descendencia durante la lactancia y en el destete no sugiere la falta de programación metabólica durante el desarrollo embrionario. La valoración de signos y síntomas asociados al síndrome metabólico durante la edad adulta en la descendencia de las hembras sobrenutridas podrían confirmar la programación metabólica ocurrida durante el desarrollo.

## X. CONCLUSIONES

- El consumo de la dieta desequilibrada originó dislipidemia en las hembras sobrenutridas. La dislipidemia se caracterizó por el incremento de colesterol total, lipoproteínas de baja densidad así como el decremento de lipoproteínas de alta densidad. Lo anterior se asocia a la desregulación del metabolismo lipídico a consecuencia de la adición de colesterol y aceite de soya a la dieta de conejo.
- El consumo de la dieta desequilibrada incrementó el peso de órganos como el hígado y el corazón en las hembras sobrenutridas. Lo anterior pudiera deberse a la acumulación de grasa en dichos tejidos.
- El consumo de la dieta desequilibrada no modificó la ingesta calórica semanal de las hembras sobrenutridas durante el crecimiento. Lo cual sugiere que las hembras modulan el consumo de alimento en función a los requerimientos diarios, sin verse afectado por la composición de la dieta.
- El consumo prolongado de la dieta desequilibrada no modificó el peso corporal así como la presión arterial de las hembras sobrenutridas.
- El porcentaje corporal de los depósitos de grasa evaluados posterior al parto no se vieron afectados por el consumo de la dieta desequilibrada. Lo cual posiblemente este asociado a que durante la gestación existe una movilización de energía para cubrir los requerimientos de las crías y de las madres.
- El crecimiento corporal y la ingesta de leche durante la lactancia, así como el perfil metabólico, el peso de los órganos y depósitos de grasa al destete no fueron afectados en las crías de madres con hiperlipidemia. Lo anterior indica que los efectos asociados al estado metabólico materno no son observables en las crías durante edades tempranas. Sin embargo, estos resultados no descartan que los signos y síntomas asociados al síndrome metabólico sean observados en las crías de madres sobrenutridas durante la edad adulta.

## XI. LITERATURA CITADA

1. Parikh R, Mohan V. 2012. Changing definitions of metabolic syndrome. *Indian J Endocr Metab.* 16: 7-12.
2. Kaylin E. 1923. Studies of the hypertension hyperglycemia hyperuricemia syndrome. *Zentralbl Innere Med.* 44:105-127.
3. Raven GM. 1988. Banting Lectures 1988: Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 37:1595-1607.
4. World Health Organization. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus and its Complications. Report of a WHO consultation. Geneva: World Health Organization 1999. Recuperado el 06 de Agosto del 2015 de [http://www.who.int/hq/1999/who\\_ncd\\_ncs\\_99.2.pdf](http://www.who.int/hq/1999/who_ncd_ncs_99.2.pdf).
5. Balkau B, Charles MA. 1999. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabetes Med.* 16:442-443.
6. National Institute of Health: Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). 2001. *Journal of the American Medical Association.* 285: 2486-2497.
7. American College of Endocrinology Task Force on the Insulin Resistance Syndrome. 2003. *Endocrine Practice.* 9:236-252.
8. IDF Worldwide Definition of the Metabolic Syndrome. Backgrounder 1: The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Backgrounder 2: Rationale for new IDF worldwide definition of metabolic syndrome. Backgrounder 3: Metabolic syndrome – driving the CVD epidemic. 2014 International Diabetes Federation. Recuperado el 06 de Agosto del 2015 de <http://www.idf.org/metabolic-syndrome>.
9. Grundy S, Cleeman C, Daniels S, Donato K, Eckel R, Franklin B, Gordon D, Krauss R, Savage P, Smith S, Spertus J, Costa F. 2005. Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation.* 112:2735-2752.

10. Alberti F, Eckel R, Grundy S, Zimmet P, Cleeman J, Donato K, Fruchart J-C, James P, Loria C, Smith S. 2009. Harmonizing the Metabolic Syndrome. A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 120:1640-1645.
11. Batsis JA, Nieto-Martinez RE, Jimenez-Lopez F. 2007. Metabolic syndrome: From Global Epidemiology to Individualized Medicine. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 28(5):509-524.
12. Rochlani Y, Venkata N, Mehta J. 2015. Metabolic Syndrome: Does it differ between Women and Men? *Cradiovasc Drugs Therapy*. Published online: 21 May 2015.
13. Grundy S. 2008. Metabolic Syndrome Pandemic. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 28:629-636.
14. Boletín: el 50% de los Adultos Mexicanos Padecen Síndrome Metabólico [en línea] Ciudad de México, a 12 de agosto de 2010. Conferencia Científica Anual Sobre Síndrome Metabólico-Derechos Reservados [fecha de consulta 06 de agosto de 2015]. Disponible desde Internet: <http://www.conferenciasindromemetabolico.org/boletines/>.
15. Rojas-Martínez R, Aguilar-Salinas C, Jiménez-Corona A, Gómez-Pérez F, Barquera S, Lazcano-Ponce E. 2012. Prevalence of obesity and metabolic syndrome components in Mexican adults without type 2 diabetes or hypertension. *Salud Pública México*. 54:7-12.
16. Salas R, Bibiloni M, Villareal J, Pons A, Tur J, Sureda A. 2014. Metabolic Syndrome Prevalence among Northern Mexican Adult Population. *PLoS ONE*. 9(8):e105581.
17. Garduño-Alanís A, Vázquez-de Anda G, Valdés-Ramos R, Talavera J, Herrera-Villalobos J, Huitrón-Bravo G, Hernández-Garduño E. 2015. Predictors of hiperlipidemia during the first half of pregnancy in Mexican women. *Nutrición Hospitalaria*. 31:508-513.
18. Nava P, Garduño A, Pestaña S, Santamaría M, Vázquez G, Camacho R, Herrera J. 2011. Obesidad Pregestacional y Riesgo de Intolerancia a la Glucosa en el Embarazo y Diabetes Gestacional. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*. 76(1):10-14.

19. García-García E, De la Llata-Romero M, Kaufer-Horwitz M, Tusié-Luna M, Calzada-León R, Vázquez-Velázquez V, Barquera-Cervera S, Caballero-Romo A, Orozco L, Velásquez-Fernández D, Rosas-Peralta M, Barriguete-Meléndez A, Zacarías-Castillo R, Sotelo-Morales J. 2008. La obesidad y el síndrome metabólico como problema de salud pública. Una reflexión. *Salud Pública México*. 50(6): 530-547.
20. Pico C, Palou A. 2013. Perinatal programming of obesity: an introduction to the topic. *Frontiers in Physiology*. 255(4):1-3.
21. Nathanielsz P, Ford S, Long N, Vega C, Reyes-Castro L, Zambrano E. 2013. Interventions to prevent adverse fetal programming due to maternal obesity during pregnancy. *Nutrition Reviews*. 71(suppl.1):S78-S87.
22. Rask-Madsen C y Kahn R. 2012. Tissue-Specific Insulin Signaling, Metabolic Syndrome, and Cardiovascular Disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 32:2052-2059.
23. Thaman R y Arora G. 2013. Metabolic Syndrome: Definition and Pathophysiology-the discussion goes on!. *Journal of Physiology and Pharmacology Advances*. 3(3):48-56.
24. Gurevich-Panigrahi T, Panigrahi S, Wiechec E, Los M. 2009. Obesity: pathophysiology and clinical management. *Current Medicinal Chemistry*. 16(4):506-21.
25. Martínez S, Torres D, Juárez O. 2013. Los ácidos grasos y la lipotoxicidad: implicaciones metabólicas. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*. 56(1): 5-18.
26. Carrasco N, Galgani F, Reyes J. 2013. Síndrome de resistencia a la insulina. Estudio y manejo. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 24(5): 827-837.
27. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. 2014. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice* 105: 141 – 150.
28. Troyo-Barriga P. 2004. Obesidad y dislipidemias. *Gaceta Médica de México*. 140(S): S49-S58.
29. Kotsis V, Stabouli S, Papakatsika S, Rizos Z, Parati G. 2010. Mechanisms of obesity-induced hypertension. *Hypertension Research*. 33(5):386-93.
30. Dina C. 2008. New insights into the genetics of body weight. *Metabolic Care*. 11:378-384.
31. Cipriani-Thorne E y Quintanilla A. 2010. Diabetes mellitus tipo 2 y resistencia a la insulina. *Revista Médica Herediana*. 21:160-170.

32. Fernandez ML, West KL. 2005. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. *Journal of Nutrition*. 135(9):2075-8.
33. Panicoa S, Iannuzzib A. 2004. Dietary fat composition and the metabolic syndrome. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 106: 61–67.
34. Pitsavos C, Panagiotakos D, Weinem M, Stefanadis C. 2006. Diet, exercise and the metabolic syndrome. *The Review of Diabetic Studies*. 3(3):118-26.
35. Kiani A y Nielsen M. 2011. Metabolic Programming: Origin of Non-Communicable Diseases in Early Life Nutrition. 9(3):409-415.
36. Riccardi G, Giacco R, Rivellese AA. 2004. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. *Clinical Nutrition*. 23(4):447-56.
37. Control del Sobrepeso y la Obesidad en la Mujer. [en línea] México, Instituto Mexicano del Seguro Social, 15 de Julio de 2015. [fecha de consulta 06 de agosto de 2015]. Disponible desde Internet: <http://www.imss.gob.mx/salud-en-linea/sobrepeso-obesidad>.
38. Armitage J, Taylor P, Poston L. 2005. Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development. *Journal Physiology*. 565.1: 3-8.
39. Barker DJP. 1995. Fetal origins of coronary heart disease. *BMJ*. 311:171-174.
40. Barker DJP, Osmond C, Golding J, Kuh D, Wadsworth M. 1989. Growth in utero, blood pressure in childhood and adult life, and mortality from cardiovascular disease. *BMJ*. 298:564-567.
41. Zambrano E y Nathanielsz. 2013. Mechanisms by which maternal obesity programs offspring for obesity: evidence from animal studies. *Nutrition Reviews*. 71(Suppl. 1):S42-S54.
42. Lucas A. 1991. Programming by early nutrition in man. *Ciba Foundation Symposium*. 156:38-50.
43. Hales C y Barker D 1992. Type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*. 35: 595–601.
44. Portha B, Fournier A, Kioon A, Mezger V, Movassat J. 2013. Early environmental factors, alteration of epigenetic marks and metabolic disease susceptibility. *Biochime*. 97:1-15.

45. Gluckman P y Hanson M. 2006. The developmental origins of health and disease: an overview. Cambridge University Press. 1-10.
46. Nathanielsz PW. 1999. Life in the Womb: The Origin of Health and Disease. Ithaca, NY: Promethean Press. 363 pp.
47. Ojha S, Robinson L, Symonds M, Budge H. 2013. Suboptimal maternal nutrition affects offspring health in adult life. *Early Human Development*. 89(11):909-13.
48. Pirkola J, Pouta A, Bloigu A, Hartikainen AL, Laitinen J, Järvelin MR, Vääräsmäki M. 2010. Risks of overweight and abdominal obesity at age 16 years associated with prenatal exposures to maternal prepregnancy overweight and gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 33(5):1115-1121.
49. Modi N, Murgasova D, Ruager-Martin R, Thomas EL, Hyde MJ, Gale C, Santhakumaran S, Doré CJ, Alavi A, Bell JD. 2011. The influence of maternal body mass index on infant adiposity and hepatic lipid content. *Pediatric Research*. 70(3):287-91.
50. Whitaker R. 2004. Predicting Preschooler Obesity at Birth: The Role of Maternal Obesity in Early Pregnancy. *Pediatrics*. 114(1): e29-e36.
51. Mingrone G, Manco M, Mora M, Guidone C, Laconelli A, Gniuli D, Leccesi L, Chiellini C, Ghirlanda G. 2008. Influence of maternal obesity on insulin sensitivity and secretion in offspring. *Diabetes Care*. 31(9):1872-6.
52. Fraser A, Tilling K, Macdonald-Wallis C, Sattar N, Brion MJ, Benfield L, Ness A, Deanfield J, Hingorani A, Nelson SM, Smith GD, Lawlor DA. 2010. Association of maternal weight gain in pregnancy with offspring obesity and metabolic and vascular traits in childhood. *Circulation*. 121(23):2557-64.
53. Hochner H, Friedlander Y, Calderon-Margalit R, Meiner V, Sagy Y, Avgil-Tsadok M, Burger A, Savitsky B, Siscovick DS, Manor O. 2012. Associations of maternal prepregnancy body mass index and gestational weight gain with adult offspring cardiometabolic risk factors: the Jerusalem Perinatal Family Follow-up Study. *Circulation*. 125(11):1381-9.
54. Reynolds RM, Allan KM, Raja EA, Bhattacharya S, McNeill G, Hannaford PC, Sarwar N, Lee AJ, Bhattacharya S, Norman JE. 2013. Maternal obesity during pregnancy and premature

- mortality from cardiovascular event in adult offspring: follow-up of 1 323 275 person years. *BMJ*. 347:f4539.
55. Desai M, Jellyman JK, Han G, Beall M, Lane RH, Ross MG. 2014. Maternal obesity and high-fat diet program offspring metabolic syndrome. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. 211(3):237.e1-237.e13.
  56. Arentson-Lantz EJ, Buhman KK, Ajuwon K, Donkin SS. 2014. Excess pregnancy weight gain leads to early indications of metabolic syndrome in a swine model of fetal programming. *Nutrition Research*. 34(3):241-9.
  57. Song Y, Li J, Zhao Y, Zhang Q, Liu Z, Li J, Chen X, Yang Z, Yu C, Xiao X. 2012. Severe maternal hyperglycemia exacerbates the development of insulin resistance and fatty liver in the offspring on high fat diet. *Experimental Diabetes Research*. 2012(254976):1-8.
  58. Bringhenti I, Moraes-Teixeira JA, Cunha MR, Ornellas F, Mandarim-de-Lacerda CA, Aguila MB. 2013. Maternal obesity during the preconception and early life periods alters pancreatic development in early and adult life in male mouse offspring. *PLoS One*. 8(1):e55711.
  59. Picone O, Laigre P, Fortun-Lamothe L, Archilla C, Peynot N, Ponter A, Berthelot V, Gordier G, Durathon V, Chavatte-Palmer P. 2011. Hyperlipidic hypercholesterolemic diet in prepubertal rabbits affects gene expression in the embryo, restricts fetal growth and increases offspring susceptibility to obesity. *Theriogenology* 75: 287-289.
  60. Murabayashi N, Sugiyama T, Zhang L, Kamimoto Y, Umekawa T, Ma N, Sagawa N. 2013. Maternal high-fat diets cause insulin resistance through inflammatory changes in fetal adipose tissue. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 169(1):39-44.
  61. Kirk SL, Samuelsson AM, Argenton M, Dhonye H, Kalamatianos T, Poston L, Taylor PD, Coen CW. 2009. Maternal obesity induced by diet in rats permanently influences central processes regulating food intake in offspring. *PLoS One*. 4(6):e5870.
  62. Bayol S, Simbi B, Berrand A, Stickland. 2008. Offspring from mothers fed a “junk food” diet in pregnancy and lactation exhibit exacerbated adiposity that is more pronounced in females. *Journal Physiology*. 586.13: 3219-3230.

63. Fan L, Lindsley SR, Comstock SM, Takahashi DL, Evans AE, He GW, Thornburg KL, Grove KL. 2013. Maternal high-fat diet impacts endothelial function in nonhuman primate offspring. *International Journal of Obesity*. 37(2):254-62.
64. Thorn SR, Baquero KC, Newsom SA, El Kasmi KC, Bergman BC, Shulman GI, Grove KL, Friedman JE. 2014. Early life exposure to maternal insulin resistance has persistent effects on hepatic NAFLD in juvenile nonhuman primates. *Diabetes*. 63(8):2702-13.
65. McCurdy CE, Bishop JM, Williams SM, Grayson BE, Smith MS, Friedman JE, Grove KL. 2009. Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. *The Journal of Clinical Investigation*. 119(2):323-35.
66. Vogt MC, Paeger L, Hess S, Steculorum SM, Awazawa M, Hampel B, Neupert S, Nicholls HT, Mauer J, Hausen AC, Predel R, Kloppenburg P, Horvath TL, Brüning JC. 2014. Neonatal insulin action impairs hypothalamic neurocircuit formation in response to maternal high-fat feeding. *Cell*. 156(3):495-509.
67. Contreras C, Novelle MG, Leis R, Diéguez C, Skrede S, López M. 2013. Effects of neonatal programming on hypothalamic mechanisms controlling energy balance. *Hormone and Metabolic Research*. 45(13):935-44.
68. Alfaradhi M y Ozanne S. 2011. Developmental programming in response to maternal overnutrition. *Frontiers in Genetics*. 2:27.
69. Sullivan EL, Riper KM, Lockard R, Valteau JC. 2015. Maternal high-fat diet programming of the neuroendocrine system and behavior. *Hormones and behavior*. pii: S0018-506X(15)00058-6.
70. Langley-Evans S C. 2007. Metabolic programming in pregnancy: studies in animal models. *Genes & Nutrition*, 2(1): 33–38.
71. Lanham SA, Roberts C, Hollingworth T, Sreekumar R, Elahi MM, Cagampang FR, Hanson MA, Oreffo RO. 2010. Maternal high-fat diet: effects on offspring bone structure. *Osteoporosis International*. 21(10):1703-14.
72. Gregorio BM, Souza-Mello V, Mandarim-de-Lacerda CA, Aguila MB. 2013. Maternal high-fat diet is associated with altered pancreatic remodelling in mice offspring. *European Journal of Nutrition*. 52(2):759-69.

73. Song Y, Yu Y, Wang D, Chai S, Liu D, Xiao X, Huang Y. 2015. Maternal high-fat diet feeding during pregnancy and lactation augments lung inflammation and remodeling in the offspring. *Respiratory Physiology & Neurobiology*. 207:1-6.
74. Dowling D y McAuliffe. 2013. The molecular Mechanisms of Offspring Effects from Obese Pregnancy. *Obesity facts*. 6:134-145.
75. Laker R, Wlodekc M, Connelly J, Yan Z. 2013. Epigenetic origins of metabolic disease: The impact of the maternal condition to the offspring epigenome and later health consequences. *Food Science and Human Wellness*. 2:1–11.
76. Burdge GC, Slater-Jefferies J, Torrens C, Phillips ES, Hanson MA, Lillycrop KA. 2007. Dietary protein restriction of pregnant rats in the F0 generation induces altered methylation of hepatic gene promoters in the adult male offspring in the F1 and F2 generations. *British Journal of Nutrition*. 97(3): 435–439.
77. Aagaard-Tillery KM, Grove K, Bishop J, Ke X, Fu Q, McKnight R, Lane RH. 2008. Developmental origins of disease and determinants of chromatin structure: maternal diet modifies the primate fetal epigenome. *Journal of Molecular Endocrinology*. 41(2):91-102.
78. Zhang J, Zhang F, Didelot X, Bruce KD, Cagampang FR, Vatish M, Hanson M, Lehnert H, Ceriello A, Byrne CD. 2009. Maternal high fat diet during pregnancy and lactation alters hepatic expression of insulin like growth factor-2 and key microRNAs in the adult offspring. *BMC Genomics*. 10:478.
79. Fischer B, Chavatte-Palmer P, Viebahn C, Santos A, Duranthon V. 2012. Rabbit as a reproductive model for human health. *Society for reproduction and fertility*. 144:1-10.
80. Fleitas A, Simón R, Almeida G, Quintela A, Alfonso M. 2000. Modelo Experimental de Diabetes en Conejo. *Revista Cubana de Angiología y Cirugía Vasular*. 1(1):10-4.
81. Schindler M, Pendzialek M, Navarrete A, Plösch T, Seyring S, Gürke J, Haucke E, Knelangen JM, Fischer B, Santos AN. 2014. Maternal diabetes leads to unphysiological high lipid accumulation in rabbit preimplantation embryos. *Endocrinology*. 155(4):1498-509.
82. Waqar A, Koike T, Yu Y, Inoue T, Aoki T, Liu E, Fan. 2010. High-fat diet without excess calories induces metabolic disorders and enhances atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* 213:148-155.

83. Napoli C, Witztum J, Calara F, Nigris F, Palinski W. 2000. Maternal hypercholesterolemia enhances atherogenesis in normocholesterolemic rabbits, which is inhibited by antioxidant or lipid-lowering intervention during pregnancy. *Circulation research*. 87:946-952.
84. Lértora W, Villordo G, Mussart N, Catuogno M, Sánchez N. 2014. Desarrollo inicial de aterosclerosis en aorta de conejos sometidos a dietas con exceso de colesterol. *Revista Veterinaria*. 25(2): 87-94.
85. Zhao S, Chu Y, Zhang C, Lin Y, Xu K, Yang P, Fan J, Liu E. 2007. Diet-induced central obesity and insulin resistance in rabbits. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 92: 105-111.
86. Hue-Beauvais C, Chavatte-Palmer P, Aujean E, Dahirel M, Laigre P, Péchoux C, Bout S, Devinoy E, Charlier M. 2011. An Obesogenic diet started before puberty leads to abnormal mammary gland development during pregnancy in the rabbit. *Developmental Dynamics* 240:374-356.
87. Furukawa S, Kuroda Y, Sugiyama A. 2014. A comparison of the Histological Structure of the Placenta in Experimental Animals. *Journal of Toxicologic Pathology*. 27:11-18.
88. Thornburg KL, O'Tierney PF, Louey S. 2010. Review: The placenta is a programming agent for cardiovascular disease. *Placenta*. 31 Suppl: S54-9.
89. Menchetti L, Brecchia G, Canali C, Cardinali R, Polisca A, Zerani M, Boiti C. 2015. Food restriction during pregnancy in rabbits: effects on hormones and metabolites involved in energy homeostasis and metabolic programming. *Research in Veterinary Science*. 98:7-12.
90. Bertram CE, Hanson MA. 2001. Animal models and programming of the metabolic syndrome. *British Medical Bulletin*. 60:103-21.
91. Angelova P, Boyadjiev N. 2013. A review on the models of obesity and metabolic syndrome in rats. *Trakia Journal of Sciences*. 1:5-12.
92. Gajda M A. High Fat Diets for Diet-Induced Obesity Models. A Brief Review of the Scientific Literature-2008. [en línea]: Research Diets, Inc. All rights reserved. Obesity-3000-2-09. 2009.
93. Palinski W, D'Armiento FP, Witztum JL, de Nigris F, Casanada F, Condorelli M, Silvestre M, Napoli C. 2001. Maternal hypercholesterolemia and treatment during pregnancy influence the long-term progression of atherosclerosis in offspring of rabbits. *Circulation Research*. 89:991-996.

94. Kevorkova O, Ethier-Chiasson M, Lafond J. 2007. Differential expression of glucose transporters in rabbit placenta: effect of hypercholesterolemia in dams. *Biology of Reproduction*. 76:487–495.
95. Marseille-Tremblay C, Gravel A, Lafond J, Mounier C. 2007. Effect of an enriched cholesterol diet during gestation on fatty acid synthase, HMGCoA reductase and SREBP-1/2 expressions in rabbits. *Life Sciences* 81:772–778.
96. Prior LJ, Davern PJ, Burke SL, Lim K, Armitage JA, Head GA. 2014. Exposure to a high-fat diet during development alters leptin and ghrelin sensitivity and elevates renal sympathetic nerve activity and arterial pressure in rabbits. *Hypertension*. 63(2):338-45.
97. Dupont C, Ralliard-Rousseau D, Tarrade A, Faure C, Dahirel M, Sion B, Brugnion F, Levy R, Chavatte-Palmer P. 2014. Impact of maternal hyperlipidic hypercholesterolaemic diet on male reproductive organs and testosterone concentration in rabbits. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*. 5(3):183-8.
98. Léveillé P, Tarrade A, Dupont C, Larcher T, Dahirel M, Poumerol E, Cordier AG, Picone O, Mandon-Pepin B, Jolivet G, Lévy R, Chavatte-Palmer P. 2014. Maternal high-fat diet induces follicular atresia but does not affect fertility in adult rabbit offspring. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*. 5(2):88-97.
99. Eblen-Zajjur A y Eblen-Zajjur M. 2001. Cálculo de la concentración de colesterol de la lipoproteína de baja densidad: análisis de regresión versus fórmula de Friedewald. *Revista médica de Chile* 129(11):1263-70.
100. Langley-Evans SC. 1996. Intrauterine programming of hypertension in the rat: nutrient interactions. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 114(4):327-33.
101. Del Prado M, Delgado G, Villalpando S. 1997. Maternal lipid intake during pregnancy and lactation alters milk composition and production and litter growth in rats. *Journal of Nutrition*. 127(3):458-62.
102. Shankar K, Harrell A, Liu X, Gilchrist JM, Ronis MJ, Badger TM. 2008. Maternal obesity at conception programs obesity in the offspring. *The Journal of Comparative Physiology*. 294(2):R528-38.

103. Zambrano E, Martínez-Samoya P, Rodríguez-González G, Nathanielsz P. 2010. Dietary intervention prior to pregnancy reverses metabolic programming in male offspring of obese rats. *The Journal of Physiology*. 588(10): 1791-1799.
104. Santos-Gallego C, Badimon J, Ibáñez B. 2013. Modelos experimentales de aterosclerosis. *Revista Española de Cardiología*. 13(E):3-12.
105. Keesey R, y Hirvonen M. 1997. Body Weight Set-Points: Determination and Adjustment. *American Society for Nutritional Sciences*. 127: 1875S–1883S.
106. Mizoguchi Y, Matsuoka T, Mizuguchi H, Endoh T, Kamata R, Fukuda K, Ishikawa T, Asano Y. 2010. Changes in blood parameters in New Zealand White rabbits during pregnancy. *Laboratory Animals*. 44(1):33-9.
107. Zhang J, Matheny MK, Tümer N, Mitchell MK, Scarpace P. 2007. Leptin antagonist reveals that the normalization of caloric intake and the thermic effect of food after high-fat feeding are leptin dependent. *Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 292(2):R868-74.
108. Zhang XJ, Chinkes DL, Aarsland A, Herndon DN, Wolfe RR. 2008. Lipid metabolism in diet-induced obese rabbits is similar to that of obese humans. *Journal of Nutrition*. 138(3):515-8.
109. Hellerstein MK. 1999. De novo lipogenesis in humans: metabolic and regulatory aspects. *European Journal of Clinical Nutrition*. 53 Suppl 1:S53-65.
110. Prior LJ, Eikelis N, Armitage JA, Davern PJ, Burke SL, Montani JP, Barzel B, Head GA. 2010. Exposure to a high-fat diet alters leptin sensitivity and elevates renal sympathetic nerve activity and arterial pressure in rabbits. *Hypertension*. 55(4):862-8.
111. Barzel B, Weir JM, Meikle PJ, Burke SL, Armitage JA, Head GA. 2014. Short term fat feeding rapidly increases plasma insulin but does not result in dyslipidaemia. *Frontiers in Physiology*. 5:469.
112. Lim K, Burke SL, Head GA. 2013. Obesity-related hypertension and the role of insulin and leptin in high-fat-fed rabbits. *Hypertension*. 61(3):628-34.
113. Panchal SK, Poudyal H, Iyer A, Nazer R, Alam MA, Diwan V, Kauter K, Sernia C, Campbell F, Ward L. 2011. High-carbohydrate, high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 57:611–24.

114. Zeeni N, Dagher-Hamalian C, Dimassi H, Faour WH. 2015. Cafeteria diet-fed mice is a pertinent model of obesity-induced organ damage: a potential role of inflammation. *Inflammation Research*. 64(7):501-12.
115. Prior LJ, Davern PJ, Burke SL, Lim K, Armitage JA, Head GA. 2014. Exposure to a high-fat diet during development alters leptin and ghrelin sensitivity and elevates renal sympathetic nerve activity and arterial pressure in rabbits. *Hypertension*. 63(2):338-45.
116. Frantz E, Menezes HS, Lange KC, Abegg MP, Correa CA, Zangalli L, Vieira JL, Zettler CG. 2012. The effect of maternal hypercholesterolemia on the placenta and fetal arteries in rabbits. *Acta Cirurgica Brasileira*. 27(1):7-12.
117. Wells J. 2014. Adaptive variability in the duration of critical windows of plasticity: Implications for the programming of obesity. *Evolution, Medicine, and Public Health*. 1:109-21.
118. Suter M, Bocock P, Showalter L, Shope C, McKnight R, Grove K, Lane R, Aagaard-Tillery K. 2011. Epigenomics: maternal high-fat diet exposure in utero disrupts peripheral circadian gene expression in nonhuman primates. *The Journal of Federation of American Societies for Experimental Biology*. 25: 714-726.
119. Tarrade A, Rousseau-Ralliard D, Aubrière MC, Peynot N, Dahirel M, Bertrand-Michel J, Aguirre-Lavin T, Morel O, Beaujean N, Duranthon V, Chavatte-Palmer P. 2013. Sexual dimorphism of the feto-placental phenotype in response to a high fat and control maternal diets in a rabbit model. *PLoS One*. 8(12):e83458.
120. Berends LM, Fernandez-Twinn DS, Martin-Gronert MS, Cripps RL, Ozanne SE. 2013. Catch-up growth following intra-uterine growth-restriction programmes an insulin-resistant phenotype in adipose tissue. *International Journal of Obesity*. 37(8):1051-7.
121. Trejo-Muñoz L, Navarrete E, Montúfar-Chaveznavia R, Caldelas I. 2012. Determining the period, phase and anticipatory component of activity and temperature patterns in newborn rabbits that were maintained under a daily nursing schedule and fasting conditions. *Physiology & Behavior*. 106(5):587-96.
122. Hernández Campos O. 2013. Efecto de las lesiones en el núcleo supraquiasmático en la expresión de los ritmos de temperatura corporal y actividad locomotora de conejos en desarrollo (Tesis de grado de Maestría). Instituciones de Investigaciones Biomédicas. UNAM.

123. Nizza A, Stanco G, Di Meo C, Marongiu M, Taranto S, Cutrignelli M, Juliano L. 2002. Effect of pre-weaning solid feed and milk intake on caecal content characteristics and performance of rabbits around weaning. *Italian Journal of Animal Science*. 2:95-101.
124. Sun B, Purcell RH, Terrillion CE, Yan J, Moran TH, Tamashiro KL. 2012. Maternal high-fat diet during gestation or suckling differentially affects offspring leptin sensitivity and obesity. *Diabetes*. 61(11):2833-41.