



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**LA OBESIDAD MATERNA EN LA RATA AFECTA EL METABOLISMO  
DE LÍPIDOS HEPÁTICOS DE LA PROGENIE, EL CUAL SE ACENTÚA  
CON EL ENVEJECIMIENTO.**

***TESIS***

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA**

**AZUCENA ADELAIDA BELTRÁN RAMÍREZ**



**CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX**

**2020**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por la formación académica brindada.

Al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, a todo el equipo de trabajo del Departamento de Biología de la Reproducción.

A la Dra. Elena Zambrano González por permitirme trabajar en su laboratorio y con su equipo de trabajo, en especial a: Dra. Claudia J. Bautista Carbajal, QFB. Alejandra Hernández Rojas, Dra. Consuelo Lomas Soria, Dra. Guadalupe L. Rodríguez González, Dr. Luis A. Reyes Castro, gracias por sus enseñanzas y guía desde el inicio. Fue un gusto trabajar con ustedes y realizar investigación científica.

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

## CONTENIDO

### RESUMEN

<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>7</b>
<b>1.1 Panorama nacional epidemiológico de la obesidad</b>	<b>7</b>
<b>1.2 Nutrición en el embarazo</b>	<b>10</b>
<b>1.3 Obesidad en el embarazo</b>	<b>11</b>
<b>1.4 Obesidad en la lactancia</b>	<b>12</b>
<b>1.5 Generalidades de los triglicéridos</b>	<b>13</b>
<b>1.6 Metabolismo de los lípidos</b>	<b>13</b>
<b>1.7 Desarrollo y crecimiento fetal</b>	<b>15</b>
<b>1.8 Orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad (DOHaD)</b>	<b>16</b>
<b>1.9 Panorama de los estudios de investigación en obesidad</b>	<b>17</b>
<b>1.10 Modelos de programación en roedores</b>	<b>17</b>
<b>1.11 Funciones del hígado</b>	<b>20</b>
<b>1.12 Enfermedades hepáticas</b>	<b>20</b>
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>23</b>
<b>3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>24</b>
<b>4. HIPÓTESIS</b>	<b>24</b>
<b>5. OBJETIVOS</b>	<b>24</b>
<b>5.1 Objetivo general</b>	<b>24</b>
<b>5.2 Objetivos particulares</b>	<b>25</b>
<b>6. METODOLOGÍA</b>	<b>25</b>
<b>6.1 Animales experimentales</b>	<b>25</b>
<b>6.2 Diseño experimental</b>	<b>26</b>
<b>6.3 Dieta experimental</b>	<b>28</b>
<b>6.4 Obtención de crías macho F1 de 36d, 110d, 450d y 650d</b>	<b>29</b>
<b>6.5 Determinación de grasa total en hígado de crías macho F1 de 36 d, 110d, 450d y 650d por el método de Folch modificado.</b>	<b>30</b>
<b>6.6 Determinación de la concentración hepática de triglicéridos en las crías machos F1 de 36d, 110d, 450d y 650d.</b>	<b>31</b>
<b>6.7 Procesamiento histológico del hígado de crías macho F1 de 36d, 110d, 450d y 650d.</b>	<b>33</b>

<b>6.8</b>	<b>Tinción de Hematoxilina y Eosina .....</b>	<b>34</b>
<b>6.9</b>	<b>Cuantificación de gotas macro y microvesiculares de grasa en el hígado de crías macho F1 de 36 d, 110d, 450 d y 650d .....</b>	<b>34</b>
<b>6.10</b>	<b>Análisis estadístico .....</b>	<b>36</b>
<b>7.</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
<b>7.1</b>	<b>Parámetros de las crías Machos F1 a las diferentes edades de estudio. ....</b>	<b>37</b>
<b>7.1.1</b>	<b>Peso Corporal de Crías Machos F1 36 d, 110 d, 450 d y 650 d.. ....</b>	<b>37</b>
<b>7.1.2</b>	<b>Peso del Hígado Crías Machos F1 de 36 d, 110 d, 450 d y 650 d .....</b>	<b>38</b>
<b>7.1.3</b>	<b>Grasa Total en Hígado de crías macho F1 a los 36d, 110d, 450d y 650d.....</b>	<b>39</b>
<b>7.1.4</b>	<b>Determinación de concentración de triglicéridos hepáticos de crías macho F1 a los 36 d, 110 d, 450 d y 650 d...40</b>	
<b>7.1.5</b>	<b>Histología del hígado de las crías machos F1 de 36 d, 110 d, 450 d y 650d .....</b>	<b>41</b>
<b>8.</b>	<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>45</b>
<b>9.</b>	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>48</b>
<b>10.</b>	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>49</b>
<b>1.</b>	<b>APÉNDICE</b>	
<b>1.A.</b>	<b>Procedimiento para la elaboración de dietas experimentales.....</b>	<b>56</b>
	<b>Trabajos relacionados.....</b>	<b>57</b>

## Lista de Tablas, Figuras y Abreviaturas

<b>Tabla 1.</b> Prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles, México 2012-2016. Notas: a) población de 20 años de edad y más; b) población de 12 a 19 años de edad; y c) población de 5 a 11 años de edad. Fuente: ENSANUT 2012. *Resultados de ENSANUT MC 2016 .....	7
<b>Tabla 2.</b> Identificación clínica del síndrome metabólico. ....	22
<b>Tabla 3.</b> Composición Nutricional de las Dietas. p/p= por ciento en peso (g/100g)...	29
<b>Tabla 4.</b> Volumen utilizado de muestra y reactivos del kit Randox®, para la determinación de triglicéridos hepáticos .....	32

<b>Figura 1 .</b> Prevalencia de Sobrepeso y Obesidad en Mujeres Mayores de 15 años en el Mundo. Fuente: Ono T, Guthold, Strong K, Who Global Comparable Estimates, 2005...8	
<b>Figura 2 .</b> Interacciones Entre La Dieta Materna, la Placenta y el Feto Durante la Gestación. ....	16
<b>Figura 3.</b> Esquema del diseño experimental en días, en cada periodo importante se muestra la edad de la cría y las determinaciones que se hicieron en la edad. ....	27
<b>Figura 4 .</b> Cara visceral del hígado.....	30
<b>Figura 5.</b> Reacciones empleadas en la determinación de la concentración hepática de triglicéridos.....	32
<b>Figura 6.</b> Micrografía digital visualizada en el software: carl zeiss microscopy imaging software axiovision 4.8.....	35
<b>Figura 7.</b> Peso corporal de las crías machos en (g), a edades de 36d, 110d, 450d y 650d.....	37
<b>Figura 8.</b> Peso del hígado de las crías macho en (g), a edades de 36d, 110d, 450d y 650d.....	38
<b>Figura 9.</b> Grasa total en hígado (por técnica de folch) de crías machos (%), a edades de 36d, 110d, 450d y 650d.....	39
<b>Figura 10.</b> Concentración de triglicéridos hepáticos en crías machos (mg/ g) a edades de 36 d, 110d, 450d y 650d.....	40
<b>Figura 11.</b> Grasa en hígado de crías machos (% de área), a edades de 36d, 110d, 450d y 650d. Los datos se muestran como la media $\pm$ EE, n=5. (*) = denotan diferencia significativa entre los grupos C y OM. Misma dieta a diferentes edades que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes, $p < 0.05$ . Grupos experimentales: C (crías de madres alimentadas con dieta control) y OM (crías de madres alimentadas con dieta alta en grasa) .....	41
<b>Figura 12.</b> Microfotografías del hígado (100x) de crías macho a edades de 36d, 110d, 450d y 650d. Tinción de hematoxilina & eosina. Grupo experimental: C (crías de madres alimentadas con dieta control). Las flechas amarillas con fondo blanco indican gotas de grasa citoplasmática aislada con predominio microvesicular. Flechas rojas con fondo blanco indican gotas de grasa en ramillete de tamaño medio. ....	42
<b>Figura 13.</b> Microfotografías del hígado (100X) de crías macho a edades de 36d, 110d, 450d y 650d. Tinción de hematoxilina & eosina. Grupo experimental: OM (crías de madres alimentadas con dieta alta en grasa). Las flechas amarillas con fondo blanco indican gotas de grasa citoplasmática aislada con predominio microvesicular. Flechas naranjas de fondo blanco indican gotas de grasa de tamaño medio. Flechas verdes de fondo blanco indican gotas de grasa macrovesiculares. ....	43

## RESUMEN

### Antecedentes:

Los cambios actuales en los hábitos alimentarios y estilos de vida han afectado a la población en general, dentro de los sectores más afectados se encuentran las mujeres en edad reproductiva. Este sector existe predisposición a desórdenes metabólicos en su descendencia, alteraciones nutricionales en periodos críticos del desarrollo como la gestación y la lactancia pueden modificar el metabolismo y fisiología de la progenie. De esa información surge la hipótesis de los orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad (DOHaD). Esta programación que se lleva a cabo durante periodos críticos del crecimiento tiene efectos a largo plazo. Por lo tanto, es de suma importancia que la madre suministre a su descendencia los nutrientes adecuados en la proporción correcta durante estas etapas para que ocurra de manera normal la diferenciación celular, maduración de órganos y sistemas, permitiendo un buen funcionamiento y homeostasis corporal.

**Objetivo:** el presente trabajo se propuso estudiar los efectos de una dieta alta en grasa en la madre OM (Obesidad Materna) F0 antes y durante la gestación y lactancia sobre la morfología, cuantificación de grasa total y concentración hepática de triglicéridos del hígado en las crías macho OM F1 y C (control) F1 durante el curso de su vida. **Métodos:** Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar alimentadas con dieta Control (C= 5% grasa) y Obesogénica (OM= 25% grasa) durante su crecimiento (21-120 días) y en gestación y lactancia. La descendencia en estudio, crías machos provenientes de ambos grupos (C F1 y OM F1) se destetó a los 21 días; posteriormente se alimentaron con dieta Control hasta el final del experimento (5 % de grasa). A los 36d, 110d, 450d y 650d, se extrajo el hígado para determinar la grasa total por la técnica de Folch para la cual se utilizó 0.5 g de muestra. Se reportó la grasa en porcentaje de la masa total del hígado y posteriormente a esta grasa se le determinó por colorimetría la concentración de triglicéridos (TG). A los lóbulos lateral derecho y medial derecho se le fijó en formol al 10% para posteriormente ser incluido en un bloque de parafina el cual se cortó en secciones de 5µm de espesor que posteriormente se tiñeron por la técnica de Hematoxilina y Eosina para realizar el conteo de las gotas micro y macrovesiculares con ayuda del software Axio Vision 4.8.

**Resultados:** el peso corporal de crías macho tanto en el grupo C F1 como OM F1 mostró aumento progresivo hasta la edad de 450d. Posteriormente, fue mayor el aumento en el grupo OM F1 con respecto a C F1 durante la edad comprendida entre 450d y 650d. El peso del hígado en las crías machos fue aumentando con respecto a la edad y fue mayor el aumento de OM F1 respecto a C F1. El peso del hígado, la grasa total y la concentración TG hepáticos fue aumentando con respecto al tiempo pero además, el grupo OM F1 fue mayor en comparación a C F1. **Conclusión:** El consumo de una dieta alta en grasa por la madre antes, durante la gestación y en la lactancia afecta el metabolismo de lípidos hepáticos de su descendencia macho. En el presente estudio se encontró presencia de esteatosis hepática en las crías machos, dicha enfermedad aumentaba con la edad.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 PANORAMA NACIONAL EPIDEMIOLÓGICO DE LA OBESIDAD

Dentro de los sectores de la población afectados por causa del desarrollo de obesidad en México se encuentran las mujeres en edad joven y reproductiva. En este grupo la prevalencia de obesidad ha incrementado hasta un 35%; de acuerdo a la última Encuesta Nacional de Salud Nutrición 2012 (ENSANUT). La **Tabla 1** muestra como la prevalencia de la obesidad y sobrepeso va en aumento en la población mexicana. Los resultados de la ENSANUT de medio camino (MC) revelan que en la población de adolescentes de entre 12 y 19 años la prevalencia de sobrepeso y obesidad sigue en aumento, pasó de 34.9 % en 2012 a 36.3 % en 2016. De igual manera, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población adulta a partir de 20 años aumentó en 2012 de 71.2% a 72.5 % en 2016. Por otro lado, en la población infantil de 5 a 11 años de edad, disminuyó de 34.4% a 32.2% en el mismo periodo (**Tabla 1**).

Prevalencia	2012	2016*				
	Total	Mujeres	Hombres	Total	Mujeres	Hombres
<b>Sobrepeso y obesidad en adultos<sup>A</sup></b>	71.2 %	69.0%	69.4 %	72.5 %	75.0%	69.4%
<b>Sobrepeso y obesidad en adolescentes<sup>B</sup></b>	34.9 %	35.8 %	34.1 %	36.3 %	39.2 %	33.5%
<b>Sobrepeso y obesidad en niños<sup>C</sup></b>	34.4 %	32 %	36.9 %	32.2 %	32.8 %	34 %

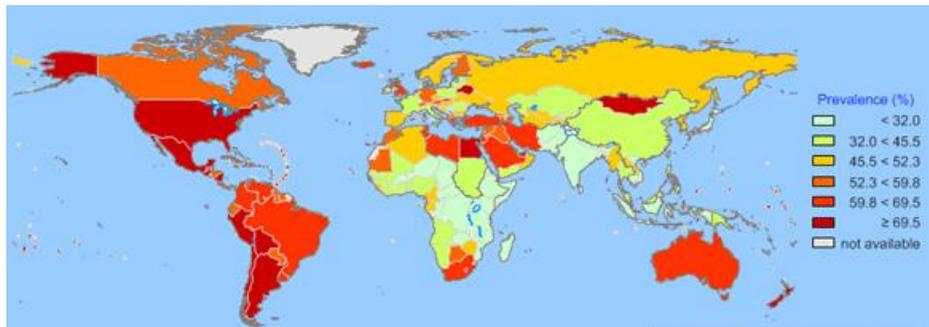
TABLA 1. PREVALENCIA DE ENFERMEDADES CRÓNICAS NO TRANSMISIBLES, MÉXICO 2012-2016.

**NOTAS: A) POBLACIÓN DE 20 AÑOS DE EDAD Y MÁS; B) POBLACIÓN DE 12 A 19 AÑOS DE EDAD; Y C) POBLACIÓN DE 5 A 11 AÑOS DE EDAD. FUENTE: ENSANUT 2012.**

**\*RESULTADOS DE ENSANUT MC 2016**

A nivel mundial la prevalencia de obesidad en mujeres en edad reproductiva está presente en países desarrollados y países en desarrollo como se muestra en la **Figura 1**.

### **Prevalencia de Sobrepeso y Obesidad en Mujeres mayores de 15 años en el Mundo**



**FIGURA 1 . PREVALENCIA DE SOBREPESO Y OBESIDAD EN MUJERES MAYORES DE 15 AÑOS EN EL MUNDO. FUENTE: ONO T, GUTHOLD, STRONG K, WHO GLOBAL COMPARABLE ESTIMATES, 2005.**

La obesidad es un proceso patológico de etiología multifactorial, donde interactúan factores genéticos, sociales y ambientales, incluyendo estilos de vida. La causa de obesidad reconocida en niños y adultos es el resultado del desequilibrio entre el gasto y el aporte de energía, es decir, ingerir más calorías en la dieta que las utilizadas en las actividades fisiológicas contribuyen a la elevación del peso corporal (Mendez Sanchez & Esquivel 2002). Este balance energético también está modulado por factores fisiológicos, genéticos y epigenéticos, factores que a su vez son influenciados por causas subyacentes como la alta disponibilidad y accesibilidad de alimentos con elevada densidad energética. Todos estos factores y causas sumados a la pérdida de la cultura alimentaria tradicional (Rivera et al 2012) resultan en la acumulación de cantidades de grasa superiores a las fisiológicas causando obesidad. Es por eso que el desarrollo de la obesidad puede ser resultado, no sólo de las condiciones de sedentarismo, estilos de vida y alimentación, sino también

de las condiciones nutricionales y funciones metabólicas de la madre; se ha observado que la madre obesa predispone al feto y neonato en crecimiento a desarrollar enfermedades metabólicas desde edades tempranas y en mayor grado, en la vida adulta (Khan et al 2004).

Dentro de los efectos adversos que la obesidad en el embarazo y lactancia predisponen a la progenie se encuentran características del síndrome metabólico como resistencia a la insulina, hiperglucemia, aumento de tejido adiposo abdominal y presión arterial alta (Samuelsson et al 2008). Estudios epidemiológicos (Mahizir et al 2015, El Hanjj et al 2014) y evidencias experimentales (Pantham et al 2015; Rodriguez 2015; Shasa et al 2015) han demostrado la relación entre obesidad materna durante el desarrollo temprano con la predisposición de alteraciones en el fenotipo en la vida adulta de la progenie. De estas evidencias ha surgido la hipótesis de "los orígenes en el desarrollo de la salud y la enfermedad", DOHaD por sus siglas en inglés, que propone que la mal-nutrición fetal desencadena adaptaciones endócrinas que cambian permanentemente la morfología, fisiología y el metabolismo del individuo (Flanagan et al 2000; Zambrano & Nathanielsz 2013). Esta programación se lleva a cabo durante periodos críticos del crecimiento, teniendo efectos a largo plazo (Godfrey & Barker 2000); (Godfrey & Barker 2000). Por lo anterior, durante la gestación y la lactancia, es de suma importancia que la madre suministre a su descendencia los nutrientes en la proporción correcta, para lograr un óptimo desarrollo, diferenciación celular y maduración de órganos y sistemas, lo que permitirá un buen funcionamiento y homeostasis corporal de la cría (Butte 1999).

Aunque existen estudios epidemiológicos y experimentales que tratan de explicar los mecanismos por los cuales la mal-nutrición materna conlleva a la predisposición de un fenotipo alterado en la vida temprana y adulta de la progenie, a la fecha no se ha dado un enfoque de curso de vida completo, para estudiar los efectos de la dieta alta en grasa. Este estudio

evalúa a los ratones en al menos 4 edades, distribuidos en la mayor parte del curso de la vida, para determinar claramente la dirección de los cambios que ocurren con el envejecimiento de la descendencia (Zambrano et al 2015). Cuantos más puntos de tiempos evaluados, más contundentes serán las conclusiones. Por lo tanto, utilizamos datos en cuatro puntos de tiempo, 36d edad que corresponde a la pubertad, 110d es un adulto joven, 450d es un adulto maduro y 650d corresponde a un adulto mayor. Nuestra elección de edad más avanzada se determinó tomando como referencia el hecho de que el grupo OM comienza a morir poco después de 650 días, mientras que el grupo C vive más allá de 850 días (Rodríguez -González et al 2019).

## **1.2 NUTRICIÓN EN EL EMBARAZO**

Las necesidades nutricionales durante el proceso reproductivo (gestación y lactancia) incrementan, en comparación con las de una mujer sana que no se encuentra embarazada, con el objetivo de permitir el crecimiento y desarrollo del feto y del lactante, además de amortiguar los cambios adaptativos que el organismo materno puede sufrir en este periodo.

Es conocido el hecho de que el peso materno pregestacional y la ganancia ponderal durante el embarazo influyen directamente sobre el peso fetal. El bajo peso y la obesidad materna se relacionan con recién nacidos pequeños y grandes para la edad gestacional, respectivamente (Gil et al., 2010). Las mujeres con sobrepeso y obesidad tienen riesgo incrementado de presentar complicaciones en el embarazo, incluyendo diabetes mellitus gestacional, hipertensión y preeclampsia (Baeten & Bukusi, 2001). Asimismo, existen riesgos fetales asociados que incluyen nacimiento prematuro, macrosomía, e incluso muerte fetal (Katsura et al 2013).

A partir de lo anterior es importante que las instituciones médicas orienten a la madre y su pareja sobre una alimentación correcta antes y durante el embarazo; si se cumplen con las necesidades específicas en las

diferentes etapas de vida se logrará un crecimiento y desarrollo adecuado de la progenie y en la vida adulta permitirá conservar o alcanzar el peso esperado en talla y a prevenir el desarrollo de enfermedades.

### **1.3 OBESIDAD EN EL EMBARAZO**

Las mujeres en edad reproductiva con sobrepeso, tras la concepción sin tratamiento para el control de peso se convierten en madres obesas comprometiendo su salud propia y la del producto (Castro & Avina, 2002). Las causas de la obesidad se presentan a lo largo del curso de vida, iniciando desde el período de concepción, durante la gestación y la vida postnatal (Banks 1986). En la gestación el feto en desarrollo depende solamente de la transferencia de sustratos de la madre, ya que es el único medio de nutrición en el útero (Mahan et al 2012). Se sabe que una nutrición adecuada que incluya cantidades adecuadas de todas las vitaminas, minerales y macronutrientes energéticos promoverá gestaciones exitosas.

En las mujeres de peso normal que viven en entornos saludables el aumento de peso de 11 a 16 kg durante la gestación se asocia con un desenlace satisfactorio. Las directrices emitidas por el Instituto Nacional de Medicina de E.U.A (por sus siglas en inglés NIH) recomienda el aumento de peso de 11 a 16 kg en mujeres con peso normal con un índice de Masa Corporal (IMC) de 18.5 a 24.9 kg/m<sup>2</sup>, 13 a 18 kg en mujeres con bajo peso (IMC < 18.5 kg/m<sup>2</sup>) y 7 a 11 kg en las mujeres con sobrepeso (IMC 25 A 29.9 kg/m<sup>2</sup>). Debido a la alta prevalencia de la obesidad antes y durante el embarazo, existe interés creciente en los estudios sobre la potencial influencia negativa de una ingesta materna con alto contenido en grasa en la descendencia. Se han realizado estudios que han encontrado que la obesidad y la diabetes materna están asociados con anormalidades en el metabolismo de lípidos (Ehrenberg et al 2004).

## **1.4 OBESIDAD EN LA LACTANCIA**

Después de la gestación, la provisión de nutrientes continúa a través de la lactancia para asegurar un adecuado desarrollo y crecimiento.

Los cambios fisiológicos y bioquímicos que se adaptan en este momento dependen del ambiente nutricional y hormonal adecuado para el establecimiento de la lactancia. El tejido adiposo es uno de los órganos con mayor participación en el progreso de ésta, ya que este tejido moviliza sus reservas energéticas para preparar el ambiente necesario que requiere el desarrollo mamario.

El éxito que se tenga en la formación y maduración de la glándula mamaria influirá en el número y actividad de las células mamarias, repercutiendo así en la producción de la leche (Rudolph et al 2000). Uno de los factores más importantes que están involucrados en la programación del desarrollo es la adecuada nutrición durante la lactancia. La práctica del amamantamiento se ha visto que disminuye el riesgo a desarrollar obesidad en los niños (Li et al 2003).

De todos los componentes de la leche de la rata, la fracción que más varía es la formada por las grasas; los triglicéridos son los componentes mayoritarios de la leche, constituyen el 95% del total de lípidos (Keeseey & Corbett 1990) y aportan el 70% de la energía total (Keeseey & Corbett 1990; Staggars et al 1981) principalmente estos son obtenidos de dos fuentes: 1) de la síntesis de ácidos grasos de *novo* en el tejido adiposo y 2) de los ácidos grasos de la circulación (Rodríguez et al 2011). La composición de los ácidos grasos de la leche, pueden modificarse muy fácilmente debido a tres mecanismos: 1) la intervención nutricional (consumo excesivo o carente de grasas); 2) la modificación en la síntesis de ácidos grasos de *novo* en la glándula mamaria o tejido adiposo y 3) la

captación de ácidos grasos por las lipoproteínas en la glándula mamaria (Ringseis et al 2004).

## **1.5 GENERALIDADES DE LOS TRIGLICÉRIDOS**

Los triglicéridos son ésteres de ácidos grasos (AG) y glicerol que pueden estar compuestos por un solo tipo de AG (triglicéridos simples) o por dos o tres diferentes tipos de AG (triglicéridos mixtos, los más comunes en la naturaleza). En los mamíferos, los triglicéridos se almacenan en células especializadas llamadas adipocitos. Las lipasas son enzimas que catalizan la hidrólisis de los triglicéridos almacenados, liberando AG listos para servir de combustible. En el hígado, la glicerol-cinasa es la enzima relacionada con la producción de glicerol-3P y, en el tejido adiposo la fuente de glicerol-3P es la glucólisis.

Los triglicéridos hepáticos forman parte de las lipoproteínas de muy baja densidad por sus siglas en inglés (VLDL), las cuales son transportadas por el torrente sanguíneo. Las VLDL están sujetas a la acción de la lipoproteín lipasa (LPL) del endotelio vascular, hidrolizando los triglicéridos y generando AG libres que puedan servir como fuente de energía para las células que así lo necesiten.

## **1.6 METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS**

Para que un ser vivo sea considerado como tal debe presentar ciertas características, como mostrar alto grado de complejidad y organización, estar formado por miles de moléculas complejas y con interacción entre estas, ser capaz de autorreplicarse o reproducirse y, por último, tener la capacidad de extraer, transformar y usar la energía de su entorno a partir de materias primas para edificar sus propias estructuras celulares. En este sentido, los seres vivos dependen constantemente del suministro de energía que proviene de las reacciones de oxidación generadas por

proteínas denominadas enzimas las cuales funcionan como catalizadores y hacen posibles que se lleven a cabo reacciones químicas (Pace 2001).

En el metabolismo se puede dividir en dos fases: catabolismo y anabolismo. Durante el catabolismo, los alimentos ingeridos o combustibles almacenados, como lípidos y carbohidratos, son oxidados para la producción de energía en forma de ATP aportado por diferentes vías metabólicas (Bonora et al 2012).

La  $\beta$ -oxidación, es la vía principal por la cual los ácidos grasos se oxidan (Bartlett & Eaton 2004). Esta vía representa la principal fuente de energía para el corazón y el músculo esquelético y es clave para mantener la homeostasis energética durante el ayuno o cuando los suministros de glucosa son limitados. Por lo tanto, la  $\beta$ -oxidación se activa con concentraciones de glucosa bajas, por ejemplo, durante la inanición o el ejercicio de resistencia. Los AG son almacenados en forma de triglicéridos en el hígado y en el adipocito; en caso del hígado, la oxidación de los AG se desvía ampliamente para la síntesis de cuerpos cetónicos, que son transportados al resto del organismo para ser utilizados como combustible por otros tejidos cuando la glucosa no es suficiente (Bronfman et al 2000).

La biosíntesis de AG *de novo* se lleva a cabo en condiciones de exceso de energía, esto es, cuando hay una ingestión de alimentos ricos en hidratos de carbono y poca grasa. Por lo tanto, su síntesis es a partir de hidratos de carbono. La insulina activa esta vía y el glucagón la inhibe. La biosíntesis de AG se realiza principalmente en el hígado, tejido adiposo, glándula mamaria y riñón. Una vez sintetizados, los AG se almacenan en forma de triglicéridos. La biosíntesis de AG tiene relación con el desarrollo de obesidad. En condiciones de sobrealimentación, se activa la síntesis de triglicéridos que promueve su almacenamiento. Por su parte el hígado está relacionado con la síntesis, el almacenamiento, la secreción y catabolismo de los AG. La ácido graso sintasa (AGS) puede contribuir a la

formación de triglicéridos almacenados en gotitas que se localizan en los hepatocitos. En condiciones de muy buena nutrición, el principal combustible para el hígado es la glucosa en lugar de los TG (Houston & Wanders 2010).

## **1.7 DESARROLLO Y CRECIMIENTO FETAL**

El desarrollo fetal se caracteriza por una secuencia de patrones de crecimiento y maduración de tejidos, los cuales son dependientes del equilibrio y la interrelación entre constituyentes maternos, placentarios y fetales, los cuales están determinados por el control genético y factores ambientales, **Figura 2**. La oferta de los sustratos nutritivos depende de la concentración de estos componentes en la sangre y regulación hormonal materna. Estos mecanismos en adecuado funcionamiento permitirán el transporte útero-placentario y favorecerán la diferenciación y maduración celular del individuo en desarrollo; el feto adquiere diversos nutrimentos a través de la placenta por diversos mecanismos de transporte (Marconi & Paolin 2008). El feto puede nutrirse o sobrenutrirse, dependiendo de la extracción y la composición de estos en el cordón umbilical, del flujo y la calidad de los alimentos ingeridos por la madre (Metcoff, 1994; Scrimshaw, 1997)

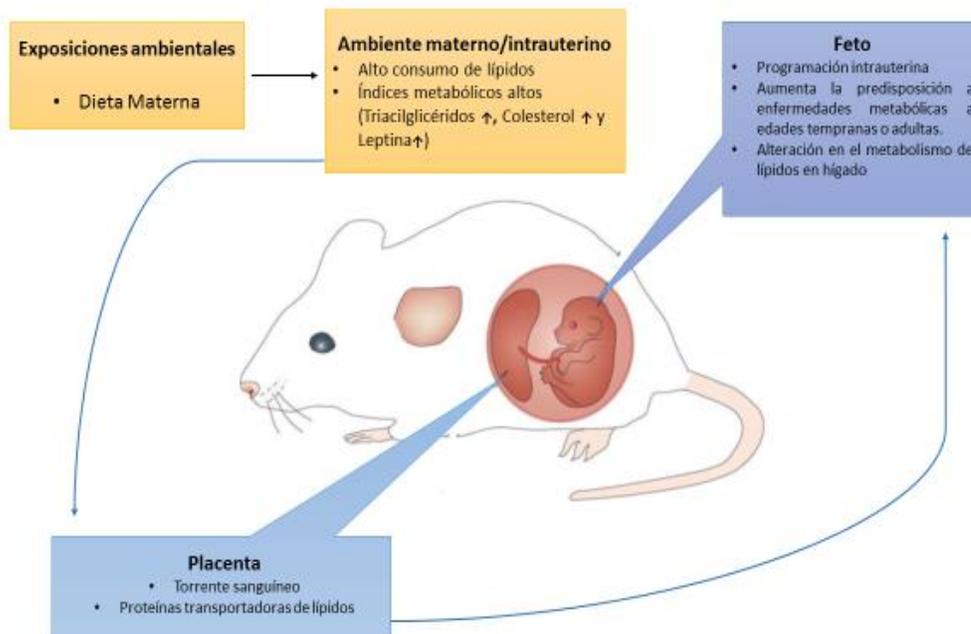


Figura 2 . Interacciones Entre La Dieta Materna, la Placenta y el Feto Durante la Gestación.

## 1.8 ORÍGENES DEL DESARROLLO DE LA SALUD Y LA ENFERMEDAD (DOHAD)

De acuerdo al concepto de los orígenes en el desarrollo de la salud y la enfermedad (DOHaD) por sus siglas en inglés (Nijland, Ford et al 2008). El DOHaD constituye un campo multidisciplinario que examina cómo los factores ambientales durante las fases de plasticidad del desarrollo interactúan con las variaciones genóticas para cambiar la capacidad del organismo para enfrentarse con un ambiente en la vida adulta (Solomons 2009).

El enfoque del DOHaD ha surgido como resultado de: a) estudios epidemiológicos que demuestran la asociación entre el ambiente a edades tempranas y el riesgo de enfermedades a lo largo de la vida, b) la investigación en animales experimentales que demuestran que la perturbación en el desarrollo pueden producir cambios fisiopatológicos y cambios epigenéticos en los descendientes en la edad.

## **1.9 PANORAMA DE LOS ESTUDIOS DE INVESTIGACIÓN EN OBESIDAD**

Los eventos de la historia en el mundo nos han permitido realizar análisis retrospectivos que nos han apoyado a determinar algunos cambios que han ocurrido en la fisiopatología de la población a nivel mundial. Sin embargo, resultan incompletos para el entendimiento de los eventos celulares, moleculares y fisiológicos que rigen las diferentes enfermedades.

Uno de los principales retos en investigación es intentar explicar porque se da la obesidad y las enfermedades derivadas de ello. Estudios epidemiológicos (Barker 2002) fueron pioneros en entender cómo ocurren estos cambios en humanos; a partir de retos que han sucedido en el medio ambiente como lo fue la segunda guerra mundial o bien caracterizar lo que pasa en una población que cambia de ambiente social o ambiental. Sin embargo, no se han realizado estudios experimentales en humanos que ayuden a entender los cambios fenotípicos que deterioran su salud a corto o largo plazo.

Los experimentos con animales se basan en el hecho de que son modelos de apoyo para entender los mecanismos y rutas celulares que se ven afectados por factores externos como la alimentación.

## **1.10 MODELOS DE PROGRAMACIÓN EN ROEDORES**

Los estudios con ratas de experimentación se han utilizado ampliamente debido al bajo costo y al alto número de crías en la camada, así como sus tiempos cortos de gestación y lactancia lo que permite dar seguimiento controlado al experimento, estudiar a las crías a largo plazo y realizar

estudios transgeneracionales. La importancia de estos estudios reside en que las crías son alimentadas desde el destete y durante toda la vida con dietas controladas, de tal forma que cualquier efecto adverso es el resultado del estado fisiológico y el ambiente materno y no de los hábitos de la cría como actividad física y nutrición.

En ellos se ha evaluado el efecto de la programación del desarrollo en el metabolismo de las crías con diversos modelos de malnutrición materna; los más utilizados son con dietas bajas en proteína (Bernardo et al 2018) y en el extremo opuesto dietas altas en grasas (Jing et al 2019). En estos estudios se prueba que las crías provenientes de madres malnutridas generan un patrón metabólico desordenado, ya que estas crías no tienen diferencias en el peso corporal y la ingesta de alimento, pero sí aumento en su índice de resistencia a la insulina, así como mayor concentración de triglicéridos en la vida adulta.

Con respecto a la obesidad materna en ratas con un patrón nutrimental rico en grasa (HFD por sus siglas en inglés high fat diet- fed mothers), para inducir obesidad materna (actualmente es el modelo más utilizado) han demostrado mayor peso corporal en las crías, con un índice de adiposidad más elevado, así como el desarrollo de hiperglucemia y lípidos hepáticos al destete, comparadas con las crías de madres control (Lannes et al, 2015). Este modelo ha permitido establecer una clara relación entre el medio ambiente materno y el desarrollo de enfermedades en la vida adulta de la progenie, enfermedades directamente vinculadas con el síndrome metabólico.

En ratones con el modelo de exceso de nutrición materna crónica alta en grasa, se observó que la progenie era hiperfágica y que ello reducía la locomoción, por tanto, las crías de estos ratones aumentaban la adiposidad.

Nuestro grupo de investigación, utilizando ratas madres obesas con dietas hiper-lípicas, ha comprobado el incremento de peso, aumento en el índice de adiposidad y elevadas concentraciones séricas de leptina, así como, hígado graso en las madres. Mientras que en la progenie, no existe diferencia de peso al nacimiento, ni al destete (día 21 postnatal), pero sí un incremento en el peso, tejido adiposo hipertrofiado, hiperleptinemia e hipertrigliceridemia desde edades tempranas. Estas alteraciones se observaron tanto en hembras como machos y se acentuaron con la edad hasta los 800 días, aun recibiendo dieta control durante toda su vida.

Finalmente otros modelos que han permitido explorar la obesidad materna y sus efectos en las crías son los roedores genéticamente predispuestos a la obesidad, como ejemplo son: 1) el ratón obeso *agouti* 36, en el que la descendencia fue más pesada al nacimiento que la resultante de la cruce con ratones normales; 2) otro modelo es el ratón con receptor de leptina heterocigoto deficiente ( $lepR^{db}$ ) que se usa para explicar la obesidad materna, debido a que durante el embarazo aumenta de peso debido al exceso de alimentación. En el modelo  $lepR^{d/b}$ , las hembras provenientes de estas madres son más pesadas que los controles, independientemente del genotipo (Perello M, Gaillard RC, Chisari A, 2003). Sin embargo, este modelo se complica por el hecho de que las madres también presentan diabetes gestacional espontánea.

Hasta el momento podemos decir que es necesario seguir profundizando en los mecanismos celulares y moleculares que se ven afectados en la descendencia por los eventos de la programación materna para una detección temprana de los factores de riesgo materno que ponen en peligro no sólo la salud materna sino la de su descendencia a través de las generaciones.

### **1.11 FUNCIONES DEL HÍGADO**

El hígado es un órgano que ocupa la mayor parte del cuadrante superior derecho del abdomen. Normalmente tiene un color marrón rojizo, pero puede llegar a tener un color amarillo pálido cuando hay infiltración de grasa. El hígado consiste de diferentes tipos de células incluyendo los hepatocitos, células endoteliales, células de Kupffer y células del conducto biliar. Los hepatocitos, células parenquimales representan aproximadamente 80% de la masa total del hígado (Blouin et al 1977). Los hepatocitos controlan la homeostasis de muchas moléculas como glucosa, glucógeno y ácidos grasos incluyendo a los triglicéridos así como otros compuestos esenciales como colesterol, ácidos biliares y vitaminas A y D. Adicionalmente, los hepatocitos juegan un papel crítico como detoxificante de xenobióticos presentes en la dieta como, toxinas animales, herbicidas, solventes orgánicos y muchos fármacos (Maurel, 2010).

### **1.12 ENFERMEDADES HEPÁTICAS**

Con la finalidad de dar a conocer la importancia del cuidado del hígado, los factores de riesgo de las enfermedades hepáticas y promover el diagnóstico o tratamientos oportunos en México la Secretaria de Salud conmemora el Día de la Salud Hepática en Mayo. La alimentación balanceada, actividad física, ir al médico de manera periódica y no ingerir en exceso bebidas alcohólicas, son las principales acciones para prevenir las enfermedades del hígado. La hepatitis y la cirrosis son los principales padecimientos que afectan al hígado, la obesidad contribuye a dañar al hígado al generar lo que se conoce como hígado graso.

La enfermedad del Hígado Graso No Alcohólico (HGNA, o NAFLD por sus siglas en inglés) y la forma más grave de ésta, la Esteatohepatitis No Alcohólica (EHNA o NASH por sus siglas en inglés) son problemas que actualmente representan la causa más frecuente de enfermedad hepática

en los países de occidente debido a la creciente frecuencia de diabetes y obesidad. Existen fuertes evidencias que vinculan al HGNA con el conocido síndrome metabólico (Tagle 2003), (**Tabla 2**).

La prevalencia de HGNA se ha duplicado en los últimos 20 años, mientras que la de otras enfermedades hepáticas crónicas se ha mantenido estable o inclusive ha disminuido. La información más reciente confirma que HGNA y EHNA tienen la misma importancia en Medio Oriente, Lejano Oriente, África, el Caribe y América Latina (LaBrecque et al 2012).

La HGNA es una afección definida por una acumulación excesiva de grasa en forma de triglicéridos (esteatosis) en el hígado, lo que ocurre por un desequilibrio entre la producción y eliminación de triglicéridos dentro del hepatocito. Además del exceso de grasa, un subgrupo de pacientes con HGNA presenta daño e inflamación de los hepatocitos (esteatohepatitis). La HGNA, se caracteriza por esteatosis que se observa al microscopio como gotas de grasa macrovesiculares y microvesiculares con o sin cuerpos de Mallory, con inflamación lobular o portal, con o sin fibrosis (Loomba et al 2009).

Si no hay tratamiento adecuado desde un principio la esteatosis puede progresar a HGNA que muy probablemente desencadene hepatitis y aumenta drásticamente el riesgo de cirrosis, falla hepática, y carcinoma hepatocelular (CHC).

La HGNA es una enfermedad hepática crónica cada vez más común, cuya distribución mundial está íntimamente vinculada a la diabetes y la obesidad, dos patologías que han alcanzado proporciones epidémicas en México. En general se considera que la HGNA es la expresión hepática del síndrome metabólico (**Tabla 2**) vinculado a enfermedades como diabetes mellitus tipo 2, resistencia a la insulina, obesidad central (de tronco), dislipidemia (bajos niveles de colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) / hipertrigliceridemia), e hipertensión (**Tabla 2**).

Debido a la alta prevalencia de sobrepeso y obesidad indica que la HGNA también aumentará y se tornará en un problema hepático cada vez más común, tanto en los países desarrollados como en los subdesarrollados, aumentando la carga mundial de las hepatopatías y afectando la salud pública y los costos de la atención sanitaria a nivel mundial.

Factores de riesgo—tres cualesquiera de los cinco constituyen un diagnóstico de síndrome metabólico	Definición de niveles	
Obesidad abdominal (perímetro de cintura)	Hombres	> 102 cm (> 40 pulgadas)
	Mujeres	> 88 cm (> 35 pulgadas)
Triglicéridos elevados		≥ 150 mg/DI
Reducción de HDL Colesterol	Hombres	< 40 mg/DI
	Mujeres	< 50 mg/dL
Presión arterial	Sistólica	≥ 130 mmHg
	Diastólica	≥ 85 mmHg
Glicemia en ayunas		≥ 100 mg/DI

**TABLA 2. IDENTIFICACIÓN CLÍNICA DEL SÍNDROME METABÓLICO.**

La causa exacta de HGNA sigue sin aclararse, y se puede afirmar casi con certeza que no es igual en todos los pacientes. Si bien está íntimamente vinculada a la resistencia a la insulina, la obesidad y el síndrome metabólico, no todos los pacientes que padecen estas afecciones tendrán HGNA, y a la inversa, no todos los pacientes con HGNA sufren de una de estas condiciones.

Los mecanismos postulados que conducen a esteatosis hepática incluyen incremento de lipogénesis de *novo*, disminución de exportación de lípidos y reducción de la oxidación de ácidos grasos con resistencia a la insulina producen acumulación de ácidos grasos (Loomba et al 2009).

La  $\beta$ -oxidación mitocondrial crea especies reactivas de oxígeno (ROS) que estimulan la peroxidación de los lípidos hepáticos acumulados, produciendo sustancias tóxicas que dañan la mitocondria y promueven mayor producción de especies reactivas de oxígeno lo que conduce a daño celular, activación de las células de Kupffer y la generación de citocinas

proinflamatorias las cuales provocan inflamación hepática que puede conducir a fibrosis (Riley & O'Donohue 2007).

Las citocinas son capaces de producir todas las características histológicas de EHNA, incluyendo apoptosis del hepatocito (TNF- $\alpha$ ), quimiotaxis de neutrófilos (IL-8) y activación de células hepáticas estrelladas (TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ ).

## **2. JUSTIFICACIÓN**

La obesidad se ha convertido en un problema de salud mundial, actualmente México ocupa el segundo lugar y la Encuesta Nacional de Salud en México (ENSANUT 2012) ha reportado que los sectores de la población con mayor afectación son las mujeres en edad reproductiva. Estudios epidemiológicos han observado que el desarrollo de obesidad infantil puede ser resultado, no sólo de las condiciones de sedentarismo, estilos de vida y alimentación, sino también de la conducta nutricional y función metabólica de la madre. Si durante la gestación y la lactancia no existe una adecuada nutrición, se predispone al producto a que desarrolle enfermedades de diversos tipos en especial metabólicas, cardiovasculares, entre otras que pueden presentarse desde la niñez y en mayor grado, en la vida adulta (Risbridger, Drummond et al 2005). Con estos hallazgos en humanos la experimentación básica ha probado diferentes modelos experimentales para ver los efectos a corto y largo plazo en las crías (Gronert & Ozanne 2005; Nathanielsz, Larrea et al 2010). Sin embargo, hasta el momento no se han descrito con claridad los efectos adversos en el metabolismo de la progenie macho que es descendiente de ratas hembras expuestas a dietas altas en grasa durante toda la vida y en el periodo de gestación y lactancia.

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Debido a la incidencia de obesidad a nivel mundial queremos saber si la obesidad materna además de las enfermedades metabólicas derivadas de esto, es debido al estilo de vida o al ambiente intrauterino. Como este estudio no puede ser realizado en humanos proponemos analizar en el modelo biológico de la rata el hígado a nivel morfológico y la composición de grasa a diferentes edades para conocer si este daño fue programado por una madre que fue expuesta a una dieta alta en grasa.

### **4. HIPÓTESIS**

El consumo de una dieta materna alta en grasa antes y durante el embarazo y la lactancia afecta la estructura y función del hígado en la descendencia acelerando su envejecimiento metabólico.

### **5. OBJETIVOS**

#### **5.1 OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar el efecto de una dieta alta en grasa en la madre OM F0 antes y durante la gestación y lactancia sobre la morfología, cuantificación de grasa total y concentración hepática de triglicéridos del hígado en crías macho durante el curso de su vida.

## **5.2 OBJETIVOS PARTICULARES**

- Evaluar el efecto de la obesidad materna sobre el peso corporal y peso del hígado de las crías machos a los 36d, 110d, 450d y 650d.
- Determinar la grasa total por la técnica de extracción de lípidos Folch en el hígado de las crías machos a los 36d, 110d, 450d y 650d.
- Determinar la concentración hepática de triglicéridos de las crías machos a los 36d, 110d, 450d y 650d.
- Realizar un análisis histológico y contabilizar las gotas de grasa macro y microvesiculares en el citoplasma de los hepatocitos del hígado de las crías machos a los 36d, 110d, 450d y 650d.

## **6. METODOLOGÍA**

### **6.1 ANIMALES EXPERIMENTALES**

En el presente estudio se utilizaron ratas albinas especie *Rattus norvegicus* de la cepa Wistar (obtenidos de Charles River Laboratories, Inc.). Todos los procedimientos realizados fueron aprobados por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) del Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ).

Durante el estudio los animales tuvieron libre acceso a la dieta y agua. Los machos empleados para el apareamiento de las hembras fueron alimentados con dieta Control. Todas las ratas permanecieron en las instalaciones del bioterio a una humedad relativa de 75% y una temperatura controlada de  $22\pm 2$  °C, respetando los ciclos de luz/obscuridad de 12 horas. En grupos de 3 a 4 hembras fueron alojadas en cajas estándar de acrílico con una cama de aserrín de madera virgen, que era cambiada periódicamente. Los animales permanecieron de esta

forma hasta el día del apareamiento, una vez preñadas fueron colocadas en cajas individuales.

## 6.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

En este modelo previamente establecido por el grupo de trabajo, se emplearon ratas hembra (F0) recién destetadas a los 21 d de la especie *Rattus norvegicus* cepa *Wistar*, las cuales fueron separadas en dos grupos experimentales según su patrón de alimentación; un grupo que recibió dieta Control (5% de grasa vegetal) y otro grupo que recibió dieta Obesógena (25% de grasa, de las cuales 20% grasa animal + 5% de grasa vegetal). **Figura 3.**

Ambos grupos de hembras F0 recibieron la dieta correspondiente desde el destete y durante la gestación y lactancia, los grupos se describen a continuación:

**Grupo Control (C):** ratas alimentadas con dieta control desde el destete hasta el final de la lactancia de sus crías (n=5).

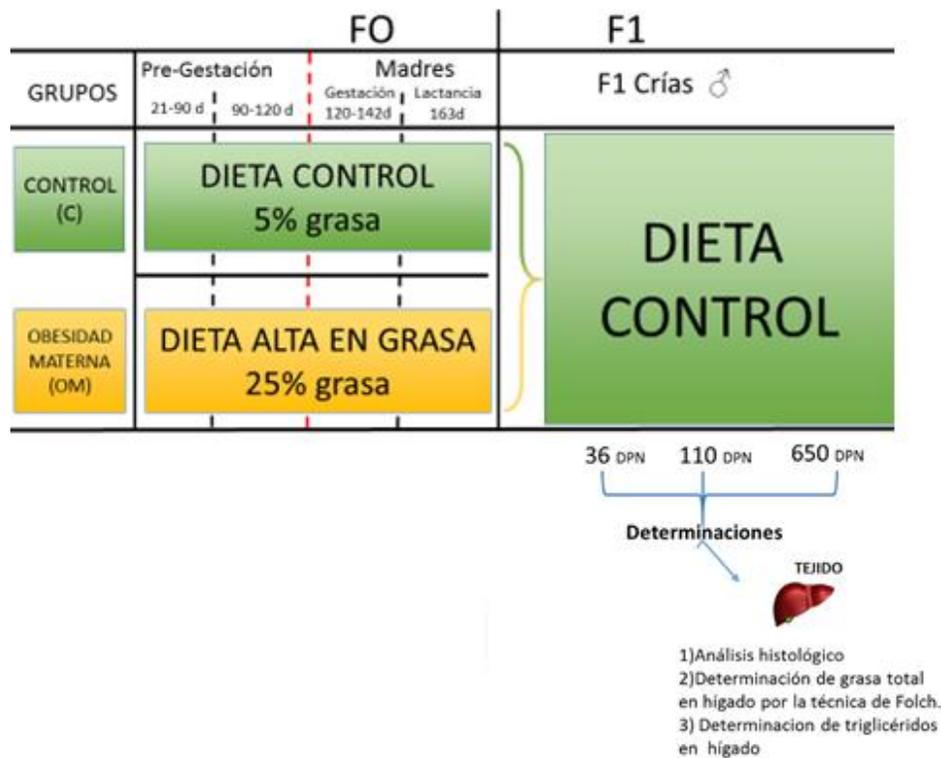
**Grupo de Obesidad Materna (OM):** ratas alimentadas con dieta alta en grasa desde el destete y hasta el final de la lactancia de sus crías (n=5).

Una vez establecido el patrón de alimentación, a los 120 días de vida las hembra F0 de ambos grupos fueron colocadas con un macho de fertilidad probada, a fin de que se llevara el apareamiento, el cual fue comprobado por medio de un frotis vaginal cada 24h (a las 8: 00 am) durante cinco días.

Los frotis fueron teñidos con solución de Lugol y se observaron a 40x con un microscopio de campo claro (Axiostar Plus de Carl Zeiss), la presencia de espermatozoides declaró positiva la fertilidad). Esta actividad a lo largo

del diseño experimental en la **Figura 3** se muestra con líneas punteadas en rojo.

Una vez preñadas, las hembras F0 continuaron con su patrón de alimentación de acuerdo al grupo al que pertenecían C u OM hasta el último día de lactancia es decir hasta los 163 d.



**FIGURA 3. ESQUEMA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL EN DÍAS, EN CADA PERIODO IMPORTANTE SE MUESTRA LA EDAD DE LA CRÍA Y LAS DETERMINACIONES QUE SE HICIERON EN LA EDAD.**

A los 21 días de lactancia se obtuvieron las crías macho y hembra F1, en esta tesis únicamente se presentan los datos experimentales correspondientes a las crías macho F1. Una vez obtenidas las crías macho F1 fueron identificadas con el mismo grupo al que pertenecieron sus madres F0 y fueron separadas formando nuevamente los grupos C F1 y OM F1, ambos grupos fueron alimentados con dieta control desde el destete hasta el final del experimento. A la edad de 36d, 110d, 450d y 650d se

registró el peso corporal y se realizó la eutanasia extrayendo el hígado para realizar las determinaciones antes planteadas.

### **6.3 DIETA EXPERIMENTAL**

La dieta control (C) consistió en alimento comercial para roedor (Zeigler Rodent RQ22-5, Gardners, PA, USA), formulada para mantenimiento, crecimiento, reproducción y lactancia de ratas y ratones convencionales, contiene 5% (p/p) grasa vegetal de la masa total del alimento con contenido total energético de 4 kcal/g (**Tabla 3**). La dieta alta grasa fue preparada en la planta piloto del Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (DCyTA) del INNSZ; esta dieta contiene 25% (p/p) de grasa de las cuales 20% es grasa animal (1 Kcal/g) + 5% grasa vegetal (0.25 Kcal/g) que sumando equivale a 1.25 Kcal/g del contenido total energético de 5 kcal/g (**Tabla 3**). La formulación fue diseñada con base a la recomendación AIN-93 del American Institute of Nutrition (Reeves, Nielsen, et al 1993) con algunas modificaciones hechas a ésta por nuestro equipo de trabajo (Zambrano, Martinez et al., 2010) (**Tabla 3**). Para su elaboración se utilizó una mezcladora de paletas Hobart modelo A-200 de 20 L de capacidad, potencia de 1/3 HP y 1425 rpm. El procedimiento de elaboración se describe con mayor detalle en el apéndice A1

Nutrimento	% p/p	
	Dieta Control	Dieta Alta en Grasa
Proteína	22.0	23.4
Grasa vegetal	5.0 (0.2 Kcal/g)	5.0 (0.25 Kcal/g)
Manteca de cerdo	-----	20.0 (1 Kcal/g)
Polisacáridos	31.0	20.3
Azúcares simples	31.0	20.3
Fibra dietética	4.0	5.0
Minerales	6.0	5.0
Vitaminas	1.0	1.0
<b>Contenido Energético</b>	<b>4 Kcal /g</b>	<b>5 Kcal /g</b>

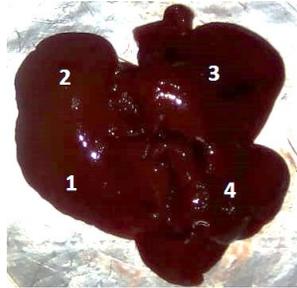
**Tabla 3.** Composición nutricional de las dietas. p/p= porcentaje g/100g

#### **6.4 OBTENCIÓN DE CRÍAS MACHO F1 DE 36d, 110d, 450d Y 650d**

Las crías macho a los 36d, 110d, 450d y 650d respectivamente fueron sacrificadas por decapitación rápida.

Después de la decapitación se procedió rápidamente a la disección, se extrajo el hígado, el cual se pesó en una balanza analítica BP 310S de Sartorius® (Cap. máx.= 320 g, d=0.001g). Posteriormente se cortaron los lóbulos lateral derecho y medial derecho (**Figura 4**) y se colocó en un recipiente de plástico en una relación 1:10 con solución tamponada de paraformaldehído al 4% para su posterior análisis histológico. Por otra parte, los lóbulos lateral izquierdo y medial izquierdo (**Figura 4** se

almacenó en tubos de polipropileno Eppendorf® de 1.5 mL a -70°C para su posterior análisis de grasa total por el método de Folch y determinación de triglicéridos en tejido con el kit Randox (Laboratories Limited).



**FIGURA 4 . CARA VISCERAL DEL HÍGADO.**

**LÓBULO LATERAL DERECHO; 1.  
LÓBULO MEDIAL DERECHO; 2.  
LÓBULO LATERAL IZQUIERDO; 3.  
LÓBULO MEDIAL IZQUIERDO; 4**

#### **6.5 DETERMINACIÓN DE GRASA TOTAL EN HÍGADO DE CRÍAS MACHO F1 DE 36 d, 110d, 450d Y 650d POR EL MÉTODO DE FOLCH MODIFICADO.**

En este método, los lípidos de la muestra son extraídos y evaluados como porcentaje del peso después de evaporar el solvente. En un tubo de 16x100 se colocaron 0.5 g de hígado y se agregaron 5.4 mL de cloroformo/metanol 2:1 y 1.8mL de solución de cloruro de sodio al 0.9 %, estos tubos fueron mezclados con ayuda de un vórtex y homogenizados con un polytron® PT 10-35 de cuchilla grande y luego centrifugados durante 15 min a 1500 r.p.m a 4°C en el equipo Sorval® RT7. A continuación se separó cuidadosamente la parte superior (fase acuosa) con la ayuda de pipetas Pasteur de vidrio, la fase inferior (fase orgánica) fue transferida a un tubo de vidrio de 16x100 previamente puesto a peso constante (A) en un horno-mufla de secado SUTTEX® a 60°C. y se evaporó la mezcla de solventes bajo una corriente de nitrógeno. Una vez evaporada la mezcla de solventes se registró el peso del tubo por

gravimetría (B). La diferencia entre el registro promedio de los pesos de cada tubo determina el contenido de lípidos extraídos de la muestra. Fórmula utilizada para determinar el contenido de lípidos como porcentaje de peso:

$$\text{Contenido de lípidos crudos (\%)} = 100(B-A)/C$$

**A** = Peso del tubo limpio y seco (g)

**B** = Peso del tubo con grasa (g)

**C** = Peso de la muestra (g)

Con el resultado de contenido de lípidos crudos en % se sacó una relación para determinar el porcentaje de grasa con respecto al peso total de hígado de cada grupo a las diferentes edades de estudio.

#### **6.6 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN HEPÁTICA DE TRIGLICÉRIDOS EN LAS CRÍAS MACHOS F1 DE 36d, 110d, 450d Y 650d.**

Adicional a la determinación de grasa total por Folch en el grupo de trabajo, también se determinó la concentración hepática de triglicéridos en hígado por medio de un método enzimático colorimétrico comercial (Randox®) que contiene un estándar de triglicéridos diseñado para este sistema. Los resultados de dicha determinación se presentan en esta tesis para complementar el análisis de resultados.

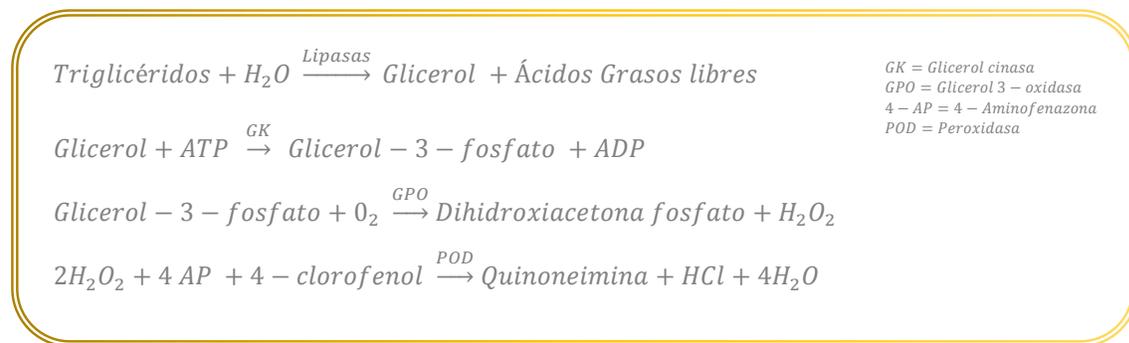
La fase orgánica extraída por la técnica de Folch descrita en el numeral 6.4 que se encuentra en un tubo de ensayo se solubilizó y diluyó con 1 mL de isopropanol, se tomó una alícuota de 10 µL por duplicado y se colocó en un tubo de precipitados de 16x100 al cuál se le agregó 1000µL del reactivo enzima (R1) previamente preparado con los reactivos del kit además de las muestras también se colocaron los volúmenes correspondientes al blanco y el estándar en tubos de precipitados de 16x100, ver **Tabla 4**.

### Pipetear en tubo de precipitados de 16x100:

	Reactivo blanco	Estándar	Muestra
	μL	μL	μL
<b>Muestra</b>	-	-	10
<b>Estándar</b>	-	10	-
<b>Reactivo (R1)</b>	1000	1000	1000

**TABLA 4. VOLUMEN UTILIZADO DE MUESTRA Y REACTIVOS DEL KIT RANDOX®, PARA LA DETERMINACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS HEPÁTICOS**

De los tubos descritos en la **Tabla 4**, se tomó una alícuota de 5 μL de las muestras, blanco y estándar y se colocaron en una placa de 96 pozos para posteriormente leer en el espectrofotómetro a 560 nm a 37°C por un método colorimétrico tras hidrólisis enzimática con lipasas, el indicador colorimétrico fue una quinoneimina formada a partir de peróxido de hidrógeno, 4 amino-fenazona y 4-clorofenol bajo la influencia catalítica de la peroxidasa **Figura 5**. Se midió la absorbancia de la muestra ( $A_{\text{muestra}}$ ) y el Estándar ( $A_{\text{estandar}}$ ) frente al reactivo blanco, con estos resultados se realizó el cálculo para obtener la concentración de triglicéridos (g triglicéridos/g de hígado).



**FIGURA 5. REACCIONES EMPLEADAS EN LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN HEPÁTICA DE TRIGLICERIDOS.**

## **6.7 PROCESAMIENTO HISTOLÓGICO DEL HÍGADO DE CRÍAS MACHO F1 DE 36d, 110d, 450d Y 650d.**

Después de la obtención del hígado de las crías macho F1 de cada grupo experimental (n=5) se seccionó los lóbulos lateral derecho y medial derecho y se fijaron en una proporción 1:10 en solución al 10% (p/v) de paraformaldehído (Sigma-Aldrich No. Cat P6148) en buffer fosfato salino (PBS) 0.05 mM por 24 h a 4°C. Transcurrido el tiempo de fijado, se colocaron 5 fragmentos aleatorios de hígado de cada grupo experimental a las diferentes edades de estudio. Para el estudio microscópico, se empleó el método de inclusión en parafina; el tejido, se sometió a un proceso automático de deshidratación mediante un Histokinette<sup>1</sup> (Sakura Tissue-Tek II Mod.46406) para su posterior inclusión en parafina fundida a 55-60°C (Standard Paraplast Tissue Embedding Meddium, McCormikc Scientific).

Después de la impregnación en parafina se obtuvieron bloques sólidos de parafina en cassette (No. Cat M505-6 Unisette Simport®), los cuales fueron cortados con un micrótopo (American Optical Mod.820) en secciones de 5 µm de espesor. Los cortes fueron fijados sobre laminillas (Corning® 25x75) previamente procesadas con poli-L-lisina (Sigma-Aldrich). Todas las laminillas fijadas con el tejido se conservaron a -20 °C.

---

<sup>1</sup> **Proceso de Deshidratación.** Pasar el tejido por una serie de baños (1hr c/u) de alcohol etílico-agua a diferentes concentraciones desde 70% al 100%, seguido de un proceso de aclaramiento por 1 hr (pasar el tejido a un líquido miscible c/la parafina por ejemplo xilol o benceno) finalmente se impregna con parafina de 10 a 12hrs.

## **6.8 TINCIÓN DE HEMATOXILINA Y EOSINA**

El día de la tinción con Hematoxilina y Eosina se seleccionaron dos cortes por cada grupo experimental teniendo así un duplicado por cada grupo a las diferentes edades de estudio. Los cortes fueron colocados en racks para posteriormente desparafinarlos en un horno durante 20 min a 60°C. Una vez hecho esto, el tejido continuó desparafinándose con Xilol (No.Cat 700-1gal Fisher scientific®) tres veces por 10 min y luego rehidratadas; haciéndolas pasar por alcohol a concentraciones decrecientes (100%, 95%, 70% y 50%). Una vez rehidratado el tejido, se lavó con agua para eliminar el exceso de alcohol y se prosiguió con la tinción Hematoxilina (Termo Shandon, No. Cat. 6765003) por 10 min, nuevamente se realizó un lavado con agua y pasó rápidamente por alcohol al 100%, antes de ser teñidas con eosina (Sigma Aldrich®, No. Cat. HT110232) por 1 min. A continuación, se lavaron nuevamente con agua para eliminar residuos de eosina, después las muestras se deshidrataron haciéndolas pasar por alcohol a concentraciones crecientes (95% y 100%) y se dejaron tres veces en Xilol (5 min, 5 min y 10 min), finalmente fueron selladas con entellan (Merc Milipore, No. Cat. 107960) **Fig. 7.**

## **6.9 CUANTIFICACIÓN DE GOTAS MACRO Y MICROVESICULARES DE GRASA EN EL HÍGADO DE CRÍAS MACHO F1 DE 36 d, 110d, 450 d Y 650d**

Los cortes histológicos teñidos fueron observados al microscopio (Olympus BX51) al objetivo de 100X y se realizaron 30 micrografías digitales en formato JPEG al azar por laminilla de cada grupo experimental con una cámara (Olympus DP-72) adaptada al equipo, para posteriormente ser analizadas con un software de contabilidad celular (Carl Zeiss Microscopy imaging software AxioVision 4.8) (**Figura 6**) Previamente se realizó una configuración del software para calibrar con

una regla medidora en la imagen digital y poder realizar mediciones en  $\mu\text{m}$ . Una vez realizado este ajuste, por duplicado y a doble ciego, se cuantificaron las gotas macro y microvesiculares de grasa seleccionando de manera digital la región delimitada por bordes de cada gota presente en el citoplasma de los hepatocitos de las células; esta área cuantificada representa el lugar que ocupaba la grasa (principalmente triglicéridos) en el tejido antes de disolverse durante la manipulación histológica. Este procedimiento se realizó en las 30 micrografías de cada grupo OM y C a las diferentes edades de estudio. El software finalmente dio el dato del área seleccionada en  $\mu\text{m}^2$ ; con este dato se cuantificó el porcentaje de área ocupado por la grasa en cada laminilla; para esto primero se sumaron las áreas seleccionadas de cada micrografía; teniendo estos 30 datos de área total por cada grupo a las diferentes edades de estudio se realizó una regla de tres tomando en cuenta el área total del campo óptico como el 100%, finalmente estos porcentajes de área ocupada por la grasa se promediaron y graficaron.

$$\text{Cálculo del Porcentaje de Área Ocupada por la Grasa (\%)} = \frac{100(A)}{B}$$

**A** = Área ocupada por la grasa

**B** = Área total del campo óptico

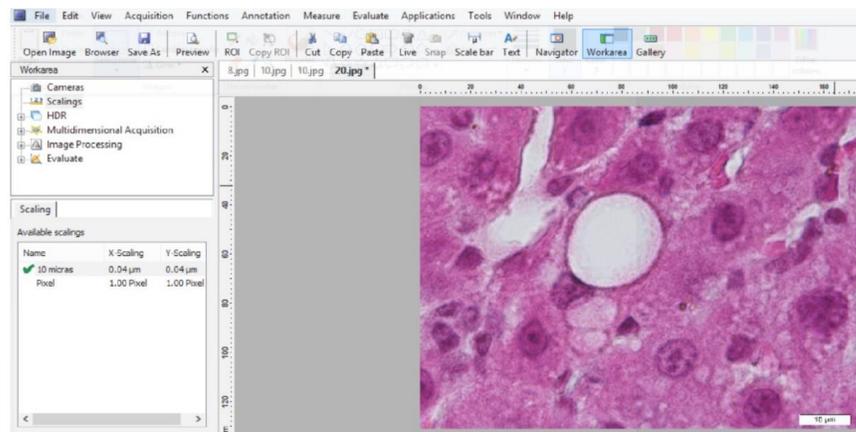


FIGURA 6. MICROGRAFÍA DIGITAL VISUALIZADA EN EL SOFTWARE: CARL ZEISS MICROSCOPY IMAGING SOFTWARE AXIOVISION 4.8

## **6.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los resultados se expresan como la media  $\pm$ EE. Para cada edad se utilizó una n de 5 machos por grupo experimental. El análisis estadístico fue hecho con la prueba de t de Student para la comparación entre grupos C y MO  $p < 0.05$  \*vs C y se utilizó ANOVA de dos vías seguido de la prueba de Holm-Sidak para las comparaciones entre el mismo grupo a las diferentes edades 36d, 110d, 450d y 650d. Denotado por diferentes letras las cuales muestras cambios estadísticos entre las edades del mismo grupo,  $p < 0.05$  fue considerado como diferencia significativa.

## 7. RESULTADOS

### 7.1 PARÁMETROS DE LAS CRÍAS MACHOS F1 A LAS DIFERENTES EDADES DE ESTUDIO.

#### 7.1.1 PESO CORPORAL DE CRÍAS MACHOS F1 36 d, 110 d, 450 d Y 650 d.

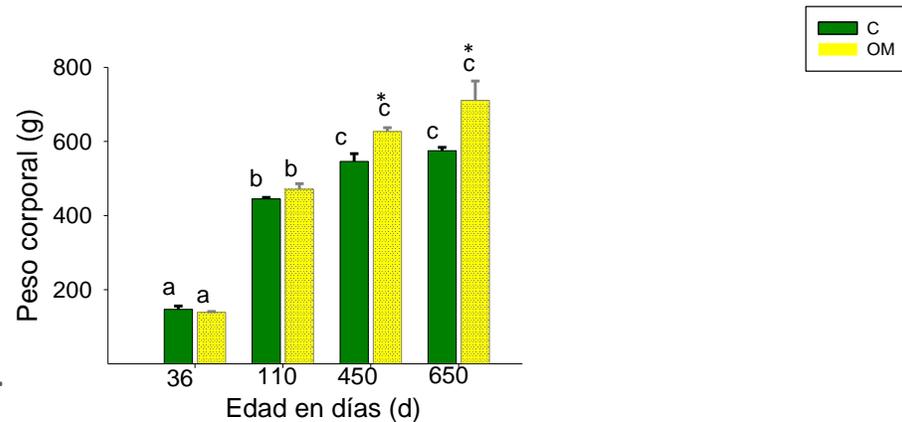


FIGURA 7.

PESO CORPORAL DE LAS CRÍAS MACHOS en (g), a edades de 36d, 110d, 450d y 650d. Los datos se muestran como la media  $\pm$  EE, n=5. (\*)= denotan diferencia significativa entre los grupos C y OM. Misma dieta a diferentes edades que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes,  $p < 0.05$ . Grupos experimentales: C (crías de madres alimentadas con dieta control) y OM (crías de madres alimentadas con dieta alta en grasa).

Los resultados del peso corporal a las diferentes edades de las crías macho F1 C y OM se presentan en la **Figura 7**. Como se puede observar hubo un incremento progresivo de peso corporal a las edades de 36, 110 y hasta los 450d en ambos grupos (C y OM).

El peso corporal de las crías macho F1 del grupo OM a la edad de 450 y 650 d fue significativamente mayor con respecto al grupo C.

### 7.1.2 PESO DEL HÍGADO CRÍAS MACHOS F1 DE 36 d, 110 d, 450 d Y 650 d

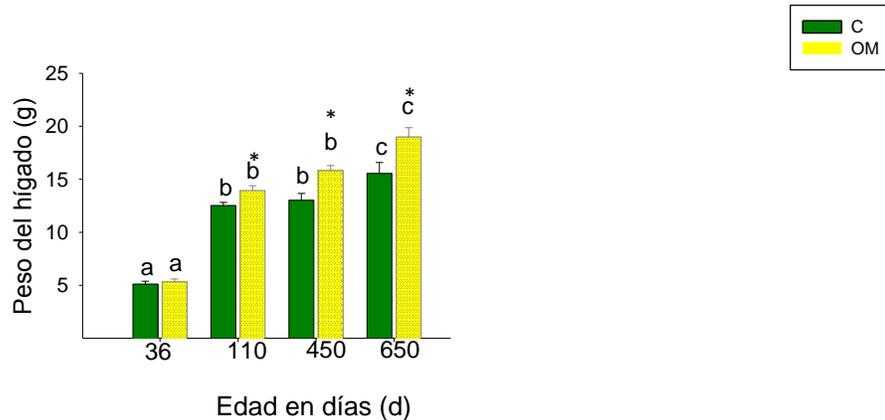


Figura 8.

PESO DEL HÍGADO DE LAS CRÍAS MACHO EN (g), a edades de 36d, 110d, 450d y 650d. Los datos se muestran como la media  $\pm$  EE, n=5. (\*)= denotan diferencia significativa entre los grupos C y OM. Misma dieta a diferentes edades que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes,  $p < 0.05$ . Grupos experimentales: C (crías de madres alimentadas con dieta control) y OM (crías de madres alimentadas con dieta alta en grasa).

Los resultados del peso del hígado a las diferentes edades de las crías macho F1 C y OM se presentan en la **Figura 8**. Como se observa en la figura ambos grupos C y OM presentaron un incremento significativo de peso del hígado entre las edades de 36d a 110d y entre 450d a 650d.

Por otra parte, la comparación entre ambos grupos experimentales C y OM en las crías macho F1 a las diferentes edades se encontró que a partir de la edad de 110 d, el peso del hígado del grupo OM fue mayor con respecto a C.

### 7.1.3 GRASA TOTAL EN HÍGADO DE CRÍAS MACHO F1 A LOS 36, 110, 450 Y 650D.

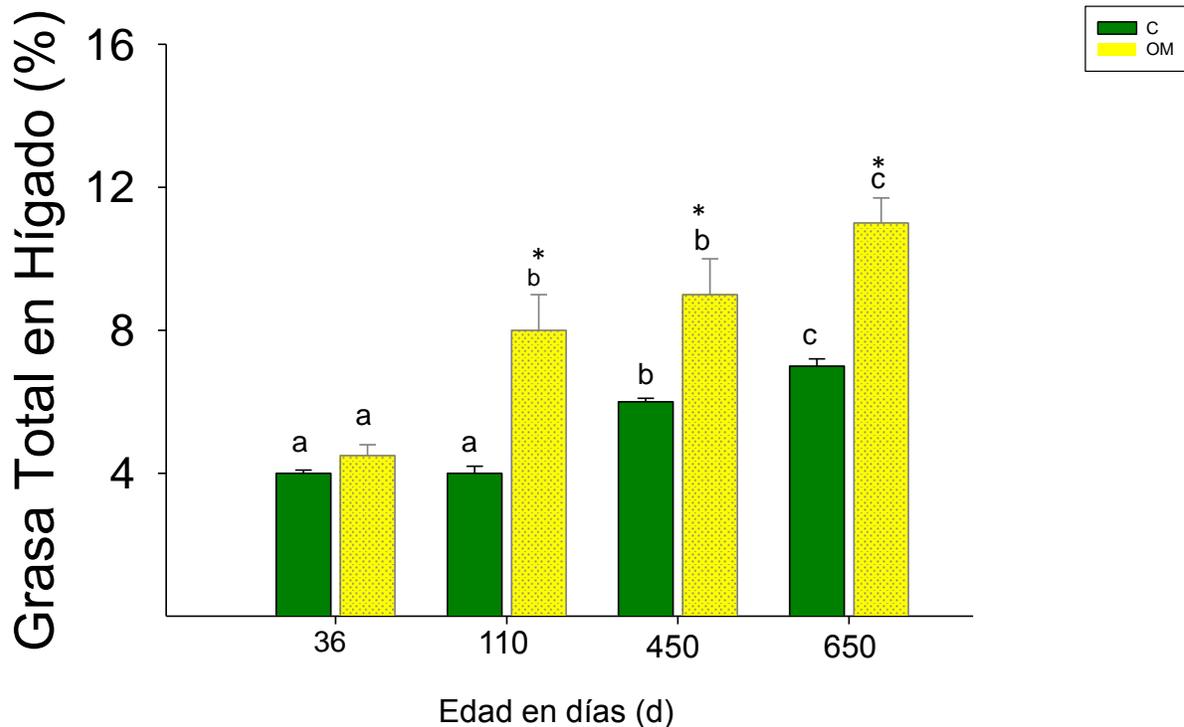


Figura 9.

GRASA TOTAL EN HÍGADO (POR TÉCNICA DE FOLCH) DE CRÍAS MACHOS (%), a edades de 36d, 110d, 450d Y 650d. Los datos se muestran como la media  $\pm$  EE, n=5. (\*) = denotan diferencia significativa entre los grupos C y OM. Misma dieta a diferentes edades que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes,  $p < 0.05$ . Grupos experimentales: C (crías de madres alimentadas con dieta control) y OM (crías de madres alimentadas con dieta alta en grasa).

Además de obtener los resultados del peso corporal y peso del hígado, se realizó la determinación de grasa total en hígado por la técnica de extracción por Folch. Los resultados a las diferentes edades de las crías macho F1 C y OM se presentan en la **Figura 9**. Como se puede observar el grupo C presentó un incremento progresivo a partir de la edad de 110d hasta los 650d. Mientras que el grupo OM presentó un incremento significativo entre las edades de 36d a 110d y de 450d a 650d.

La comparación entre ambos grupos experimentales C y OM en las crías macho F1 a las diferentes edades de estudio mostraron que a la edad de

110d, 450d y 650d la grasa total en hígado (%) del grupo OM fue mayor con respecto a C.

#### 7.1.4 DETERMINACIÓN DE CONCENTRACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS HEPÁTICOS DE CRÍAS MACHO F1 A LOS 36 d, 110 d, 450 d Y 650 d.

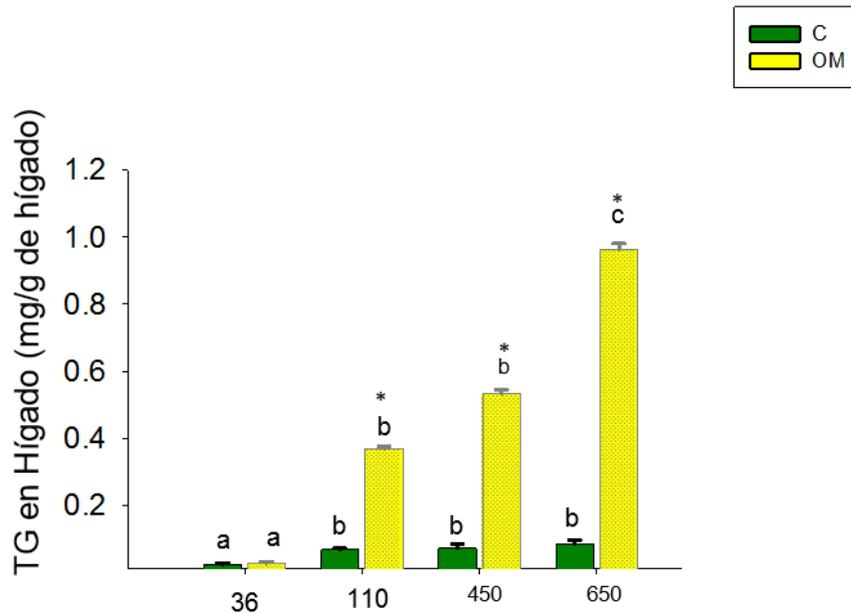


Figura 10.

CONCENTRACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS HEPÁTICOS EN CRÍAS MACHOS (mg/g DE HÍGADO) a edades de 36 d, 110 d, 450d Y 650 d. Los datos se muestran como la media  $\pm$  EE, n=5. (\*) = denotan diferencia significativa entre los grupos C y OM. Misma dieta a diferentes edades que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes,  $p < 0.05$ . Grupos experimentales: C (crías provenientes de madres alimentadas con dieta control) y OM (crías provenientes de madres alimentadas con dieta alta en grasa)

La técnica empleada en nuestro grupo de investigación para determinar la concentración hepática de triglicéridos en hígado fue por medio de un método enzimático colorimétrico. Los resultados de estas determinaciones se presentan en la **Figura 10**, se puede observar que el grupo C presentó un aumento significativo a la edad de 110d, mientras que el grupo OM presentó un aumento significativo en la concentración de triglicéridos a la edad de 110d y 650d.

En la comparación entre los grupos experimentales C y OM a las diferentes edades de las crías macho F1 se observó que a los 110d, 450d y 650d el grupo OM presentó mayor concentración de triglicéridos hepáticos con respecto a C.

### 7.1.5 HISTOLOGÍA DEL HÍGADO DE LAS CRÍAS MACHOS F1 DE 36 d, 110 d, 450 d Y 650d

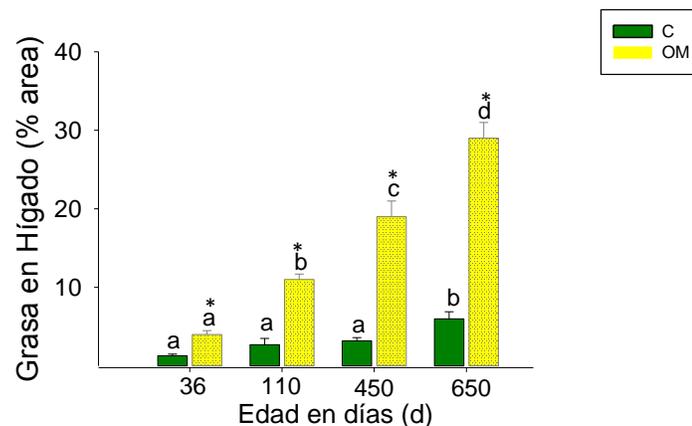


FIGURA 11.

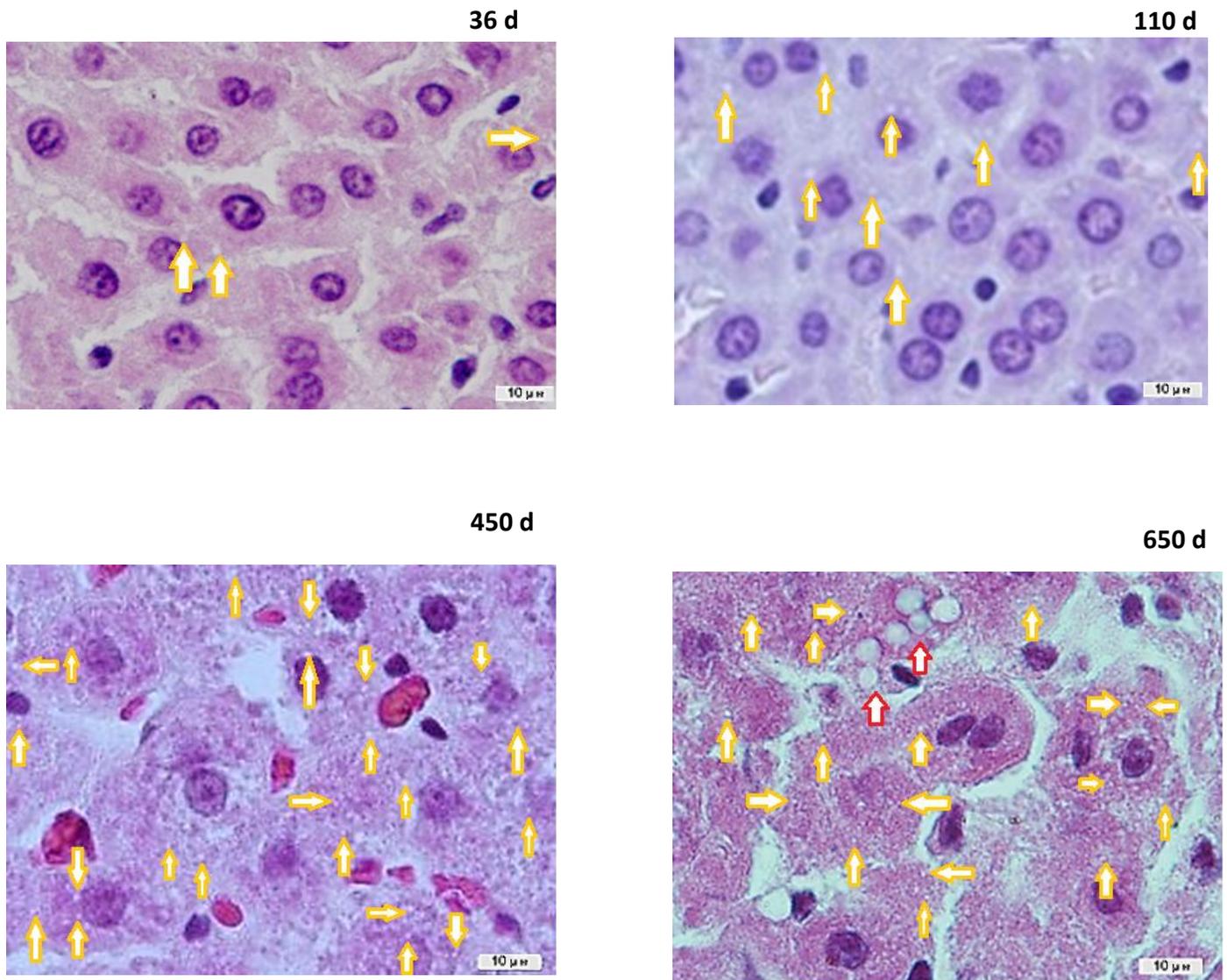
Grasa en hígado de crías machos (% de área), a edades de 36d, 110d, 450d y 650d. Los datos se muestran como la media  $\pm$  EE, n=5. (\*) = denotan diferencia significativa entre los grupos C y OM. Misma dieta a diferentes edades que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes,  $p < 0.05$ . Grupos experimentales: C (crías de madres alimentadas con dieta control) y OM (crías de madres alimentadas con dieta alta en grasa).

Los cortes histológicos obtenidos de cada grupo (C y OM) fueron analizados con un software de contabilidad celular Axio Vision 4.8, los resultados del conteo de gotas de grasa macro y microvesiculares (expresados en % de área) a las diferentes edades de las crías macho F1 C y OM se presentan en la **Figura 11**. Como se puede observar, el grupo C presentó un aumento significativo en el porcentaje de área ocupada por la grasa hasta la edad de 650 d, mientras que el grupo OM presentó un

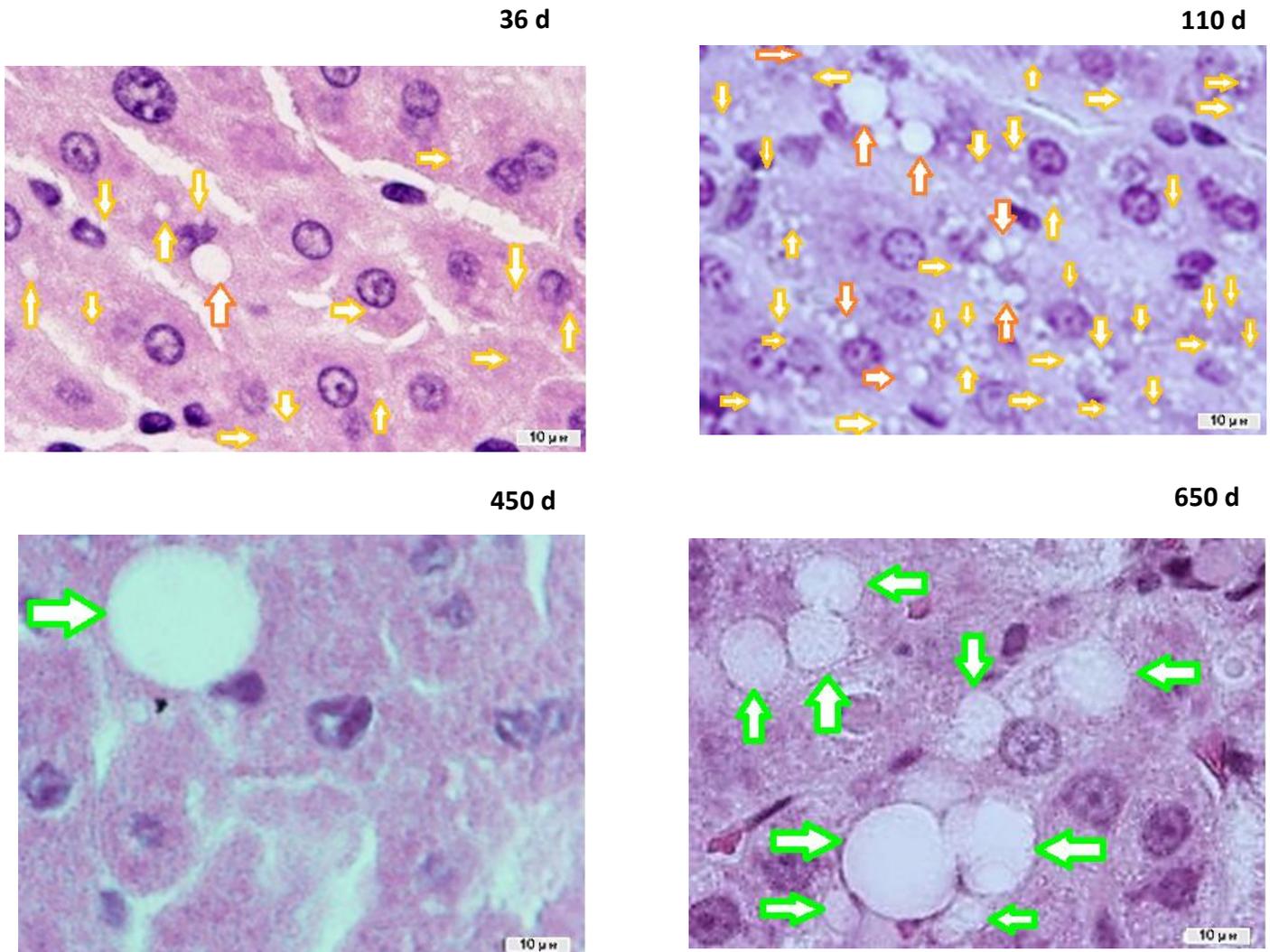
aumento progresivo en el área ocupada por la grasa desde los 36 d hasta los 650d.

Por otra parte, en la comparación entre grupos C y OM se observó que en todas las edades el grupo OM fue mayor con respecto a C.

**FIGURA 12. MICROFOTOGRAFÍAS DEL HÍGADO (100X) DE CRÍAS MACHO A EDADES DE 36d, 110d, 450d y 650d. Tinción de hematoxilina & eosina. Grupo experimental: C (crías de madres alimentadas con dieta control). Las flechas amarillas con fondo blanco indican gotas de grasa citoplasmática aislada con predominio microvesicular. Flechas rojas con fondo blanco indican gotas de grasa en ramillete de tamaño medio.**



**FIGURA. 13 MICROFOTOGRAFÍAS DEL HÍGADO (100X) DE CRÍAS MACHO A EDADES DE 36D, 110D, 450D Y 650D. TINCIÓN DE HEMATOXILINA & EOSINA. GRUPO EXPERIMENTAL: OM (CRÍAS DE MADRES ALIMENTADAS CON DIETA ALTA EN GRASA).** Las flechas amarillas con fondo blanco indican gotas de grasa citoplasmática aislada con predominio microvesicular. Flechas naranjas de fondo blanco indican gotas de grasa de tamaño medio. Flechas verdes de fondo blanco indican gotas de grasa macrovesiculares.



Las micrografías del estudio histológico por tinción de hematoxilina & eosina de las crías machos F1 de ambos grupos C y OM se presentan en la **Figura 12 y 13**. Las micrografías revelaron que las células hepáticas presentaron un núcleo basófilo y citoplasma eosinófilo.

Las microfotografías de crías macho F1 provenientes de madres C **Figura 12** a las edades de 36d, 110d, y 450d presentaron estadísticamente la misma cantidad de gotas de grasa citoplasmática aisladas con predominio microvesicular (marcadas en flechas amarillas con fondo blanco) mientras que en la microfotografía a los 650d se observaron gotas de grasa en ramillete de tamaño medio (marcados en flechas rojas con fondo blanco).

Por otro lado en las microfotografías de crías macho provenientes de madres OM **Figura 13** se observó un aumento progresivo en la cantidad de grasa citoplasmática en todas las edades de grupo C, a los 36d se observan gotas de grasa pequeñas (señaladas en flechas amarillas con fondo blanco) y de tamaño medio (señaladas con flechas naranjas de fondo blanco), a los 110d se observó mayor número de gotas de grasa de tamaño medio (señaladas con flechas naranjas de fondo blanco) y también mayor número de gotas de grasa microvesiculares (señaladas en flechas amarillas con fondo blanco), a los 450d y 650d es evidente el aumento de gotas de grasa con predominio macrosvesicular (gotas de grasa marcadas con flechas verdes de fondo blanco).

## 8. DISCUSIÓN

En los últimos años, la incidencia de trastornos metabólicos ha aumentado (Federico et al 2017; Rivera et al 2012) Existe evidencia convincente de que los desafíos ambientales, incluida la nutrición materna subóptima experimentada en el útero y/o en la vida neonatal temprana, pueden aumentar la susceptibilidad a enfermedades posteriores como la diabetes tipo 2 (Portha et al 2011; Bouret S, 2015) , hipertensión (Ingelfinger & Nuyt, 2012) y obesidad (Plagemann et al 1992; Sarr et al., 2012; Zambrano & Nathanielsz, 2013). La importancia de estos estudios radica en el aumento exponencial de la proporción de mujeres en edad reproductiva con sobrepeso u obesidad.

El presente estudio analiza una programación fetal utilizando una dieta obesogénica materna en ventanas críticas como los son el embarazo y lactancia, por otra parte, también analiza esta programación en un enfoque de curso de vida completo estudiando cuatro edades, dichas edades representan el 75% del curso de vida. Los resultados demuestran que las madres obesas (OM F0) antes y durante el embarazo y lactancia programaron a las crías macho (OM F1) para la disfunción metabólica y los predispusieron OM F1 para el envejecimiento prematuro y la progresión de la enfermedad del HGNA (Rodríguez -González et al 2019).

Varios estudios han demostrado que la obesidad materna durante la gestación es un determinante importante del peso de la descendencia (Samuelsson et al 2008; Zambrano et al., 2010; Maffei & Morandi, 2017). Previamente nuestro grupo de investigación ha informado que incluso cuando las crías OM F1 comen una dieta de laboratorio control, exhiben un mayor peso corporal, grasa e índice de adiposidad (Zambrano et al 2010; Vega et al 2015). En el presente estudio las crías OM F1 fueron

más pesados que el grupo C F1, ambos resultados demuestran reproducibilidad en F1 en nuestro modelo de obesidad materna.

La grasa corporal se almacena principalmente en el tejido adiposo, que es un órgano endocrino secreta numerosas hormonas, incluida la leptina (Sethi & Vidal-Puig, 2007), que en condiciones fisiológicas normales desempeña un papel importante clave en la regulación del peso corporal equilibrando la ingesta y el gasto de energía. Sin embargo, en la obesidad, los niveles séricos de leptina aumentan en correlación con la grasa corporal total (Maffei et al 1995) a medida que se desarrolla la resistencia a la leptina (Rehman Khan & Awan 2016). El equilibrio energético y la ingesta también está regulado por los glucocorticoides por lo tanto, el aumento de los niveles séricos de corticosterona (Rodríguez -González et al 2019) observados en las crías macho OM F1 conducen a presentar obesidad lo que se confirma con los resultados de peso corporal de en las cría macho OM F1 ya que son más pesadas con respecto al grupo C F1.

El consumo de una dieta alta en grasas durante el embarazo y la lactancia se asocia con cambios de MO F1 en el metabolismo de los lípidos, aumento en los niveles de colesterol, desarrollo de hígado graso, disminución de la homeostasis energética y deterioro de la función de las células  $\beta$  (Elahi et al 2009). En nuestro modelo, la exposición de F0 a la dieta rica en grasas desde el destete hasta el final de la lactancia establece un fenotipo metabólico disfuncional un indicador es la acumulación de grasa en el hígado en MO F1.

El hígado constituye un órgano clave en el control de la homeostasis de los lípidos y, en condiciones normales, almacena pequeñas cantidades de ácidos grasos en forma de triglicéridos. Sin embargo, bajo ciertas condiciones fisiopatológicas, se altera el metabolismo del ácido hepático (Alves-Bezerra & Cohen 2017). La enfermedad del hígado graso no alcohólico es una enfermedad progresiva que se caracteriza por una

acumulación excesiva de triglicéridos hepáticos y se asocia con obesidad, resistencia a la insulina y dislipidemia (Bril et al 2016; Rivera et al 2012) junto con el estrés oxidativo (Perla et al 2017). Por razones que no están completamente claras, la enfermedad del hígado graso no alcohólico es más común en hombres que en mujeres. Sin embargo, la incidencia precisa es incierta debido a las dificultades de establecer un diagnóstico preciso (Tsuneto et al 2010).

Debido a lo anterior nos focalizamos en el estudio de este órgano que es de vital importancia para el correcto funcionamiento y manejo de salud nutricional. Los resultados de grasa total observada por tinción de H&E reportada como porcentaje de grasa comparado con los resultados de concentración de triglicéridos por el método colorimétrico enzimático se puede observar que en ambas técnicas los triglicéridos fueron mayores en MO F1 masculino que C F1 a la edad de 110d, 450d, y 650d, esta comparación demuestra que empleado técnicas totalmente diferentes se obtienen resultados que concuerdan.

El manejo ideal de la obesidad debería reunir las siguientes características: lograr pérdida gradual y constante de peso, evitar riesgo metabólico, producir saciedad, preservar masa magra, no modificar el crecimiento normal ni desencadenar reacciones psicológicas. Tarea nada fácil que exige la suma de esfuerzos por parte de los profesionales de la salud, tanto a nivel escolar y familiar, así como en la comunidad, industria, instituciones de investigación, organizaciones gubernamentales y no gubernamentales.

## **9. CONCLUSIONES**

La dieta materna alta en grasa durante la gestación y lactancia es un factor determinante en el desarrollo de su descendencia; los resultados obtenidos con este modelo experimental muestran que el hígado de las crías macho OM F1 acumula de triglicéridos alterando su función celular, además de demostrar que la obesidad materna en OM F0 conduce al envejecimiento prematuro de su progenie.

## 10. REFERENCIAS

- Alves-Bezerra, M., & Cohen, D. (2017). Triglyceride Metabolism in the Liver. *Comprehensive Physiology*, 8(1–8).
- Baeten, J. ., & Bukusi, E. . (2001). "Pregnancy complications and outcomes among overweight and obese nulliparous women." *American Journal of Public Health*, 91(3), 436–440.
- Banks, W. (1986). "*Histología Veterinaria Aplicada.*" México DF: El Manual Moderno, 15-20.
- Barker DJP, Eriksson JG, Forsen T, O. C. (2002). Fetal Origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *International Journal of Epidemiology*, 31(1235–9).
- Bartlett, K., & Eaton, S. (2004). Mitochondrial beta-oxidación. *European Journal of Biochem*, 27(3), 462–469.
- Bautista, C., Ramírez, V., Morales, A., Nathanielsz, P., Bobadilla, N., & Zambrano, E. (2016). Changes in milk composition in obese rats consuming a high-fat diet. *British Journal of Nutrition*, 115, 538–546.
- Bautista Carbajal, C., & Zambrano, E. (2010). Aspectos biológicos y bioquímicos de los ácidos grasos polinsaturados de cadena larga durante la gestación. *Revista de Investigación Clínica*, 62(3), 267–275.
- Bernardo, K., Jousse, C., & Fafournoux, P. (2018). Protein restricted diet during gestation and/or lactation in mice affects <sup>15</sup>N natural isotopic abundance of organs in the offspring: Effect of diet <sup>15</sup>N content and growth. *PLoS ONE*, 13(10), 1–14.
- Blouin, A., Bolender, R., & Weibel, E. (1977). "Distribution of organelles and membranes between hepatocytes and nonhepatocytes in the rat liver parenchyma". *Journal of Cell Biology*, 72(2), 441–455.
- Bonora M. (2012). ATP Synthesis. *Purinergic Signal*, 8(3), 343–357.
- Bonvecchio Arenas, A. (2014). *Guías alimentarias y de actividad física, en contexto de sobrepeso y obesidad en la población mexicana*, 67-72.
- Bouret S, L. B. & O. S. (2015). Gene-environment interactions 623 controlling energy and glucose homeostasis and the developmental origins 624 of obesity. *Physiological Reviews* 9, 95, 47–82.
- Bril, F., Sninsky, J., Baca, A., Superko, H., Portillo Sanchez, P Biernacki, D., Maximos, M., ... Cusi, K. (2016). Hepatic Steatosis and Insulin Resistance, But Not 629 Steatohepatitis, Promote Atherogenic

- Dyslipidemia in NAFLD. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 101, 644–652.
- Bronfman M, Inestrosy NC, L. F. (2000). Fatty acid oxidation by human liver peroxisomes. *Biochem Biophys Res Commun*, 88(1030–6).
- Butte, N. . (1999). "Adjustments in energy expenditure and substrate utilization during late pregnancy and lactation." *American Journal of Clinical Nutrition*, 69(2), 299–307.
- Castro, L., & Avina, R. (2002). "Maternal obesity and pregnancy outcome." *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 14(6), 601–606.
- Cetin. (2012). Placental fatty acid transport in maternal obesity. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 3(6), 409–414.
- Desai, M., Jellyman, J., & Ross, M. (2015). Epigenomics, gestational programming and risk of metabolic syndrome. *International Journal of Obesity*, 39(4), 633–641.
- Ehrenberg, H. M., & Mercer, B. M. (2004). "The influence of obesity and diabetes on the prevalence of macrosomia." *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 191(3), 964–968.
- El Hanjj, N. (2014). Epigenetics and life-long consequences of an adverse nutritional and diabetic intrauterine environment. *Reproduction*, 148(6), R111-20.
- Elahi, M., Cagampang, F., Mukhtar, D., Anthony, F., Ohri, S., & Hanson, M. (2009). Long-term maternal high-fat feeding from weaning through pregnancy and lactation predisposes offspring to hypertension, raised plasma lipids and fatty liver in mice. *The British Journal of Nutrition*, 102, 514–519.
- Elena, Z., Luis, R.-C., & Peter, N. (2015). Aging, glucocorticoids and developmental programming. *Age*, 37, 9774.
- Federico, A., Dallio, M., R, D., Giorgio, V., & Miele, L. (2017). Gut microbiota, obesity and metabolic disorders. *Minerva Gastroenterol Dietology*, 63, 337–344.
- Flanagan, D. . (2000). No Title. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 278(4), E700–E706.
- Gil, Á., Sánchez de Medina Contreras, F., Ruiz López, M. D., Maldonado Lozano, J., Martínez de Victoria Muñoz, E., & Planas Vilá, M. (2010). *Tratado de nutrición*. Madrid: Médica Panamericana, 34-39.
- Godfrey, K. ., & Barker, D. . (2000). "Fetal nutrition and adult disease". *European Journal of Biochemistry*, 71(5), 1344–1352.

- Gronert, M., & Ozanne, S. (2005). "Programming of appetite and type 2 diabetes." *Early Human Development*, 81, 981–988.
- Gutierrez, J. ., & Al, E. (2006). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales Cuernavaca, México. *Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca*.
- Housten SM, W. R. (2010). A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid beta-oxidation. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 33, 469–477.
- Ingelfinger, J., & Nuyt, A. (2012). Impact of fetal programming, birth weight, and infant feeding on later hypertension. *Journal of Clinical Hypertension*, 14(6), 365–371.
- Jing, Y., Sun, Q., & Xiaolu, X. (2019). Hepatocyte growth factor alleviates hepatic insulin resistance and lipid accumulation in high-fat diet-fed mice. *Journal of Diabetes Investigation*, 10, 251–260.
- Jung UJ, C. M. (2014). Obesity and its metabolic complications the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insuline resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 15, 6184–6223.
- Katsiki, K., & MiknailidiMantzoros. (2016). Non- alcoholic fatty liver disease and dyslipidemia: An update. *Metabolism*, 65(8), 1109–1123.
- Katsura, Y., Wada, H., & Al., E. (2013). "PTK787/ZK222584 Combined with Interferon Alpha and 5-Fluorouracil Synergistically Inhibits VEGF Signaling Pathway in Hepatocellular Carcinoma." *Annals of Surgical Oncology*, 20 (3 SUPPL),
- Keeseey, R. E., & Corbett, S. W. (1990). "Adjustments in daily energy expenditure to caloric restriction and weight loss by adult obese and lean Zucker rats." *International Journal Obesity*, 14, 1079–1084.
- Khan, I., & Al., E. (2004). Predictive adaptivve responses to maternal high-fat diet prevent endothelial dysfunction but not hypertension in adult rat offspring. *Circulation*, 110(9), 1097–1102.
- LaBrecque, D., Abbas, Z., Anania, F., & Ferenci, P. (2012). " Enfermedad del hígado graso no alcoholico y esteatihepatitis alcoholica." Guías de la organización mundial de gastroenterología, 31.
- Lannes, W., Miranda, A., & Souza-Mello, V. (2015). Both Hepatic Lipogenesis and Beta-Oxidation are Altered in Offspring of Mothers Fed a High-Fat Diet in the First Two Generations (F1 and F2) / La Lipogénesis Hepática y la Beta-Oxidación están Alteradas en las Crías de Madres Alimentadas con una Dieta Alt. *International Journal*

- of Morphology, 33(4), 1510–1517.*
- Li, L., Parsons, T. J., & Power, C. (2003). "Breast feeding and obesity in childhood: cross sectional study." *The BMJ, (327), 904–905.*
- Loomba, R., & Al, E. (2009). "Advances in pediatric Nonalcoholic fatty liver disease." *Hepatology, 50(4), 1282–1293.*
- Maffei, M., Halaas, J., Ravussin, E., Pratley, R., Lee, G., Zhang, Y., Ranganathan, S. (1995). Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Medicine, 1, 1155–1161.*
- Maffei, C Morandi, A. (2017). Effect of Maternal Obesity on Foetal Growth and Metabolic Health of the Offspring. *Obesity Facts, 10, 112–117.*
- Mahan, L K., S, Escott., S. (2012). Krause ´ s food & the nutricion care process. *St. Louis, Mo.,Elsevier/Saunders, 1248.*
- Mahizir, D. (2015). "Maternal obesity in females born small: Pregnancy complications and offspring disease risk." *Molecular Nutrition and Food Research, 60 (1), 8-17.*
- Marconi, A. M., & Paolini, C. L. (2008). "Nutrien transport across the intrauterine growth-restricted placenta." *Seminars in Perinatology, 32, 178–181.*
- Maurel, P. (2010). *Hepatocytes. Methods and Protocols, 125-130.*
- Mendez Sanchez, N. and, & Uribe, M. (2002). *Obesidad: epidemiología, fisiopatología y manifestaciones clínicas.* México: El Manuel Moderno, 5-31.
- Metcoff, J. (1994). "Clinical assessment of nutritional status at birth. Fetal malnutrition and SGA are not synonymous." *Pediatric Clinics of North America, 41, 875–891.*
- Nathanielsz, P. W., Larrea, F., & Zambrano, E. (2010). "Protein restriction during pregnancy affects maternal liver lipid metabolism and fetal brain lipid composition in the rat." *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 298, 270–277.*
- Nijland, M. J., & Ford, S. P. (2008). "Prenatal origins of adult disease." *Current Opinion in Obstetrics & Gynecology, 20(2), 132–138.*
- Pace, N. R. (2001). The Universal nature of biochemistry. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 98(3), 805–808.*
- Pannopnut, P. (2015). Correlation of ultrasound estimated placental volume and umbilical cord blood volume in term pregnancy. *Journal of the Turkish, 16(2), 64–67.*

- Pantham, P. (2015). Reduced Placental Amino Acid Transport in Response to Maternal Nutrient Restriction in the Baboon. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 30(6), 1460–1472.
- Perello M, Gaillard RC, Chisari A, S. E. (2003). Adrenal enucleation in MSGdamaged hyperleptinemic male rats transiently restores adrenal sensitivity to leptin. *Neuroendocrinol*, 78, 176–184.
- Perla, F., Prelati, M., Lavorato, M., Visicchio, D., & Anania, C. (2017). The Role of Lipid and Lipoprotein Metabolism in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Children*, 4.
- Plagemann A, Heidrich I, Gotz F, R. W. & D. G. (1992). Obesity and enhanced diabetes and cardiovascular risk in adult rats due to early postnatal overfeeding. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, (99), 154–158.
- Portha B, Chavery A, M. J. (2011). Early-life origins of type 2 diabetes fetal programming of the beta-cells mass. *Experimental Diabetes Research*. 105076.
- Reeves, P.G, Nielsen, F.H & FAHEY, G. . (1993). AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76<sup>a</sup> rodent diet. *Journal of Nutrition*, 123, 1939–1951.
- Rehman Khan, A., & Awan, F. (2016). Leptin Resistance: A Possible Interface Between Obesity and Pulmonary-Related Disorders. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 14, e32586.
- Riley, P., & O´Donohue, M. (2007). "A growing burden, the pathogenesis, investigation and management of non-alcoholic fatty liver disease ". *Journal of Clinical Pathology*, 60, 1384–1391.
- Ringseis, R., Saal, D., Muller, A., Steinhart, H., & Eder, K. (2004). "Dietary conjugated linoleic acids lower the triacylglycerol concentration in the milk of lactating rats and impair the growth and increase the mortality of their suckling pups." *Journal of Nutrition*, 134, 3327–3334.
- Risbridger, G., Drummond, A., & Wlodek, M. (2005). "Reproduction, development, and the early origins of adult disease." *Cell and Tissue Research*, 3, 322.
- Rivera JA, Velasco A, Hernandez M, Aguilar C, Vadillo F, M. C. (2012). *Obesidad en México. Recomendaciones para una política de Estado*. Academia Nacional de Medicina, 431.
- Rodríguez -González, G., Reyes-Castro, L. A., Bautista, C. J., Beltrán, A. A., Ibañez, C. A., Vega, C.A., Lomas-Soria, C., Castro-

- Rodríguez, D.C., Elías-López, A.L., Nathanielsz, P.W., Zambrano, E. (2019). Maternal obesity accelerates rat offspring metabolic aging in a sex dependent manner. *The Journal of Physiology*, 597 (23), 5549-5563.
- Rodríguez Cruz M, Sanchez R, Sanchez AM, et al. (2011). Participation of mammary gland on long-chain polyunsaturated fatty acid synthesis during pregnancy and lactation in rats. *Biochimica et Biophysica Acta*, (1811), 284-293.
- Rodríguez González, G L., et al. (2014). Maternal Obesity and overnutrition increase oxidative stress in male rat offspring reproductive system and decrease fertility. *Journal Obesity (Lond)*, 39(4), 549-556.
- Rudolph, M. C., Monks, C. J., Burns, V., Phistry, R., Mariani, M. R., Foote, D. E., C, N. M. (2000). "Sterol regulatory element binding protein and dietary lipid regulation of fatty acid synthesis in the mammary epithelium." *American Journal Physiology Endocrinology and Metabolism*, 299(E), 918-927.
- Samuelsson, A. M., & Al, E. (2008). Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance-A novel murine model of developmental programming. *Hypertension*, 51(2), 383-392.
- Sarr, O., Yang, K., & Regnault, T. (2012). In utero programming of later adiposity: the role of fetal growth restriction. *Journal Pregnancy*, (134758), 10.
- Scrimshaw, N. S. (1997). "The relation between fetal malnutrition and chronic disease in later life. *British Medical Journal*, 315, 825-826.
- Sethi, J., & Vidal-Puig, A. (2007). Thematic review series: adipocyte biology. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. *Journal of Lipid Research*, 48, 1253-1262.
- Shasa, D. R., & Al, E. (2015). Multigenerational impact of maternal overnutrition/obesity in the sheep on the neonatal leptin surge in granddaughters. *Int J Obes (Lond)*, 39(4), 695-701.
- Solomons, N. W. (2009). "Developmental origins of health and disease: concepts, caveats, and consequences for public health nutrition." *Nutrition Reviews*, 67(1), S12-16.
- Staggers, J. E., Warnakulasuriya, F., & Wells, M. A. (1981). "Triacylglycerols: molecular species, stereospecific analysis, and specificity of hydrolysis by lingual lipase." *The Journal of Lipid Research*, 22, 675-679.
- Tagle, M. (2003). Hígado graso no alcohólico. *Gastroenterol*, 23, 49-57.

- Tsuneto, A., Hida, A., Sera, N., Imaizumi, M., Ichimaru, S., Nakashima, E., Maemura, K. (2010). Fatty liver incidence and predictive variables. *Hypertension Research : Official Journal of the Japanese Society of Hypertension*, 33, 638–643.
- Vega, CC Reyes-Castro, LA Bautista, CJ Larrea, F Nathanielsz, P., & Zambrano, E. (2015). Exercise in obese female rats has beneficial effects on maternal and male and female offspring metabolism. *International Journal of Obesity*, 39, 712–719.
- Zambrano, E., Martinez –Samayoa, P.M., Rodriguez –Gonzalez, G.L. & Nathanielsz, P. W. (2010). Dietary intervention prior to pregnancy reverses metabolic programming in male offspring of obese rats. *Journal Physiology*, 588, 1791–1799.
- Zambrano, E. (2009). Mecanismos transgeneracionales en el desarrollo de enfermedades metabólicas. *Revista de Investigación Clínica*, 61(1), 41–52.
- Zambrano, E., & Nathanielsz, P. W. (2013). Mechanisms by which maternal obesity programs offspring for obesity: evidence from animal studies. *Nutrition Reviews*, 71(1), S42-54.
- Zhang, S. (2011). Maternal obesity and the early origins of childhood obesity: weighing up the benefits and costs of maternal weight loss in the periconceptual period for the offspring. *Experimental Diabetes Research*, 585749.

## Apéndice

### 1. A Procedimiento para la obtención de dietas experimentales.

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

- Caseína libre de vitaminas, de Harlan Tekland®
- L-Cistina Diclorhidrato, de Sigma Aldrich®
- Mezcla de Minerales AINK-76, de Harlan México® S.A
- Mezcla de Vitaminas AIN-93 VX, de Harlan México® S.A de C.V
- Colina Clorohidrato, de Sigma Aldrich®
- $\alpha$ - Celulosa, de Sigma Aldrich®
- Almidón de maíz de Droguería Cosmopolita® S.A de C.V
- Aceite Comestible puro de Soya Nutrioli® de Ragasa Industrias S.A de S.V
- Manteca de cerdo de JC Fortes®
- Azúcar refinada de Great Value®

La dieta fue elaborada de la siguiente manera:

- a) Se pesó la formulación mencionada en el texto de la cantidad correspondiente de cada componente por separado usando la balanza analítica Sartorius® ED623SCW así como la báscula EURA® 2000/100 (capacidad máxima = 100 Kg y d=50g), según la sensibilidad requerida en cada caso.
- b) Se adicionó primero la cantidad requerida de manteca de cerdo en la mezcladora de paletas y se accionó en velocidad intermedia durante 5 minutos o bien hasta que la manteca se distribuyera uniformemente en el fondo.
- c) Se mezclaron todos los componentes sólidos durante 5 minutos en velocidad baja en la mezcladora (siendo las mezclas de: vitaminas AIN-76 y de minerales AIN-93VX las últimas en incorporarse)
- d) Después, sin detener el mezclado se agregó la cantidad correspondiente al aceite de soya.
- e) A velocidad intermedia se mezcló por 5 minutos más o hasta haber obtenido una masa homogénea de consistencia adecuada para ser roída por los animales y a la vez ser moldeada con las manos.

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

# TRABAJOS RELACIONADOS

Parte de éste trabajo se publicó en la Revista: The Journal of Physiology el 01 de Diciembre del 2019



Login / Register

JOURNALS TOPICS

The Physiological Society



Volume 597, Issue 23

1 December 2019

Pages 5549-5563

This article also appears in:

Editor's Choice 2019

Research Paper

## Maternal obesity accelerates rat offspring metabolic ageing in a sex-dependent manner

Guadalupe L. Rodríguez-González, Luis A. Reyes-Castro, Claudia J. Bautista, Azucena A. Beltrán, Carlos A. Ibáñez, Claudia C. Vega, Consuelo Lomas-Soria, Diana C. Castro-Rodríguez, Ana L. Elías-López, Peter W. Nathanielsz, Elena Zambrano ... See fewer authors

First published: 07 October 2019 | <https://doi.org/10.1113/jp278232>

Edited by: Laura Bennet & Janna Morrison

This is an Editor's Choice article from the 1 December 2019 issue.

Read the full text

PDF TOOLS SHARE

Related Information

Metrics

Am scores 193

Details

*J Physiol* 597.23 (2019) pp 5549–5563 5549

## Maternal obesity accelerates rat offspring metabolic ageing in a sex-dependent manner

Guadalupe L. Rodríguez-González<sup>1</sup>, Luis A. Reyes-Castro<sup>1</sup>, Claudia J. Bautista<sup>1</sup>, Azucena A. Beltrán<sup>1</sup>, Carlos A. Ibáñez<sup>1</sup>, Claudia C. Vega<sup>1</sup>, Consuelo Lomas-Soria<sup>1,2</sup>, Diana C. Castro-Rodríguez<sup>1,2</sup>, Ana L. Elías-López<sup>3</sup>, Peter W. Nathanielsz<sup>4</sup> and Elena Zambrano<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Reproductive Biology, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Mexico City, Mexico  
<sup>2</sup>CONACYT-Cátedras, Reproductive Biology, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Mexico City, Mexico  
<sup>3</sup>CONACYT-Cátedras, Instituto Nacional de Salud Pública, Mexico City, Mexico  
<sup>4</sup>Wyoming Center for Pregnancy and Life Course Health Research, Department of Animal Science, University Wyoming, Laramie, WY, USA

Edited by: Laura Bennet & Janna Morrison

**Key points**

- Maternal obesity predisposes to metabolic dysfunction in male and female offspring
- Maternal high-fat diet consumption prior to and throughout pregnancy and lactation accelerates offspring metabolic ageing in a sex-dependent manner
- This study provides evidence for programming-ageing interactions

**Abstract** Human epidemiological studies show that maternal obesity (MO) shortens offspring life and health span. Life course cellular mechanisms involved in this developmental programming-ageing interaction are poorly understood. In a well-established rat MO model, female Wistar rats ate chow (controls (C)) or high energy, obesogenic diet to induce MO from weaning through pregnancy and lactation. Females were bred at postnatal day (PND) 120. Offspring (F<sub>1</sub>) of mothers on control diet (CF<sub>1</sub>) and MO diet (MOF<sub>1</sub>) delivered spontaneously at terms. Both CF<sub>1</sub> and MOF<sub>1</sub> ate C diet from weaning throughout the study. Offspring were killed at PND 36, 110, 450 and 650. We determined body and liver weights, liver and serum metabolite concentrations, hormones and oxidative stress biomarkers. Male and female CF<sub>1</sub> body weight, total fat, adiposity index, serum leptin, insulin, insulin resistance, and liver weight, fat, triglycerides, malondialdehyde, reactive oxygen species and nitrotyrosine all rose with differing ageing trajectories. Female CF<sub>1</sub> triglycerides were unchanged with age. Age-related increases were greater in MOF<sub>1</sub> than CF<sub>1</sub> in both sexes for all variables except glucose in males and females and cholesterol in males. Cholesterol fell in CF<sub>1</sub> females but not MOF<sub>1</sub>. Serum corticosterone levels were higher in male and female MOF<sub>1</sub> than CF<sub>1</sub> and declined with age. DHEA serum levels were lower in male and female MOF<sub>1</sub> than CF<sub>1</sub>. Liver antioxidant enzymes decreased with

Guadalupe L. Rodríguez-González received her Master's degree from the Metropolitan Autonomous University (2010) and her PhD from the National Autonomous University of Mexico (2018). Since 2010 she has held a permanent position in Dr Elena Zambrano's Group at the Reproductive Biology Department in the National Institute of Medical Sciences and Nutrition Salvador Zubirán. Her work has focused mainly on studying the impact of either maternal undernutrition or maternal obesity during the prenatal period in the programming of male offspring reproductive, metabolic and endocrine function across the life course. Recently she has also studied programming-ageing interactions.

© 2019 The Authors. The Journal of Physiology © 2019 The Physiological Society DOI: 10.1113/jp278232