



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**EFFECTO DE LA OBESIDAD MATERNA SOBRE LA FUNCIÓN  
DEL HÍGADO, TEJIDO ADIPOSO Y GLÁNDULA MAMARIA  
DE LA RATA DURANTE LA GESTACIÓN.**

**T E S I S**

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

**PRESENTA**

**MIGUEL ALEJANDRO PÉREZ MORENO**

**TUTORA DE TESIS**

**DRA. CLAUDIA JANET BAUTISTA CARBAJAL**



**Ciudad Universitaria, CD. MX.**

**2023**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**           **Profesor: Pedraza Chaverri José**  
**VOCAL:**               **Profesor: Bustamante García Ruth**  
**SECRETARIO:**       **Profesor: Bautista Carbajal Claudia Janet**  
**1er. SUPLENTE:**     **Profesor: León Mimila Paola Viridiana**  
**2° SUPLENTE:**       **Profesor: Ponce Pineda Ilian Giordano**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN, DR. CARLOS GUAL CASTRO. INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN “SALVADOR ZUBIRÁN”, CDMX, MÉXICO.**

**ASESOR DEL TEMA:**

-----  
**DRA. CLAUDIA JANET BAUTISTA CARBAJAL**

**SUSTENTANTE:**

-----  
**MIGUEL ALEJANDRO PÉREZ MORENO**



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVENIDA DE  
MEXICO

## ACEPTACIÓN DE LA PRUEBA ESCRITA POR EL JURADO

(anexo III)

**SR. DIRECTOR DE LA FACULTAD DE QUÍMICA  
P R E S E N T E.**

**LA PRUEBA ESCRITA** que presenta:

Miguel Alejandro Pérez Moreno

de la carrera: Química Farmacéutico-Biológica

cuyo Título es: Efecto de la obesidad materna sobre la función del hígado, tejido adiposo  
y glándula mamaria de la rata durante la gestación

dentro de la opción: Tesis

**ES DE ACEPTARSE**

**A T E N T A M E N T E**  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
Cd. Universitaria, CDMX a 01 de junio de 2023

### EL JURADO REVISOR

**PRESIDENTE:** Profesor: Pedraza Chaverri José

**VOCAL:** Profesor: Bustamante García Ruth

**SECRETARIO:** Profesor: Bautista Carbajal Claudia Janet

  
\_\_\_\_\_  
  
\_\_\_\_\_  
  
\_\_\_\_\_

*Para Jesús y Lucía, mi más grande apoyo,  
y para mi tía Susana, a quién siempre recuerdo con mucho amor.*

# AGRADECIMIENTOS

Me gustaría comenzar agradeciendo a Dios por darme el privilegio de tener una familia maravillosa que siempre está conmigo y me acompaña en cada uno de mis proyectos; por abrirme las puertas para mejorar como persona y como profesional, y por guiarme en los momentos más difíciles.

Por su parte, también le agradezco mucho a la doctora Claudia Bautista por recibirme en su laboratorio y apoyarme arduamente en la elaboración de esta tesis; gracias por siempre tenerme paciencia y transmitirme los conocimientos necesarios para adquirir mayor seguridad y evolucionar como profesional, pero, sobre todo, gracias por su amabilidad, entusiasmo, compromiso y por ser una excelente tutora. Me llevo muy gratos recuerdos al trabajar con usted.

Agradezco también al doctor José P. y a las doctoras Ruth B. y Paola L. por su total disposición para revisar esta tesis y enriquecerla con sus conocimientos.

De igual manera, me gustaría agradecer al equipo de Biología de la Reproducción y Cirugía Experimental del INCMNSZ, comenzando por las doctoras Victoria, Lupita, Consuelo, Catalina y Sumiko, así como al doctor Luis R., por su amabilidad, sus consejos y por su disposición para transmitirme sus conocimientos y ayudarme a mejorar la calidad de mi trabajo. En cuanto a mis compañer@s, agradezco a Leonel, Ana, Gaby, Frida, Gus, Vid y Karel por crear un ambiente muy agradable en el laboratorio y siempre recibirme con una sonrisa, pero, sobre todo, le doy gracias a Rocío, Ary, Nidia y Cit por ser mis amigas y darme tantos momentos divertidos dentro y fuera del hospital.

Agradezco también a mi querida Facultad de Química por darme la oportunidad de conocer gente extraordinaria y por poner en mi camino a profesor@s muy buen@s que contribuyeron durante 5 años a mi desarrollo como profesional de la salud.

Ahora bien, me gustaría hacer mención de algunas personas importantes en mi vida, comenzando por mis padres, Jesús y Lucía, quienes son mi mayor soporte y siempre me han apoyado en alcanzar mis sueños y metas. Sin duda son los mejores padres que la vida me pudo dar y no estaría en este punto sin ustedes. Prometo que seguiré trabajando duro para poder retribuirles un poco de lo mucho que me han dado.

Gracias a mis hermanos, Isra y Gaby, así como a mi cuñada Jenny, por siempre cuidar de mí desde pequeño, por creer en mí y por enseñarme con el ejemplo las recompensas del esfuerzo y la dedicación.

También agradezco al resto de mis familiares por estar presentes y brindarme su cariño en todo momento.

Por otro lado, quiero agradecer a algunas de las personas que con su cariño y su amistad también han representado una familia para mí. En primer lugar, gracias a mis amig@s de primer semestre (Migue, Pao, Julieta, Areli, Brenda y, con mención especial, Lupita y Andy) por tantas risas y momentos especiales dentro y fuera de las aulas de la Facultad. Bien dicen que las amistades del primer semestre se quedan para siempre.

Gracias a mis amig@s IQ's (Andy M., Manu y Zarry) por hacer de mis primeros semestres los más divertidos y por ser mis confidentes en los momentos difíciles.

Gracias a Emma, Jessi, Yariz, Pao y Fanny por tantos años de amistad y por siempre creer en mí.

Gracias a mis hermanas del alma (Montse, Marianita, Jan, Del y May) por su amor, su lealtad y por ser las mejores compañeras de vida que me pude encontrar. Sobre todo, gracias a las chicas M&J, quienes siempre han estado en los momentos buenos y malos, y quienes, sin planearlo, llegaron a mi vida a alegrarme con su luz y tomarme de la mano cuando el camino parece incierto.

Por último, pero no menos importante, gracias a Lucas, quien desde hace 6 años se convirtió en mi fiel compañero y quien siempre ha estado dispuesto a acompañarme en las noches de desvelo invertidas en cada uno de mis proyectos.

Sé que no puedes leer esto, pero gracias por enseñarme la forma de amor más pura y noble que puede existir.

Desafortunadamente no puedo enlistar en este espacio a todas las personas que han estado conmigo a lo largo de mi vida y han sumado cosas positivas a mi desarrollo, pero estoy seguro de que ustedes saben quiénes son.

Muchas gracias a todas, todos y todes por formar parte de este camino. L@s quiero.



# ÍNDICE

<b>1. RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
2.1 Marco teórico.....	3
2.1.1 Programación del desarrollo (DOHaD).....	3
2.1.2 Estudio de los mecanismos involucrados en la programación del desarrollo usando modelos animales.....	7
2.1.3 Obesidad: Un problema de salud pública a nivel mundial.....	10
2.1.4 Evaluación de la programación del desarrollo en roedores y modelos murinos de obesidad materna.....	15
2.1.5 Metabolismo de carbohidratos y lípidos.....	17
2.1.6 Hígado.....	21
2.1.7 Tejido adiposo (TA).....	23
2.1.8 Glándula mamaria (GM).....	27
2.1.9 Desarrollo fetal y metabolismo materno durante la gestación..	32
2.2 Justificación.....	35
2.3 Planteamiento del problema.....	36
<b>3. HIPÓTESIS.....</b>	<b>37</b>
<b>4. OBJETIVOS.....</b>	<b>37</b>
4.1 Objetivo general.....	37
4.2 Objetivos particulares.....	38
<b>5. METODOLOGÍA.....</b>	<b>38</b>
5.1 Diseño experimental.....	38
5.1.1 Cuidado y mantenimiento de los sujetos de estudio.....	40
5.1.2 Dietas administradas.....	41
5.2 Obtención y conservación de muestras a 19 dG.....	42
5.2.1 Suero materno.....	42

5.2.2 Tejidos maternos: hepático, adiposo y mamario.....	43
<b>5.3 Procesamiento y análisis de muestras.....</b>	<b>43</b>
5.3.1 Cuantificación de parámetros bioquímicos en el suero materno a 19 dG.....	43
5.3.2 Cuantificación de grasa total en hígado y GM a 19 dG por el método de extracción de Folch.....	44
5.3.3 Cuantificación de triglicéridos en hígado y GM a 19 dG.....	46
5.3.4 Determinación del perfil de ácidos grasos en la glándula mamaria por cromatografía de gases (CG).....	47
5.3.5 Análisis histológico del hígado, tejido adiposo y glándula mamaria maternos a 19 dG.....	48
5.3.6 Análisis estadístico.....	50
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>51</b>
6.1 Peso corporal materno a 19 dG.....	51
6.2 Parámetros bioquímicos en suero materno a 19 dG.....	52
6.3 Parámetros del hígado materno a 19 dG.....	52
6.3.1 Peso del hígado y peso relativo respecto al peso corporal.....	52
6.3.2 Grasa total y contenido de triglicéridos.....	53
6.3.3 Parámetros histológicos.....	54
6.4 Análisis de distribución de áreas de los adipocitos maternos a 19 dG..	55
6.4.1 Parámetros histológicos.....	58
6.5 Parámetros de la glándula mamaria materna a 19 dG.....	59
6.5.1 Peso de la GM y peso relativo respecto al peso corporal.....	59
6.5.2 Grasa total y contenido de triglicéridos.....	59
6.5.3 Parámetros histológicos.....	60
6.5.4 Citoarquitectura de la GM.....	61
6.5.5 Perfil de ácidos grasos.....	62
<b>7. DISCUSIÓN.....</b>	<b>63</b>

<b>8. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>79</b>
<b>9. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>79</b>
<b>10. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>80</b>
<b>11. APÉNDICE A. Procedimiento para la preparación de la dieta alta en grasa... 96</b>	
<b>12. APÉNDICE B. Fundamento de la tinción H&amp;E.....</b>	<b>98</b>
<b>13. APÉNDICE C. Participación del proyecto en congresos.....</b>	<b>102</b>

## **FIGURAS.**

<b>Figura 1: Representación esquemática de la programación del desarrollo.....</b>	<b>4</b>
<b>Figura 2: Modelos animales utilizados en la evaluación de la programación del desarrollo.....</b>	<b>8</b>
<b>Figura 3: Clasificación del exceso de peso en un individuo de acuerdo al valor del IMC.....</b>	<b>11</b>
<b>Figura 4: Prevalencia nacional del sobrepeso y obesidad en la población infantil.....</b>	<b>12</b>
<b>Figura 5: Prevalencia nacional del sobrepeso y obesidad en mujeres adultas.....</b>	<b>13</b>
<b>Figura 6: Comparación entre los estados de hipertrofia e hiperplasia del tejido adiposo a nivel metabólico.....</b>	<b>25</b>
<b>Figura 7: Ciclo de maduración de la glándula mamaria durante la edad reproductiva en ratas hembra.....</b>	<b>31</b>
<b>Figura 8: Metabolismo y función de órganos maternos durante la gestación.....</b>	<b>34</b>
<b>Figura 9: Ejemplares de los animales utilizados en el protocolo experimental.....</b>	<b>39</b>
<b>Figura 10: Diseño experimental.....</b>	<b>40</b>
<b>Figura 11: Ecuación para el cálculo del parámetro HOMA.....</b>	<b>44</b>
<b>Figura 12: Método de homogenizado.....</b>	<b>45</b>
<b>Figura 13: Extracción del contenido lipídico del hígado y GM.....</b>	<b>45</b>
<b>Figura 14: Ecuación para el cálculo del porcentaje de grasa total por peso de tejido determinado por el método de Folch.....</b>	<b>46</b>

<b>Figura 15:</b> Secuencia de reacciones involucradas en la determinación de triglicéridos.....	47
<b>Figura 16:</b> Ejemplo de bloques de parafina.....	48
<b>Figura 17:</b> Carril de tinción H&E.....	49
<b>Figura 18:</b> Ecuación para el cálculo del porcentaje del área de la grasa en los tejidos hepático y mamario.....	50
<b>Figura 19:</b> Peso corporal de la madre a 19 dG.....	51
<b>Figura 20:</b> Parámetros del hígado materno a 19 dG.....	53
<b>Figura 21:</b> Contenido lipídico en el hígado materno a 19 dG.....	53
<b>Figura 22:</b> Histología del hígado materno a 19 dG (H&E).....	54
<b>Figura 23:</b> Distribución de áreas de los adipocitos maternos a 19 dG.....	55
<b>Figura 24:</b> Análisis de frecuencias del área de los adipocitos maternos a 19 dG..	57
<b>Figura 25:</b> Histología del TA materno a 19 dG (H&E).....	58
<b>Figura 26:</b> Parámetros de la GM materna a 19 dG.....	59
<b>Figura 27:</b> Contenido lipídico en la GM materna a 19 dG.....	60
<b>Figura 28:</b> Histología de la GM materna a 19 dG (H&E).....	61
<b>Figura 29:</b> Análisis citoarquitectónico de la GM materna a 19 dG (H&E).....	62
<b>Figura A1:</b> Ingredientes utilizados para la formulación de la dieta obesogénica... 96	
<b>Figura A2:</b> Preparación de la dieta obesogénica.....	97
<b>Figura B1:</b> Ejemplo de cortes montados en portaobjetos de vidrio.....	99
<b>Figura B2:</b> Estructuras químicas de interés en la tinción con hematoxilina.....	100
<b>Figura B3:</b> Estructuras químicas de interés en la tinción con eosina.....	101
<b>Figura B4:</b> Ejemplo de cortes teñidos por H&E.....	101

## TABLAS.

<b>Tabla 1:</b> Dietas administradas según el grupo de estudio.....	42
<b>Tabla 2:</b> Ensayo colorimétrico para la cuantificación de triglicéridos.....	46
<b>Tabla 3:</b> Parámetros bioquímicos de la madre a 19 dG.....	52

**LISTADO DE SIGLAS, ABREVIATURAS Y UNIDADES.**

AA	Ácido araquidónico
AAALAC	Asociación Internacional de Evaluación y Acreditación para el Cuidado de Animales de Laboratorio ( <i>Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International</i> )
Acetil CoA	Acetil-coenzima A
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AGS	Ácido graso sintasa
AIN	Instituto Americano de Nutrición ( <i>American Institute of Nutrition</i> )
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
ATP	Adenosín trifosfato
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
°C	Grados Celsius
CG	Cromatografía de gases
cm	Centímetros
cm/s	Centímetros sobre segundo
CTR	Control
dG	Días de gestación
DHA	Ácido docosahexaenoico
DIEB	Departamento de Investigación Experimental y Bioterio
dL	Decilitros
DOHaD	Programación del desarrollo ( <i>Developmental Origins of Health and Disease</i> )
$\Delta$	Delta
EE	Error estándar

EHNA	Esteatohepatitis no alcohólica
ELISA	Enzimoinmunoanálisis de adsorción
ENN	Encuesta Nacional de Nutrición
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
EPA	Ácido eicosapentaenoico
g	Gramos
GM	Glándula mamaria
h	Horas
HCG	Hormona gonadotropina coriónica humana
HDL	Lipoproteínas de alta densidad ( <i>high density lipoprotein</i> )
HGAE	Hígado graso agudo del embarazo
HGNA	Hígado graso no alcohólico
HOMA	Índice de resistencia a la insulina
HPL	Lactógeno de la placenta humana
H&E	Hematoxilina y eosina
IL-	Interleucina
IMC	Índice de masa corporal
INCMNSZ	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, “Salvador Zubirán”
kcal	Kilocalorías
kg	Kilogramos
LDL	Lipoproteínas de baja densidad ( <i>low density lipoprotein</i> )
m <sup>2</sup>	Metros cuadrados
ME	Mediana
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
μL	Microlitros

$\mu\text{m}$	Micrómetros
n=	Número de individuos
NADPH	Nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato
ng	Nanogramos
nm	Nanómetros
OM	Obesidad Materna
OMS	Organización Mundial de la Salud
%	Por ciento
PBS	Solución buffer de fosfatos ( <i>Phosphate-buffered saline</i> )
PPAR $\gamma$	Receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma
rpm	Revoluciones por minuto
TA	Tejido adiposo
TGF- $\alpha$	Factor de crecimiento transformante alfa
TNF- $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad ( <i>very low density lipoprotein</i> )

# 1. RESUMEN.

**Antecedentes:** En estudios previos se ha demostrado que la obesidad inducida por una dieta alta en grasa impacta negativamente en las funciones metabólicas y endócrinas de un organismo. Se ha visto que las crías descendientes de madres con obesidad presentan alteraciones desfavorables en su fisiología. Sin embargo, hasta el momento no se han descrito con exactitud cuáles son las adaptaciones fisiológicas que sufre la madre durante el período de gestación, de tal manera que dichos cambios sean los responsables de generar un fenotipo desfavorable en la progenie; de ahí es que surge el interés por evaluar el efecto del consumo de una dieta hiperlipídica sobre los parámetros bioquímicos maternos [glucosa, colesterol, triglicéridos, leptina, insulina y el índice de resistencia a la insulina (HOMA)], así como en la función y maduración del hígado, tejido adiposo (TA) y glándula mamaria (GM). **Objetivo:** Evaluar el efecto de la dieta alta en grasa sobre el metabolismo y función de órganos maternos durante la etapa de gestación. **Metodología:** Se emplearon ratas de la estirpe albino-Wistar alimentadas durante su crecimiento y embarazo con dieta control (Chow purina 5001, con 5% de grasa; grupo Control (CTR), n=5) y alta en grasa (25% de grasa; grupo de Obesidad Materna (OM), n=5). A 19 días de gestación (dG), se determinó el peso materno y se llevó a cabo la eutanasia de los animales para obtener muestras de suero, hígado, TA y GM. El suero se analizó por colorimetría y enzimoimmunoanálisis para cuantificar los parámetros bioquímicos anteriormente mencionados. Al hígado y a la GM se les determinó la grasa total por el método de Folch, así como el contenido de triglicéridos. Adicionalmente, a los tres tejidos se les hizo un análisis histológico por la técnica de hematoxilina y eosina (H&E) con el propósito de evaluar el nivel de daño en su estructura celular y, en el caso de la GM, también se evaluó su perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases (CG). Para los valores que presentaron una distribución normal, los resultados fueron expresados como la media  $\pm$  EE, usando la prueba T-Student para fines comparativos entre CTR vs OM (\* $p \leq 0.05$ ), mientras que para el área de los adipocitos, los resultados se expresaron como la mediana y se utilizó la prueba no paramétrica Mann-Whitney Rank Sum (\* $p \leq 0.001$ ),



con una n=5 por cada grupo. **Resultados:** El peso materno fue mayor en el grupo OM respecto al CTR (OM=  $523 \pm 11^*$  g vs CTR=  $440 \pm 6$  g,  $p \leq 0.05$ ), al igual que los niveles de triglicéridos, insulina, leptina y HOMA. El hígado del grupo OM presentó menor peso relativo respecto al peso corporal y mayor grasa total, contenido de triglicéridos y porcentaje de área grasa, respecto al CTR. En el TA, se observó un incremento en la mediana del tamaño de los adipocitos del grupo OM, mientras que en el grupo CTR las poblaciones estaban principalmente conformadas por células de menor tamaño. En cuanto a la GM, se encontró que en el grupo OM hubo mayor peso del tejido, peso relativo, grasa total, contenido de triglicéridos y porcentaje de área grasa, respecto al CTR; además, la citoarquitectura mostró menor área de parénquima, acinos y núcleos celulares, comparado con el CTR, así como se determinó que el perfil de ácidos grasos saturados y omega 3, 6 y 9 en la GM fue mayor en el grupo OM, en comparación con el CTR. **Conclusión:** La obesidad materna inducida por el consumo de una dieta alta en grasa durante el crecimiento y embarazo no solo aumentó el peso corporal de la rata, sino también afectó el metabolismo materno, la estructura celular de los tejidos hepático y adiposo y la diferenciación de la GM, lo cual altera la correcta funcionalidad de estos órganos durante la gestación y, en consecuencia, se podría esperar una programación negativa en el desarrollo de la descendencia del grupo OM.

**Palabras clave:** Programación del desarrollo (DOHaD); obesidad materna; dieta alta en grasa; hígado; tejido adiposo; glándula mamaria.

## 2. INTRODUCCIÓN.

### 2.1 Marco teórico.

#### 2.1.1 Programación del desarrollo (DOHaD).

En las últimas décadas, las enfermedades crónico-degenerativas, como la diabetes y la obesidad, han alcanzado cifras muy elevadas de prevalencia a nivel mundial, tanto en la población adulta como en la infantil [58]. Se ha visto en múltiples estudios que la exposición a diversos factores ambientales desde períodos tempranos de la vida como la gestación y lactancia puede generar cambios en la fisiología, metabolismo y epigenoma de un organismo, lo que subsecuentemente afectará su estado de salud e incrementará el riesgo a padecer una enfermedad desde la infancia hasta la edad adulta [8, 72]. Dichas exposiciones *in utero* pueden incluir un estado de malnutrición materna, como una alimentación hipo o hipercalórica; consumo de drogas, alcohol o tabaco; contaminantes presentes en el ambiente; alteraciones hormonales maternas derivadas de la obesidad y diabetes gestacional; estados de estrés y ansiedad; estrés oxidativo generado por hipertensión o insuficiencias placentarias, por mencionar algunas. Se ha descrito que las principales enfermedades provocadas por este tipo de ambientes intrauterinos adversos son la obesidad y la cardiopatía coronaria [72].

De ahí es que surge la hipótesis conocida como **los orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad (DOHaD)**, por sus siglas en inglés), también conocida como **programación del desarrollo**, la cual nos habla de todos aquellos factores ambientales y sociales que inciden en la vida prenatal o postnatal de un individuo y pueden provocarle cambios temporales o permanentes en su fisiología [8, 60]. Se sabe que en respuesta a un entorno intrauterino desfavorable, el feto genera ciertas adaptaciones fisiológicas en un intento de incrementar sus posibilidades inmediatas de supervivencia. Sin embargo, estas adaptaciones inducen modificaciones en la homeostasis metabólica, los sistemas endócrinos y la regulación del crecimiento, lo

que comúnmente se manifiesta como un fenotipo alterado desde el nacimiento (Figura 1) [39].



**Figura 1: Representación esquemática de la programación del desarrollo.**  
 Figura adaptada de [58] Ramírez, et al. (2022).

El fundamento de esta hipótesis proviene del análisis de datos epidemiológicos en humanos, así como del estudio de diferentes intervenciones dietéticas en modelos animales, los cuales han sugerido que los desbalances nutricionales maternos y las alteraciones metabólicas durante etapas críticas del desarrollo, como lo son la gestación y lactancia, pueden traer consigo efectos adversos en la salud de la descendencia [58, 72]. Así mismo, se ha visto que un individuo puede sufrir cambios epigenéticos a lo largo de su vida, como consecuencia de una exposición aguda o crónica a un ambiente o a una determinada intervención, afectando sus funciones endócrinas, metabólicas y/o cognitivas [72].

Es por ello que en los últimos años la investigación básica se ha enfocado en identificar y comprender la relación entre las exposiciones tempranas a un determinado factor ambiental y la aparición de una patología, así como en establecer cuáles son los mecanismos que participan en la alteración del estado de salud ante estas condiciones [8, 72].

### ***Mecanismos involucrados en la programación del desarrollo:***

Hasta el momento, se han descrito tres principales mecanismos por los cuales un ambiente intrauterino desfavorable puede programar negativamente el desarrollo de un individuo, los cuales son [72]:

- Cambios permanentes en la estructura de órganos y tejidos.
- Envejecimiento celular acelerado.
- Programación epigenética en la expresión de genes.

Para fines de esta tesis, se describirá el primer mecanismo, el cual nos dice que las exposiciones adversas (como un estado de malnutrición materna) durante el período de gestación, que es la etapa en donde se lleva a cabo el desarrollo de órganos y sistemas fetales, pueden provocar cambios estructurales permanentes que contribuyan a la aparición de enfermedades crónico-degenerativas desde la vida postnatal temprana. Esto debido a que durante la organogénesis los escasos nutrientes disponibles son enviados a órganos vitales como el cerebro y el corazón, lo que provoca una restricción nutrimental a órganos y tejidos viscerales como el páncreas, hígado, riñón y músculo esquelético; dicha limitación en el suministro de nutrientes en un período tan crítico del desarrollo, como la maduración de órganos y tejidos, puede traer consigo alteraciones permanentes en la función y estructura celular, por ejemplo: desequilibrio en la función de las células  $\beta$  del páncreas o una disminución en la cantidad de nefronas en el riñón [72, 76].

### ***Estudios en gestación. Teoría de David Barker:***

Desde 1986 hasta 2014, David Barker fue un médico epidemiólogo que se convirtió en uno de los pioneros en intentar explicar cómo es que la obesidad y las

enfermedades crónico-degenerativas pueden derivarse de modificaciones en el entorno cercano a las mujeres gestantes, y que a su vez esta exposición puede provocar cambios negativos en el desarrollo embrionario de la descendencia [58]. Los estudios de Barker, basados en el análisis de datos epidemiológicos, han revelado que existe una relación entre ciertos eventos históricos en determinadas poblaciones y el desarrollo de alguna patología en la progenie [6], por ejemplo, durante la época de la Segunda Guerra Mundial, en Reino Unido se reportó que los niños presentaban un incremento de peso desde el nacimiento hasta el primer año de vida; posteriormente, se encontró que había una correlación entre dicho aumento en el peso corporal de estos niños y el desarrollo de cardiopatía coronaria en la edad adulta [58]. Por otro lado, se determinó que en aquellos individuos que fueron expuestos *in utero* a la Hambruna Holandesa (1944-1945), en donde la ración para los adultos era de 400 a 800 calorías al día, existió una relación entre dicha restricción nutrimental y el desarrollo de diabetes, hipertensión y una composición corporal alterada [72]. De esta manera, Barker fue de los primeros investigadores en proponer que los factores ambientales adversos pueden generar cambios desfavorables en la vida temprana de un individuo, generando un fenotipo adulto con mayor predisposición a una enfermedad metabólica [24].

En ese sentido, los estudios moleculares y fisiológicos resultan ser necesarios para comprender cómo es que las modificaciones en el ambiente de una población pueden generar alteraciones en la función celular durante la gestación, de tal manera que se induzcan cambios adversos en el desarrollo embrionario y periconcepcional, cuyos efectos negativos pueden establecerse incluso en la edad adulta [58].

## **2.1.2 Estudio de los mecanismos involucrados en la programación del desarrollo usando modelos animales.**

### ***Estudios donde se comparan los modelos animales y humanos:***

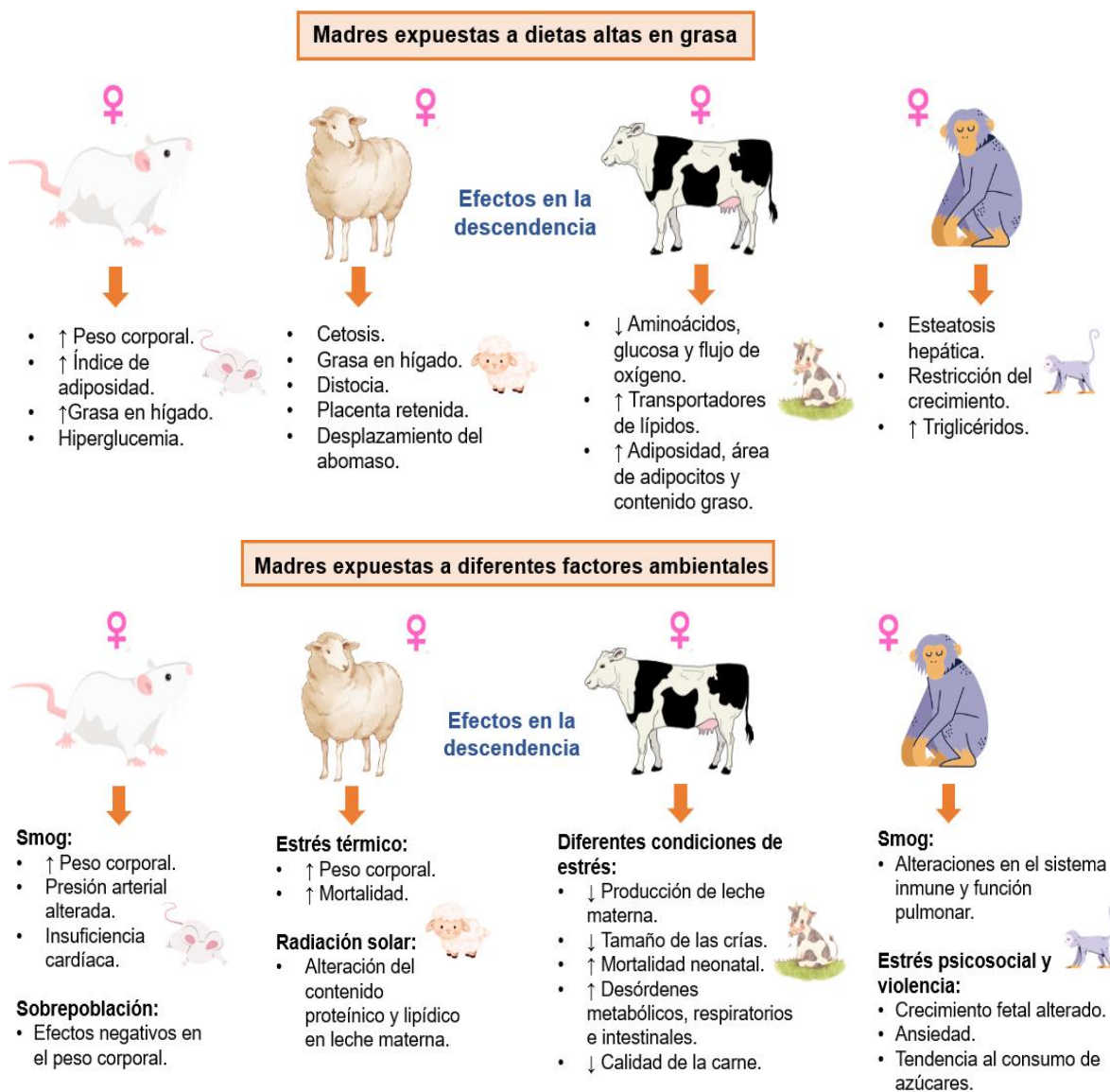
Las investigaciones epidemiológicas en humanos resultan ser de gran importancia para establecer correlaciones entre el estado nutricional materno y la salud de la prole [24]. Sin embargo, las consideraciones éticas en dichos estudios impiden comprender en su totalidad cómo es que los cambios en el entorno de un individuo pueden deteriorar su salud a corto o largo plazo. En cambio, el uso de animales en la investigación nos permite evaluar mecanismos complejos involucrados en el desarrollo de una enfermedad, obteniendo datos reproducibles que se pueden contrastar con los resultados epidemiológicos reportados hasta el momento [58].

Aunado a lo anterior, el trabajo con animales de laboratorio provee a los investigadores de ciertas ventajas que generalmente no se obtienen al trabajar con humanos, por ejemplo, se tiene un mayor control de las condiciones ambientales a las que estarán expuestos los individuos durante el desarrollo del experimento (ciclos de sueño, actividad física, ingesta calórica, niveles de estrés, etc.); también se tiene un mayor control de los factores genéticos, pues en un modelo animal se pueden seleccionar las parejas para reproducción, así como dar seguimiento a diferentes generaciones, dado que algunas especies animales tienen ciclos de vida mucho más cortos que el ser humano. Además, el uso de modelos animales nos permite controlar los tratamientos que se implementan sobre estos mismos, establecer algún tipo de intervención, evaluar el desarrollo y crecimiento fetal, así como estudiar la citoarquitectura de diferentes órganos y tejidos obtenidos a través de la eutanasia de los sujetos de experimentación [58, 72].

### ***Especies animales comúnmente utilizadas en investigaciones relacionadas a la programación del desarrollo:***

Dentro de esta línea de investigación, el uso de animales tiene el objetivo de evaluar cómo los factores positivos o negativos en el ambiente intrauterino pueden modificar el correcto desarrollo de la descendencia [58].

A la fecha, se han descrito más de 23 especies donde se han evaluado los efectos de la programación del desarrollo, dentro de las cuales los de mayor uso han sido los modelos en roedores (ratas, ratones y conejillos de Indias), ovejas, bovinos y primates no humanos (**Figura 2**) [24, 58, 72].



**Figura 2: Modelos animales utilizados en la evaluación de la programación del desarrollo.** Efectos en la descendencia de madres expuestas a dietas altas en grasa y otras condiciones ambientales adversas. *Figura adaptada de [58] Ramírez, et al. (2022).*

Los estudios en primates no humanos se han utilizado cuando se requiere un mayor parentesco genético respecto al modelo humano. En el caso de diseños experimentales que tienen que ver con gestación, el uso de primates tiene la ventaja de que la duración del embarazo es similar a la del ser humano, así como las camadas generalmente son de una o dos crías [72]. Algunos estudios en estos animales han mostrado que la alimentación con dietas hiperlipídicas durante la gestación y lactancia puede provocar niveles elevados de colesterol y triglicéridos en las crías, alteraciones en la función placentaria de la madre, así como desarrollo de hígado graso no alcohólico e hipertrofia del TA de la progenie en la edad adulta [24].

Por su parte, los modelos en ovejas se han utilizado principalmente para estudios epigenéticos [72], en donde se ha observado que el consumo de dietas altas en lípidos puede promover la expresión de genes lipogénicos, así como se han encontrado mayores depósitos de grasa y defectos en el desarrollo del músculo esquelético de la descendencia [24].

En cuanto a los modelos en roedores, estos se han utilizado por ser animales más pequeños, más fáciles de cuidar y manipular y con un ciclo de vida más corto. En los estudios de gestación, el uso de ratas y ratones reduce significativamente los costos, pues el período de embarazo es menor (alrededor de 21 días), comparado con otras especies. No obstante, se debe considerar que la principal desventaja que tienen estos modelos es que son genéticamente diferentes a los humanos y la descendencia es altricial (las camadas son superiores a tres fetos, los cuales nacen desprovistos de pelo, con ojos y oídos cerrados y con nula capacidad homeotérmica y motora; nacen después de cortos períodos de gestación, maduran muy rápidamente y tienen una vida adulta corta [50]), por lo que las investigaciones en estos animales suelen tener mayor validez cuando se suman con los resultados encontrados en otras especies [72].



En general, se ha visto que todos los modelos en mamíferos parecen tener una tendencia en común, en donde las crías que provienen de madres expuestas a dietas altas en grasa presentan modificaciones desfavorables en su fisiología como alteraciones en el desarrollo de órganos y tejidos, inhibición del crecimiento, cambio en sus vías metabólicas y endócrinas, así como modificaciones epigenéticas [24].

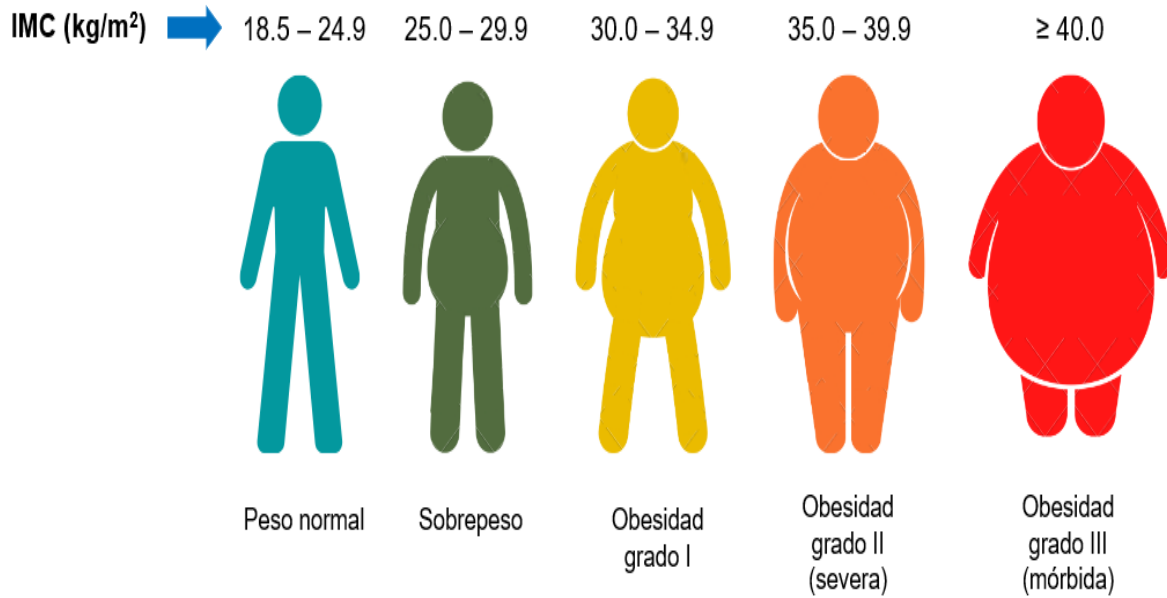
### **2.1.3 Obesidad: Un problema de salud pública a nivel mundial.**

#### ***Definición:***

La obesidad es una enfermedad crónica y multicausal que se define como “*una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud*” [40, 53]. Se considera que es de origen multifactorial, pues su aparición y desarrollo en un individuo tiene que ver con una compleja interacción entre factores ambientales, genéticos y sociales [24]. En general, la causa de obesidad que ha sido más reconocida a nivel mundial es un desequilibrio entre las calorías consumidas a través de la dieta y las calorías gastadas durante la actividad física, teniendo como resultado la acumulación de grasa en el organismo [53]. Sin embargo, existe una gran variedad de factores que pueden contribuir al desarrollo de esta condición, por ejemplo, cambios hormonales relacionados al envejecimiento, nivel socioeconómico, raza, sexo, factores socioculturales y conductuales como un estado de estrés, ansiedad y depresión, consumo de alcohol, tabaquismo, por mencionar algunos [27, 40].

#### ***Clasificación:***

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), el exceso de peso en una persona se puede categorizar de acuerdo a su índice de masa corporal (IMC), el cual se define como el cociente del peso corporal en kilogramos entre el cuadrado de la estatura en metros, teniendo así los siguientes intervalos (**Figura 3**) [29]:



**Figura 3: Clasificación del exceso de peso en un individuo de acuerdo al valor del IMC.** IMC = Índice de masa corporal. MA Pérez.

### **Epidemiología:**

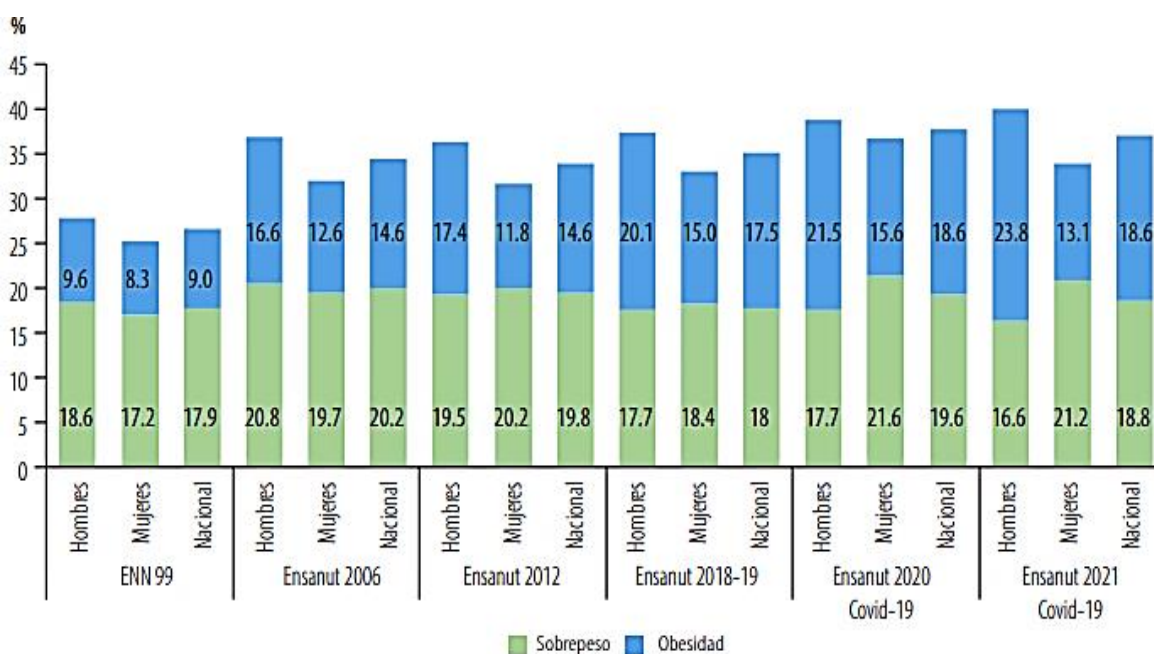
Actualmente, la obesidad se considera como una *pandemia*, es decir, es una enfermedad (en este caso no infecciosa) que se extiende en varios países y continentes, se presenta en gran parte de la población y persiste a través del tiempo [51]. Hablando en términos globales, se ha visto que en países desarrollados, como algunas partes de Europa y Norte América, la obesidad tiene una muy alta prevalencia, mientras que en países en vías de desarrollo ya se está alcanzando el mayor impacto de esta condición [31, 43]. Se ha visto que la prevalencia del sobrepeso y la obesidad ha incrementado a nivel mundial en las últimas tres décadas, afectando alrededor del 75% de las personas adultas. Aunado a esto, se determinó que en el año 2015, el exceso de peso representó un 10.8% de las muertes en todo el mundo, mientras que en 2016, la cifra aumentó a un 12.3% [29].

### **Prevalencia del sobrepeso y la obesidad en la población infantil y mujeres en edad reproductiva en México:**

De acuerdo con el último informe emitido por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT), se determinó que en el año 2021 la prevalencia del sobrepeso y obesidad en niñas y niños menores a 5 años era del 7.8% (aproximadamente 777,800 preescolares); dicho porcentaje ha ido en aumento en comparación con años anteriores, ya que en 2018 y 2019, la cifra en esta misma población era del 6.8% [29].

Con respecto a la población en edad escolar (5 a 11 años de edad), se encontró que en el 2021 la prevalencia del sobrepeso fue de 16.6% en niños y 21.2% en niñas, mientras que en el caso de la obesidad esta fue de 23.8% en niños y 13.1% en niñas (**Figura 4**). Al comparar estos resultados con informes de años anteriores, se encontró que, según el sexo, el porcentaje aumentó principalmente en los varones en edad escolar [29].

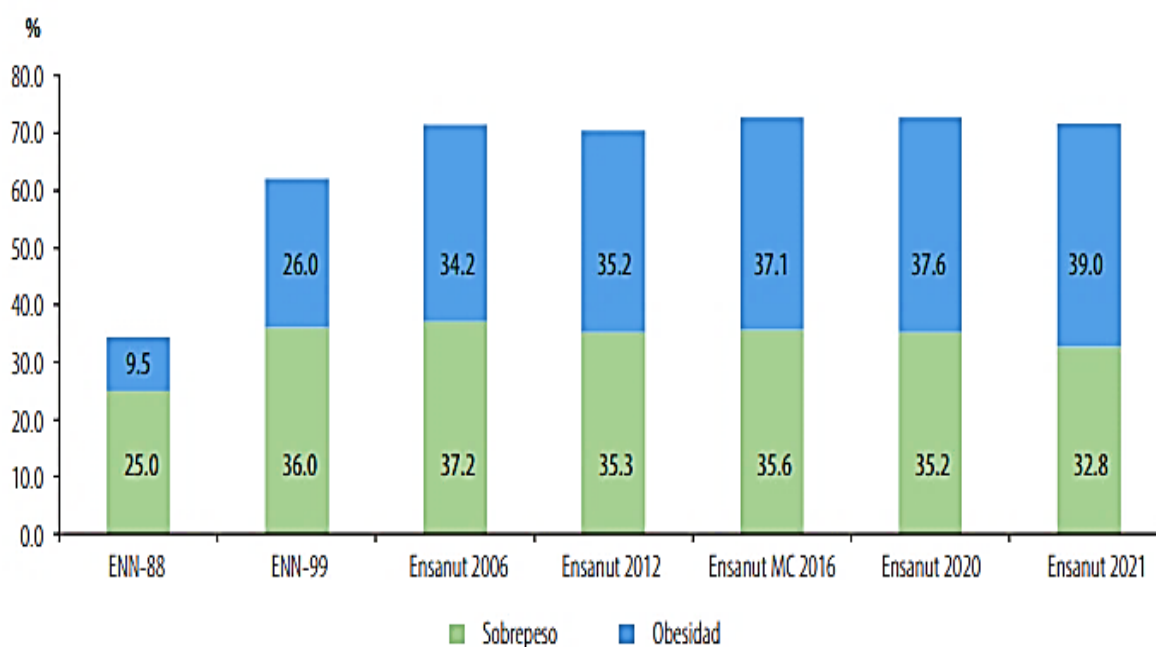
Actualmente, uno de los datos más alarmantes es que nuestro país ocupa el primer lugar a nivel mundial en sobrepeso y obesidad infantil [58].



**Figura 4: Prevalencia nacional del sobrepeso y obesidad en la población infantil.** Histograma comparativo entre individuos de 5 a 11 años de edad.

Resultados obtenidos de los informes de la Encuesta Nacional de Nutrición (ENN) 1999, y la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2006, 2012, 2018-19, 2020 y 2021, según el sexo. *Figura tomada de: [29] ENSANUT (2021).*

En el caso de las mujeres adultas en edad reproductiva (20 a 49 años) se determinó que la prevalencia combinada del sobrepeso y obesidad tuvo un incremento significativo en las últimas tres décadas, pues la cifra aumentó de 34.5% en el año 1988, a 71.8% en 2021 (**Figura 5**) [29].



**Figura 5: Prevalencia nacional del sobrepeso y obesidad en mujeres adultas.** Histograma comparativo entre individuos femeninos de 20 a 49 años de edad. Resultados obtenidos de los informes de la Encuesta Nacional de Nutrición (ENN) 88 y 99, y la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2006, 2012, 2016, 2020 y 2021. *Figura tomada de: [29] ENSANUT (2021).*

**Efectos adversos de la obesidad:**

Se sabe que la obesidad generada por dietas altas en lípidos y carbohidratos impacta negativamente en la salud de un organismo, tanto física como mentalmente, generando alteraciones en el apetito, saciedad, metabolismo,

concentración de grasa corporal y balance hormonal, así como es un factor de riesgo significativo para otros padecimientos [31, 40].

En México, se ha reportado que algunas de las comorbilidades asociadas a la obesidad han representado un gran porcentaje de mortalidad, discapacidad y muerte prematura en la población en general en las últimas dos décadas [29]. Se ha identificado que un IMC elevado es un factor de riesgo importante para padecer enfermedades crónico-degenerativas no infecciosas, por ejemplo [66]:

- Enfermedades cardiovasculares (principalmente cardiopatía coronaria y accidente cerebrovascular), que fueron la principal causa de muerte en nuestro país en el año 2008.
- Diabetes e hipertensión arterial.
- Trastornos del aparato locomotor (principalmente osteoartritis).
- Algunos tipos de cáncer (en especial cáncer de endometrio, mama y colon).
- Patologías hepáticas crónicas, como la enfermedad del hígado graso no alcohólico (HGNA) y la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA).

Adicionalmente, estudios recientes han demostrado que la obesidad es el segundo factor de vulnerabilidad, después de la edad, para sufrir complicaciones por COVID-19, debido a que las enfermedades crónico-degenerativas (como diabetes y obesidad) van degenerando la función del sistema metabólico, fisiológico e inmunológico; dicha deficiencia se vuelve más severa con el paso del tiempo y, dependiendo del estadio en el que se encuentre la enfermedad, hace que el individuo se vuelva más vulnerable ante cualquier otra patología [40].

Por su parte, se sabe que las mujeres embarazadas en estado de obesidad presentan mayor tasa de fracaso tanto en concepción natural como en técnicas de fertilidad, así como mayor incidencia de parto prematuro, aborto, preeclampsia, diabetes e hipertensión gestacional y riesgo a sufrir eventos tromboembólicos. Además, se ha descrito que la obesidad materna está relacionada con diversas complicaciones fetales y perinatales, como anomalías cardíacas y neuronales en

los neonatos, macrosomía (elevado peso del producto al nacer), muerte neonatal y mayor riesgo a presentar enfermedades metabólicas desde la infancia [27].

En el caso de la obesidad infantil, se ha visto que está asociada con una mayor probabilidad a sufrir dificultades respiratorias, muerte prematura, discapacidad en la edad adulta, mayor riesgo a fracturas e hipertensión, resistencia a la insulina, efectos psicológicos adversos y también favorece la expresión de marcadores tempranos de enfermedad cardiovascular [66].

Debido a lo anterior, actualmente el exceso de peso en una persona es considerado como uno de los principales problemas de salud pública en nuestro país [29]. Dado que la obesidad hoy en día tiene una muy alta prevalencia en niños, adolescentes y adultos en edad reproductiva, cada vez resulta de mayor importancia entender los mecanismos biológicos, moleculares y celulares por los cuales esta condición puede afectar el estado de salud de un individuo y, por consiguiente, programar negativamente el desarrollo de su descendencia.

#### **2.1.4 Evaluación de la programación del desarrollo en roedores y modelos murinos de obesidad materna.**

En este tipo de diseños experimentales, se han probado diferentes tratamientos en ratas gestantes, como la administración de dietas bajas en proteína, altas en grasa o modificadas en cuanto al contenido de carbohidratos, así como se han evaluado diferentes intervenciones como el uso de fármacos o suplementos alimenticios para determinar si los efectos de dichas dietas sobre la descendencia pueden ser reversibles [58].

Hablando específicamente de los modelos expuestos al consumo de una dieta alta en grasa durante su crecimiento y gestación, se ha encontrado que esta condición puede generar una gran variedad de efectos adversos en la fisiología de la progenie. Dentro de las investigaciones realizadas en el Instituto Nacional de Ciencias

Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ), donde se ha utilizado a la rata como modelo biológico, se han reportado los siguientes:

- Alteración del metabolismo de lípidos a nivel de hígado y envejecimiento prematuro [10].
- Mayor acumulación de tejido adiposo e hipertrofia de los adipocitos al alcanzar la edad adulta, principalmente en los machos [24].
- Predisposición de las hembras a sufrir retraso en la adquisición, retención y mantenimiento del aprendizaje, al igual que una disminución en la motivación [20].
- Desequilibrio en los sistemas de defensa antioxidante y producción de radicales libres y/o especies reactivas de oxígeno en los machos, lo cual favorece una menor calidad espermática, alteraciones en la estructura celular del testículo y menor función reproductiva [41, 64].
- Intolerancia a la glucosa y cambios en la proporción de células  $\beta$  maduras e inmaduras en el páncreas [76].

Así mismo, se han probado distintas intervenciones, como la implementación de actividad física en la descendencia [64] o la administración de resveratrol a diferentes dosis [24, 62], observando que los efectos negativos de la obesidad materna disminuyen y pueden prevenir el daño en las crías. No obstante, a pesar de que se han descrito múltiples efectos adversos en la progenie, el estudio de las adaptaciones en la fisiología materna que generan dichos efectos sigue siendo escaso, por lo que se sigue profundizando a nivel celular, molecular y fisiológico sobre este modelo de obesidad materna y su relación con los cambios negativos sobre los descendientes [8, 58].

Hoy en día, lo que también se busca con este tipo de modelos experimentales es profundizar en el estudio del efecto epigenético sobre la programación del desarrollo, pues se ha encontrado que los factores ambientales, conductuales y el tipo de dieta pueden influir en mecanismos como la metilación, acetilación y fosforilación de proteínas, de tal manera que se altere la activación o inhibición de

diversos genes en la descendencia y, en consecuencia, se favorezca la aparición de enfermedades crónico-degenerativas desde la infancia y hasta la vida adulta [58].

### **2.1.5 Metabolismo de carbohidratos y lípidos.**

Para poder crecer y desarrollarse, todos los seres vivos necesitan del **metabolismo**, el cual se puede entender como “el ensamble de las transformaciones moleculares y de transferencia de energía que se desarrollan sin interrupciones dentro de las células de un organismo” [57]. Este proceso se divide en dos fases principalmente: catabolismo y anabolismo. En el **catabolismo** los nutrientes ingeridos en la dieta o almacenados como reserva son oxidados a moléculas más simples para la obtención de energía en forma de adenosín trifosfato (ATP) [10], mientras que el **anabolismo** hace referencia a la síntesis orgánica de macromoléculas útiles para el correcto crecimiento de las células, mantenimiento de tejidos y almacenamiento de energía [61].

Toda actividad celular requiere de moléculas específicas para llevarse a cabo (proteínas, lípidos, carbohidratos, ácidos nucleicos, vitaminas, minerales y agua), las cuales deben ser transportadas a través de las membranas, frecuentemente contra un gradiente de concentración, por lo que el ATP producido en el catabolismo es utilizado para cubrir este gasto energético. Por ello, los niveles de energía y las concentraciones de nutrimentos deben estar disponibles constantemente en cantidad y calidad [46, 57, 61].

El equilibrio entre las diferentes vías metabólicas está gobernado por dos principios fundamentales: la **economía** y la **flexibilidad**. El primero hace referencia a que las células deben regular su actividad de tal manera que no existan deficiencias o excesos de algún metabolito, mientras que el segundo principio nos habla de cómo los organismos son capaces de modificar su metabolismo ante cambios significativos en su entorno que provoquen variaciones en las concentraciones o el tipo de nutrientes disponibles [57].



### **Metabolismo de carbohidratos:**

Con el objetivo de proveer energía que pueda ser utilizada de manera inmediata, se llevan a cabo en la célula una serie de reacciones químicas en donde se oxidan los carbohidratos procedentes de los alimentos, o bien, se sintetizan a partir de moléculas diferentes a los mismos [57, 61].

La oxidación de estas moléculas proporciona más del 50% de la energía necesaria para los mecanismos de crecimiento, secreción, absorción, excreción y reparación en la célula; además, su presencia en el organismo ayuda a la síntesis de aminoácidos no esenciales, promueve la reserva de energía en forma de glucógeno y, ante un exceso, se favorece la síntesis de ácidos grasos [57].

Por su parte, para que la **glucosa** (monosacárido producido a partir de carbohidratos más complejos) pueda ser aprovechada, se necesita de la presencia de la **insulina**, que es una hormona secretada por las células  $\beta$  del páncreas y cuya función principal es permitir la entrada de esta molécula en el citoplasma celular [16]. El valor de referencia para los niveles de glucosa sérica en la rata albina es de 50 a 135 mg/dL [25], mientras que para el caso de la insulina es de 0.72 a 0.88 ng/mL [8, 54].

Estudios en roedores alimentados con una dieta obesogénica han determinado que la concentración elevada de glucosa sérica provoca una sobreestimulación crónica de las células  $\beta$  del páncreas, teniendo como consecuencia una secreción exacerbada y constante de insulina; la hiperinsulinemia genera a su vez un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (derivado del incremento en la actividad mitocondrial y del retículo endoplásmico), por lo que las células  $\beta$  gradualmente pierden su capacidad para secretar esta hormona [76]. La alteración en la secreción de insulina y/o la resistencia a la misma puede generar un deterioro importante en la función metabólica, dando pie a patologías como diabetes mellitus, síndrome metabólico e hipertensión arterial [67].

La resistencia a la insulina se puede evaluar a través del **HOMA**, el cual es un parámetro matemático que relaciona la concentración sérica de insulina y glucosa en ayuno y que ha sido particularmente útil en estudios epidemiológicos y en la experimentación con modelos animales. Los resultados de Antunes, et. al. (2016) demuestran que este índice puede ser utilizado para la evaluación de la resistencia a la insulina en ratas Wistar con una confiabilidad del 90% [4].

#### **Metabolismo de lípidos:**

La interconversión y el metabolismo de lípidos se lleva a cabo principalmente en el hígado (síntesis, almacenamiento, secreción y catabolismo). Se utilizan como fuente de energía cuando la concentración de glucosa sérica es baja [10].

**Triglicéridos y colesterol:** En los animales, la forma de almacenamiento de energía más importante son los *triacilgliceroles*, también conocidos en el área clínica como *triglicéridos*, pues al estar menos hidratados que los carbohidratos ocupan menos espacio, así como producen una mayor cantidad de ATP al oxidarse [57]. Estas moléculas son ésteres formados a partir de glicerol (cadena hidrocarbonada con tres grupos funcionales hidroxilo) y tres cadenas de ácido graso (ácidos carboxílicos de cadena larga) [56]. En cuanto al *colesterol*, se trata de otro tipo de lípido que participa en la síntesis de hormonas, ácidos biliares y vitamina D, así como ayuda a estabilizar las membranas celulares [56]. En las ratas, el valor de referencia de colesterol total en suero es de 47 a 88 mg/dL, mientras que en el caso de los triglicéridos es de 25 a 145 mg/dL [45, 73].

**Biosíntesis:** El hígado, el TA, la GM y el riñón son considerados como los sitios más importantes de biosíntesis de ácidos grasos en los mamíferos; estos se forman a partir del acetil CoA y la nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato (NADPH) producidos a partir del metabolismo de la glucosa. Las enzimas involucradas en este proceso son un complejo multienzimático denominado ácido graso sintasa (AGS) [57].

La biosíntesis *de novo* es promovida cuando existen condiciones de exceso de energía, como una alimentación rica en carbohidratos y baja en grasa. Este proceso es activado por la insulina e inhibido por el glucagón. Una vez sintetizados, los ácidos grasos son almacenados en forma de triglicéridos en el hígado y el TA [10].

**Oxidación de ácidos grasos:** Durante el ayuno o cuando el aporte energético por parte de la dieta es insuficiente, el TA libera moléculas como la adrenalina y el glucagón para estimular la hidrólisis de los triglicéridos y así obtener ácidos grasos y glicerol. Los ácidos grasos salen al torrente sanguíneo, en donde se unen a la albúmina y son transportados a otros tejidos, mientras que el glicerol es utilizado por el hígado para la síntesis de glucosa [57]. La  **$\beta$  oxidación** es la principal vía por la cual se oxidan los ácidos grasos. El acetil CoA producido por esta vía se convierte en acetoacetato o en D- $\beta$ -hidroxibutirato, los cuales, en conjunto con la acetona, se denominan como **cuerpos cetónicos**, moléculas que son equivalentes a los ácidos grasos y se comportan como fuente de energía para muchos tejidos (particularmente el corazón y el músculo esquelético) cuando la concentración de glucosa es escasa. La síntesis de cuerpos cetónicos (también conocida como **cetogénesis**) se estimula en el hígado cuando la  $\beta$  oxidación de los ácidos grasos es alta, y posteriormente son transportados por el torrente sanguíneo para su utilización como sustratos energéticos [10].

Las investigaciones en modelos animales, principalmente en roedores, han demostrado que la acumulación excesiva de grasa, derivada de la ingesta de dietas hiperlipídicas, genera desequilibrios en la concentración y metabolismo de lípidos, teniendo como resultado el aumento en los niveles de colesterol y triglicéridos, el incremento en la adiposidad y el desarrollo de un fenotipo obeso. Se ha sugerido que el excedente de colesterol en sangre da pie a un aumento en la síntesis de ácidos biliares, lo que a su vez promueve una mayor producción de radicales libres y, por consiguiente, se genera estrés oxidativo, lo cual genera daño en las células de los diferentes órganos y tejidos (lipotoxicidad) [10, 45].

### 2.1.6 Hígado.

Es considerado como el principal órgano metabolizador del organismo. Se trata de una estructura color marrón rojizo, de superficie lisa y que en una persona adulta representa alrededor del 2% del peso corporal [68]. Por su parte, en las ratas el hígado es un órgano multilobulado ubicado del lado derecho de la cavidad abdominal y su masa representa alrededor del 6% del peso corporal total [74].

El parénquima hepático está conformado por células epiteliales poliédricas denominadas *hepatocitos*, los cuales son de aspecto cúbico, generalmente mononucleares, agrupados en tabiques interconectados, con citoplasma eosinófilo granuloso, con retículo endoplásmico, glucógeno y abundantes mitocondrias [36].

Los hepatocitos están encargados de controlar la homeostasis en las concentraciones de glucosa, glucógeno, lípidos, vitaminas A y D y ácidos biliares. También son responsables de la producción de colesterol y proteínas que participan en el transporte de grasas, almacenamiento y liberación de glucosa, transformación de amoníaco en urea y creación de factores inmunológicos [10, 74].

En los animales, el hígado tiene un papel importante en la detoxificación de los xenobióticos absorbidos a través del proceso de digestión (toxinas, solventes orgánicos, fármacos, etc.), antes de su distribución por el torrente sanguíneo. Además, se sabe que en los mamíferos, la hematopoyesis inicial tiene lugar en el hígado fetal [10, 74].

El desarrollo del hígado en los roedores comienza al día 10-11 dG, en donde las células adquieren la apariencia morfológica de hepatoblastos (células inmaduras). Al día 13 dG, el hígado se expande y ocupa su posición junto al diafragma, así como se da la formación de lóbulos. Al día 19 dG hay un notable aumento en el número y tamaño de hepatocitos maduros y, al día 21 dG, el parénquima hepático alcanza una citoarquitectura completamente madura, así como se hacen evidentes los bordes entre los lóbulos. Salvo algunas diferencias, la mayoría de las estructuras

fundamentales del hígado están presentes tanto en el embrión de la rata como en el humano [74].

### ***Relación del hígado con el metabolismo de lípidos y la obesidad:***

El hígado juega un papel importante en la síntesis de ácidos grasos, triglicéridos, colesterol y lipoproteínas plasmáticas, que son las encargadas del transporte de los lípidos endógenos y exógenos en el organismo [2].

Como se ha mencionado anteriormente, los triglicéridos se pueden almacenar en el hígado en forma de gotas de grasa macro y microvesiculares dentro de los hepatocitos. Cuando se tiene una acumulación excesiva de lípidos, macroscópicamente se puede visualizar como una coloración amarilla pálida en la superficie de este órgano, mientras que a nivel de parénquima, la citoarquitectura se modifica de tal manera que el área ocupada por los depósitos de grasa es mayor respecto al área correspondiente al tejido hepático [68].

Dado que actualmente las condiciones de vida han propiciado el aumento en el consumo de dietas altas en grasa, cada vez es más frecuente la expresión de enfermedades como diabetes, resistencia a la insulina, obesidad y/o síndrome metabólico dentro de la población, lo cual se ha visto que está estrechamente relacionado con algunas patologías hepáticas crónicas, como lo es el HGNA, la EHNA y, durante la gestación, el hígado graso agudo del embarazo (HGAE). Dichos padecimientos son provocados por un desequilibrio en la producción y demanda de triglicéridos, por lo que se tiene una acumulación excesiva de grasa (esteatosis) y entonces los hepatocitos comienzan a inflamarse y dañarse (esteatohepatitis). Se sabe que estas enfermedades pueden complicarse y progresar hasta desencadenar hepatitis, cirrosis, falla hepática o carcinoma hepatocelular [10].

Las investigaciones en roedores han evaluado el efecto de la exposición a dietas altas en grasa y carbohidratos sobre la función hepática, llegando a la conclusión de que el estado de obesidad derivado del consumo de estas dietas está directamente relacionado con la aparición de esteatosis y esteatohepatitis, así como

se tiene inflamación y fibrosis en el tejido hepático. Así mismo, se sabe que un hígado saludable se caracteriza por tener cierta resistencia al estrés oxidativo, mientras que el hígado graso es vulnerable a dicho estado, ya que los depósitos de grasa en los hepatocitos favorecen la producción de radicales libres y especies reactivas de oxígeno. Además, se determinó que las ratas que fueron alimentadas de esta manera generaron hiperglucemia, lo que a su vez favoreció una condición de hiperinsulinemia e hiperleptinemia y, posteriormente, esto provocó resistencia a ambas hormonas, así como también se encontró que esta dieta condujo a un estado de hipertrigliceridemia, aumento en la adiposidad y también se tuvo lesión hepatocelular [34].

### **2.1.7 Tejido adiposo (TA).**

Es considerado como un órgano endócrino cuya función principal es mantener la homeostasis energética en el organismo mediante el almacenamiento de triglicéridos y liberación de ácidos grasos [24]. En comparación con otros órganos, el TA posee la capacidad de expandirse a lo largo de la vida como respuesta a estímulos ambientales, sobre todo ante el consumo de dietas con un elevado aporte calórico. La obesidad se caracteriza por el incremento excesivo en la masa del TA, lo que eventualmente se manifiesta como un aumento en el peso corporal [28]. En los mamíferos, el TA se puede clasificar de acuerdo a su función en tejido blanco pardo y beige; el **TA blanco** es el principal depósito de grasa en el organismo y se encarga de brindar protección mecánica a algunos órganos, abastecer de energía a otros tejidos en los intervalos de ayuno, participa en la regulación de la respuesta inmune e inflamatoria y secreta hormonas capaces de informar a todo el cuerpo sobre el estado del balance energético, mientras que el **TA pardo** tiene actividad termogénica, es decir, promueve la reducción de la adiposidad y el aprovechamiento de la grasa mediante el aumento de la temperatura corporal. Por su parte, estudios recientes han reportado la existencia de un tercer tipo de TA, denominado como **TA beige**, el cual se encuentra inmerso en el TA blanco y surge a partir de precursores de adipocitos blancos en respuesta a estímulos ambientales como temperatura,

dieta y actividad física; dependiendo de las necesidades de almacenamiento o disipación de energía en el organismo, el TA beige puede fungir como TA blanco o TA pardo [14, 24, 28].

La unidad funcional del TA son los **adipocitos**, los cuales son células con la capacidad de almacenar triglicéridos en forma de una grande y única gota de grasa rodeada por un citoplasma delgado, desplazando el núcleo y otras estructuras celulares hacia la membrana [24].

Los adipocitos secretan una gran variedad de moléculas (**adipocinas**) encargadas de regular diversas funciones metabólicas, por ejemplo: (1) la adiponectina mejora la sensibilidad a la insulina y estimula la oxidación de ácidos grasos y la gluconeogénesis; (2) las interleucinas (IL) -1 $\beta$ , -6 y -8, y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) tienen actividad proinflamatoria; y (3) la leptina es un péptido encargado principalmente de regular el apetito y saciedad [24].

#### **Adipogénesis y lipogénesis:**

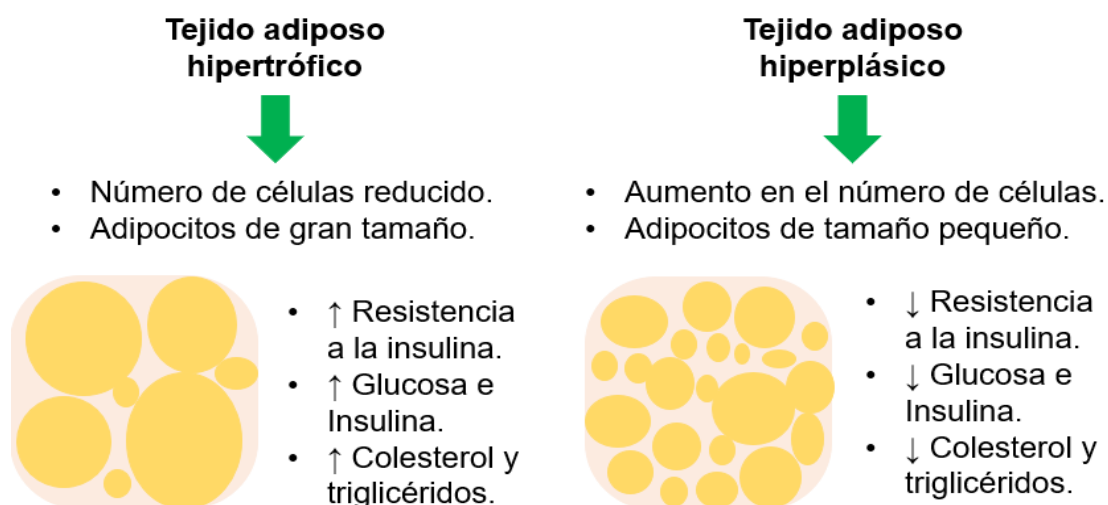
El crecimiento del TA asociado a la necesidad de almacenar el exceso de energía involucra dos mecanismos principales: **adipogénesis**, que se refiere al incremento en el número de células (**hiperplasia**), y **lipogénesis**, que tiene que ver con la síntesis y acumulación de triglicéridos, lo que ocasiona un aumento en el tamaño de los adipocitos (**hipertrofia**) [63].

En la adipogénesis los pre-adipocitos son convertidos en adipocitos, los cuales son células completamente diferenciadas que, una vez que alcanzan su madurez, son incapaces de dividirse mitóticamente, por lo que necesitan de un proceso de recambio para ser reemplazados cuando mueren o se dañan. Este mecanismo requiere de la expresión altamente organizada de una cascada de diversos factores transcripcionales y puede verse influenciado por los nutrientes presentes en el entorno [24, 63]. En la edad adulta, el número de adipocitos se mantiene relativamente constante (gracias a la producción sostenida de precursores y la diferenciación de los mismos) y la tasa de recambio es baja (alrededor del 10% de

los adipocitos son reemplazados al año). No obstante, se ha encontrado que la tasa de recambio de los adipocitos puede variar entre individuos y dichas diferencias se han relacionado con alteraciones metabólicas tales como la dislipidemia y la resistencia a la insulina [28].

Durante la progresión de la obesidad, el proceso de hipertrofia ocurre antes de la hiperplasia, pues se le da prioridad al almacenamiento de grasa en los adipocitos maduros disponibles para así proteger a los tejidos adyacentes de la lipotoxicidad; luego, la hiperplasia tiene lugar como un mecanismo de recuperación para equilibrar la hipertrofia y mantener la homeostasis en los adipocitos. De esta manera, ambos procesos se regulan recíprocamente [24].

La caracterización del tamaño y número de adipocitos puede proporcionar información acerca del estado metabólico de un individuo; por ejemplo, en modelos murinos se ha encontrado una relación entre un TA hipertrófico y la manifestación de desórdenes tales como resistencia a la insulina, síndrome metabólico e hiperleptinemia. En el caso de la hiperplasia, se ha relacionado la presencia de un mayor número de adipocitos más pequeños con una mayor sensibilidad a la insulina y concentraciones más bajas de glucosa, colesterol y triglicéridos en suero (**Figura 6**) [28].



**Figura 6: Comparación entre los estados de hipertrofia e hiperplasia del tejido adiposo a nivel metabólico.** *Figura adaptada de [28] Ibáñez (2019).*



Se ha descrito que el TA es uno de los órganos más susceptibles para ser programados negativamente por el estado nutricional de la madre, ya que la capacidad de almacenamiento se desarrolla principalmente en el último tercio de la gestación (alrededor del día 17 en ratas) y se acelera durante la lactancia. Las perturbaciones que provoquen modificaciones en el número, tamaño y/o fisiología de los adipocitos y sus precursores durante el desarrollo temprano pueden provocar cambios importantes (por ejemplo, alteraciones en la función de los receptores adrenérgicos y de insulina presentes en la membrana del adipocito, además de una disminución en la sensibilidad a la leptina durante los primeros días de vida, lo cual puede repercutir en la correcta señalización hacia el hipotálamo y afectar la sensación de apetito y saciedad) que afecten la capacidad de almacenamiento de grasa y regulación del metabolismo energético de los descendientes [28].

#### ***Regulación de la sensación de apetito y saciedad:***

El apetito está principalmente controlado por el hipotálamo, el cual depende de las señalizaciones provenientes de fuentes periféricas como el páncreas y el TA. La regulación hipotalámica del apetito y saciedad se desarrolla en primera instancia durante la vida fetal y continua su maduración durante el período neonatal, de tal manera que se da lugar a dos tipos de poblaciones de neuronas (orexogénicas y anorexogénicas), las cuales están encargadas de enviar y recibir mensajes opuestos respecto a la ingesta de alimentos y de esa manera regular la cantidad de energía que se obtiene a través de la dieta [63].

La **leptina** es una hormona secretada principalmente por el TA blanco y tiene la función de actuar como marcador de las reservas energéticas del organismo, interviniendo en diversos procesos fisiológicos como la regulación del balance energético, el control del apetito y del peso corporal, entre otros [70]. En los humanos y en los roedores, la concentración de leptina sérica aumenta en proporción con la masa del TA y su actividad tiende a disminuir en condiciones de ayuno [71].

La regulación hipotalámica del apetito y saciedad se desarrolla durante el periodo fetal, con el objetivo de preparar a la cría para la vida postnatal, por lo que los efectos nutricionales durante la gestación pueden modificar de manera permanente la estructura y función del hipotálamo, así como generar un desequilibrio en los mecanismos de adipogénesis y lipogénesis, teniendo como resultado alteraciones en la regulación del apetito y función del TA, lo cual puede contribuir al desarrollo de un fenotipo obeso en la descendencia [63].

### **2.1.8 Glándula mamaria (GM).**

Se trata de un órgano glandular único en mamíferos cuya función específica es la de sintetizar, almacenar y secretar leche materna, la cual es utilizada para alimentar a la descendencia durante el período postnatal inmediato para que ésta pueda desarrollarse adecuadamente [14, 23].

La GM está presente tanto en machos como en hembras. Sin embargo, a pesar de que su establecimiento y conformación es similar en ambos sexos durante la infancia, en las hembras la glándula sufre diversos cambios con el inicio de la pubertad (aproximadamente al día 70-80 de vida en ratas Wistar) [21]. En esta etapa, los niveles de estrógenos y hormonas del crecimiento promueven la proliferación epitelial y el desarrollo masivo del tejido adiposo. En cambio, en los machos este proceso se inhibe al aumentar los niveles de testosterona, la cual actúa sobre las células mesenquimales del estroma e induce regresión y necrosis, por lo que en este sexo la GM solo es considerada como un órgano vestigial [5, 77]. Cabe mencionar que, a diferencia de otros tejidos (que alcanzan un estado relativamente maduro durante la vida fetal), la GM en las hembras completa su desarrollo solo hasta la pubertad y únicamente adquiere su madurez funcional durante el período de gestación y lactancia [14].

### **Estructura:**

La GM está dividida en tres partes principales: los pezones, que se encuentran en el área externa, mientras que el parénquima y el estroma están ubicados en el área interna [77].

**Pezones:** Son estructuras cónicas a partir de las cuales nace una amplia ramificación de conductos, así como permiten la eyección de la leche [1, 77]. En los animales, al conjunto de glándulas y pezones se le denomina “ubre” y abarca la región torácica, abdominal e inguinal [5]. A diferencia de los humanos, que solo tienen dos glándulas mamarias, en los roedores existen seis pares ubicados en el área cervico-torácica anterior e inguinal posterior. La mayoría de las investigaciones se realizan en el cuarto par (región inguinal) [14].

**Parénquima:** En esta zona se encuentran los elementos fundamentales para el correcto funcionamiento de la GM, tales como los acinos glandulares, lóbulos y lobulillos, alvéolos y el sistema de conductos galactóforos. Los **acinos** son estructuras formadas por múltiples células epiteliales, las cuales son las responsables de la síntesis de leche materna. Estos acinos se agrupan en racimos para formar **lobulillos** y luego, estos se juntan para formar estructuras más grandes conocidas como **lóbulos** (cada mama tiene alrededor de 15 a 25 lóbulos). Durante el periodo de gestación y lactancia, la leche sintetizada es almacenada en diminutos sacos huecos ubicados en los lóbulos, conocidos como **alvéolos**, y posteriormente es expulsada por células contráctiles (mioepiteliales) para ser transportada a través del sistema de conductos hacia los pezones [1, 35]. Las células epiteliales se encuentran en la capa luminal (interna) de las estructuras ductales y están rodeadas por una capa basal (externa) de células mioepiteliales; interpuestas entre ambos tipos de células, se encuentran las células madre y las progenitoras mamarias, las cuales dan lugar a la proliferación de ambos linajes [14].

**Estroma:** Es la zona alrededor del parénquima que da soporte a la mama. En los humanos, el estroma está conformado por tejido conjuntivo fibroso y adiposo,

mientras que en los roedores solo se tiene tejido graso. El TA es lo que conforma la mayor parte de la mama (excepto durante la gestación y lactancia) y está involucrado en el remodelamiento de toda la GM durante el período gestacional [14, 77].

### ***Establecimiento de la GM y ciclo de maduración durante la gestación:***

El desarrollo de la GM involucra un proceso de distintas fases que tienen lugar en diferentes periodos de la vida, comenzando por la formación de una glándula primitiva durante la etapa fetal, seguido de un crecimiento mínimo durante la infancia. En las ratas hembra, los conductos mamarios comienzan a elongarse y ramificarse lentamente a partir de las primeras tres semanas de vida. Posteriormente, se tiene un desarrollo más complejo durante la pubertad, gracias al inicio de la ovulación: tras 10 semanas de vida, el ciclo estral de la rata propicia el alargamiento y ramificación de los conductos galactóforos, así como se tiene la participación del **estradiol**, que es una hormona sexual femenina que en este caso favorece la hiperplasia e hipertrofia de los adipocitos cercanos al sistema ductal (**Figura 7A**) [14, 23, 69].

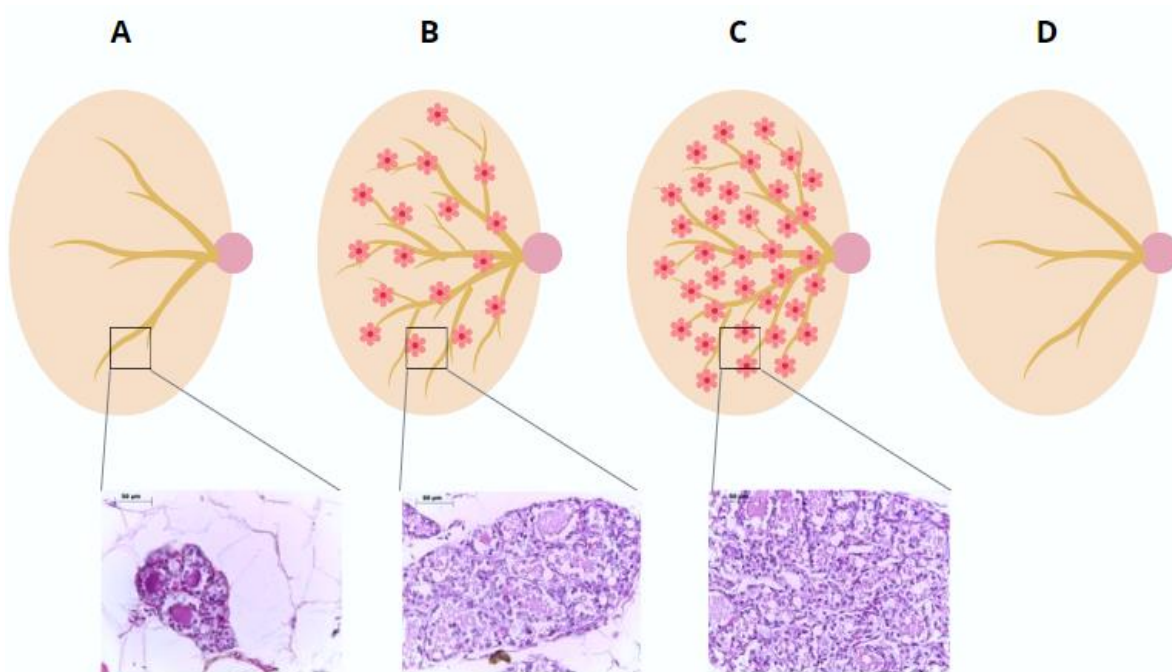
Aunque con cada ciclo estral ocurren cambios mínimos en la conformación de la GM, es en los períodos de gestación y lactancia cuando ésta sufre una remodelación completa para madurar y convertirse gradualmente en un órgano secretor de leche totalmente funcional. Al principio del embarazo, la GM aumenta rápidamente de tamaño debido al incremento en los niveles de **estrógenos** y **progesterona**, lo que estimula la diferenciación y proliferación de las células secretoras, la conformación *de novo* de lóbulos y lobulillos, la elongación y ramificación acelerada de los conductos existentes y la morfogénesis alveolar, con lo cual se tiene un inminente crecimiento del parénquima y, por consiguiente, una disminución en el área ocupada por los adipocitos (**Figura 7B**). Los alvéolos secretores comienzan a desarrollarse en las terminales de los conductos aproximadamente al día 10 dG en ratas (**Figura 7C**) y, en la última etapa de la

gestación (día 17-18 dG) y durante la lactancia, estos alvéolos se llenan de leche gracias a la participación de la *prolactina* [23, 69, 77].

Otras hormonas y factores de crecimiento que regulan directamente la proliferación mamaria durante la gestación son el lactógeno placentario, el factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento transformante alfa (TGF- $\alpha$ ) y los factores paracrinos del estroma, mientras que indirectamente se tiene la influencia de la insulina, la hormona del crecimiento y los glucocorticoides [23].

Posteriormente, al finalizar el periodo de lactancia, la regresión de la GM a su estado basal comienza con el destete, lo que promueve que gradualmente los alvéolos se encojan y disminuyan su número y tamaño hasta desaparecer; se da un proceso de apoptosis masiva de las células epiteliales y entonces se da un aumento en la deposición del TA; a esta etapa se le conoce con el término de *involución* (**Figura 7D**).

Se sabe que este ciclo puede repetirse en múltiples embarazos a lo largo de la edad reproductiva de la hembra, la cual puede ser de hasta 18-20 meses en ratas [21, 23, 77].



**Figura 7: Ciclo de maduración de la glándula mamaria durante la edad reproductiva en ratas hembra.** Diagramas representativos de la GM acompañados con microfotografías del tejido mamario en ratas hembra (tinción de hematoxilina y eosina (H&E), escala: 50 µm). A) Período virginal: Estructuras ductales que convergen en el pezón y comienzan a infiltrarse en el estroma mamario. B) Período gestacional: (Día 17-18 dG). Formación de estructuras alveolares y disminución progresiva de los adipocitos. C) Período lactante: (Día 14-15 de lactancia). Prevalencia de estructuras alveolares y ductales; adipocitos no visibles. D) Período de involución: Retorno al fenotipo previo a la gestación.

*Figura adaptada de [14] Colleluori (2021).*

### **Composición de la leche materna:**

La lactancia es considerada como el proceso natural más importante en los mamíferos, cuyo fin es garantizar el adecuado estado nutricional y supervivencia de las crías [14]. La leche producida por madres sanas y bien nutridas representa el mejor alimento posible para los neonatos [11].

La leche de diferentes especies de mamíferos varía ligeramente en composición y únicamente es apropiada para el consumo de las especies para las cuales fue sintetizada [23]. Además, se ha encontrado que la composición de la leche puede

verse influenciada por diversos factores genéticos, ambientales y sociales, como la alimentación de la madre, la variabilidad entre poblaciones, el tiempo de duración de la lactancia e incluso se ha encontrado que puede cambiar con la hora del día [11].

De manera general, lo que la leche materna contiene son todos los nutrientes necesarios para el correcto desarrollo de las crías, entre los cuales se encuentran vitaminas liposolubles, como la A, D y K; vitaminas hidrosolubles, como la B-6, B-12 y el folato; yodo y selenio; proteínas, carbohidratos y una variedad de lípidos, entre los que se incluyen al colesterol y los triglicéridos [11]. Aproximadamente el 98% de los lípidos presentes en la leche son triglicéridos conformados principalmente por tres ácidos grasos: araquidónico (AA), eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), cuya función es participar en los procesos de maduración y correcto desarrollo de la función metabólica, inmunológica y neuronal de la progenie, así como se ha visto que son sensibles a los efectos de la nutrición materna [30].

Investigaciones realizadas en modelos de obesidad materna en roedores han sugerido que el consumo de dietas altas en grasa podría generar desequilibrios en la correcta diferenciación y maduración de la GM durante los períodos de gestación y lactancia, ya que se ha demostrado que la leche producida por estas madres tiene una composición alterada en cuanto a cantidad y calidad, lo que a su vez provoca desórdenes en la función metabólica y neuronal de los descendientes [9], por lo que es necesario seguir profundizando en cuáles son las adaptaciones fisiológicas que sufre la GM de la rata gestante ante el estado de obesidad y que se relacionan con el déficit nutricional encontrado en la leche.

### **2.1.9 Desarrollo fetal y metabolismo materno durante la gestación.**

Durante el periodo gestacional, las necesidades nutricionales de la madre se ven incrementadas, respecto al estado de no embarazo, pues la fisiología materna sufre

cambios adaptativos que permiten el surgimiento de un nuevo organismo, así como se deben cubrir todas las demandas energéticas que están involucradas en el desarrollo del feto [62].

El crecimiento fetal se caracteriza por un proceso de organogénesis que depende del equilibrio entre los constituyentes maternos, placentarios y ambientales. El feto adquiere la nutrición necesaria a través de diversos mecanismos de transporte en la placenta. La disponibilidad de sustratos nutricionales depende de su concentración en sangre y la regulación hormonal materna, por lo que el desarrollo de órganos fetales es sensible a la actividad metabólica de la madre, derivada del tipo de dieta que consume. En ese sentido, el feto puede nutrirse o sobrenutrirse en relación con la cantidad y el tipo de nutrientes disponibles [10].

La gestación en humanos y roedores es una etapa en donde órganos como el hígado, TA y GM sufren adaptaciones fisiológicas y cambios importantes en su metabolismo. Estas modificaciones son promovidas por diversas hormonas maternas (estrógenos, progesterona, prolactina, entre otras), las cuales proveen de cierta plasticidad morfológica a estos tejidos para poder soportar las demandas energéticas requeridas [19].

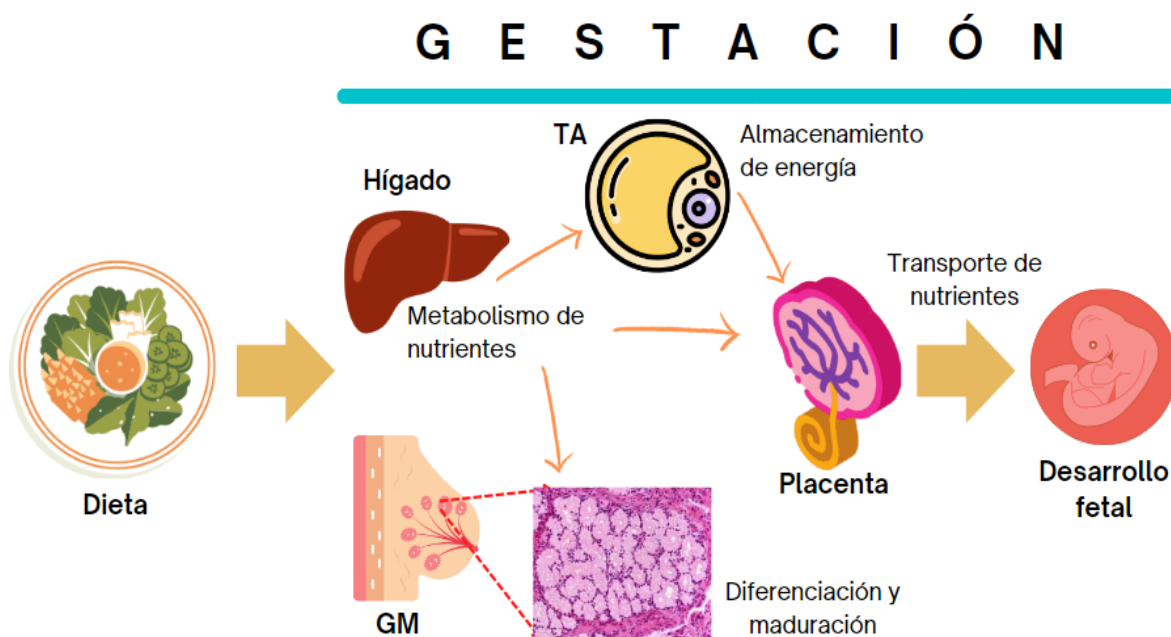
En el caso del hígado, las investigaciones en roedores han determinado que para poder satisfacer todas las necesidades metabólicas de la gestación (demanda energética de la madre y del feto, así como detoxificación de los metabolitos fetales) se induce un proceso de hepatomegalia, es decir, se da un crecimiento importante de este órgano (aproximadamente del 30%), el cual es resultado de un incremento en el número y tamaño de células, es proporcional al número de fetos y ocurre antes del aumento en el peso corporal materno [47].

Dado que la glucosa presente en el suero de la madre es reservada para el aprovechamiento del embrión, la lipogénesis y oxidación de ácidos grasos se convierten en la principal fuente de energía durante la gestación. De esta manera, el inicio del embarazo se caracteriza por un estado anabólico en el cual el hígado y



el TA tienen la responsabilidad de incrementar las reservas de grasa en el organismo materno a través de la acumulación de glucógeno y triglicéridos. La mayoría de los nutrientes se almacenan en las etapas tempranas del embarazo, donde los requerimientos energéticos son relativamente bajos, de tal manera que se puedan soportar las demandas feto-placentarias y maternas durante la gestación tardía y la lactancia. Para ello es necesario que ambos órganos aumenten su actividad en cuanto al metabolismo de lípidos, así como se tienen procesos de hiperplasia e hipertrofia tanto en los hepatocitos como en los adipocitos [13, 19].

Así mismo, como se ha mencionado anteriormente, la GM necesita alcanzar su madurez funcional durante la gestación, por lo que esta etapa es la más importante en su desarrollo y, en consecuencia, se tiene una demanda metabólica muy alta. Se sabe que durante el tiempo gestacional de la rata, la diferenciación y maduración del tejido mamario requiere alrededor del 25% de la ingesta energética diaria, por lo que la función metabólica del hígado y el TA se vuelve esencial durante este periodo (Figura 8) [23].



**Figura 8: Metabolismo y función de órganos maternos durante la gestación.**  
 TA = Tejido adiposo; GM = Glándula mamaria. *MA Pérez.*

Por lo anterior, no es sorprendente que las perturbaciones en el metabolismo de estos tejidos, derivadas de la ingesta de una dieta alta en grasa, puedan generar cambios potenciales en la fisiología materna durante la gestación (como alteraciones en la función metabólica y endócrina del hígado y el TA o una proliferación y diferenciación ineficiente de la GM) y, por consiguiente, alteren de manera permanente el desarrollo embrionario y postnatal temprano de las crías.

## **2.2 Justificación.**

Hoy en día, la obesidad se ha convertido en una pandemia cuya prevalencia ha aumentado de forma alarmante a nivel mundial [78]. Entre los diferentes factores que pueden propiciar el desarrollo de un fenotipo obeso, se puede destacar que las condiciones de la vida cotidiana han propiciado el aumento en el consumo de dietas altas en grasa [39], lo cual se ha demostrado que genera un estado de obesidad que trae consigo alteraciones negativas en el metabolismo y, por consiguiente, impacta desfavorablemente en la calidad de vida de quienes lo padecen [78].

En México, se ha observado que esta condición se presenta en uno de cada tres niños y adolescentes y en siete de cada diez adultos [59]. Debido a esto, no es sorprendente que un número creciente de mujeres en edad reproductiva se embaracen en estado de sobrepeso u obesidad [78], por lo que se ha alertado que esto puede representar no solo un desbalance en el control del peso materno, sino también dificultades en el buen desempeño del embarazo, control del parto, lactancia y el adecuado estado de salud de la descendencia [7, 9].

Así mismo, y de acuerdo con la OMS, se considera que la obesidad es una condición que puede iniciar en etapas muy tempranas de la vida y tener una alta prevalencia en niños y adolescentes de ambos sexos [17, 29]. Además, se sabe que la obesidad inducida por una programación negativa en el desarrollo embrionario puede establecerse durante los primeros 1000 días de vida (desde la concepción hasta los

primeros 2 años), de tal manera que los efectos adversos pueden manifestarse a partir de la edad preescolar [58].

Esto ha llamado mucho la atención, por lo que hoy en día lo que se pretende es evaluar cómo es que dicha condición puede impactar en etapas críticas del desarrollo, como la gestación y lactancia, de tal manera que existan eventos *in utero* que predispongan a un individuo a generar un fenotipo obeso desde la vida prenatal o postnatal temprana, y traer consigo alteraciones metabólicas que pueden ser temporales o permanecer hasta la vida adulta [8].

Por lo anterior, la experimentación básica resulta ser de vital importancia para comprender cómo es que el consumo de dietas hiperlipídicas puede generar un impacto negativo en el perfil bioquímico materno, así como en el correcto establecimiento, función y maduración de órganos clave durante la gestación, de tal manera que repercuta desfavorablemente en el estado de salud de la progenie. Además, el entendimiento de estas adaptaciones maternas ante el estado de obesidad (y que participan en la programación fetal y neonatal [39]), será de gran ayuda para identificar situaciones de riesgo dentro de la población infantil para padecer enfermedades crónico-degenerativas, de tal manera que se puedan establecer estrategias y programas de prevención que ayuden a mantener un estado de salud adecuado [8].

### **2.3 Planteamiento del problema.**

De acuerdo con reportes previos (anteriormente descritos), se ha visto que en modelos mamíferos de obesidad materna, generada por la ingesta de dietas hiperlipídicas, se induce una programación negativa en el desarrollo de la progenie, modificando sus funciones metabólicas y endócrinas desde las primeras etapas de la vida: prenatal (gestación) y postnatal temprana (lactancia), de tal manera que las crías provenientes de estas madres presentan diversas alteraciones negativas en su fenotipo incluso en la vida adulta.

Parece ser que las adaptaciones fisiológicas maternas ante el consumo de dietas altas en grasa son las responsables de los cambios adversos observados en la descendencia. Sin embargo, hasta el momento no se ha caracterizado en su totalidad cómo es que dichos cambios en la fisiología materna durante el periodo de gestación se relacionan con las alteraciones observadas en la progenie. De ahí es que surge el interés por evaluar cuáles son las modificaciones en el perfil bioquímico y metabólico de la madre, así como en la estructura celular de órganos clave durante el periodo gestacional. Se sabe que en esta etapa el hígado y el TA son los responsables de metabolizar y almacenar la energía requerida, mientras que la GM se diferencia y madura para la adecuada producción y calidad de leche durante la lactancia, por lo que las alteraciones en la citoarquitectura y metabolismo de estos tejidos pudieran estar directamente relacionadas con las afectaciones en el desarrollo de la progenie.

### **3. HIPÓTESIS.**

La exposición a una dieta alta en grasa durante el crecimiento y gestación de la rata afectará su metabolismo materno, así como la correcta función del hígado, tejido adiposo y glándula mamaria, lo cual se pudiera relacionar directamente con una programación negativa en el desarrollo de la progenie.

### **4. OBJETIVOS.**

#### **4.1 Objetivo general.**

Evaluar en la rata el efecto de la obesidad inducida por el consumo de una dieta alta en grasa sobre su metabolismo, así como en la función de órganos maternos durante la etapa de gestación.

## **4.2 Objetivos particulares.**

- Administrar una dieta alta en grasa a ratas hembra de la estirpe albino-Wistar durante su crianza y embarazo.
- Evidenciar el impacto de la dieta hiperlipídica sobre el peso corporal de las ratas gestantes cuando sean comparadas con su grupo control.
- A los 19 días de gestación (dG), obtener el suero para evaluar el efecto de la obesidad en el metabolismo materno a través de su análisis bioquímico.
- Obtener el hígado, tejido adiposo (TA) y glándula mamaria (GM) maternos para su análisis fisiológico e histológico a 19 dG en ambos grupos de estudio.
- Determinar en hígado y GM el porcentaje de grasa total y contenido de triglicéridos a los 19 dG de ambos grupos de estudio.
- Comparar morfométricamente el contenido de grasa en los tejidos hepático y mamario de ambos grupos, así como evidenciar el impacto de la dieta hiperlipídica sobre el área de los adipocitos.
- En la GM, analizar el efecto de la obesidad sobre su morfometría, citoarquitectura y diferenciación celular, comparada con el grupo control.
- Comparar el perfil de ácidos grasos saturados, monoinsaturados y omega 3, 6 y 9 presentes en la GM de los grupos de estudio.

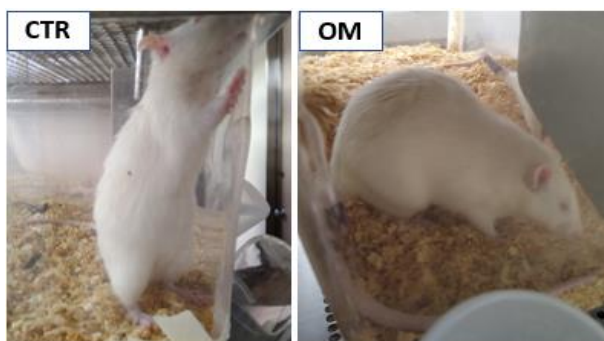
# **5. METODOLOGÍA.**

## **5.1 Diseño experimental.**

Para el desarrollo de este procedimiento experimental se utilizaron ratas albinas (*Rattus norvegicus*), hembras, de la estirpe Wistar. Para garantizar que los animales no fueran diferentes entre los grupos de estudio, estos fueron obtenidos exclusivamente del Departamento de Investigación Experimental y Bioterio (DIEB) del INCMNSZ, bajo la autorización del Comité de Ética de Experimentación Animal del INCMNSZ, con número de registro *BRE-1478-15/18-1* para todos los procedimientos de crianza y eutanasia.

Los sujetos de estudio fueron criados bajo condiciones controladas y alimentados con dieta control u obesogénica, según el grupo al que pertenecían (**Figura 9**):

- **Grupo Control (CTR, n=5):** Ratas alimentadas con dieta comercial (Chow purina 5001) desde su destete hasta 19 dG.
- **Grupo de Obesidad Materna (OM, n=5):** Ratas alimentadas con dieta alta en grasa desde su destete hasta 19 dG.



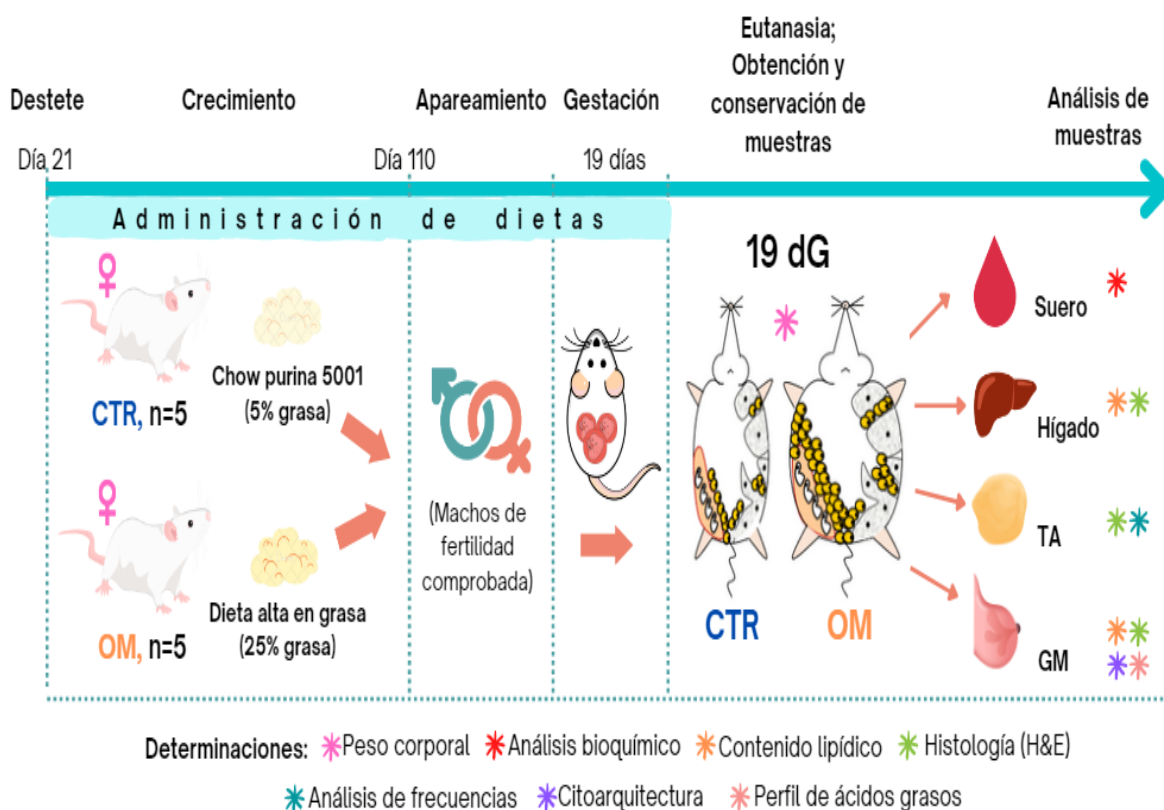
**Figura 9: Ejemplares de los animales utilizados en el protocolo experimental.**

CTR = Rata perteneciente al grupo Control (n=5). OM = Rata perteneciente al grupo Obesidad Materna (n=5). *MA Pérez.*

A los 110 días de edad, los sujetos de estudio fueron puestos en apareamiento con machos de fertilidad comprobada, alimentados con dieta control y criados bajo condiciones controladas en el bioterio del INCMNSZ. Para confirmar el estado de preñez de las hembras, se les realizó un frotis vaginal cada 24 h, durante un período de cinco días, los cuales se tiñeron con lugol y se observaron en un microscopio de campo claro (Leica, modelo ICC50 HD) al objetivo de 40X, considerando como positivo a fecundación si se detectaba presencia de espermatozoides. Además, el embarazo de las hembras se corroboró también con la presencia del tapón espermático en el área vaginal y a partir de ese día (día 1 de gestación) se registró cada tercer día la ganancia de peso de las madres con la intención de tener certeza de la preñez.

La etapa de gestación tuvo una duración de 19 días, tiempo en el cual las madres se siguieron alimentando con la dieta asignada. Cumplido este período, las ratas se

pesaron y se llevó a cabo su eutanasia con el objetivo de obtener el suero, hígado, TA y GM, que son los tejidos de interés para este estudio y los cuales fueron sometidos a diferentes procedimientos de análisis (**Figura 10**).



**Figura 10: Diseño experimental** para la crianza, alimentación y eutanasia de los sujetos de estudio, así como para las determinaciones aplicables a cada una de las muestras obtenidas. Grupos: Control (CTR, n=5) y Obesidad Materna (OM, n=5); dG = días de gestación; TA = tejido adiposo; GM = glándula mamaria; H&E = tinción de hematoxilina y eosina. *MA Pérez.*

### 5.1.1 Cuidado y mantenimiento de los sujetos de estudio.

Las ratas fueron criadas bajo condiciones controladas de luz-oscuridad (ciclos de 12 horas: de 7:00 a 19:00 h), humedad relativa (75-80%), temperatura (22-23°C) y con libre acceso de alimento y agua, en concordancia con los estándares de crianza establecidos por la Asociación Internacional de Evaluación y Acreditación para el Cuidado de Animales de Laboratorio (AAALAC, por sus siglas en inglés).

Después del destete (día 21), las ratas fueron separadas por grupo de estudio (CTR, n=5 y OM, n=5), alojadas en subgrupos de 3 a 5 hembras dentro de cajas de acrílico estándar con una cama de aserrín de madera virgen, y a lo largo de su desarrollo fueron alimentadas con dieta control u obesogénica, según el grupo al que pertenecían. Cada tercer día se registraba el peso corporal y la ingesta de alimento para monitorear su crecimiento.

Una vez que fueron preñadas, las ratas fueron alojadas en cajas individuales por un periodo de 19 días, bajo las mismas condiciones.

### **5.1.2 Dietas administradas.**

Se utilizaron dos tipos de alimento, diferenciados principalmente por su contenido lipídico: la dieta utilizada como control es una preparación comercial para roedores en las fases de crecimiento, embarazo y lactancia (Chow purina 5001, con 5% de grasa vegetal y un contenido energético de 3.4 kcal/g), mientras que la dieta alta en grasa es una adaptación formulada a partir de la AIN-93, que es la dieta recomendada por el Instituto Americano de Nutrición (AIN, por sus siglas en inglés), de tal manera que se tiene un contenido graso total del 25% (5% de origen vegetal y 20% en forma de manteca de cerdo) y un contenido energético de 4.8 kcal/g. (**Tabla 1**).

La dieta hiperlipídica fue elaborada en la planta piloto del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos del INCMNSZ. El procedimiento de preparación se describe con más detalle en el *Apéndice A*.



**Tabla 1: Dietas administradas según el grupo de estudio.** Control = CTR (Chow purina 5001, 5% de grasa). Obesidad Materna = OM (25% de grasa).

Componentes	Dieta CTR (%)	Dieta OM (%)
Proteína	22.0	23.5
Polisacáridos	31.0	20.2
Azúcar simple	31.0	20.2
Fibra	4.0	5.0
Minerales	6.0	5.0
Vitaminas	1.0	1.0
<b>Grasa</b>	<b>5.0 (aceite vegetal)</b>	<b>25.0 (5.0 aceite vegetal + 20.0 manteca de cerdo)</b>
Saturados	0.8	8.7
Monoinsaturados	1.0	9.6
Poliinsaturados	3.2	6.4
<b>Energía (kcal/g)</b>	<b>3.4</b>	<b>4.8</b>

## **5.2 Obtención y conservación de muestras a 19 dG.**

A los 19 dG, las madres fueron puestas en ayuno durante 8 h. Luego, fueron pesadas y anestesiadas por el método de inhalación con isoflurano. Para el buen morir de los animales, se esperó hasta que los individuos tuvieran depresión del centro respiratorio y vasomotor, lo que provoca un cese de la respiración y colapso cardiovascular. A continuación, el método físico elegido para la eutanasia de los animales fue por dislocación cervical.

### **5.2.1 Suero materno.**

La sangre de las madres se recolectó a través de la técnica de punción cardíaca en tubos de polipropileno Falcon® de 15 mL y se centrifugó a 2,800 rpm, durante 20 min y a una temperatura de 4°C (centrífuga Thermo Scientific, modelo Sorvall Legend XTR. Rotor TX-1000, 75003017; radio del rotor = 18 cm); de ahí se obtuvo el suero, el cual se almacenó a -20°C en tubos de polipropileno Eppendorf® de 1.5 mL, hasta el día de su análisis.

### **5.2.2 Tejidos maternos: hepático, adiposo y mamario.**

Inmediatamente después de la recolección de la sangre, se llevó a cabo la disección de los animales, donde se extrajo el hígado, el TA retroperitoneal y la GM de todo el perímetro mamario (región torácica, abdominal e inguinal).

Los tejidos fueron pesados, seccionados y almacenados dependiendo del tipo de análisis al que serían sometidos: El lóbulo inferior izquierdo del hígado y la GM izquierda de la región inguinal (4to, 5to y 6to pezón) fueron almacenados a -70°C para la cuantificación de grasa total por el método de Folch, cuantificación de triglicéridos y para la determinación del perfil de ácidos grasos en la GM por cromatografía de gases (CG).

El lóbulo inferior derecho del hígado, el TA y el 6to pezón derecho de la GM fueron lavados con solución buffer de fosfatos (PBS) y fijados en una solución de formol al 4% para su análisis histológico.

## **5.3 Procesamiento y análisis de muestras.**

### **5.3.1 Cuantificación de parámetros bioquímicos en el suero materno a 19 dG.**

Las concentraciones de glucosa fueron determinadas espectrofotométricamente a través del método enzimático de la hexocinasa (Beckman Coulter, Co Fullerton, CA).

Los niveles de colesterol y triglicéridos se determinaron colorimétricamente con el autoanalizador Synchron CX (Beckman Coulter, Co Fullerton, CA).

En cuanto a la cuantificación de las hormonas insulina y leptina se hicieron ensayos de enzimoimmunoanálisis de adsorción (ELISA) utilizando estuches comerciales: para insulina se utilizó el kit de Millipore (Burlington, MA, USA), No. cat. EZRMI-13K, mientras que para la leptina se empleó el kit de Invitrogen ThermoFisher Scientific (Waltham, MA, USA), No. cat. KRC-2281.

Por su parte, el índice de resistencia a la insulina (HOMA) se determinó matemáticamente a través de la ecuación mostrada en la **Figura 11**.

$$\text{HOMA} = \frac{G * I}{22.5}$$

$G$  = Glucosa en ayuno (mmol/L)  
 $I$  = Insulina en ayuno (mmol/L)

**Figura 11: Ecuación para el cálculo del parámetro HOMA.** [4] *Antunes, et al. (2016).*

### 5.3.2 Cuantificación de grasa total en hígado y GM a 19 dG por el método de extracción de Folch.

Previo al comienzo de este procedimiento, se limpiaron con etanol desnaturalizado 40 tubos de vidrio de 16x100 mm y se calentaron en un horno de hibridación (Hybaid, modelo Micro-4) a 60°C hasta que se encontraran a peso constante (FEUM, 11° Ed.) [18]. Para el registro de los pesos, se utilizó una balanza analítica (Sartorius®, modelo ED623SCW).

Para ambos grupos de estudio, se pesaron alrededor de 200 mg de cada tejido (hígado y GM) y se colocaron en la mitad de los tubos previamente tratados y pesados. Después de eso, a cada tubo se le adicionaron 3 mL de solución de cloroformo:metanol en una relación (2:1) y 2 mL de solución de cloruro de sodio al 0.9%; esta mezcla se homogenizó con ayuda de un Polytron (**Figura 12**) y se centrifugó a 2,800 rpm (radio del rotor = 18 cm), durante 20 min y a 4°C.



**Figura 12: Método de homogenizado** de las secciones de hígado y glándula mamaria por la técnica de Folch, con ayuda del Polytron. *MA Pérez.*

Posteriormente, con ayuda de una micropipeta se descartó la fase acuosa (superior), mientras que la fase orgánica (inferior) fue transferida cuantitativamente a la segunda mitad de los tubos de vidrio previamente tratados y pesados (**Figura 13**).



**Figura 13: Extracción del contenido lipídico del hígado y GM.** Transferencia de la fase orgánica, conteniendo la grasa total, a los tubos de vidrio de 16x100 mm a peso constante. *MA Pérez.*

A continuación, se colocaron los tubos dentro de una campana de extracción durante 24 h para eliminar el disolvente orgánico por evaporación y, finalmente, se pesaron los tubos con grasa para determinar por gravimetría el porcentaje de grasa total por peso de tejido en cada una de las muestras (**Figura 14**).

$$\% \text{grasa} = \frac{100 * (B - A)}{C}$$

A = Peso del tubo limpio y seco (g)  
 B = Peso del tubo con grasa (g)  
 C = Peso de la muestra de tejido (g)

**Figura 14: Ecuación para el cálculo del porcentaje de grasa total por peso de tejido determinado por el método de Folch.** *Figura adaptada de: [10] Beltrán (2015).*

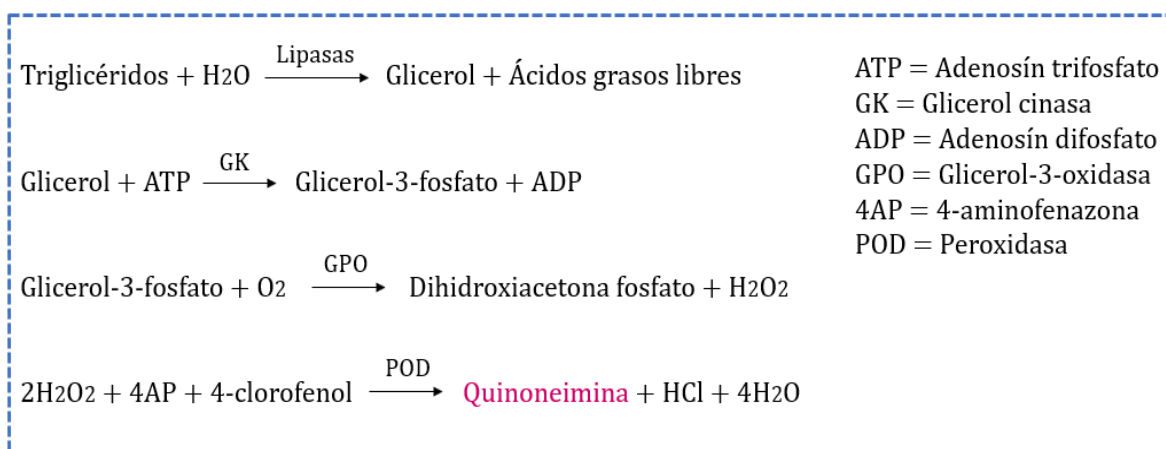
### 5.3.3 Cuantificación de triglicéridos en hígado y GM a 19 dG.

La grasa total obtenida por el método de Folch, anteriormente descrito, se solubilizó en 1 mL de isopropanol; de esta disolución, se colocaron por duplicado 10 µL en una placa de 96 pozos y se adicionaron 1,000 µL de reactivo enzimático Randox® (R1). Además, para el ensayo también se colocaron los volúmenes correspondientes al patrón y el blanco (**Tabla 2**).

**Tabla 2: Ensayo colorimétrico para la cuantificación de triglicéridos.** Volúmenes adicionados en placa para la determinación del contenido de triglicéridos en hígado y glándula mamaria.

	<b>Blanco</b> (µL)	<b>Patrón</b> (µL)	<b>Muestra</b> (µL)
<b>Muestra</b>	-	-	10
<b>Patrón (CAL)</b>	-	10	-
<b>Reactivo (R1)</b>	1,000	1,000	1,000

Tras la reacción enzimática, donde el cromógeno formado es una quinoneimina (**Figura 15**) la placa se interpretó con un lector multimodal (BIOTEK®, modelo Sinergy HT) a 560 nm y 37°C, registrando los valores de absorbancia del patrón y de la muestra, respecto al blanco. La concentración de triglicéridos se expresó como: (mg de triglicéridos/g de tejido).



**Figura 15: Secuencia de reacciones involucradas en la determinación de triglicéridos.** *Figura adaptada de: [10] Beltrán (2015).*

#### 5.3.4 Determinación del perfil de ácidos grasos en la glándula mamaria por cromatografía de gases (CG).

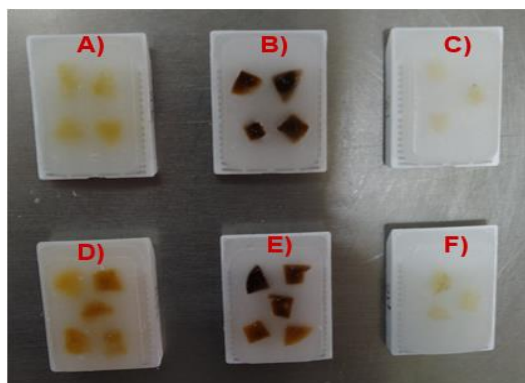
A la grasa total extraída por el método de Folch se le adicionaron 2 mL de metanol, 100 µL de tolueno y 40 µL de ácido sulfúrico al 2%; esta mezcla se calentó durante 2 h, a 90°C. Después, los tubos se colocaron en un baño de hielo y se les adicionó 1 mL de cloruro de sodio al 5%. El homogénado fue extraído con hexano y centrifugado a 2,800 rpm (radio del rotor = 18 cm) durante 1 min. Posteriormente, se tomaron 200 µL de la muestra y se inyectaron al cromatógrafo de gases. Como estándar interno se utilizó ácido heptadecanoico.

Las muestras fueron arrastradas con helio a una velocidad lineal constante de 24 cm/s. Cada ácido graso fue detectado de acuerdo a su temperatura de fusión.

### 5.3.5 Análisis histológico del hígado, tejido adiposo y glándula mamaria maternos a 19 dG.

#### *Tinción de hematoxilina y eosina (H&E).*

Las secciones de hígado, TA y GM que fueron fijadas en solución de formol al 4% se colocaron en cassetes de histología y se sometieron a un proceso de deshidratación en soluciones crecientes de etanol, con ayuda de un Histokinette (Thermo Microm, modelo STP 120). Posteriormente, los tejidos fueron infiltrados en parafina líquida para formar bloques (**Figura 16**), mediante el uso de un centro de inclusión (Leica, modelo Arcadia H). Después, estos bloques se cortaron longitudinalmente con ayuda de un micrótopo (Leica, modelo 820) en finas secciones de 5  $\mu\text{m}$  de grosor. Los cortes se montaron en portaobjetos de vidrio de 75x25 mm, tratados previamente con etanol y poli-L lisina, y se almacenaron a 4°C para su posterior procesamiento.



**Figura 16: Ejemplo de bloques de parafina.** Secciones de tejido analizadas por histología a 19 dG. Grupo CTR: A) Glándula mamaria. B) Hígado. C) Tejido adiposo. Grupo OM: D) Glándula mamaria. E) Hígado. F) Tejido adiposo. *MA Pérez.*

Para la tinción, el primer paso fue eliminar el exceso de parafina colocando las muestras dentro de un horno de hibridación (Hybaid, modelo Micro-4) a 60°C durante 20 min y aplicando tres lavados de 10 min con xilol. Luego, las muestras se colocaron en un carril de tinción (**Figura 17**), en donde el primer paso fue rehidratar los tejidos con soluciones decrecientes de alcohol etílico: dos inmersiones de 5 min

en etanol al 100%; dos inmersiones de 5 min en etanol al 95%; una inmersión de 5 min en etanol al 75%. En seguida, las muestras se sumergieron en el colorante primario (hematoxilina de Harris) durante 5 min; se aplicó un lavado con agua desionizada y etanol al 100% y se colocaron en el colorante de contraste (eosina) durante 10 min. Posterior a eso, se aplicó un segundo enjuague con agua desionizada, etanol al 100% y etanol al 95% y se aclararon las muestras con tres inmersiones de 5 min en xilol.

El fundamento de la tinción H&E se describe con más detalle en el *Apéndice B*.



**Figura 17: Carril de tinción H&E. MA Pérez.**

Finalmente, las muestras se sellaron con cubreobjetos y Entellan® (sellador) para conservar los tejidos hasta el día de su análisis por microscopía.

#### ***Toma de microfotografías.***

Con ayuda de un microscopio de campo claro (Leica, modelo ICC50 HD) se tomaron 25 microfotografías a 40X del tejido hepático; 25 microfotografías a 20X del TA, y 10 microfotografías de 3 a 5 secciones de la GM a los objetivos de 20X, 40X y 100X, para cada grupo de estudio.

Se utilizó una regla medidora en las imágenes digitales para calibrar el software empleado y poder realizar las mediciones en  $\mu\text{m}$ .

#### ***Cuantificación de áreas celulares.***

Todas las mediciones se llevaron a cabo con ayuda del software matemático *AxioVision 4.8*.



Para el caso del hígado, se cuantificó a un objetivo de 40X el porcentaje de área ocupada por los depósitos de grasa en los grupos CTR y OM. Para ello, se delimitaron de manera digital los bordes de las gotas de grasa macro y microvesiculares (mostradas como espacios vacíos) presentes en el tejido hepático; el software registró las áreas seleccionadas en  $\mu\text{m}^2$  y con esos valores se determinó el porcentaje de área ocupada por la grasa en cada laminilla (**Figura 18**).

En cuanto al TA, se cuantificó a un objetivo de 20X el área de los adipocitos de los grupos CTR y OM, en  $\mu\text{m}^2$ . Se consideró un total de al menos 250 mediciones por cada grupo (50 células por animal).

Con respecto a la GM, se cuantificó a un objetivo de 20X el porcentaje de área ocupada por el tejido parenquimal y los adipocitos de los grupos CTR y OM (**Figura 18**). En cuanto a su citoarquitectura, se cuantificó al objetivo de 40X el área de al menos 50 acinos por animal, y a 100X el área de 50 núcleos por animal, para ambos grupos.

$$\% \text{ área} = \frac{100 * A}{B}$$

A = Área ocupada por la grasa ( $\mu\text{m}^2$ )  
B = Área total de la laminilla ( $\mu\text{m}^2$ )

**Figura 18: Ecuación para el cálculo del porcentaje del área de la grasa en los tejidos hepático y mamario. Figura adaptada de: [10] Beltrán (2015).**

### 5.3.6 Análisis estadístico.

Se empleó el software *SigmaPlot 11.0*. Los resultados que presentaron una distribución normal (peso corporal, peso de los tejidos, parámetros bioquímicos en suero, grasa total, contenido de triglicéridos, análisis morfométrico y perfil de ácidos grasos) se expresaron como el valor de la media  $\pm$  EE y se compararon mediante

el uso de la prueba T-Student, con una n=5 por cada grupo. Valores de  $p \leq 0.05$  indican que hay una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

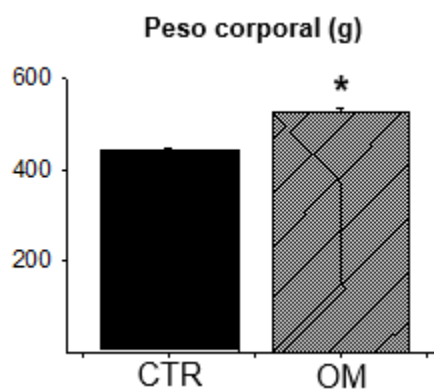
En el caso de los resultados que no siguen una distribución normal (área de los adipocitos), se presentó el valor de la mediana (ME) y se compararon ambos grupos (n=5) a través de la prueba no paramétrica Mann-Whitney Rank Sum ( $p \leq 0.001$ ).

## 6. RESULTADOS.

### ~PESO CORPORAL~

#### 6.1 Peso corporal materno a 19 dG.

El peso corporal de las madres que consumieron una dieta alta en grasa durante su desarrollo y gestación (grupo OM) fue mayor, en comparación con el grupo CTR (OM=  $523 \pm 11^*$  g vs CTR=  $440 \pm 6$  g,  $*p \leq 0.05$ ) (Figura 19).



**Figura 19: Peso corporal de la madre a 19 dG.** Control (CTR, n=5), Obesidad Materna (OM, n=5); Media  $\pm$  EE,  $*p \leq 0.05$ . T-Student.

# ~PARÁMETROS BIOQUÍMICOS~

## **6.2 Parámetros bioquímicos en suero materno a 19 dG.**

La concentración de glucosa y colesterol no fue diferente entre ambos grupos. Sin embargo, los valores de triglicéridos, insulina, leptina y HOMA fueron estadísticamente mayores en el grupo OM, respecto al CTR (**Tabla 3**).

**Tabla 3: Parámetros bioquímicos de la madre a 19 dG.** Control (CTR, n=5), Obesidad Materna (OM, n=5); Media  $\pm$  EE, \* $p \leq 0.05$ . T-Student.

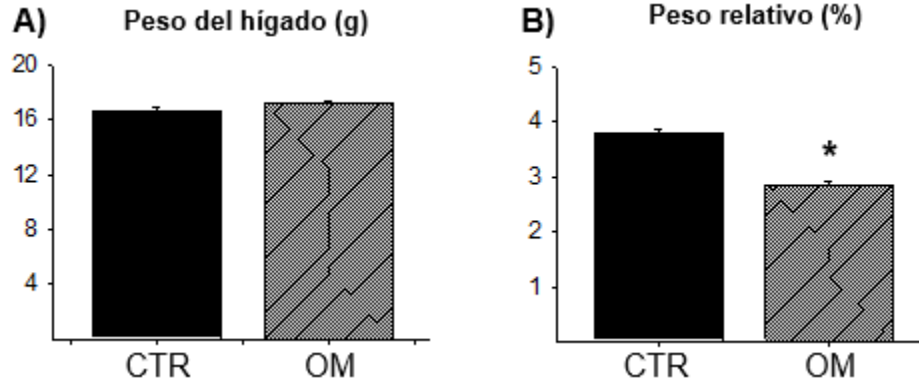
Parámetro	Unidad	CTR	OM
Glucosa	mg/mL	61 $\pm$ 9	65 $\pm$ 4
Colesterol	mg/mL	53 $\pm$ 4	54 $\pm$ 4
Triglicéridos	mg/mL	58 $\pm$ 7	110 $\pm$ 1*
Insulina	ng/dL	0.8 $\pm$ 0.08	1.6 $\pm$ 0.2*
Leptina	ng/dL	5.3 $\pm$ 0.9	20.0 $\pm$ 4.0*
HOMA	---	3.3 $\pm$ 0.6	6.4 $\pm$ 0.6*

# ~HÍGADO~

## **6.3 Parámetros del hígado materno a 19 dG.**

### **6.3.1 Peso del hígado y peso relativo respecto al peso corporal.**

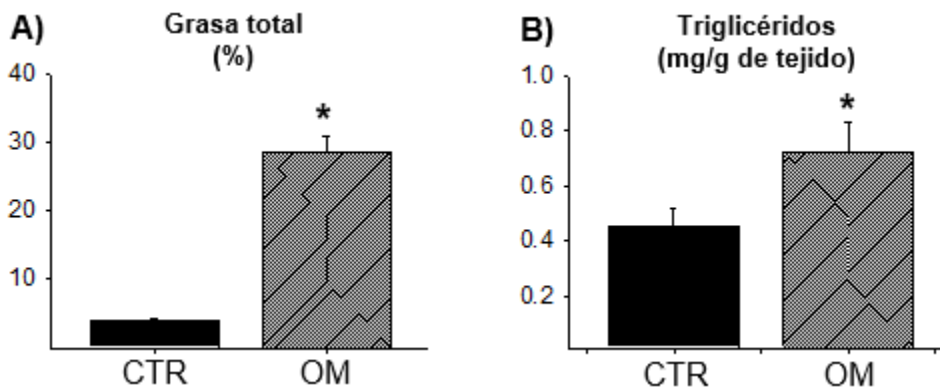
El peso del hígado no fue diferente entre ambos grupos de estudio (**Figura 20A**). Sin embargo, el peso relativo respecto al peso corporal fue menor en el grupo OM, comparado con el CTR (**Figura 20B**).



**Figura 20: Parámetros del hígado materno a 19 dG.** A) Peso del hígado (g). B) Peso relativo del hígado respecto al peso corporal materno (%). Control (CTR, n=5), Obesidad Materna (OM, n=5); Media  $\pm$  EE, \* $p \leq 0.05$ . T-Student.

### 6.3.2 Grasa total y contenido de triglicéridos.

La grasa total por peso de tejido y la concentración de triglicéridos fueron significativamente mayores en el hígado del grupo OM, respecto al grupo CTR (Figura 21A y B).

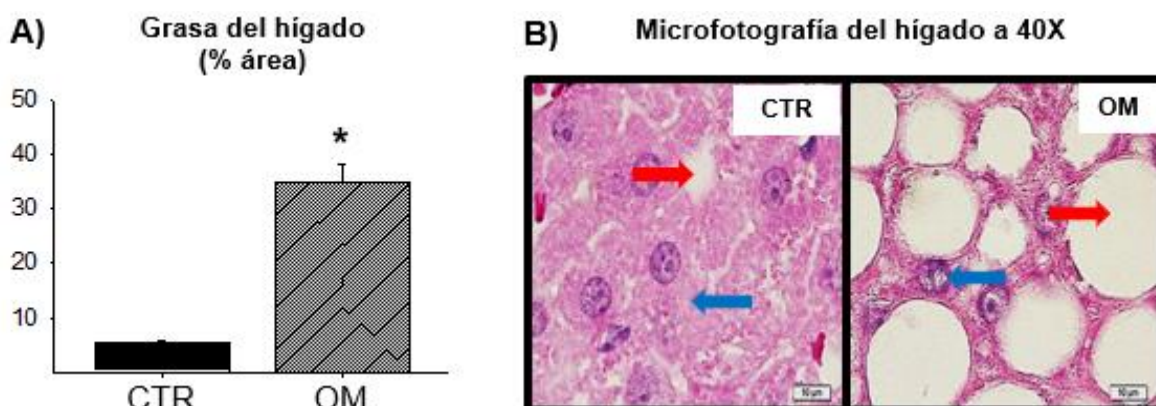


**Figura 21: Contenido lipídico en el hígado materno a 19 dG.** A) Grasa total del hígado determinada por el método de Folch (%). B) Triglicéridos en hígado (mg/g de tejido). Control (CTR, n=5), Obesidad Materna (OM, n=5); Media  $\pm$  EE, \* $p \leq 0.05$ . T-Student.

### 6.3.3 Parámetros histológicos.

El porcentaje de área grasa en el hígado fue significativamente mayor en el grupo OM, en comparación con el grupo CTR (**Figura 22A**).

Las microfotografías demuestran que en el hígado del grupo OM existe un incremento del área de los depósitos grasos (señalados con flechas rojas) respecto al área del tejido hepático (indicado con flechas azules), mientras que en el grupo CTR se observa mayor preservación de los hepatocitos y menor área grasa (**Figura 22B**).



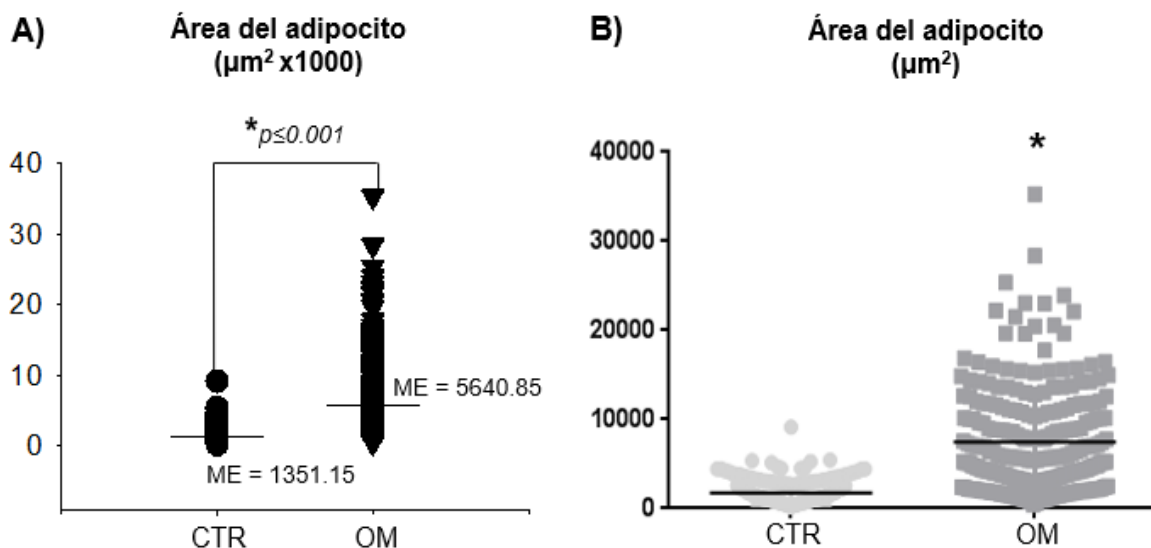
**Figura 22: Histología del hígado materno a 19 dG (H&E).** A) Grasa del hígado determinada por microscopía (% área). B) Microfotografías representativas del hígado tomadas a 40X; con flechas azules se señala al tejido hepático y con flechas rojas el área de la grasa. Control (CTR, n=5), Obesidad Materna (OM, n=5); Media  $\pm$  EE, \* $p \leq 0.05$ . T-Student.

# ~TEJIDO ADIPOSO~

## 6.4 Análisis de distribución de áreas de los adipocitos maternos a 19 dG.

En el gráfico Box-plot se observa que en el grupo OM existe un sesgo hacia la derecha en las áreas de los adipocitos, en donde gran parte de las poblaciones tienen un tamaño superior a las encontradas en el grupo CTR (**Figura 23A**).

En el gráfico Scatter-plot, la distribución de áreas muestra que el grupo OM tiene una mayor población de células de gran tamaño, mientras que en el grupo CTR las poblaciones están principalmente conformadas por adipocitos de menor área (**Figura 23B**).

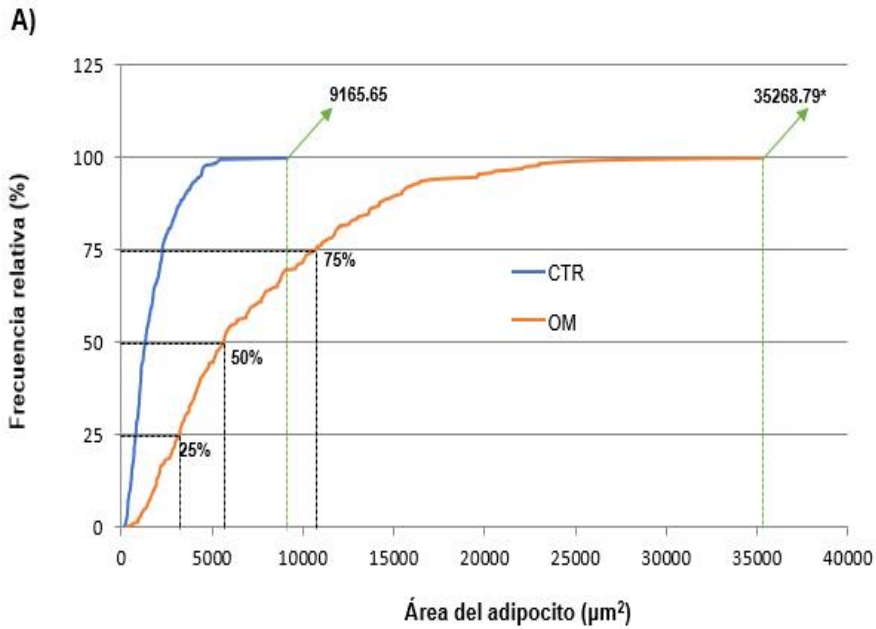


**Figura 23: Distribución de áreas de los adipocitos maternos a 19 dG.** A) Gráfico Box-plot de las áreas de los adipocitos expresadas en  $\mu\text{m}^2 \times 1000$ . B) Gráfico Scatter-plot (distribución de puntos) de las áreas expresadas en  $\mu\text{m}^2$ . Control (CTR, n=5), Obesidad Materna (OM, n=5); ME=Mediana,  $*p \leq 0.001$ . Mann-Whitney Rank Sum.

En el análisis de frecuencias se pueden apreciar las principales poblaciones de adipocitos de acuerdo con su área: 25, 50 y 75%, de tal manera que desde el percentil más bajo existe una diferencia significativa entre ambos grupos y, entre más alto es el percentil, mayor es el sesgo hacia la derecha de la curva del grupo OM, lo cual indica que las células de estos individuos son mayores a las del grupo CTR en todas sus poblaciones (**Figura 24A**).

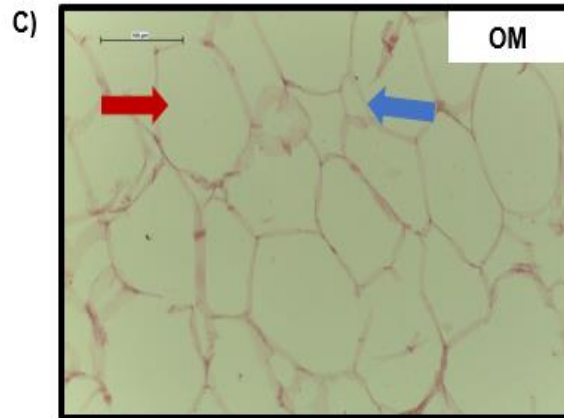
En la tabla (**Figura 24B**) se especifica el área de los adipocitos de menor y mayor tamaño para ambos grupos de estudio, teniendo que en el caso de las células de menor área hay un incremento del 119% en el grupo OM, respecto al CTR, mientras que en el caso de los adipocitos de mayor tamaño, el área aumenta en un 285% en las madres con obesidad, comparado con el grupo CTR.

Para una mejor apreciación de los adipocitos de menor y mayor tamaño, se incluye una microfotografía representativa a 20X del TA perteneciente al grupo OM (**Figura 24C**).



B)

Parámetro	CTR (µm²)	OM (µm²)
Área del adipocito más pequeño	209.70	458.56*
Área del adipocito más grande	9165.65	35268.79*
Percentil 25	839.91	3225.09*
Percentil 50 (ME)	1351.15	5640.85*
Percentil 75	2297.71	10770.11*

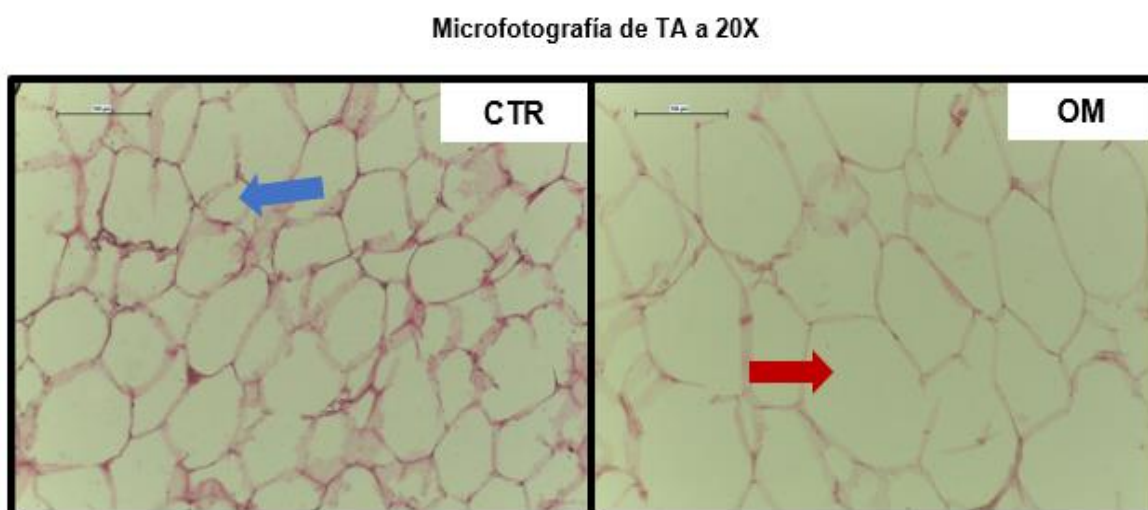


**Figura 24: Análisis de frecuencias del área de los adipocitos maternos a 19 dG.** A) Gráfico de frecuencia relativa (%) del área del adipocito (µm²). B) Parámetros asociados al área de los adipocitos maternos (µm²). C) Microfotografía representativa del TA del grupo OM tomada a 20X (H&E); con flecha roja se señala un adipocito grande y con flecha azul un adipocito pequeño. Control (CTR, n=5), Obesidad Materna (OM, n=5); ME= Mediana, \*p≤0.001. Mann-Whitney Rank Sum.



#### 6.4.1 Parámetros histológicos.

Las microfotografías del TA hacen evidente que en el caso de los individuos pertenecientes al grupo OM, los adipocitos tienen una mayor área celular, así como se observa un menor número de células, respecto al grupo CTR. En otras palabras, la histología reveló que las ratas alimentadas con dieta alta en grasa presentan un estado hipertrófico en sus adipocitos, mientras que en el caso del grupo CTR, se observa una mayor abundancia de células de menor tamaño, así como mejor preservación de la membrana y núcleos redondos, de tal manera que este grupo conserva un estado neutro entre los procesos de hiperplasia e hipertrofia, a diferencia del grupo OM (**Figura 25**).



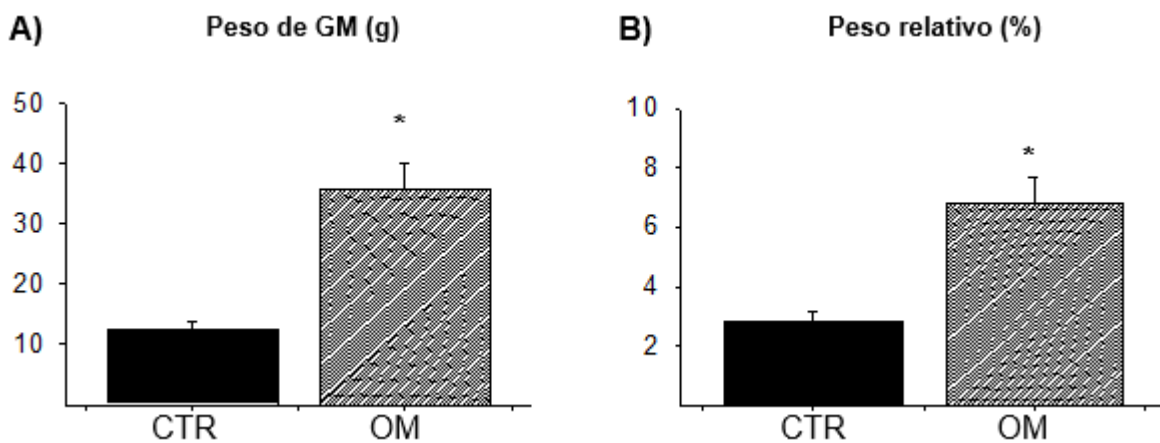
**Figura 25: Histología del TA materno a 19 dG (H&E).** Microfotografías representativas del TA tomadas a 20X; con flecha azul se señala un adipocito pequeño y con flecha roja un adipocito grande. Control (CTR, n=5), Obesidad Materna (OM, n=5).

# ~GLÁNDULA MAMARIA~

## 6.5 Parámetros de la glándula mamaria materna a 19 dG.

### 6.5.1 **Peso de la GM y peso relativo respecto al peso corporal.**

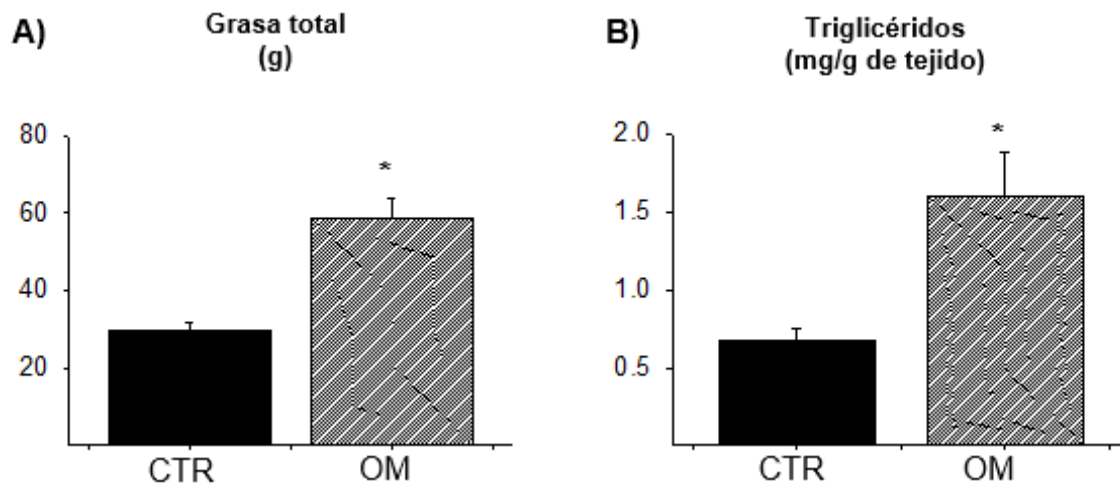
El peso de la GM y el peso relativo respecto al peso corporal fueron mayores en el grupo OM, respecto al CTR (**Figura 26A y B**).



**Figura 26: Parámetros de la GM materna a 19 dG.** A) Peso de la GM (g). B) Peso relativo de la GM respecto al peso corporal materno (%). Control (CTR, n=5), Obesidad Materna (OM, n=5); Media  $\pm$  EE, \* $p \leq 0.05$ . T-Student.

### 6.5.2 **Grasa total y contenido de triglicéridos.**

La grasa total por peso de tejido y la concentración de triglicéridos fueron significativamente mayores en la GM del grupo OM, comparado con el grupo CTR (**Figura 27A y B**).

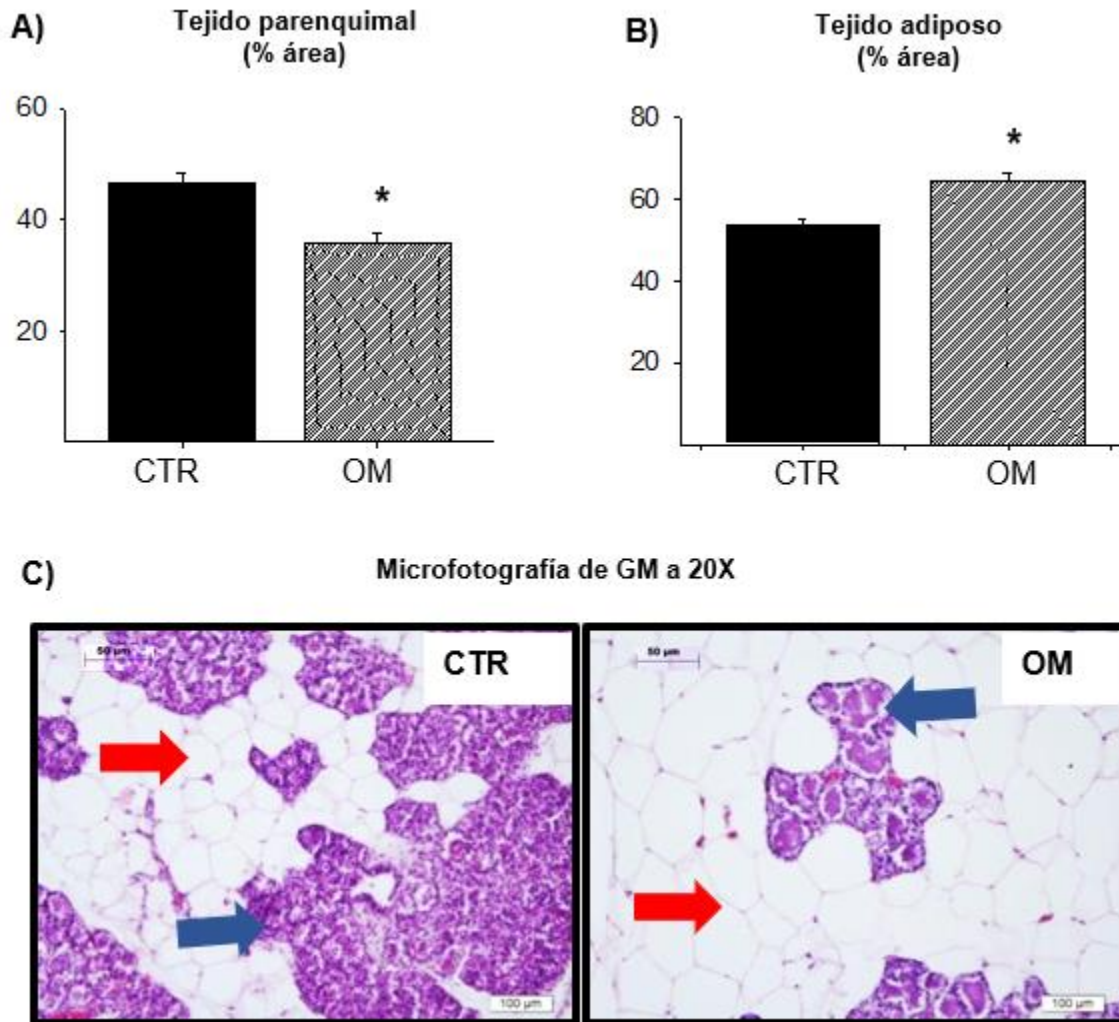


**Figura 27: Contenido lipídico en la GM materna a 19 dG.** A) Grasa total de la GM determinada por el método de Folch (%). B) Triglicéridos en GM (mg/g de tejido). Control (CTR, n=5), Obesidad Materna (OM, n=5); Media  $\pm$  EE, \* $p \leq 0.05$ . T-Student.

### 6.5.3 Parámetros histológicos.

El porcentaje de área parenquimal fue menor en la GM del grupo OM, en comparación al CTR, mientras que el porcentaje de área ocupada por los adipocitos fue mayor (**Figura 28A y B**).

Las microfotografías muestran una menor diferenciación del área parenquimatosa en el grupo OM, así como mayor abundancia de adipocitos (señalados con flechas rojas), demostrando así menor proliferación mamaria respecto al grupo CTR (**Figura 28C**).



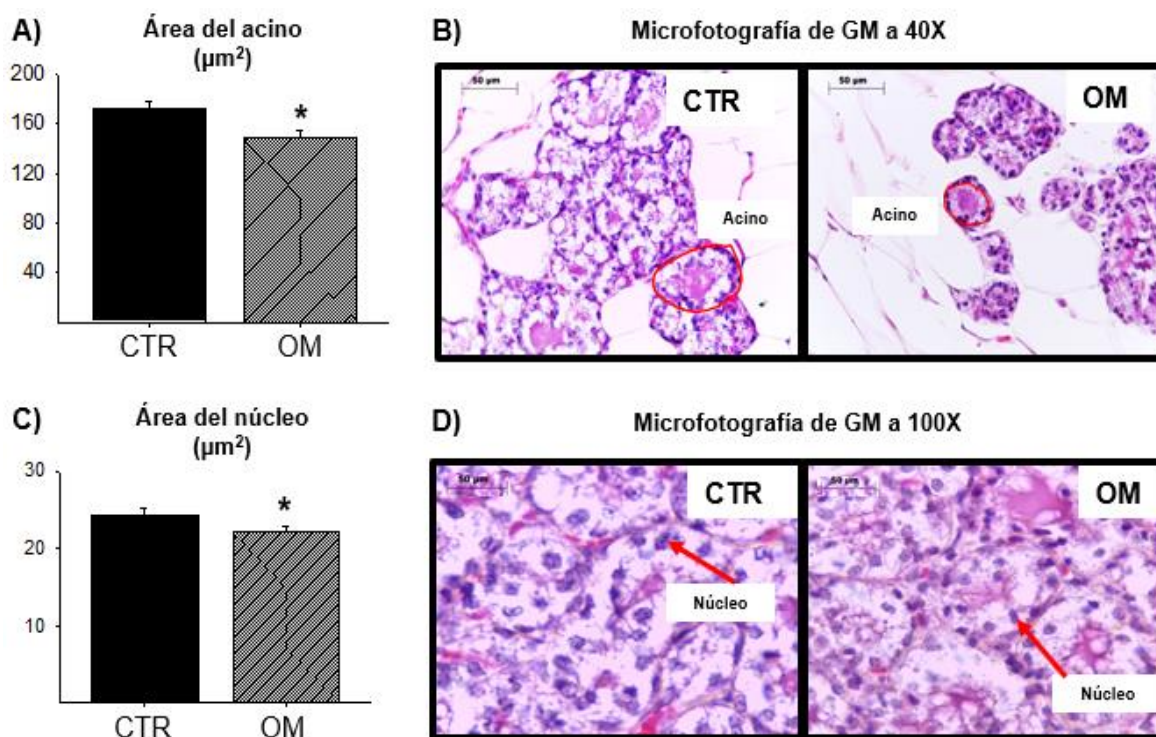
**Figura 28: Histología de la GM materna a 19 dG (H&E).** A) Tejido parenquimal en GM (% área). B) Tejido adiposo en GM (% área). C) Microfotografías representativas del tejido mamario tomadas a 20X; con flechas azules se indica el área parenquimal y con flechas rojas el tejido adiposo. Control (CTR, n=5), Obesidad Materna (OM, n=5); Media  $\pm$  EE, \* $p \leq 0.05$ . T-Student.

#### 6.5.4 Citoarquitectura de la GM.

Las áreas del acino y núcleo celulares son menores en el grupo OM, respecto al grupo CTR (Figura 29A y C).

Las microfotografías hacen evidente que el tamaño de estas estructuras es menor en el grupo OM, lo que implica un menor desarrollo y funcionalidad del tejido

parenquimatoso en la GM de estos individuos, en comparación con el grupo CTR (Figura 29B y D).



**Figura 29: Análisis citoarquitectónico de la GM materna a 19 dG (H&E).** A) Área del acino en la GM ( $\mu\text{m}^2$ ). B) Microfotografías representativas del tejido mamario tomadas a 40X; con rojo se delimita el área del acino. C) Área del núcleo en la GM ( $\mu\text{m}^2$ ). D) Microfotografías representativas del tejido mamario tomadas a 100X; la flecha roja señala al núcleo. Control (CTR, n=5), Obesidad Materna (OM, n=5); Media  $\pm$  EE, \*p<0.05. T-Student.

### 6.5.5 Perfil de ácidos grasos.

Los niveles de ácidos grasos monoinsaturados no fueron diferentes entre los grupos de estudio. Sin embargo, los valores encontrados para los ácidos grasos saturados, omega 3, 6 y 9 fueron mayores en el grupo OM, respecto al grupo CTR, específicamente en el caso de los ácidos EPA, DHA y AA, en donde se observó que en las madres obesas hay un incremento del 92, 85 y 50%, respectivamente. (Tabla 4).

**Tabla 4: Perfil de ácidos grasos en GM a 19 dG.**

Ácidos grasos	CTR (mg)	OM (mg)
Saturados	15.30 ± 1.76	23.04 ± 1.77*
Monoinsaturados	11.34 ± 1.35	16.23 ± 1.10
Omega 3	0.93 ± 0.17	1.65 ± 0.10*
Omega 6	11.61 ± 1.07	16.77 ± 1.14*
Omega 9	9.00 ± 0.87	12.47 ± 0.71*
EPA	0.25 ± 0.07	0.48 ± 0.04*
DHA	0.48 ± 0.07	0.89 ± 0.04*
AA	0.62 ± 0.08	0.93 ± 0.05*

Saturados: Cáprico, láurico, tridecanoico, tricosanoico, mirístico, pentadecaenoico, palmítico, esteárico, lignocérico, araquídico, heneicosanoico, behénico; Monoinsaturados: Heptadecanoico, cis-10-pentadecenoico, palmitoleico, cis-heptadecaenoico, oleico, elaídico, eicosenico, erúcico, nervónico, linoleláidico; Omega 3: Eicosapentaenoico (EPA), docosahexaenoico (DHA), gamma-linolénico; Omega 6: Araquidónico (AA), alfa-linolénico, 13,16-docosapentaenoico, cis-11,14-eicosanoico, cis-8,11,14-eicosanoico, linolénico, cis-11,14,17-eicosanoico; Omega 9: Oleico. Control (CTR, n=5), Obesidad Materna (OM, n=5); Media ± EE, \*p≤0.05. T-Student.

## 7. DISCUSIÓN.

Hoy en día las condiciones de la vida cotidiana han promovido diversas conductas desfavorables dentro de la población, como lo es el consumo de dietas altas en grasa y el subsecuente desarrollo de un fenotipo obeso. Se ha visto que algunos de los grupos más afectados por esta condición son las mujeres en edad reproductiva y los niños en edad escolar. Esto ha llamado mucho la atención, pues organismos como la OMS han determinado que la obesidad es una condición multifactorial que puede expresarse desde edades tempranas y cuyos efectos adversos tienen una alta prevalencia en niños y adolescentes de ambos sexos [29, 53]. De acuerdo con el concepto DOHaD, se ha sugerido que esta obesidad temprana puede

relacionarse con los eventos *in utero* a los que estuvieron expuestos estos individuos, derivados de los factores ambientales y sociales a los que se puede enfrentar la madre durante la etapa gestacional.

Así mismo, se sabe que la gestación es un proceso dinámico que involucra una serie de cambios fisiológicos normales en el organismo materno [como ganancia de peso, aumento importante en la actividad metabólica del hígado, TA y GM y una mayor expresión de hormonas tales como estrógenos, progesterona, lactógeno de la placenta humana (HPL) y hormona gonadotropina coriónica humana (HCG)] con el objetivo de poder sustentar el correcto crecimiento fetal y proceso de organogénesis [19]. Sin embargo, diversas investigaciones en modelos humanos y animales han demostrado que la obesidad materna, inducida por el consumo de dietas hiperlipídicas, genera una programación negativa en el desarrollo de la prole, modificando su función metabólica y endócrina y favoreciendo la manifestación de una gran variedad de alteraciones fenotípicas desde el nacimiento, las cuales pueden ser temporales o persistir hasta la vida adulta.

En ese sentido, parece que las adaptaciones en la fisiología materna inducidas por este tipo de alimentación durante etapas críticas de la vida, como la gestación y lactancia, son las responsables de los cambios adversos observados en los descendientes [10, 20, 24, 41, 64, 76]. No obstante, hasta el momento no se ha caracterizado en su totalidad cuáles son aquellas modificaciones que sufre la madre durante la gestación, ante la condición de obesidad, y que conllevan a un estado de salud alterado en la descendencia.

### **La dieta alta en grasa condiciona el desarrollo de un fenotipo obeso en la rata gestante, reflejado como un aumento en su peso corporal a 19 dG.**

Retomando la definición de la OMS para el estado de obesidad, se sabe que esta enfermedad se caracteriza por una acumulación excesiva de tejido graso en el organismo [53]. De acuerdo con Ibáñez (2019), este aumento en la masa del TA

surge a partir del desequilibrio entre la energía obtenida a través de la dieta y el gasto calórico requerido durante la actividad física; este desbalance genera a su vez un crecimiento exacerbado de los depósitos de grasa y, por consiguiente, se expresa como un incremento progresivo del peso corporal [28].

Los estudios realizados por Zambrano, et al. (2010), en donde se utilizó un modelo de obesidad materna en ratas Wistar (alimentadas con dieta alta en grasa: 20% de manteca animal y 5% de grasa vegetal), mostraron que estos individuos no solo presentaron un aumento del 22% en su peso corporal respecto a su grupo control, sino también se asoció el incremento en la adiposidad con una elevación significativa de la concentración de leptina sérica, la cual persistió incluso después de 21 días posteriores al nacimiento de las crías [78].

De la misma manera, los datos recopilados por Kucera, et al. (2014) y Li, et al. (2011) señalan que la exposición de la rata al consumo de una dieta alta en grasa durante su crecimiento genera un aumento considerable en su peso corporal, acompañado de diferentes desequilibrios en su homeostasis metabólica como resistencia a la insulina, dislipidemia, al igual que una disminución en la concentración sérica de adiponectina y aumento en los niveles de TNF- $\alpha$  [39, 37].

Entonces, la evidencia reportada por estos autores sugiere que, en nuestro caso, el aumento significativo en el peso corporal materno de las ratas alimentadas con dieta alta en grasa (grupo OM), respecto al grupo CTR, no solo es un indicativo de que la dieta experimental favorece un estado reproducible de obesidad, sino que esta condición puede conllevar a diversas alteraciones en el metabolismo materno durante la gestación.



## **La dieta hiperlipídica se relaciona con un perfil bioquímico alterado en la rata gestante, lo cual afecta el estado de salud de la madre y sus descendientes.**

De acuerdo con Bautista (2014) se ha sugerido que una elevación del contenido de grasa en la dieta materna puede generar efectos negativos en su metabolismo, tal como desequilibrios en los parámetros bioquímicos y hormonales en suero [8]. Nuestros resultados indican que las madres expuestas a la dieta alta en grasa presentan valores elevados de triglicéridos, insulina, leptina y HOMA al día 19 dG, comparadas con las que fueron alimentadas con dieta control, mientras que no hubo diferencia en la concentración de glucosa y colesterol entre ambos grupos. Esto coincide con los datos obtenidos por González, et al. (2015) en donde administraron una dieta hipercalórica a ratas hembra durante su crecimiento, gestación y lactancia, observando que estos animales presentaron un incremento del 19% en su peso corporal (respecto a su grupo control), así como hipertrigliceridemia, resistencia a la insulina y no observaron cambios significativos en los niveles de colesterol total [22].

Dado que los triglicéridos son la principal forma de almacenamiento de energía en los animales, no es sorprendente que su concentración en el suero materno se incremente en proporción con el exceso calórico aportado por la dieta obesogénica. Sin embargo, se ha demostrado que la hipertrigliceridemia inducida por el consumo excesivo de lípidos suele acompañarse de un aumento en la proporción de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de muy baja densidad (VLDL), las cuales son las encargadas de transportar el colesterol hacia los tejidos y son potencialmente aterogénicas [55]. Además, esta condición no solo puede traer efectos adversos para la madre, sino también se ha visto que puede predisponer a los descendientes para presentar síndrome metabólico temprano [22].

En el caso de la dieta administrada al grupo OM, esta se caracterizó por su alto contenido de grasa en forma de manteca de cerdo. Esta última está principalmente conformada por ácidos grasos saturados (destinados a la formación de triglicéridos para el almacenamiento de energía) y colesterol HDL, fracción que es transportada hacia el hígado para ser utilizada en la síntesis de hormonas, ácidos biliares y

lipoproteínas. Aunado a lo anterior, se ha observado en roedores que durante el progreso de la obesidad, los depósitos grasos en el hígado dan pie a la generación de esteatosis hepática, la cual se ha visto que está fuertemente relacionada con un aumento en la síntesis de triglicéridos, mientras que todo el exceso de colesterol es transportado de regreso al hígado a través de los complejos lipoproteicos de alta densidad (HDL) [22, 32, 55]. Lo anterior pudiera explicar por qué la concentración de colesterol en el suero materno no fue diferente entre ambos grupos, a pesar de que hay un aumento significativo en los triglicéridos del grupo OM, respecto al CTR, así como se pudiera relacionar con los resultados obtenidos en la histología del hígado, los cuales se discuten con más detalle en el siguiente apartado.

Por otro lado, se sabe que la leptina es una hormona que actúa como regulador de la ingesta calórica. En los humanos y en los roedores, este péptido provoca una pérdida del apetito y estimula la reducción de los depósitos de grasa, lo que ayuda de manera endócrina a mantener un control en el peso corporal. Adicionalmente, la leptina puede promover la absorción y transporte de la glucosa a través del intestino delgado, así como su captación en el músculo esquelético [70], lo cual podría ser una de las razones por las que la concentración de glucosa sérica en el grupo OM no fue diferente a la del grupo CTR. No obstante, se ha determinado que la hiperleptinemia encontrada en el grupo OM también puede traer consigo efectos adversos para el metabolismo materno. Es bien sabido que existe una relación estrecha entre la insulina y la leptina, pues ambas hormonas se regulan mutuamente: la leptina inhibe la secreción de insulina en el páncreas, mientras que esta última estimula la producción de leptina en los adipocitos. Sin embargo, estudios en roedores han determinado que ante una condición de hiperleptinemia se genera resistencia a esta adipocina, lo cual induce una pérdida en su capacidad para regular la secreción de insulina en el páncreas, conduciendo a un estado de hiperinsulinemia y, posteriormente, resistencia progresiva a dicha hormona [3]. Además, las investigaciones de Li, et al. (2011) sugieren que el aumento en la concentración de leptina sérica en la rata gestante puede promover una sobreestimulación en la expresión del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) de

leptina en el TA del embrión durante la gestación, o bien, puede incrementar la concentración de leptina en la leche materna durante el periodo de lactancia, lo cual puede programar un estado de hiperleptinemia, hiperinsulinemia y resistencia a ambas hormonas en la progenie, ya sea desde el nacimiento o durante la etapa lactante [39].

En cuanto al parámetro HOMA, se trata de un índice que nos ayuda a evaluar la resistencia a la insulina; cuando su valor se encuentra elevado implica que las células del organismo (principalmente del hígado, TA y músculo esquelético) no responden de manera óptima a esta hormona y no pueden absorber la glucosa fácilmente, por lo que el páncreas secreta una mayor concentración de insulina y, por consiguiente, se recupera la homeostasis en los niveles de glucosa sérica [52]. Lo anterior podría ser otro mecanismo por el cual los valores de glucosa en el grupo OM no fueron diferentes a los del grupo CTR, así como pudiera explicar el aumento observado en la concentración de insulina y el HOMA de las ratas alimentadas con dieta alta en grasa. Aunado a lo anterior, se ha visto en distintos modelos murinos que durante el progreso de la obesidad, la resistencia a la insulina puede atribuirse a distintos factores, entre los cuales se encuentra la hiperglucemia, lipotoxicidad (derivada del exceso de colesterol y triglicéridos), estrés oxidativo o un exceso en la secreción de adipocinas proinflamatorias; estos factores inducen diferentes mecanismos moleculares, entre los cuales destaca la fosforilación de residuos de serina y treonina, lo cual inhibe la activación del receptor de insulina e impide su correcta función en las células [15].

**El aumento de los depósitos grasos en el tejido hepático del grupo OM puede comprometer la correcta función del hígado materno durante la gestación y programar negativamente el desarrollo de la progenie.**

El hígado es el órgano endócrino más importante en los animales y juega un papel indispensable en el metabolismo. Durante la gestación, el hígado de la rata necesita atravesar por una serie de cambios fisiológicos normales que permitan incrementar su actividad metabólica y endócrina para así poder satisfacer todas las demandas

energéticas por parte de la madre y los fetos [47]. Este órgano también tiene una participación central en el desarrollo de las crías, pues aquí son procesados los nutrientes obtenidos a través de la dieta materna y posteriormente son transferidos a los fetos por medio de la placenta, o bien, a los neonatos a través de la leche. Además, los lípidos sintetizados en el hígado son almacenados como reserva de energía en este mismo órgano y en el TA materno, o son enviados a la GM como fuente de energía para llevar a cabo su correcta maduración. Adicionalmente, se ha visto que en los hepatocitos se sintetizan enzimas como las desaturasas ( $\Delta 5$  y  $\Delta 6$ ) y elongasas (2 y 5), las cuales tienen su actividad tanto en el hígado como en la GM para la síntesis de ácidos grasos poliinsaturados, los cuales deben ser transferidos a la progenie a través de la placenta o la leche materna para el adecuado desarrollo de sus sistemas metabólico, endócrino y nervioso [8].

No obstante, diferentes autores han reportado que el desequilibrio en el aporte lipídico por parte de la dieta puede traer repercusiones en la correcta función del hígado en los roedores. De acuerdo con Almanza, et al. (2008), se ha observado que los ratones alimentados con una dieta alta en grasa presentan niveles elevados de leptina, lo cual provoca una inhibición en la señalización de la insulina al unirse con su receptor en los hepatocitos, afectando así el aprovechamiento de la glucosa por parte del hígado [3].

Así mismo, los estudios de González, et al. (2015) indican que el incremento de los ácidos grasos en el hígado promueve un estado de esteatosis hepática, resistencia a la insulina e incremento en el estrés oxidativo, lo cual da origen a una lesión hepatocelular. Adicionalmente, ellos sugieren que los machos son más propensos a sufrir este tipo de daño en el tejido hepático, ya que los niveles de estrógenos en las ratas hembra estimulan la expresión de genes antioxidantes que ayudan a restablecer la homeostasis hepática y evitar el daño por especies reactivas de oxígeno [22]. Sin embargo, las investigaciones de Colleluori, et al. (2021) indican que la esteatosis hepática y los desequilibrios en la concentración de leptina sérica pueden afectar la función de los estrógenos en las ratas hembra, por lo que el

hígado se vuelve más propenso a sufrir daño ante un exceso de lípidos en los hepatocitos [14]. Esto coincide con lo reportado por Karaçor, et al. (2014), quienes establecen que el hígado graso es más vulnerable a inflamarse y dañarse por estrés oxidativo, en comparación con individuos sanos de ambos sexos, pues los depósitos de grasa favorecen la producción excesiva de radicales libres y especies reactivas de oxígeno, lo que conlleva a un deterioro progresivo de la función hepática [34].

Aunado a lo anterior, el consumo de una dieta alta en grasa no solo afecta el metabolismo materno, sino que también puede tener repercusiones en la función hepática de los descendientes. En los estudios de Beltrán (2020), donde se expuso a la rata durante su crecimiento, gestación y lactancia al consumo de una dieta con un contenido graso total del 25%, se determinó que esta condición genera efectos adversos en el metabolismo de lípidos de las crías macho, reflejado como aparición de esteatosis hepática (incremento en los depósitos de grasa, respecto al hígado de su grupo control) y además, se observó que esta patología se volvía más severa con la edad de los descendientes [10].

De igual manera, los resultados reportados por Bautista et al. (2016) mostraron que la obesidad materna inducida por el consumo de una dieta hiperlipídica puede afectar negativamente el contenido de ácidos grasos poliinsaturados presentes en la leche materna, debido a modificaciones en la expresión de desaturasas y elongasas. Se sugirió que una de las posibles razones por las que esto ocurre es que el alto contenido graso de la dieta altera la función hepática de la rata gestante, ya que este órgano es el encargado de la producción de estas enzimas, así como de la síntesis y transporte de ácidos grasos hacia la GM [9].

Nuestros resultados indican que a 19 dG el peso del hígado fue similar en ambos grupos. Sin embargo, el peso relativo respecto al peso corporal fue menor en el grupo OM, comparado con el CTR, lo cual se puede interpretar como una menor proporción de este órgano respecto al peso del individuo y, por consiguiente, se pudiera ver afectada su eficiencia metabólica, funcionalidad y morfología [3].

Además, en el hígado materno del grupo OM se observó mayor grasa total y contenido de triglicéridos, así como las microfotografías demuestran que en estas madres el porcentaje de área ocupada por los depósitos grasos es significativamente mayor respecto al área de tejido hepático (esteatosis), a diferencia de lo observado en el grupo CTR. Estos hallazgos concuerdan con lo descrito en la literatura, por lo que en las madres obesas se podría esperar una desregulación en su función hepática que afecte el metabolismo materno de lípidos y carbohidratos y, por consiguiente, altere el transporte de nutrientes hacia los fetos a través de la placenta, en comparación con las ratas alimentadas con dieta control.

### **El estado hipertrófico de los adipocitos en el grupo OM se relaciona con los desequilibrios observados en el metabolismo materno a 19 dG.**

Como se ha mencionado anteriormente, el TA cumple con una función muy importante durante el progreso de la gestación, pues en él se almacena toda la energía que será requerida por parte de la madre y los fetos, así como se encarga de la secreción de diferentes adipocinas. Ambas funciones (reserva de energía y actividad endócrina) están directamente relacionadas con el aporte calórico por parte de la dieta materna; ante un exceso de energía, los adipocitos llevan a cabo mecanismos de hiperplasia e hipertrofia para aumentar su número y tamaño, respectivamente. Dichos procesos conllevan a un incremento en la masa del TA, así como estimulan una mayor secreción de moléculas tales como leptina, TNF- $\alpha$  y adiponectina [24, 28, 63].

Según lo reportado por Almanza, et al. (2008) y De los Ríos (2018), se ha encontrado que enfermedades tales como diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad se relacionan fuertemente con desregulaciones en la secreción de adipocinas por parte del TA, lo que conlleva a la aparición de un cuadro de inflamación sistémica y daño al endotelio. En el caso específico de la obesidad, esta se caracteriza por una expansión continua del TA, derivada de la ingesta de una dieta hipercalórica; esto provoca la infiltración de macrófagos y una secreción exacerbada de adipocinas

proinflamatorias, como IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ , lo que genera en el organismo un estado de inflamación crónica de bajo grado. Por su parte, en el caso de la leptina, se ha descrito que generalmente actúa como una adipocina antiinflamatoria y su función se regula recíprocamente con el TNF- $\alpha$ . Sin embargo, los estudios en roedores expuestos a una dieta obesogénica han determinado que ante un estado de hiperleptinemia y resistencia a la misma, ésta puede fungir como adipocina proinflamatoria; esto genera un desequilibrio en la regulación del resto de las adipocinas, trayendo como consecuencia una sobreexpresión de IL-6 y TNF- $\alpha$ , y una disminución en la concentración de adiponectina, lo que propicia la generación de un estado inflamatorio crónico acompañado de hallazgos como resistencia a la insulina, daño en el tono muscular y alteraciones en la presión arterial [3, 15].

Para complementar lo anterior, se sabe que, en respuesta al consumo excesivo de lípidos, los adipocitos tienden a incrementar su tamaño (hipertrofia) con el objetivo de almacenar el excedente de grasa y evitar la lipotoxicidad. No obstante, el proceso de hiperplasia (aumento en el número de células) actúa como mecanismo de regulación para compensar la hipertrofia, de tal manera que no se pierda la homeostasis en el TA [63]. Sin embargo, las investigaciones de Ibáñez (2019) reportan que los modelos de obesidad en roedores se han caracterizado por presentar alteraciones en el área de los adipocitos, observando que estas células mantienen un estado hipertrófico que persiste a lo largo de la vida de estos individuos. Además, esta hipertrofia crónica se relacionó fuertemente con la manifestación de resistencia a la insulina y leptina, lo que a su vez conlleva a desajustes metabólicos tales como elevación de los niveles de triglicéridos, glucosa y colesterol y un incremento en el peso corporal [28]. Por su parte, en 2020 los estudios de Hillers, et al., encontraron que en los ratones expuestos a una dieta alta en grasa hay una mayor abundancia de preadipocitos, respecto a la cantidad de adipocitos maduros; esto debido a que existe una relación entre el estado de obesidad y una disminución en la expresión del factor transcripcional PPAR $\gamma$ , lo cual afecta los procesos de maduración y renovación en estas células, inhibiendo el mecanismo de hiperplasia en el TA [26].

En nuestro caso, se encontró que existe un aumento considerable en la mediana del área del adipocito del grupo OM, respecto al grupo CTR; esto se vio reflejado como una mayor abundancia de células de gran tamaño en las madres alimentadas con dieta alta en grasa. Al comparar las poblaciones de adipocitos entre ambos grupos, se determinó que existe un estado de hipertrofia en el TA del grupo OM, lo cual coincide con lo reportado por otros autores y, en ese sentido, se podría establecer una correlación entre el aumento en el área del adipocito del grupo de obesidad materna y las alteraciones observadas en el perfil bioquímico de estas madres a 19 dG, en comparación con aquellas que fueron alimentadas con dieta control.

Adicionalmente, los estudios de Hernández (2021), donde se expuso a la rata a una dieta hiperlipídica (25% de grasa total) durante su crecimiento, gestación y lactancia, demostraron que el consumo excesivo de lípidos no solo afecta el metabolismo materno, sino que también puede traer consecuencias negativas para el TA de los descendientes. En este experimento se encontró que las crías de ambos sexos de estas madres obesas presentaron hipertrofia en sus adipocitos, incluso después de 130 días después de su nacimiento, lo cual puede favorecer la expresión de enfermedades crónico-degenerativas (como diabetes y obesidad) en estos individuos desde la vida temprana [24].

### **La dieta alta en grasa inhibe la correcta diferenciación y maduración de la glándula mamaria de la rata durante la gestación.**

La GM es un órgano que está principalmente regulado por el sistema endócrino y se convierte en un tejido funcional en respuesta a diferentes señalizaciones hormonales [12]. Dado que su función primordial es la de producir y secretar leche materna para alimentar a los neonatos, solo es en los períodos de gestación y lactancia cuando la GM alcanza su mayor estado de madurez a través de drásticas modificaciones en su conformación y citoarquitectura, teniendo como resultado la diferenciación hacia un órgano secretor completamente funcional [26]. Además,



como se ha mencionado anteriormente, la GM tiene una relación estrecha con el hígado y el TA, pues estos órganos son los encargados de proporcionarle la energía necesaria para la diferenciación y proliferación del parénquima a lo largo del periodo gestacional, así como el hígado es responsable de enviar a la glándula las moléculas necesarias para la síntesis y correcta composición de la leche materna [23].

Hablando específicamente de la relación de la GM con el TA, los estudios en roedores y humanos han determinado que la función endócrina de los adipocitos en la GM no es completamente igual a la de otros depósitos grasos presentes en el organismo, pues en esta zona se tiene una expresión más robusta de ciertas adipocinas y factores de crecimiento. La prolactina, estradiol y progesterona tienen una participación importante en la diferenciación de la GM durante la gestación, así como en la lactogénesis, de tal manera que se ha relacionado la deficiencia de dichas hormonas con una ramificación insuficiente del sistema ductal y ausencia de alveolos. Por su parte, se sabe que los estrógenos regulan estrechamente el remodelamiento mamario, teniendo una influencia no solo en el tejido parenquimatoso, sino también en los adipocitos que conforman el estroma. Se ha descrito que con el inicio de la edad reproductiva en las hembras, los niveles de estradiol favorecen los procesos de hiperplasia e hipertrofia del TA de la GM, mientras que durante la gestación, los adipocitos desaparecen progresivamente para dar lugar a la infiltración y elongación del sistema ductal. Este proceso de ramificación depende tanto de la concentración de estrógenos, como de la funcionalidad de su receptor en la GM. No obstante, se sabe que la obesidad puede alterar la secreción y/o señalización de estas hormonas, generando diferentes afectaciones en los mecanismos de maduración y proliferación de la GM. Se ha visto que la hiperestrogenemia es un hallazgo común en modelos de obesidad, ya que hay una sobreexpresión de la aromatasa (enzima responsable de convertir los andrógenos en estrógenos). Sin embargo, esta condición puede favorecer la aparición de un estado de resistencia a los estrógenos en los adipocitos, lo que

subsecuentemente conlleva a una falla en el correcto remodelamiento de la GM durante la gestación [14, 15, 26, 33].

Por su parte, las investigaciones de Colleluori, et al. (2021) y Hillers, et al. (2020), han reportado que el estado de obesidad en los roedores aumenta significativamente la concentración de leptina. Dado que esta adipocina ejerce un efecto regulatorio en la síntesis de leche materna (en sinergia con la prolactina), el estado de hiperleptinemia puede traer consigo una condición de resistencia a la misma que afecte el proceso de lactogénesis y aumente su concentración en la leche materna. De igual manera, se ha asociado el exceso de esta hormona con un aumento en el estrés oxidativo dentro de las células epiteliales de la GM, generando daño en su ADN y, por consiguiente, muerte del tejido parenquimatoso. Además, se llegó a la conclusión de que el estado de hiperleptinemia puede influenciar de manera importante la secreción de estradiol, lo que afecta el equilibrio entre los tejidos parenquimal y adiposo durante la gestación [14, 26].

Nuestros resultados indican que a 19 dG, la glándula del grupo OM presentó mayor peso de tejido, peso relativo, grasa total y contenido de triglicéridos, respecto al grupo CTR. Además, las microfotografías hicieron evidente que, a pesar de que estas madres se encontraban en una etapa avanzada de la gestación, la proliferación del tejido mamario era escasa, teniendo una mayor proporción de TA, respecto a las madres alimentadas con dieta control.

De acuerdo con lo reportado por los diferentes autores, se puede establecer una relación estrecha entre el consumo de una dieta alta en grasa y la inhibición en la correcta maduración de la GM; esto se puede atribuir a diferentes mecanismos, entre los cuales el que más se relaciona con nuestros resultados es el estado de hiperleptinemia, el cual puede afectar la señalización de otras hormonas (principalmente los estrógenos) e impedir que los adipocitos sean debidamente sustituidos por el tejido parenquimatoso.

Estos datos concuerdan con los resultados de Kamikawa, et al. (2009), donde usaron ratones expuestos a una dieta alta en grasa durante 16 semanas después del destete (24.5% de grasa insaturada y 7.1% de grasa saturada). Ellos encontraron que estos individuos presentaron un aumento en su peso corporal y en la adiposidad del hígado y GM, acompañado de niveles elevados de glucosa, triglicéridos, insulina y leptina, en comparación con su grupo control. A su vez, estos ratones obesos generaron hipertrofia en sus adipocitos, lo cual provocó daño en las células epiteliales de la GM debido a la infiltración de macrófagos y elevación en la concentración de IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$ , que son adipocinas que dan lugar a procesos inflamatorios y fibróticos en el tejido mamario. Aunado a lo anterior, se observó que los ratones alimentados de esta forma mostraron una inhibición en la ramificación del sistema ductal, desarrollo epitelial y mioepitelial incompleto y una mayor abundancia en los depósitos de colágeno alrededor del parénquima mamario, comparado con su grupo control [33]. Por su parte, las investigaciones hechas por De los Ríos (2018) y Luzardo, et al. (2023) reportaron que el consumo de una dieta alta en grasa promueve alteraciones en la señalización endócrina de la GM durante la lactancia como una mayor expresión de IL-6 y TNF- $\alpha$ , así como una síntesis exacerbada de serotonina, (hormona que participa en el proceso de involución de la GM después del destete), lo cual puede favorecer un proceso involutivo temprano del tejido mamario (alrededor del día 10 de lactancia en ratas) [15, 44].

Aunado a lo anterior, la citoarquitectura de la GM reveló que a 19 dG, el área de los acinos y núcleos celulares fue menor en el grupo OM, respecto al CTR. Esto tiene repercusiones importantes en la funcionalidad de la GM, pues estas estructuras constituyen la maquinaria necesaria para la correcta síntesis de leche materna. Entonces, la disminución en su tamaño, sumado con la inhibición en la proliferación del tejido parenquimatoso, pudiera explicar los resultados reportados previamente por Bautista, et al. (2016), donde se encontró que a 21 días postnatales la leche de las madres alimentadas con dieta alta en grasa resulta ser deficiente en proteínas, carbohidratos y ácidos grasos requeridos para el óptimo crecimiento y maduración final de la progenie, lo cual puede generar alteraciones permanentes en la fisiología

de los descendientes y predisponerlos a padecer una enfermedad metabólica desde la vida temprana [9].

### **Las modificaciones en el perfil de ácidos grasos presentes en la GM del grupo OM pudieran generar efectos adversos en la progenie.**

Los nutrientes presentes en la leche materna provienen de distintas fuentes, como la dieta de la madre y sus reservas energéticas o la síntesis *de novo* en las células epiteliales de la GM. Además, la disponibilidad de nutrientes está determinada por el metabolismo de diferentes tejidos, principalmente el hígado y la GM, y puede verse influenciada por los factores ambientales a los que está expuesta la madre durante los periodos de gestación y lactancia [9, 15].

Entre la gran variedad de constituyentes que conforman la leche materna, se puede mencionar que algunos de los más importantes son los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga. Dentro de ellos, el ácido AA (omega 6) y el DHA (omega 3) participan en el desarrollo de la función neuronal y cognitiva de la progenie, mientras que el ácido EPA (omega 3) es un precursor importante para la obtención de metabolitos útiles en la maduración del sistema inmune en las crías. La importancia de la síntesis de estos ácidos grasos por parte del hígado y la GM, así como su presencia en la leche materna, radica en que en los neonatos la actividad de las desaturasas y elongasas es muy baja, por lo que necesitan obtener estos nutrientes a través de la madre, ya sea vía placentaria o durante el periodo lactante [9]. Otros componentes importantes de la leche son la leptina (encargada de regular la ingesta calórica en los neonatos y mantener un control en su peso corporal) y el ácido oleico (omega 9), el cual tiene efectos benéficos sobre la función hepática y cardiovascular de las crías [34].

No obstante, los estudios de obesidad materna en roedores han determinado que la ingesta de una dieta alta en grasa puede generar desequilibrios en el contenido nutrimental de la leche, sobre todo en la concentración de lípidos. De acuerdo con

De los Ríos (2018), la leche producida por madres expuestas a una dieta hiperlipídica puede verse incrementada en su contenido de grasa total y ácidos grasos saturados, mientras que la concentración de ácido EPA y DHA se ve disminuida [15]. Esto coincide con los resultados obtenidos por Bautista, et. al. (2016), en donde se observó que las madres alimentadas con dieta alta en grasa produjeron leche con menor contenido de agua, carbohidratos, EPA y DHA, mientras que el porcentaje de grasa total y ácido AA se encontraba elevado, respecto a su grupo control [9]. De igual manera, los estudios de Innis (2014) determinaron que los ácidos grasos omega 3 y 6 son de los componentes presentes en la leche más susceptibles a sufrir alteraciones derivadas del tipo de dieta consumida por la madre, lo que conlleva a efectos adversos en el desarrollo cerebral y ocular de los descendientes [30].

Nuestros resultados indican que la exposición de la rata a una dieta alta en grasa durante su crecimiento y gestación genera niveles elevados de ácidos saturados, omega 3, omega 6 y omega 9 en la GM a 19 dG, comparado con las madres del grupo CTR.

La concentración elevada de ácidos grasos saturados en el grupo OM se puede relacionar directamente con el consumo de manteca de cerdo, la cual es rica en este tipo de lípidos y favorece el aumento de las reservas de grasa en el organismo materno [32], lo cual coincide con los hallazgos encontrados en estas madres a 19 dG (incremento en el peso corporal, niveles elevados de triglicéridos, aumento en los depósitos grasos del hígado e hipertrofia de los adipocitos).

Por su parte, la evidencia documentada en la literatura todavía no es clara acerca de si puede haber efectos adversos en la madre o en la progenie ante una concentración elevada de ácidos grasos poliinsaturados, tales como el EPA o el DHA. Sin embargo, sí se ha sugerido que los niveles altos de estos ácidos grasos pudieran generar alteraciones en el desarrollo del TA durante la vida fetal y la infancia de las crías, pues son los periodos de mayor adaptación y vulnerabilidad

para este órgano [42]. Además, algunos autores reportan que el consumo elevado de ácidos omega 3 puede interferir con la función de los ácidos omega 6 durante la etapa perinatal [49], así como su exceso se ha relacionado con defectos en la función plaquetaria y gastrointestinal, aumento en el peso corporal y un desarrollo alterado del sistema inmune [38].

Finalmente, en 2021 los estudios de Zambrano, et al., basados en modelos de obesidad materna en ratas, determinaron que la exposición temprana a concentraciones elevadas de ácidos omega 6, como lo es el ácido AA, puede acelerar la maduración y proliferación de los adipocitos en la progenie, provocando que las crías nazcan con una mayor adiposidad y un aumento en su peso corporal, respecto a los descendientes de madres alimentadas con dieta control [79].

## 8. CONCLUSIÓN.

La obesidad inducida por el consumo de una dieta alta en grasa durante el crecimiento y embarazo de la rata genera efectos adversos en la adaptación materna durante la gestación, en especial en el metabolismo de lípidos y la correcta función y maduración de órganos clave para esta etapa, como lo es el hígado, TA y GM. Lo anterior puede programar negativamente el desarrollo de la progenie desde la vida temprana y ser la posible explicación científica para la manifestación de enfermedades crónico-degenerativas no transmisibles en los descendientes.

## 9. PERSPECTIVAS.

Los resultados obtenidos en la presente tesis pueden ser encaminados a proponer iniciativas en el área de la salud, como protocolos de suplementación temprana, talleres de educación reproductiva y nutricional, pruebas diagnósticas asociadas al síndrome metabólico, entre otras, de tal manera que se genere mayor conciencia

respecto al efecto de la obesidad materna sobre el estado de salud no solo de la madre sino también de su descendencia. Además, lo que se busca es continuar con estudios de obesidad materna en modelos de experimentación con animales, ya que los estudios epidemiológicos en humanos no nos permiten realizar análisis a nivel celular, biológico y molecular que sean útiles para comprender la predisposición al desarrollo de patologías metabólicas en la progenie, ya sea desde la infancia o durante la vida adulta, y que pudiera contribuir a reducir la prevalencia de este tipo de enfermedades dentro de la población.

## 10. BIBLIOGRAFÍA.

[1] Agarwal, I. & Blanco, L. (2022). *Breast general histology*. Pathology Outlines. Recuperado el 17 de enero de 2023 en:

<https://www.pathologyoutlines.com/topic/breastnormal.html>

[2] Aguillón, J., Loango, N. & Landazuri, P. (2017). *Modelos celulares hepáticos para el estudio del metabolismo de los lípidos*. [versión electrónica]. Artículo de revisión. Facultad de Medicina, Colombia, 67(1), 109-116. Recuperado el 17 de diciembre de 2022 en:

<http://www.scielo.org.co/pdf/rfmun/v67n1/0120-0011-rfmun-67-01-109.pdf>

[3] Almanza, J., Blancas, G., García, R., Alarcón, F. & Cruz, M. (2008). *Leptina y su relación con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2*. Artículo de revisión. [versión electrónica]. Academia Nacional de Medicina de México, 144(6). Recuperado el 15 de febrero de 2023 en:

[https://www.anmm.org.mx/GMM/2008/n6/68\\_vol\\_144\\_n6.pdf](https://www.anmm.org.mx/GMM/2008/n6/68_vol_144_n6.pdf)

[4] Antunes, L., Elkfury, J., Jornada, M., Foletto, K. & Bertoluci, M. (2016). *Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats*.

[versión electrónica]. National Library of Medicine, 60(2), 138-142. Recuperado el 11 de junio de 2022 de la base de datos PubMed en:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27191048/>

[5] Aranda, A. & Díaz, H. (2022). *Histology. Mammary glands*. Recuperado el 17 de enero de 2023 de la base de datos NCBI en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547732/>

[6] Barker, D. (1990). *The fetal and infant origins of adult disease*. BMJ, 301(1111).

[7] Barrera, C. & Germain, A. (2012). *Obesidad y embarazo*. Revista Médica Clínica Las Condes, 23(2), 154- 158. Recuperado el 14 de mayo de 2022 de la base de datos Elsevier en:

<https://www.elsevier.es/index.php?p=revista&pRevista=pdfsimple&pii=S0716864012702924&r=202>

[8] Bautista, C. (2014). *Efecto de la obesidad materna en la rata sobre la función del hígado, glándula mamaria y composición química de la leche, así como las repercusiones en el metabolismo de su cría durante el desarrollo*. Propuesta de proyecto. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”.

[9] Bautista, C., Montañó, S., Ramírez, V., et. al. (2016). *Changes in milk composition in obese rats consuming a high-fat diet*. [versión electrónica]. British Journal of Nutrition, 115, 538-546. Recuperado el 14 de mayo de 2022 de la base de datos NCBI en:

<https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/changes-in-milk-composition-in-obese-rats-consuming-a-highfat-diet/BD2CA3499571B740C13D7436841A172F>

[10] Beltrán, A. (2020). *La obesidad materna en la rata afecta el metabolismo de lípidos hepáticos de la progenie, el cual se acentúa con el envejecimiento*. [versión



electrónica]. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 20 de septiembre de 2022 en:  
[https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-19938?func=full-set-set&set\\_number=364317&set\\_entry=000005&format=999](https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-19938?func=full-set-set&set_number=364317&set_entry=000005&format=999)

**[11]** Bravi, F., Wiens, F., Decarli, A., Dal Pont, A., Agostoni, C. & Ferraroni, M. (2016). *Impact of maternal nutrition on breast-milk composition: a systematic review*. [versión electrónica]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 104(3), 646-662. Recuperado el 26 de enero de 2023 en:  
<https://academic.oup.com/ajcn/article/104/3/646/4668536?login=false>

**[12]** Britannica, The Editors of Encyclopedia. (2020). *Mammary gland*. Encyclopedia Britannica. Recuperado el 20 de enero de 2023 en:  
<https://www.britannica.com/science/mammary-gland>

**[13]** Carrillo, P., García, A., Soto, M., Rodríguez, G., Pérez, J. & Martínez, D. (2021). *Cambios fisiológicos durante el embarazo normal*. [versión electrónica]. *Revista de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México*, 64(1). Recuperado el 26 de enero de 2023 en:  
[https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0026-17422021000100039&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0026-17422021000100039&script=sci_arttext)

**[14]** Colleluori, G., Perugini, J., Barbatelli, G. & Cinti, S. (2021). *Mammary gland adipocytes in lactation cycle, obesity and breast cancer*. [versión electrónica]. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 22, 241-255. Recuperado el 26 de enero de 2023 en:  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11154-021-09633-5>

**[15]** De los Ríos, E. (2018). *Efectos de la prolactina proveniente de la leche materna en la prevención de obesidad y alteraciones metabólicas en las crías*. [versión

electrónica]. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 10 de febrero de 2023 en:

[https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/2Q4KCB85F8FMVXJDYVR7GU1MP3BLFDQHN8N54T56UYAE4MIQ5V-02830?func=full-set-set&set\\_number=579869&set\\_entry=000030&format=999](https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/2Q4KCB85F8FMVXJDYVR7GU1MP3BLFDQHN8N54T56UYAE4MIQ5V-02830?func=full-set-set&set_number=579869&set_entry=000030&format=999)

[16] Diccionarios del NCI. *Insulina*. (2022). Instituto Nacional del Cáncer. Recuperado el 27 de diciembre de 2022 en:

<https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/insulina>

[17] Duarte, R. (2015). *Obesidad y sobrepeso: una epidemia mundial*. Revista Médica de Honduras, 83(1). Recuperado el 20 de julio de 2022 en:

<https://lamjol.info/index.php/RMH/article/download/12775/14810>

[18] Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). 11° Ed. [versión electrónica]. p. 14.

[19] Garczynska, K., Tzschatzsch, H., Kuhl, A., Morr, A., Lilaj, L., Hackel, A., Schellenberger, E., Berndt, N., Holzhutter, H., Braun, J., Sack, I. & Guo, J. (2020). *Changes in liver mechanical properties and water diffusivity during normal pregnancy are driven by celular hypertrophy*. *Frontiers in Physiology*, 11:605205. Recuperado de el 08 de febrero de 2023 en la base de datos PubMed en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7719759/#:~:text=Our%20results%20obtained%20in%20rat,extensive%20histological%20and%20biochemical%20analysis>

[20] Garrido, L. (2013). *La obesidad materna de la rata tiene un impacto negativo sobre el aprendizaje asociativo y la motivación en las crías hembra*. [versión electrónica]. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 20 de septiembre de 2022 en:

[https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-23694?func=full-set-set&set\\_number=364333&set\\_entry=000022&format=999](https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-23694?func=full-set-set&set_number=364333&set_entry=000022&format=999)

**[21]** González, P., Nassar, N., Herráiz, N., Boillos, M., Pérez, P. & Ibáñez, P. (2011). *La rata Wistar como modelo animal experimental, para el adiestramiento laparoscópico de residentes con entrenadores pélvicos*. [versión electrónica]. *Progresos de Obstetricia y Ginecología*, 54(6), 325-329. Recuperado el 08 de febrero de 2023 en la base de datos Elsevier en:

<https://www.elsevier.es/es-revista-progresos-obstetricia-ginecologia-151-articulo-la-rata-wistar-como-modelo-S0304501310004796#:~:text=Mam%C3%ADfero%2C%20tiene%20un%20ciclo%20reproductor,14%20cr%C3%ADas%20por%20parto5>

**[22]** González, Y., Orestes, A., Llerena, T., Alfonso, O., De la Barca, M. & González, Y. (2015). *Síndrome metabólico en ratas Wistar inducido por dieta rica en sacarosa*. [versión electrónica]. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 49(3). Recuperado el 15 de febrero de 2023 en:

[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-29572015000300003&script=sci\\_arttext&tIng=pt](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S0325-29572015000300003&script=sci_arttext&tIng=pt)

**[23]** Hassiotou, F. & Geddes, D. (2012). *Anatomy of the human mammary gland*. *Clinical Anatomy Review*. The University of Western Australia. Recuperado el 17 de enero de 2023 en:

[https://amamantarasturias.org/wp-content/uploads/2019/10/1758534\\_377-ANATOMI%CC%81A-2012-GEDDES.pdf](https://amamantarasturias.org/wp-content/uploads/2019/10/1758534_377-ANATOMI%CC%81A-2012-GEDDES.pdf)

**[24]** Hernández, A. (2021). *Impacto de la obesidad materna en la rata sobre la programación del metabolismo de lípidos en la descendencia: efectos de la intervención materna con resveratrol*. [versión electrónica]. Tesis de Maestría.

Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 20 de septiembre de 2022 en:

[https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-18688?func=full-set-set&set\\_number=364282&set\\_entry=000004&format=999](https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-18688?func=full-set-set&set_number=364282&set_entry=000004&format=999)

**[25]** Hidayaturrahmah, Budi, H., Aulia, R. & Kartikasari, D. (2020). *Blood glucose level of white rats (Rattus norvegicus) after giving catfish biscuit (Pangasius hypothalmus)*. BIO Web Conferences 20. Recuperado el 09 de febrero de 2023 en: [https://www.bio-conferences.org/articles/bioconf/full\\_html/2020/04/bioconf\\_icweb2019\\_04005/bioconf\\_icweb2019\\_04005.html#:~:text=The%20blood%20glucose%20normal%20level,50%2D135%20mg%2FdL](https://www.bio-conferences.org/articles/bioconf/full_html/2020/04/bioconf_icweb2019_04005/bioconf_icweb2019_04005.html#:~:text=The%20blood%20glucose%20normal%20level,50%2D135%20mg%2FdL)

**[26]** Hillers, L. & Arendt, L. (2020). *Weighing Risk: Effects of Obesity on the Mammary Gland and Breast Cancer Risk*. [versión electrónica]. 25(2), 115-131. Recuperado el 26 de enero de 2023 en la base de datos PubMed en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7933979/>

**[27]** Hospital Clínic Barcelona. (2022). *Enfermedades, síntomas y estados de salud*. Recuperado el 28 de octubre de 2022 en: <https://www.clinicbarcelona.org/asistencia/enfermedades/obesidad/causas-y-factores-de-riesgo>

**[28]** Ibáñez, C. (2019). *Impacto de la obesidad materna de la rata sobre el crecimiento del tejido adiposo de los descendientes*. [versión electrónica]. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 20 de septiembre de 2022 en: [https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-27713?func=full-set-set&set\\_number=364319&set\\_entry=000008&format=999](https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-27713?func=full-set-set&set_number=364319&set_entry=000008&format=999)

**[29]** Informe de resultados ENSANUT. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2021. Resultados nacionales*. (2021). [versión electrónica]. Secretaría de Salud. Recuperado el 10 de octubre de 2022 en:

<https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanutcontinua2021/informes.php>

**[30]** Innis, S. (2014). *Impact of maternal diet on human milk composition and neurological development of infants*. [versión electrónica]. The American Journal of Clinical Nutrition, 99(3), 734-741. Recuperado el 26 de enero de 2023 en:

<https://academic.oup.com/ajcn/article/99/3/734S/4577501?login=false>

**[31]** James, P., Leach, R., Kalamara, E. & Shayeghi, M. (2012). *The Worldwide Obesity Epidemic*. [versión electrónica]. Obesity Research, 9(11), 2285-2335. Recuperado el 20 de julio de 2022 en:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1038/oby.2001.123>

**[32]** Juárez, J. (2008). *Obtención y purificación de la manteca de cerdo: Diseño y formulación de bases dermocosméticas para la incorporación de extractos vegetales*. [versión electrónica]. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú. Recuperado el 17 de febrero de 2023 en:

[http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/787/Juarez\\_ej%282%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/787/Juarez_ej%282%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

**[33]** Kamikawa, A., Ichii, O., Yamaji, D., Imao, T., Suzuki, C., Okamatsu, Y., Terao, A., Kon, Y. & Kimura, K. (2009). *Diet-induced obesity disrupts ductal development in the mammary glands of nonpregnant mice*. [versión electrónica]. American Association for Anatomy, 238(5), 1092-1099. Recuperado el 22 de febrero de 2023 en: <https://anatomypubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/dvdy.21947>

**[34]** Karaçor, K., Cam, M., Orhan, N., Cosgun, E. & Demirin, H. (2014). *High Fatty Diet Effects on Rat Liver*. [versión electrónica]. Electronic Journal of General Medicine, 11(2), 99-108. Recuperado el 10 de febrero de 2023 en:

<https://www.ejgm.co.uk/article/high-fatty-diet-effects-on-rat-liver-7139>

[35] Knapp, S. (2020). *Mammary glands*. Biology Dictionary. Recuperado el 20 de enero de 2023 en:

<https://biologydictionary.net/mammary-glands/>

[36] Krishna, M. (2013). *Anatomía microscópica del hígado*. Clinical Liver Disease, 2(5), 109-112. Recuperado el 10 de enero de 2023 en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6448680/>

[37] Kucera, O. & Cervinkova, Z. (2014). *Experimental models of non-alcoholic fatty liver disease in rats*. [versión electrónica]. World Journal of Gastroenterology, 20(26), 8364-8376. Recuperado el 11 de febrero de 2023 en:

[https://www.researchgate.net/profile/Zuzana-](https://www.researchgate.net/profile/Zuzana-Cervinkova/publication/263934031_Experimental_models_of_non-alcoholic_fatty_liver_disease_in_rats/links/55310ada0cf2f2a588abd5ae/Experimental-models-of-non-alcoholic-fatty-liver-disease-in-rats.pdf)

[Cervinkova/publication/263934031\\_Experimental\\_models\\_of\\_non-alcoholic\\_fatty\\_liver\\_disease\\_in\\_rats/links/55310ada0cf2f2a588abd5ae/Experimental-models-of-non-alcoholic-fatty-liver-disease-in-rats.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Zuzana-Cervinkova/publication/263934031_Experimental_models_of_non-alcoholic_fatty_liver_disease_in_rats/links/55310ada0cf2f2a588abd5ae/Experimental-models-of-non-alcoholic-fatty-liver-disease-in-rats.pdf)

[38] Lenox, C. & Bauer, J. (2013). *Potential Adverse Effects of Omega-3 Fatty Acids in Dogs and Cats*. [versión electrónica]. Journal of Veterinary Internal Medicine, 27(2), 217-226. Recuperado el 22 de febrero de 2023 en:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jvim.12033>

[39] Li, M., Sloboda, D. & Vickers, M. (2011). *Maternal Obesity and Developmental Programming of Metabolic Disorders in Offspring: Evidence from Animal Models*. [versión electrónica]. Journal of Diabetes Research (ID: 592408). Recuperado el 21 de julio de 2022 en: <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2011/592408/>

[40] Lobstein, T., Brinsden, H. & Nerveux, M. (2022). *World Obesity Atlas 2022*. [versión electrónica]. World Obesity Federation. Recuperado el 06 de noviembre de 2022 en:

[https://www.worldobesityday.org/assets/downloads/World\\_Obesity\\_Atlas\\_2022\\_WEB.pdf](https://www.worldobesityday.org/assets/downloads/World_Obesity_Atlas_2022_WEB.pdf)

[41] Lovera, P. (2015). *Impacto de la obesidad materna de la rata en el proceso de envejecimiento testicular de su cría macho*. [versión electrónica]. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 20 de septiembre de 2022 en:

[https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-21429?func=full-set-set&set\\_number=364333&set\\_entry=000014&format=999](https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-21429?func=full-set-set&set_number=364333&set_entry=000014&format=999)

[42] Lucas, A. & Sampson, H. (2005). *Primary Prevention by Nutrition Intervention in Infancy and Childhood*. Karger. Recuperado el 22 de febrero de 2023 en:

[https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=D0\\_ST07gVnIC&oi=fnd&pg=PA235&dq=excess+of+polyunsaturated+fatty+acid&ots=jcr\\_k8SPMz&sig=ArPJ2jIwP\\_Orld32A6b\\_ik0tTMTU#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=D0_ST07gVnIC&oi=fnd&pg=PA235&dq=excess+of+polyunsaturated+fatty+acid&ots=jcr_k8SPMz&sig=ArPJ2jIwP_Orld32A6b_ik0tTMTU#v=onepage&q&f=false)

[43] Lugo, G. (2021). *Obesidad, epidemia agudizada en México*. [versión electrónica]. Gaceta UNAM. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 10 de noviembre de 2022 en:

<https://www.gaceta.unam.mx/obesidad-epidemia-agudizada-en-mexico/>

[44] Luzardo, I., Dena, J., Ruíz, X., Ocampo, A., Martínez, G., Clapp, C. & Macotela, Y. (2023). *Obesity-derived alterations in the lactating mammary gland: Focus on prolactin*. [versión electrónica]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 559(1). Recuperado el 20 de febrero de 2023 de la base de datos Elsevier en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720722002581>

[45] Mahdi, C., Citrawati, P. & Hendrawan, V. (2020). *Effect of Rice Bran on Trygliceride Levels and Histopatologic Aorta in Rat (Rattus norvegicus) of High Cholesterol Dietary Model*. [versión electrónica]. International Conference on

Chemistry and Material Science, 833: 012022. Recuperado el 09 de febrero de 2023 en: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/833/1/012022/pdf>

[46] *Metabolismo de carbohidratos* (2020). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Recuperado el 01 de enero de 2023 en: [https://fmvz.unam.mx/fmvz/p\\_estudios/apuntes\\_bioquimica/Unidad\\_8.pdf](https://fmvz.unam.mx/fmvz/p_estudios/apuntes_bioquimica/Unidad_8.pdf)

[47] Milona, A., Owen, B., Van Mil, S., Dormann, D., Matak, C., Boudjelal, M., Cairns, W., Schoonjans, K., Milligan, S., Parker, M., White, R. & Williamson, C. (2010). *The normal mechanisms of pregnancy-induced liver growth are not maintained in mice lacking the bile acid sensor Fxr*. [versión electrónica]. *Gastrointestinal and Liver Physiology* 298, 151-158. Recuperado el 09 de febrero de 2023 en: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpgi.00336.2009>

[48] Montalvo, C. (2010). *Técnica histológica*. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 28 de octubre de 2022 en: [https://bct.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2018/08/3\\_tecnica\\_histologica.pdf](https://bct.facmed.unam.mx/wp-content/uploads/2018/08/3_tecnica_histologica.pdf)

[49] Muhlhauser, Beverly, S., Ailhaud & Gerard, P. (2013). *Omega-6 polyunsaturated fatty acids and the early origins of obesity*. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*, 20(1), 56-61. Recuperado el 20 de febrero de 2023 en: [https://journals.lww.com/co-endocrinology/Fulltext/2013/02000/Omega\\_6\\_polyunsaturated\\_fatty\\_acids\\_and\\_the\\_early.12.aspx](https://journals.lww.com/co-endocrinology/Fulltext/2013/02000/Omega_6_polyunsaturated_fatty_acids_and_the_early.12.aspx)

[50] Museo de Ecología Humana (2022). *Estrategias vitales altricial y precocial*. Recuperado el 19 de noviembre de 2022 en: <https://museoecologiahumana.org/obras/estrategias-reproductivas-altriciales-y-precociales/>



**[51]** National Geographic España. (2022) *La diferencia entre epidemia y pandemia*. Recuperado el 10 de noviembre de 2022 en:  
[https://www.nationalgeographic.com.es/ciencia/diferencia-entre-epidemia-y-pandemia\\_15297](https://www.nationalgeographic.com.es/ciencia/diferencia-entre-epidemia-y-pandemia_15297)

**[52]** National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. (2023). *Resistencia a la insulina y la prediabetes*. Recuperado el 15 de febrero de 2023 en la base de datos NIH en:  
<https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/diabetes/informacion-general/que-es/resistencia-insulina-prediabetes#:~:text=el%20rango%20normal.-%2C%20BFQu%20es%20la%20resistencia%20a%20la%20insulina%3Fglucosa%20entre%20las%20c%20lulas>

**[53]** Organización Mundial de la Salud (OMS). (2022). *Obesity and overweight*. Recuperado el 18 de agosto de 2022 en:  
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

**[54]** Parks, B., Sallam, T., Mehrabian, M., Psychogios, N., Hui, S., Norheim, F., Castellani, L., Rau, C., Pan, C., Phun, J., Zhou, Z., Yang, W., Neuhaus, I., Gargalovic, P., Kirchgessner, T., Graham, M., Lee, R., Tontonoz, P., Gerszten, R., Hevener, A. & Lusi, A. (2015). *Genetic Architecture of Insulin Resistance in the Mouse*. [versión electrónica]. *Cell Metabolism*, 21(2), 334-346. Recuperado el 11 de febrero de 2023 en:  
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4349439/#:~:text=Along%20with%20large%20variations%20in,female%20mice%20\(Figure%20S1A\)](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4349439/#:~:text=Along%20with%20large%20variations%20in,female%20mice%20(Figure%20S1A))

**[55]** Peniche, L. (2021). *Bioquímica Clínica*. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México.

**[56]** Portal Académico. (2022). *Triglicéridos*. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 26 de diciembre de 2022 en:  
<https://e1.portalacademico.cch.unam.mx/alumno/quimica2/unidad2/grasas/trigliceridos>

**[57]** Ramírez, A., Buntinx, S. (2020). *Metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. Recuperado el 01 de enero de 2023 en:  
[https://amaltea.fmvz.unam.mx/textos/alimenta/MET\\_CHO\\_LIP\\_PRO2.pdf](https://amaltea.fmvz.unam.mx/textos/alimenta/MET_CHO_LIP_PRO2.pdf)

**[58]** Ramírez, V., Bautista, R., Frausto, O., Rodríguez, N., Tena, E. & Bautista C. (2022). *Developmental Programming in Animal Models: Critical Evidence of Current Environmental Negative Changes*. [versión electrónica]. Society for Reproductive Investigation 2022. Recuperado el 14 de noviembre de 2022 en:  
<https://doi.org/10.1007/s43032-022-00999-8>

**[59]** Rivera, J., Colchero, M., Fuentes, M., et. al. (2018). *La obesidad en México*. Instituto Nacional de Salud Pública. México. Recuperado el 14 de mayo de 2022 de:  
<https://www.insp.mx/avisos/4884-laobesidadmexico.html>

**[60]** Rodríguez, G., Reyes, L., Bautista, C., Beltrán, A., Ibañez, C., Vega, C., Lomas, C., Castro, D., Elías, A., Nathanielsz, P. & Zambrano, E. (2019). *Maternal obesity accelerates rat offspring metabolic ageing in a sex dependent manner*. [versión electrónica]. *The Journal of Physiology*, 597(23), 5549-5563. Recuperado el 13 de mayo de 2022 en:  
<https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1113/JP278232>

**[61]** Rodríguez, R. (1965). *Anabolismo y catabolismo. Consideraciones generales. Factores nutricionales y hormonales*. *Revista de la Facultad de Medicina, UNAM*, 10(10). Recuperado el 26 de diciembre de 2022 en:  
<https://www.revistas.unam.mx/index.php/rfm/article/view/73523>

[62] Romero, T. (2014). *Intervención con resveratrol en la obesidad materna de la rata: beneficio en el metabolismo de las crías*. [versión electrónica]. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 20 de septiembre de 2022 en:

[https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-22970?func=full-set-set&set\\_number=364333&set\\_entry=000019&format=999](https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-22970?func=full-set-set&set_number=364333&set_entry=000019&format=999)

[63] Ross, M. & Desai, M. (2014). *Developmental Programming of Offspring Obesity, Adipogenesis, and Appetite*. Recuperado el 21 de julio de 2022 en la base de datos NIH en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4191824/>

[64] Santos, M. (2015). *La obesidad materna en la rata programa negativamente la calidad espermática y función reproductiva de la cría macho: beneficios del ejercicio como mecanismo de intervención*. [versión electrónica]. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 20 de septiembre de 2022 en:

[https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-22219?func=full-set-set&set\\_number=364333&set\\_entry=000017&format=999](https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-22219?func=full-set-set&set_number=364333&set_entry=000017&format=999)

[65] Santos, S. (2017). *Tinción Hematoxilina-Eosina*. Trabajo de fin de Máster. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Educación a Distancia.

[66] Secretaría de Salud. (2015). *Intervenciones de prevención y promoción de la salud para el sobrepeso y obesidad*. Recuperado el 12 de noviembre de 2022 en: <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/intervenciones-de-prevencion-y-promocion-de-la-salud-para-el-sobrepeso-y-obesidad>

[67] Shiwei, L., Ruixue, D., Yaru, W., Fang, D., Jiabin, Z., Xin, L., Shenghui, G., Meimei, W., Oi, Z., Yuanbin, L. & Naishi, L. (2018). *Effects of Vaspin on Insulin*

*Resistance in Rats and Underlying Mechanisms*. Scientific Reports 8, 13542.

Recuperado el 11 de febrero de 2023 en:

<https://www.nature.com/articles/s41598-018-31923-3>

**[68]** Sibulesky, L. (2013). *Anatomía normal del hígado*. National Library of Medicine.

Recuperado en la base de datos NCBI el 01 de enero de 2023 en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6519334/>

**[69]** Simian, M. (2002). *La morfogénesis de la glándula mamaria del ratón: rol de las metaloproteasas*. [versión electrónica]. Tesis de Doctorado. Universidad de Buenos Aires.

Recuperado el 12 de febrero de 2023 en:

[https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis\\_n3517\\_Simian.pdf](https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n3517_Simian.pdf)

**[70]** Simón, E. & Del Barrio, A. (2002). *Leptina y obesidad*. Departamento de

Nutrición y Bromatología, Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco, 25(1), 53-64.

**[71]** Sivitz, W., Walsh, S., Morgan, D., Thomas, M. & Haynes, W. (1997). *Effects of Leptin on Insulin Sensitivity in Normal Rats*. [versión electrónica]. Oxford Academic

Endocrinology, 138(8), 3395-3401. Recuperado el 07 de febrero de 2023 en:

<https://academic.oup.com/endo/article/138/8/3395/2988152>

**[72]** Sutton, E., Gilmore, L., Dunger, D., [et. al.]. (2017). *Developmental Programming: State-of-the-Science and Future Directions*. [versión electrónica].

HHS Public Access, 24(5), 1018-1026. Recuperado el 13 de mayo de 2022 de la base de datos NCBI en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4846483/pdf/nihms760370.pdf>

**[73]** Vargas, J. (2020). *Parámetros bioquímicos y sanguíneos de la rata de laboratorio (Rattus norvegicus): revisión de la literatura*. Revista Peruana de

Medicina Integrativa, 5(1), 33-35. Recuperado el 07 de febrero de 2023 en:

<https://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/rmb/article/view/927>

[74] Vdovíaková, K., Petrovová, E., Kresaková, L., Maloveská, M., Teleky, J., Jencová, J., Zivcak, J. & Jenca, A. (2016). *Importance Rat Liver Morphology and Vasculature in Surgical Research*. Medical Science Monitor 22, 4716-4728. Recuperado el 08 de febrero de 2023 en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5153322/#:~:text=The%20rat%20liver%20is%20the%20most%20cranial%20structure%20on%20the,of%20the%20total%20body%20weight>

[75] Verdín, S., Moreno, L., Rojo, N., García, A., Omaña, M., Meneses, A. & Nieto, O. (2013). *Histología e Inmunohistoquímica. Manual de métodos*. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 5 de noviembre de 2022 en:

<https://antares.iztacala.unam.mx/papime/wp-content/uploads/2014/10/Histologia1.pdf>

[76] Vilchis, R. (2022). *Efecto intergeneracional de la obesidad materna en rata, inducida por dieta rica en grasa, sobre la proporción de células beta maduras e inmaduras de los islotes pancreáticos de la descendencia*. [versión electrónica]. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 20 de septiembre de 2022 en:

[https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-17528?func=full-set-set&set\\_number=364273&set\\_entry=000002&format=999](https://tesiunam.dgb.unam.mx/F/7C7A1XSVSVMXEMCQ8DQ7FSL4FS5SEFTJYB2PJXUIF14QXYSCLD-17528?func=full-set-set&set_number=364273&set_entry=000002&format=999)

[77] Yusuf, K. & Hussain, S. (2022). *Anatomy. Mammary gland*. Recuperado el 17 de enero de 2023 de la base de datos NCBI en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547666/>

**[78]** Zambrano, E., Martínez, P., Rodríguez, G. & Nathanielsz, P. (2010). *Dietary intervention prior to pregnancy reverses metabolic programming in male offspring of obese rats*. [versión electrónica]. *The Journal of Physiology*, 588(10), 1791-1799. Recuperado el 13 de mayo de 2022 de la base de datos NCBI en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2887995/pdf/tjp0588-1791.pdf>

**[79]** Zambrano, E., Rodríguez, G., Reyes, L., Bautista, C., Castro, D., Juárez, G., Ibáñez, C., Hernández, A., Nathanielsz, P., Montaña, S., Arredondo, A., Huang, F. & Bolaños, F. (2021). *DHA Supplementation of Obese Rats throughout Pregnancy and Lactation Modifies Milk Composition and Anxiety Behavior of Offspring*. [versión electrónica]. *Nutrients*, 13(12). Recuperado el 22 de febrero de 2023 en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8706754/>

# 11. APÉNDICE A.

## Procedimiento para la preparación de la dieta alta en grasa.

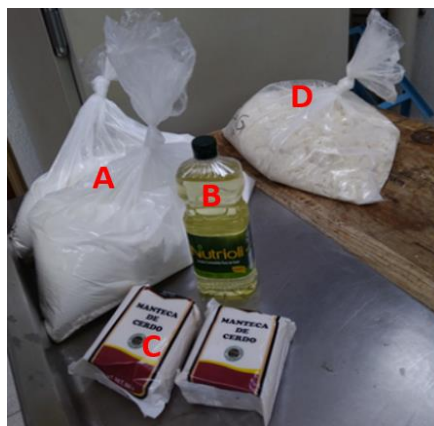
### Ingredientes en polvo:

- 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 clorhidrato, de Sigma Aldrich®.
- $\alpha$ - Celulosa, de Sigma Aldrich®.
- Almidón de maíz, de Droguería Cosmopolita® S.A. de C.V.
- Azúcar refinada, de Great Value®.

### Ingredientes grasos:

- Aceite comestible puro de soya Nutrioli®, de Ragasa Industrias S.A. de C.V.
- Manteca de cerdo, de JC Fortes®.

La apariencia física de los ingredientes en polvo, los ingredientes grasos y la dieta obesogénica terminada se puede apreciar en la **Figura A1**.



**Figura A1: Ingredientes utilizados para la formulación de la dieta obesogénica.** A) Mezcla de ingredientes en polvo antes del mezclado con los

ingredientes grasos. B) Aceite de soya. C) Manteca de cerdo. D) Dieta hiperlipídica después del mezclado. *MA Pérez.*

#### **Procedimiento de fabricación:**

- 1) Se pesaron los ingredientes en polvo en las cantidades adecuadas para mantener el contenido nutricional especificado en el protocolo experimental (**Tabla 1, Metodología**). Para ello, se empleó una balanza granataria (Ohaus®, modelo 30428199) y el mezclado de los polvos se realizó en una bolsa de polietileno mediante la formación de un cono.
- 2) Se adicionó la mezcla de polvos junto con el aceite de soya en un mezclador de paletas (**Figura A2**), y se llevó a cabo un primer mezclado durante 5 min a velocidad de 1,425 rpm.
- 3) Con agitación constante, se adicionó la manteca de cerdo y se mezcló durante 5 min más.
- 4) La apariencia final de la dieta es la de una masa homogénea cuya consistencia debe ser la adecuada para ser roída por los animales. De ser necesario, se continúa con el mezclado durante otros 5 min.
- 5) Las preparaciones se almacenaron en bolsas de polietileno opacas, a una temperatura de 4°C y con un período de almacenamiento no mayor a un mes.



**Figura A2: Preparación de la dieta obesogénica** con ayuda de un mezclador de paletas (Hobart, modelo A-200, capacidad de 20 L). *MA Pérez.*



## 12. APÉNDICE B.

### Fundamento de la tinción H&E.

Para la realización de esta técnica, el primer paso es la **fijación** del tejido de interés inmediatamente después de haber sido extraído del organismo en estudio [65]. El agente fijador más utilizado es la solución de formol al 4% [48], la cual está preparada a partir de una solución de formaldehído al 37% diluida con solución buffer de fosfatos (PBS). El formol se utiliza como fijador ya que mantiene íntegra la estructura celular de los tejidos, deteniendo el ciclo de vida de las células y evitando el comienzo de los procesos autolíticos [48]; de esta manera, los ácidos nucleicos y las proteínas mantienen su capacidad para reaccionar con compuestos específicos en los siguientes pasos de la técnica [65].

Posteriormente, se lleva a cabo un proceso de **deshidratación**, en donde el objetivo es remover el agua presente en los tejidos fijados y que estos se endurezcan. Los agentes deshidratantes más utilizados son: etanol, isopropanol y cloroformo, con los cuales se preparan soluciones de concentraciones crecientes en las que se infiltrará el tejido de interés [48]. No obstante, la dureza lograda con este paso no es la suficiente como para obtener secciones delgadas al cortar los tejidos con una navaja (de 3 a 10  $\mu\text{m}$  de grosor), por lo que se requiere de un paso de **inclusión**, en donde los tejidos son colocados en una determinada sustancia que tenga la capacidad de infiltrarse en su estructura para dar soporte y formar un bloque homogéneo en cuanto a dureza y consistencia [48, 75]. Los agentes de inclusión más utilizados pueden ser compuestos hidrofílicos (carbowax, glicol metacrilato, gelatina) o hidrofóbicos (parafina, celoidina u otro tipo de resina) [48]. En el caso de este procedimiento experimental, se utilizó parafina en estado líquido, ya que es la forma en que ésta puede penetrar al interior de los tejidos y con la cual se han obtenido mejores resultados.

Una vez que se han formado los bloques de parafina y, subsecuentemente se han cortado en finas secciones de 5  $\mu\text{m}$  de grosor, los cortes se montan en portaobjetos tratados previamente con etanol absoluto y poli-L lisina (**Figura B1**). El uso del etanol en este paso tiene como objetivo remover la suciedad y/o la grasa que pudiera estar presente en la laminilla y que es ajena al tejido estudiado, mientras que la poli-L lisina se utiliza como agente adherente, es decir, es un compuesto con la capacidad de modificar las cargas superficiales de la laminilla y, de esta manera, fijar los cortes para evitar que se desprendan o se modifique su estructura celular al someterlos a los siguientes pasos de la técnica [75].

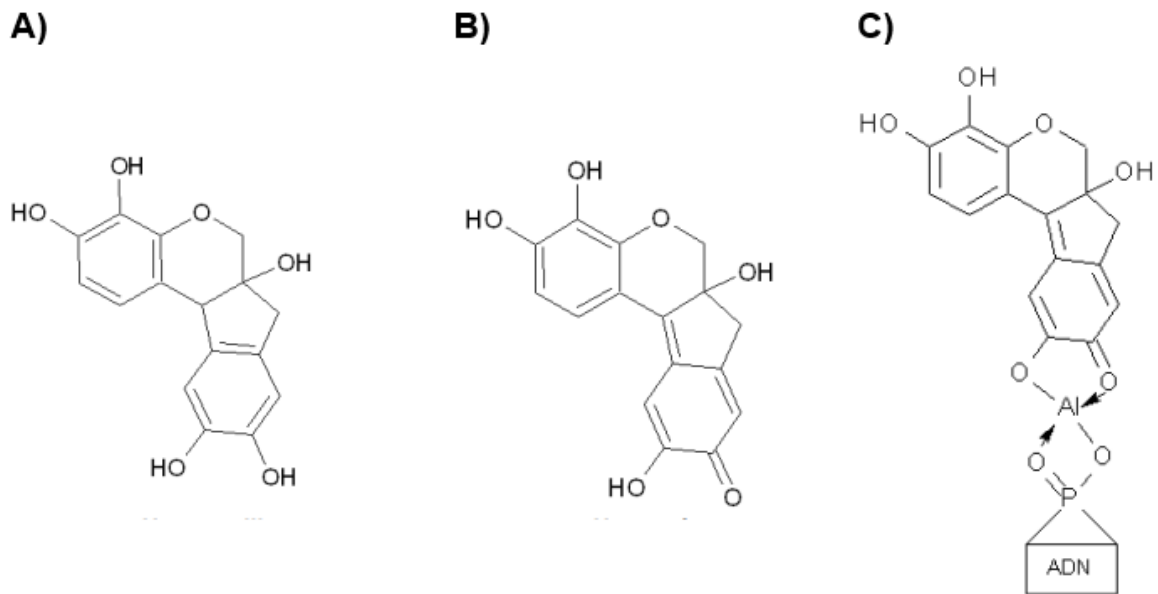


**Figura B1: Ejemplo de cortes montados en portaobjetos de vidrio.** En la fotografía se pueden apreciar cortes de 5  $\mu\text{m}$  de grosor correspondientes al hígado del grupo Control (CTR) (señalados con flecha roja). *MA Pérez.*

Después, se lleva a cabo un proceso de **desparafinado**, en donde la parafina tiene que ser eliminada de los tejidos para que las soluciones acuosas puedan penetrar e interactuar con las estructuras celulares [65]. Para ello, se calientan los cortes a 60-65  $^{\circ}\text{C}$  (que es el punto de fusión de la parafina) y se lavan con xilol.

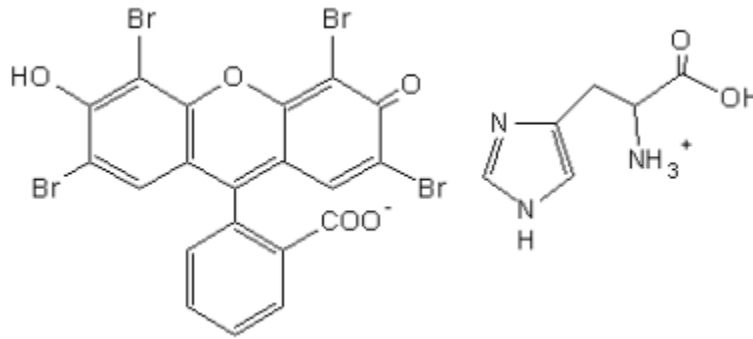
El siguiente paso es una **rehidratación** de los tejidos, con el objetivo de drenar el xilol; para ello se utilizan soluciones de concentraciones decrecientes de etanol (100, 95 y 75%) [48]. Posteriormente, los cortes son sumergidos en **hematoxilina de Harris**, que es una sustancia acidófila empleada como colorante primario en esta técnica; este colorante es un preparado comercial compuesto por la forma oxidada

de la hematoxilina (conocida como **hemateína**) (**Figura B2 A y B**) y sales de aluminio. El aluminio es un ion que en este caso actúa como mordente, ya que se coordina con la estructura de la hemateína y entonces le ayuda a formar enlaces covalentes con los grupos fosfato presentes en los ácidos nucleicos (**Figura B2 C**) [65]. De esta manera, cuando se lleva a cabo la microscopía, se pueden apreciar los núcleos celulares de color violeta.



**Figura B2: Estructuras químicas de interés en la tinción con hematoxilina.** A) Hematoxilina. B) Hemateína (forma oxidada de la hematoxilina). C) Compuesto de coordinación formado entre la hemateína, iones aluminio y los grupos fosfato presentes en el ácido desoxirribonucleico (ADN). *Figura tomada de: [65] Santos (2017).*

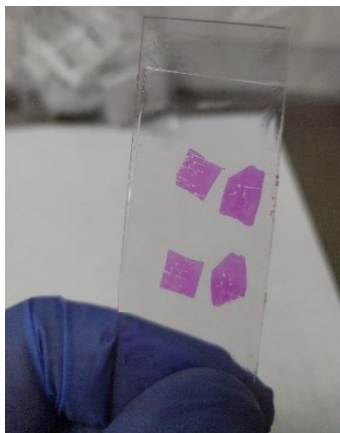
El exceso de colorante es lavado con agua desionizada y etanol al 100% y entonces los cortes se sumergen en solución de **eosina**, la cual es una sustancia basófila empleada como colorante de contraste. Al ser un colorante aniónico, la eosina es atraída por los grupos amino (cargados positivamente) de los residuos de histidina, arginina y lisina presentes en las proteínas del tejido en estudio, por lo que se pueden apreciar de color rojo/rosa al mirarlas a través de un microscopio [65] (**Figura B3**).



**Figura B3: Estructuras químicas de interés en la tinción con eosina.** Interacción entre la molécula de eosina y un residuo protonado de histidina. *Figura tomada de: [65] Santos (2017).*

Los tejidos son lavados con agua desionizada y etanol al 100% y se sumergen en etanol al 95%, con el objetivo de eliminar el exceso de agua, la cual podría refractar la luz y generar interferencias al momento de realizar la microscopía [65].

Finalmente, se lleva a cabo un paso de **aclarado**, en donde los tejidos son sumergidos en xilol (el cual actúa como agente limpiador y aumenta el coeficiente de refracción del tejido) y se realiza un **sellado**, donde las muestras son cubiertas con cubreobjetos y sellador para protegerlas de la contaminación y/o descomposición, de tal manera que se puedan utilizar infinidad de veces sin deteriorarse [48, 65] (**Figura B4**).



**Figura B4: Ejemplo de cortes teñidos por H&E.** En la fotografía se pueden apreciar cortes de hígado del grupo Control (CTR) después de ser teñidos con la técnica de hematoxilina y eosina. *MA Pérez.*

## 13. APÉNDICE C.

Participación del proyecto en congresos.



UVM

**13** **CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN**  
Innovación e Investigación con impacto global.

Extiende el presente

# Reconocimiento

a

## Miguel Alejandro Pérez Moreno

Por su participación con la ponencia **“Efectos adversos sobre la función del hígado y glándula mamaria de la rata por el consumo de una dieta alta en grasa durante la gestación.”** en el marco del XIII Congreso Internacional de Investigación celebrado en UVM Campus Villahermosa del 6 al 8 de octubre de 2022.

Villahermosa, Tabasco; 8 de octubre de 2022.

**“Por siempre responsable de lo que se ha cultivado”**

  
\_\_\_\_\_  
**Mtro. Natanael Flores Amaya**  
Rector UVM Campus Villahermosa

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Gerardo A. Dubcovsky**  
Vicerrector

13



# CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN

Innovación e Investigación con impacto global.

Extiende el presente

## Reconocimiento

a

**Claudia Janet Bautista Carbajal**

Por haber obtenido el 1er lugar con su ponencia  
**"Efectos adversos sobre la función del hígado y la glándula mamaria de la rata por el  
consumo de una dieta alta en grasa durante la gestación."**  
en el marco del "XIII Congreso Internacional de Investigación"  
celebrado en UVM Campus Villahermosa del 6 al 8 de octubre de 2022.

Villahermosa, Tabasco; 8 de octubre de 2022.

"Por siempre responsable de lo que se ha cultivado"

**Mtro. Natanael Flores Amaya**  
Rector UVM Campus Villahermosa

**Dr. Gerardo A. Dubcovsky**  
Vicerrector



Asociación Mexicana de Investigadores  
de los Institutos Nacionales de Salud y  
Hospitales de Alta Especialidad, A.C.



AMIINSHAE

Otorga la siguiente Constancia a:

*PÉREZ-MORENO MA, RAMÍREZ V Y BAUTISTA CJ*

Por su participación con el trabajo: *Efecto de la obesidad materna sobre la función del hígado, glándula mamaria y tejido adiposo de la rata durante la gestación.* en el VI Congreso AMIINSHAE llevado a cabo en el Instituto Nacional de Pediatría los días 1 y 2 de diciembre.

Presidencia Colegiada AMIINSHAE, A.C.



Dra. Mayra Chávez Courtois



M. en C. Gerardo Barragán Mejía

Comité Organizador VI Congreso AMIINSHAE, A.C.



Dra. Marisela Méndez Armenta



MIBB. Adriana Castillo Villanueva

CDMX, DICIEMBRE 2022.