



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**EFFECTO DE UNA DIETA “DE CAFETERÍA” SOBRE LA EXPRESIÓN CIRCADIANA
DE GLUCOSA, TRIGLICÉRIDOS Y EL METABOLISMO ENERGÉTICO EN LA RATA**
PROYECTO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:
DULCE JOCELYN BUSTAMANTE VALDEZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. PILAR DURÁN HERNÁNDEZ
Facultad de Ciencias, UNAM

COMITÉ TUTOR:

Dra. Marcia Hiriart Urdanivia
Instituto de Fisiología Celular, UNAM
Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez
Facultad de Ciencias, UNAM

Ciudad Universitaria, CD. MX. FEBRERO, 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**EFFECTO DE UNA DIETA “DE CAFETERÍA” SOBRE LA EXPRESIÓN CIRCADIANA
DE GLUCOSA, TRIGLICÉRIDOS Y EL METABOLISMO ENERGÉTICO EN LA RATA**
PROYECTO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:
DULCE JOCELYN BUSTAMANTE VALDEZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. PILAR DURÁN HERNÁNDEZ
Facultad de Ciencias, UNAM

COMITÉ TUTOR:

Dra. Marcia Hiriart Urdanivia
Instituto de Fisiología Celular, UNAM
Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez
Facultad de Ciencias, UNAM

Ciudad Universitaria, CD. MX. FEBRERO, 2024

COORDINACIÓN GENERAL DE ESTUDIOS DE POSGRADO
COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
OFICIO: CGEP/CPCB/FC/0074/2024

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 17 de abril de 2023 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Biología Experimental** de la estudiante **BUSTAMANTE VALDEZ DULCE JOCELYN** con número de cuenta **307145114** con la tesis titulada **"EFECTO DE UNA DIETA "DE CAFETERIA" SOBRE LA EXPRESIÓN CIRCADIANA DE GLUCOSA, TRIGLICÉRIDOS Y EL METABOLISMO ENERGÉTICO EN LA RATA."**, realizada bajo la dirección de la **DRA. PILAR DURÁN HERNÁNDEZ**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: **DR. ADOLFO ANDRADE CETTO**
Vocal: **DRA. ELENA ZAMBRANO GONZÁLEZ**
Vocal: **DR. RAÚL ANTONIO AGUILAR ROBLERO**
Vocal: **DRA. LORENA AGUILAR ARNAL**
Secretario: **DRA. MARCIA HIRIART URDANIVIA**

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 23 de enero de 2024

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA

c. c. p. Expediente del alumno
AGNS/AAC/GEMF/EARR/mnm



Agradecimientos Institucionales

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, por haberme dado la oportunidad de continuar con mi formación académica.

Al CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS (CONAHCYT) por la beca con el CVU 775204 proporcionada, así como a los proyectos Académicos-PAPPIT-AI207419 y IA207521.

A los miembros de mi comité tutor por todo el apoyo brindado:

Dra. Pilar Durán por fungir como directora de tesis de este proyecto y guiarme en el desarrollo de este a pesar de todos los retos, por su apoyo incondicional que me ha mostrado como alcanzar todos mis objetivos y cumplir mis sueños académicos, profesionales y personales.

A la Dra. Marcia Hiriart Urdanivia y al Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez por todo su apoyo, observaciones y aportaciones a este proyecto, fueron parte fundamental para su realización.

Agradecimientos a título personal

Agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México por mi formación académica, por la calidad y oportunidad de los conocimientos recibidos.

Al laboratorio de Biología Animal Experimental (LBAE) por el espacio para desarrollarme.

A mis padres, quienes han sido mi inspiración y mi aliento para seguir adelante en cada paso doy, Dulce María y Marco Antonio, quienes me han enseñado a no rendirme jamás y que cada sueño con esfuerzo y dedicación se vuelve realidad.

A mis hermanos Carlos, Jacquelyn y Jéssica quienes han sido mi pilar de apoyo y quienes comparten ese gran gusto de aventurarnos en nuevos retos, además de siempre impulsarme a alcanzar mis metas y acompañarme a cada paso.

A Valeria Z. Y Vanessa Z. quienes me han enseñado que siempre se puede lograr un sueño por pequeño que sea, y quienes desde muy pequeñas me acompañaron e impulsaron a ser cada día mejor.

A los miembros del jurado por su retroalimentación, observación y aportaciones a este proyecto.

A la Dra. Pilar Durán por apoyarme a cada día dentro y fuera de las aulas, por ser un ejemplo para seguir y por alentarme a siempre dar lo mejor de mí y por todo el tiempo y ayuda brindada.

Al Dr. Martin Alejandro Fuentes Cano, por compartir sus conocimientos conmigo, el apoyo técnico en el análisis de muestras, el análisis estadístico y sobre todo en por sus observaciones y aportaciones a este proyecto.

Al Dr. Alonso Martínez Canabal por todo su apoyo, tiempo, conocimientos y los sabios consejos que me brindo siempre para realizar este proyecto, además por enseñarme el mundo de las neurociencias.

Al Dr. Josué Orlando Ramírez Jarquín, quien ha sido un apoyo incondicional tanto académico como moralmente, por todo su apoyo incondicional en la realización de este trabajo, por sus valiosas aportaciones y sobre todo por el apoyo en el análisis estadístico.

Al M. en C. Sebastián Ricardo Zúñiga Lagunes por su valioso apoyo en el análisis de muestras y análisis estadístico.

Al Biol. Jesús Salvador González Ruano por su valioso apoyo técnico en el mantenimiento de organismos, y el análisis de muestras, así como la retroalimentación continua de este trabajo.

A Angela Renata Jiménez Pérez, por el apoyo para realizar este escrito y la retroalimentación brindada que fue fundamental para desarrollar este proyecto. Por tantos cafés juntas, y por siempre impulsarme a continuar.

Alma Delia Chávez Arrieta y María Nayeli Ortega Villegas por todo su apoyo técnico y acompañamiento en la realización de este proyecto.

Miriam García una gran amiga y confidente, quien comparte conmigo esta gran aventura de crecer y luchar por nuestros sueños, quien ha compartido conmigo la loca idea de ser científicas.

A Horacio Carranza quien me acompañó e impulsó para concluir este trabajo, por todos sus consejos para realizar este proyecto.

Paula Zepeda por siempre estar ahí y el apoyo incondicional para la realización de este trabajo.

A Noé López por el apoyo incondicional que me brinda a cada día

A Grecia y Balam, quienes me ha acompañado en este largo camino y me han brindado un aliento y un impulso para ser mejor a cada día, por cada risa, tarde de trabajo y sobre todo por apoyarme siempre.

A mis compañeros de laboratorio, por todas esas aventuras descubriendo el mundo de la ciencia, por compartir día a día sus aprendizajes y sobre todo por su apoyo en cada registro, toma de muestra análisis de resultados y por nunca dejarme vencer.

Por último, pero no menos importante a mis alumnos, Daniela, Javier, Ana, Diana, Fatima y Gretel por siempre impulsarme a mejorar y acompañarme en cada momento.

Dedicatoria

A mi yo del pasado por no rendirse, a mi yo del presente porque lo sigue intentando, a mi yo del futuro porque siempre busque seguir adelante para cumplir sus metas y objetivos.

A mis padres y hermanos por ser ese ejemplo e impulso y por apoyar siempre mis sueños.

A mi abue que siempre me dijo “estudia mucha hija”, te la dedico hasta el cielo.

ÍNDICE

índice de Figuras

Índice de Tablas

Abreviaturas

I. Resumen.....	1
I. Abstract	2
1. Introducción	3
2. Antecedentes	7
2.1. Malnutrición perinatal en mamíferos	7
2.2. Periodos críticos del desarrollo en el cerebro de mamíferos	8
2.3. Programación metabólica DOHaD	12
2.4. Los ritmos circadianos y el metabolismo energético en mamíferos.....	13
2.4.1. El sistema circadiano en mamíferos.....	14
2.4.2. Los osciladores periféricos y el metabolismo energético	17
2.4.3. Patrones rítmicos del metabolismo energético	19
3. Planteamiento del problema	21
4. Hipótesis.....	21
5. Objetivos	22
5.1. General.....	22
5.2. Objetivos particulares	22
6. Materiales y método	23
6.1. Animales.....	23
6.2. Dietas.....	24
6.2.1. Dieta control (Lab Diet)	24
6.2.2. Protocolo de Malnutrición (dieta de cafetería “DCa”).....	24
6.3. Cruza de las ratas	27
6.4. Curvas de crecimiento.....	27
6.5. Parámetros morfométricos.....	27
6.6. Consumo de alimento	28
6.7. Análisis de parámetros plasmáticos.....	28

6.7.1.	Ritmo diario de triglicéridos y glucosa	28
6.7.2.	Concentración plasmática de insulina.....	29
6.7.3.	Índice de HOMA (Modelo de Evaluación Homeostática).....	29
6.7.4.	Prueba de tolerancia a la glucosa (PTG).....	29
6.8.	Análisis de los datos	30
7.	Resultados	31
7.1.	Curvas de crecimiento.....	31
7.2.	Consumo de alimento	34
7.3.	Parámetros morfométricos	36
7.4.	Triglicéridos totales	38
7.4.1.	Ritmo diario de triglicéridos para machos	38
7.4.2.	Ritmo diario de triglicéridos para hembras.....	41
7.5.	Glucosa	44
7.5.1.	Ritmo diario de glucosa para machos	44
7.5.2.	Prueba de tolerancia a la glucosa en machos	47
7.5.3.	Ritmo diario de glucosa para hembras.....	49
7.5.4.	Prueba de tolerancia a la glucosa en hembras	51
7.6.	Insulina	53
7.7.	Resistencia y sensibilidad a la insulina	54
8.	Discusión	56
9.	Conclusiones.....	65
10.	Perspectivas	66
11.	Referencias Bibliograficas	67

Índice de Figuras

Figura 1.	Periodos críticos del desarrollo del cerebro en mamíferos.....	11
Figura 2	Parámetros del ritmo.....	14
Figura 3	Reloj circadiano en mamíferos.....	15
Figura 4	Los osciladores periféricos y el metabolismo energético en mamíferos	18
Figura 5	Diseño experimental.....	24
Figura 6	Peso corporal.....	32
Figura 7	Talla corporal.....	33
Figura 8	Consumo de alimento.....	35
Figura 9	Parámetros morfométricos.....	37
Figura 10	Perfil diario de triglicéridos en plasma de machos.....	39
Figura 11	Perfil diario de triglicéridos en plasma de hembras.....	42
Figura 12	Perfil diario de glucosa en plasma de machos.....	46
Figura 13	Prueba de tolerancia a la glucosa de machos.....	48
Figura 14	Perfil diario de glucosa en plasma de hembras.....	50
Figura 15	Prueba de tolerancia a la glucosa de hembras	52
Figura 16	Concentraciones plasmáticas de insulina.....	54
Figura 17	HOMA-RI.....	55

Índice de tablas

Tabla I.	Composición nutrimental de las dietas.....	26
Tabla II.	Parámetros del ritmo de triglicéridos para machos.....	40
Tabla III.	Parámetros de ritmo de triglicéridos para hembras.....	43
Tabla IV.	Parámetros del ritmo de glucosa para machos.....	46
Tabla V.	Parámetros del ritmo de glucosa para hembras.....	50

Abreviaturas

ABC	Área bajo la curva
Bmal	Gen reloj Bmal (Brain and muscle arnt-like protein, por sus siglas en inglés)
BMAL	Proteína del gen reloj Bmal
CA	Circunferencia Abdominal
CCG	Genes controlados por reloj (clock-controlled genes por sus siglas en inglés)
CEARC	Comisión de Ética Académica y Responsabilidad Científica
Clock	Gen reloj Clock, (circadian locomotor output cycles kaput, por sus siglas en inglés)
CLOCK	Proteína del gen reloj Clock
Co	Control
Cry	Gen reloj Cry (Cryptochrome, por sus siglas en inglés)
CRY	Proteína del gen reloj Cryptochrome
CT	Circunferencia Torácica
DCa	Dieta de cafetería
DOHaD	Los orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad (Developmental Origins of Health and Disease por sus siglas en ingles)
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization of the United Nations)
HOMA-RI	Índice de resistencia a la insulina (Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance, por sus siglas en inglés)
I. Lee	Índice de Lee
Ip	Intraperitoneal
NSQ	Núcleo supraquiasmático
OMS	Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés)
OPS	Organización Panamericana de la Salud

PC	Periodos críticos del desarrollo
Per	Gen Periodo
PER	Proteína del gen Periodo
pn	postnatal
PPARs	Receptores activados por proliferadores de peroxisomas (Peroxisomal proliferator activated receptors por sus siglas en inglés)
PTG	Prueba de tolerancia a la glucosa
RC	Ritmo circadiano
RI	Resistencia a la insulina
SM	Síndrome metabólico
TG	Triglicéridos
TyG	Índice Triglicéridos y glucosa
UNICEF	Fondo De las Naciones Unidas para la Infancia (United Nations Children's Fund por sus siglas en inglés)
ZT	Tiempo del sincronizador (Zeitgeber Time por sus siglas en inglés)

I. Resumen

La nutrición adecuada en etapas fundamentales del desarrollo está relacionada con cambios en el corto y largo plazo de la vida postnatal, la malnutrición materna juega un papel crucial en el desarrollo funcional, lo que resulta en alteraciones fisiológicas, cognitivas, conductuales y metabólicas. Estudios epidemiológicos, así como en modelos animales han contribuido al análisis del entendimiento de las alteraciones asociadas al estilo de vida, particularmente una mala nutrición, por ejemplo, en modelos animales se ha estudiado que el consumo de una “*dieta de cafetería*” (alta en carbohidratos y baja en proteínas) durante etapas tempranas del desarrollo en mamíferos se han relacionado con alteraciones en la memoria, el sobrepeso, el síndrome metabólico, y otras alteraciones metabólicas. Sin embargo, pocos estudios han relacionado estas modificaciones a lo largo de la vida de los organismos, así como sus implicaciones y expresiones circadianas.

En los mamíferos, el control central del ritmo circadiano es fundamental para una correcta interacción con el medio ambiente y regulación fisiológica. La exposición a la malnutrición durante el desarrollo del sistema nervioso central y sistemas periféricos programa el metabolismo energético a lo largo de la vida. En el presente estudio se evaluó en ratas de la cepa *Sprague Dawley* el efecto de la malnutrición perinatal (durante la gestación y la lactancia) inducida por una dieta de cafetería, en el cual se muestra que una mala nutrición perinatal puede programar alteraciones metabólicas en ventanas temporales, en la juventud (40 días) y en la adultez (90 días) de la descendencia macho y hembra. Las concentraciones plasmáticas de glucosa y triglicéridos se evaluaron en 6 puntos temporales (ZT) durante 24 horas, adicionalmente se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa en ZT4 y ZT20.

Los resultados muestran que las crías de madres malnutridas presentan menor peso, talla, circunferencia abdominal y torácica, así como alteraciones en el ritmo circadiano de glucosa y triglicéridos (en la amplitud, fase y periodo), asociados con un cambio en la tolerancia a la glucosa, la sensibilidad a la insulina, y alteraciones en las concentraciones de estos en diferentes puntos temporales (actividad y reposo).

En conclusión, la malnutrición perinatal debido a una dieta de cafetería produce respuestas maladaptativas y programa el metabolismo energético en varias etapas de desarrollo durante la vida predisponiendo a la descendencia a presentar alteraciones metabólicas en diferentes etapas de la vida.

Palabras clave: malnutrición perinatal, programación metabólica, periodos críticos, ritmo circadiano, dieta de cafetería

I. Abstract

Adequate nutrition during critical periods of development is related to changes in the short and long term in postnatal life. Maternal malnutrition plays a critical role in the functional development of the progeny, leading to physiological, cognitive, metabolic, and behavioral consequences. Epidemiological and animal model studies had contributed to the understanding of the impairments between lifestyle and development, particularly with malnutrition. Previous studies in animals exposed to a cafeteria diet during gestation and lactation have shown disruptions in learning and memory processes, as well as obesity, metabolic syndrome, and other metabolic disorders. However, fewer studies report long-term consequences and how malnutrition during gestation alters circadian rhythms. In mammals, central control of the circadian rhythm is essential for proper interaction with the environment and physiological regulation of the organism. Exposure to malnutrition during the development of the central and peripheral nervous system also shapes energy metabolism throughout life. In the present project, we evaluated the consequences of a “cafeteria diet” (hypercaloric-hipoprotein diet) during a perinatal period (gestation and lactation). Results indicate that perinatal malnutrition can dictate metabolic disruptions in short-term windows, specifically during adolescence and adulthood, in both female and male rats. Plasmatic levels of glucose and triglycerides were evaluated, both in 6 time periods (ZT), in addition, we run an intraperitoneal glucose tolerance test (PGT) at 2 time points (one at activity and one at rest).

Results showed that offspring of malnourished mothers have lower weight, height, abdominal and thoracic circumferences as well as disturbances on the circadian rhythm of glucose and triglycerides, mainly related to changes in glucose tolerance, insulin sensitivity, and glucose concentrations at different time points. Therefore, perinatal malnutrition due to a cafeteria diet produces maladaptive responses, programming the energy metabolism at various stages of development during life.

Key words: Perinatal malnutrition, metabolic programming, critical periods, circadian rhythms, cafeteria diet.

1. Introducción

La nutrición es uno de los factores primordiales para el desarrollo óptimo de los organismos. Una buena nutrición está dada por una dieta suficiente y equilibrada. Lo cual es un elemento fundamental para la buena salud. Por el contrario una mala nutrición puede aumentar la vulnerabilidad a las enfermedades, así como alterar el desarrollo físico y mental de los organismos (OMS, 2020).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) la “malnutrición” se refiere a las deficiencias, excesos o desequilibrios en la ingesta de energía y/o nutrientes que son esenciales para el crecimiento, el desarrollo físico y cognitivo (FAO, 2021). La malnutrición engloba el sobrepeso, la obesidad y la desnutrición, estas tres problemáticas alimentarias y su coexistencia es llamada como “doble carga de la malnutrición”, a nivel mundial es uno de los mayores problemas sanitarios, con una alta prevalencia en la población. Por lo cual la malnutrición, en cualquiera de sus formas, conlleva riesgos considerables para la salud (OMS, 2022).

Las repercusiones en el desarrollo, las consecuencias de índole económica, social y médica de la carga mundial de la malnutrición son graves y duraderas, para las personas, sus familias, comunidades y países. Actualmente, a nivel mundial se enfrenta una doble carga que incluye la desnutrición y la alimentación en exceso, afecciones que se observan en mayor porcentaje en países en vías de desarrollo y aquellos con ingresos medianos y bajos, por lo tanto, combatir las diferentes formas de esta es uno de los mayores problemas sanitarios. Las mujeres, los lactantes, los niños y los adolescentes son las poblaciones más vulnerables ante la malnutrición (OMS, 2021).

El informe de la organización Panamericana de la Salud (OPS) que reúne información de países como Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Perú, Venezuela y México indica que los alimentos ultraprocesados, las bebidas azucaradas y la comida rápida, brindan una calidad nutricional pobre, pero de fácil acceso debido a la reducción de los costos lo cual ha incrementado su consumo (OPS, 2019). Según el reporte Niños, alimentos y nutrición México presenta un doble reto nutricional, la desnutrición afecta significativamente a la región sur del país, el sobrepeso y/u obesidad la región norte extendiéndose por el resto del territorio mexicano. Las principales causas de una malnutrición en cualquier etapa de la vida

son los malos hábitos de alimentación y el estilo de vida, los cuales pueden tener efecto desde edades muy tempranas hasta adultos mayores; la sobrenutrición y desnutrición contribuyen al deterioro de la salud en madres, lactantes y niños pequeños, así como al desarrollo físico y cerebral deficiente en los jóvenes y adultos (UNICEF, 2019).

El Fondo de las Naciones Unidas para la infancia (UNICEF por sus siglas en inglés-*United Nations Children's Fund*) ha reportado que la malnutrición afecta a los niños, niñas y adolescentes en México de distintas maneras. La malnutrición en etapas tempranas como la infancia tiene efectos en diversas etapas de la vida, por ejemplo, talla baja, desarrollo insuficiente del sistema inmunológico, así como el favorecimiento de enfermedades cardiovasculares y metabólicas.

La mala cantidad y calidad de la dieta que se consume en diferentes etapas de la vida conlleva a efectos adversos, en particular se ha reportado que las mujeres en edad reproductiva, lactantes y los niños son un grupo vulnerable a la malnutrición, la optimización de la nutrición al comienzo de la vida (particularmente durante la gestación y los primeros dos años de un infante) repercute en la calidad nutricional y de salud para esté a largo plazo (OMS, 2018).

Estudios epidemiológicos como en modelos animales han contribuido al análisis del entendimiento de las alteraciones metabólicas asociadas al estilo de vida, particularmente en modelos animales se ha demostrado que las condiciones tempranas como la nutrición y especialmente la malnutrición en cualquiera de sus formas (desnutrición o sobrenutrición) han demostrado ser una de las causas de la prevalencia de aparición de alteraciones metabólicas en edades juveniles y adultas (Colombo et al., 2019; Gomez-Smith et al., 2016). La mala nutrición intrauterina y temprana juega un papel crucial en los períodos críticos del desarrollo embrionario y fetal funcional, lo que resulta en alteraciones en la vida posnatal, un desequilibrio en calidad, cantidad y tiempo de la ingesta de alimento puede repercutir en la nutrición de los individuos en el corto, mediano y largo plazo (Morgane et al., 1993; Morgane et al., 2002).

Según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) dentro de las causas inmediatas de la malnutrición en edades tempranas se incluyen la alimentación inadecuada en cantidad o calidad y el cuidado inadecuado del niño, que depende para su adecuada alimentación y salud del cuidado parental (ENSANUT, 2018).

El estilo de vida materno es capaz de modular el fenotipo, el desarrollo y comportamiento de la descendencia, por lo tanto, la malnutrición materna, inducida por un equilibrio inadecuado de nutrientes durante el embarazo y/o la lactancia, no solo es un factor de riesgo para la madre, sino también para el feto en crecimiento, ya que puede alterar el desarrollo del comportamiento (Ribeiro et al., 2018; Trujillo-Villarreal et al., 2021); y programar el metabolismo energético de la descendencia (Mucellini et al., 2014; Saengnipanthkul et al., 2021), afectando la salud y la susceptibilidad a enfermedades en etapas posteriores de la vida. La malnutrición materna incrementa el riesgo de desarrollar enfermedades o alteraciones entre ellas las de origen metabólico (Bustamante-Valdez, 2015), en humanos se han realizado estudios epidemiológicos que muestran que la malnutrición durante la gestación y los primeros dos años de vida tienen efectos adversos sobre la salud y el desarrollo de capacidades (ENSANUT, 2012, 2018; Fall, 2013; Wilkins et al., 2021). En modelos animales se ha reportado que la nutrición deficiente durante etapas temprana de la vida puede ser una condición previa para que los individuos adultos desarrollen patologías metabólicas, como aumento en la adiposidad, obesidad, hiperglucemia, alteraciones en la sensibilidad a la insulina y la homeostasis lipídica, así como cambios en los mecanismos moleculares de regulación de la homeostasis metabólica (Dudele et al., 2012; George et al., 2019; Lecoutre et al., 2016; Martin et al., 2018; Morimoto et al., 2012).

En modelos animales se han estudiado alteraciones metabólicas producto de una malnutrición por la ingesta de una dieta denominada “*dieta de cafetería*” (DCa), la cual consiste en alimentos palatables para humanos, con alto contenido de grasas o azúcares, bajo contenido proteico y valor energético que estimulan el consumo de la dieta (Gomez-Smith et al., 2016; Rothwell & Stock, 2009).. La malnutrición materna a causa de la ingesta de una DCa durante la gestación y/o lactancia programa el desarrollo de la descendencia, a través de cambios de posible origen epigenético, alterando el crecimiento, desarrollo de las crías, así como la homeostasis energética (Bautista et al., 2016; George et al., 2019; Pomar et al., 2017).

Diversos parámetros metabólicos presentan una distribución temporal que se repite aproximadamente cada 24 horas, denominados ritmos circadianos (RC), estos son los responsables de mantener una periodicidad endógena de la conducta, la fisiología y el metabolismo (Rijo-Ferreira & Takahashi, 2019). En los mamíferos, el sistema circadiano está

organizado de manera jerárquica, se compone por un reloj central o marcapasos central ubicado en el núcleo supraquiasmático (NSQ) en el hipotálamo anterior, y este a su vez regula los relojes periféricos distribuidos en diversos órganos como el hígado, el páncreas y el tejido adiposo (Honma, 2018).

Se ha reportado que la DCa en etapas fundamentales para el desarrollo de la descendencia como la gestación y la lactancia modifica la expresión circadiana de parámetros metabólicos como la glucosa, insulina, leptina y la corticosterona a corto plazo (Bustamante-Valdez, 2015).

Sin embargo, existen pocos estudios que exploren la persistencia de los efectos sobre la programación del metabolismo energético y su expresión circadiana en diferentes etapas de la vida de la descendencia. Por lo cual es importante evaluar cuáles son los efectos que genera un ambiente adverso provocado por una dieta de cafetería durante periodos críticos del desarrollo como la gestación y lactancia sobre el balance energético de parámetros metabólicos, así como su ritmicidad circadiana en el corto y mediano plazo, aunado a esto la mayoría de los estudios se han realizado en machos, debido a ello es importante establecer si existen diferencias sexuales en la programación metabólica y su ritmicidad circadiana por una malnutrición materna.

2. Antecedentes

2.1. Malnutrición perinatal en mamíferos

En los mamíferos el desarrollo perinatal es fundamental para un óptimo crecimiento y función de los organismos. El ambiente intrauterino y el periodo de lactancia proporcionan a las crías el entorno de nutrientes estableciendo una programación metabólica (la cual se describe en un capítulo posterior), estos periodos pueden ejercer influencia sobre el individuo y prevalecer en diferentes etapas de la vida (Colombo et al., 2019).

El estado nutricional durante etapas tempranas del desarrollo como la gestación y el periodo postnatal temprano son primordiales para un óptimo crecimiento anatomofuncional de la descendencia, por ejemplo, una mala nutrición materna en cualquiera de sus formas (desnutrición o sobrenutrición) representa un entorno deficiente de nutrientes para la descendencia, la cual favorece respuestas adaptativas que se reflejan en la fisiología y conducta de la prole incrementando el riesgo de enfermedades metabólicas (George et al., 2019).

Estudios epidemiológicos y en modelos animales han relacionado una mala nutrición materna en etapas tempranas de desarrollo como la gestación y la lactancia con predisposición a enfermedades metabólicas en la descendencia en edades adultas (Fall, 2013; Morimoto et al., 2012), debido a que el balance energético es crucial para los procesos metabólicos, los desequilibrios se han asociado a diversas enfermedades o padecimientos, por ejemplo, la obesidad, diabetes, intolerancia a la glucosa o síndrome metabólico (Serin & Acar Tek, 2019).

Durante la gestación la madre tiene diferentes cambios que optimizan sus recursos energéticos y brindan los necesarios a la prole, la mala nutrición materna durante la gestación y la lactancia induce cambios en el desarrollo de la descendencia y estos pueden presentarse en edades tempranas, así como prevalecer hasta la vida adulta, los cuales se modifican según la etapa de la vida durante la cual fueron expuestos (Forgie et al., 2020).

Diversos estudios en modelos animales con una malnutrición en diferentes etapas de la vida han demostrado modificaciones fisiológicas y metabólicas, en 2012 Morimoto y cols demostraron que la exposición a una dieta baja en proteínas durante la gestación y/o la lactancia en ratas programa el metabolismo energético de la insulina, predisponiendo a la

descendencia a presentar disminución a la tolerancia a la glucosa e incrementando la susceptibilidad a la diabetes en edades adultas (Morimoto et al., 2012).

En roedores se han evaluado los efectos de una dieta alta en calorías en diferentes etapas de la vida, mostrando que la calidad de la dieta es primordial en etapas tempranas. Se ha reportado que la dieta de cafetería (la cual se caracteriza por ser alta en calorías y baja en proteínas) durante la lactancia impacta el metabolismo energético tanto de la madre como de la descendencia, debido a que es una etapa crítica para el desarrollo, en la cual la mala nutrición materna desencadena respuestas adaptativas como la ganancia de peso en comparación con un grupo bien nutrido, así como los niveles de triglicéridos, e incrementando las respuestas de ansiedad evaluadas en pruebas conductuales (Guedine et al., 2018), mayor acumulación de grasa, hiperleptinemia, así como una respuesta alterada a pruebas de tolerancia a la glucosa (Pomar et al., 2017; Vithayathil et al., 2018).

Los cambios metabólicos y fisiológicos generados por la malnutrición materna durante periodos críticos del desarrollo conllevan respuestas desadaptativas sexo-específicas a lo largo de la vida de la descendencia, por ejemplo, la exposición a la restricción de alimento materno se ha asociado con una menor adiposidad en las hembras, e hiperleptinemia en machos (Howie et al., 2012), por otra parte, la dieta de cafetería materna durante la gestación incrementa la adiposidad e insulina plasmática en machos no así en hembras, aunque estas últimas presentan mayores concentraciones plasmáticas de triglicéridos (George et al., 2019).

2.2. Periodos críticos del desarrollo en el cerebro de mamíferos

El desarrollo del cerebro de los mamíferos es un proceso complejo, dinámico y adaptativo, que está regulado por diversos factores, entre ellos genéticos, bioquímicos y ambientales, estos procesos interactúan para dar curso a los acontecimientos que definen el desarrollo cerebral (Stiles & Jernigan, 2010). En los mamíferos este proceso se lleva a cabo en un periodo perinatal, el cual comienza antes del nacimiento y puede continuar en el periodo postnatal prolongado, en conjunto la expresión génica y los factores ambientales son esenciales para el correcto funcionamiento del cerebro, así como del organismo *per se*.

En la figura 1 se observa la comparación de los principales eventos del neurodesarrollo en la rata y el humano, los cuales muestran que las ventanas temporales de los procesos se

desarrollan en un periodo específico, al que se le denomina, periodo crítico (PC), estas ventanas temporales de mayor plasticidad representan periodos que no pueden ser revertidos o repetidos posteriormente, es una capacidad de reorganización en fases temporales únicas de desarrollo en la adaptación al medio ambiente (Dehorter & Del Pino, 2020; Morgane et al., 1993; Morgane et al., 2002).

Tanto la expresión génica, así como los factores ambientales son esenciales para el desarrollo y funcionamiento adecuado del cerebro, las alteraciones en cualquiera o ambos de los factores provocan modificaciones en el neurodesarrollo, fisiología y conducta del organismo (Stiles & Jernigan, 2010). Insultos durante estas ventanas temporales podría desencadenar cambios adaptativos pero irreversibles generando un déficit funcional permanente. Tanto la edad, duración y severidad en la que el insulto se produce son factores que influyen en la adaptación del neurodesarrollo.

Los circuitos neuronales que se forman son consecuencia de los factores genéticos y ambientales durante los periodos críticos del desarrollo, esto permite a los organismos adaptarse a los retos del medio (Reh et al., 2020). La nutrición es un factor primordial para el establecimiento de las vías de señalización y diferenciación de circuitos neuroendocrinos que controlan el equilibrio energético (Reynolds et al., 2017). El desarrollo normal del cerebro requiere un ajuste temporal entre la maduración intrínseca y las influencias ambientales; dentro de estas últimas se encuentra el estilo de vida, el cual incluye una nutrición adecuada en calidad y cantidad (Morgane et al., 1993; Ribeiro et al., 2018).

El cerebro particularmente el hipotálamo es el centro de la regulación homeostática del metabolismo energético, integrando señales periféricas de ingesta de alimento y saciedad, modulando el metabolismo, el gasto energético, la secreción de insulina y la regulación de la glucosa y ácidos grasos, entre otras funciones. Las redes neuronales especializadas en el cerebro coordinan los cambios adaptativos en la ingesta de alimentos y el gasto de energía en respuesta al metabolismo alterado (Catalano, 2010).

En la figura 1 además los periódicos críticos, se observa que tanto en la rata como en el humano las ventanas temporales son comparables debido a que el desarrollo de ambos organismos es muy similar, lo que hace idóneo a la rata como unidad experimental en estudios relacionados a los periodos críticos del desarrollo. Los estudios en animales han modelado las influencias de los factores ambientales durante la gestación y el periodo

postnatal temprano sobre desarrollo del sistema nervioso, la conducta, el metabolismo y la fisiología de la descendencia en etapas adultas (Castrogiovanni & Ibesi, 2017; Colombo et al., 2019).

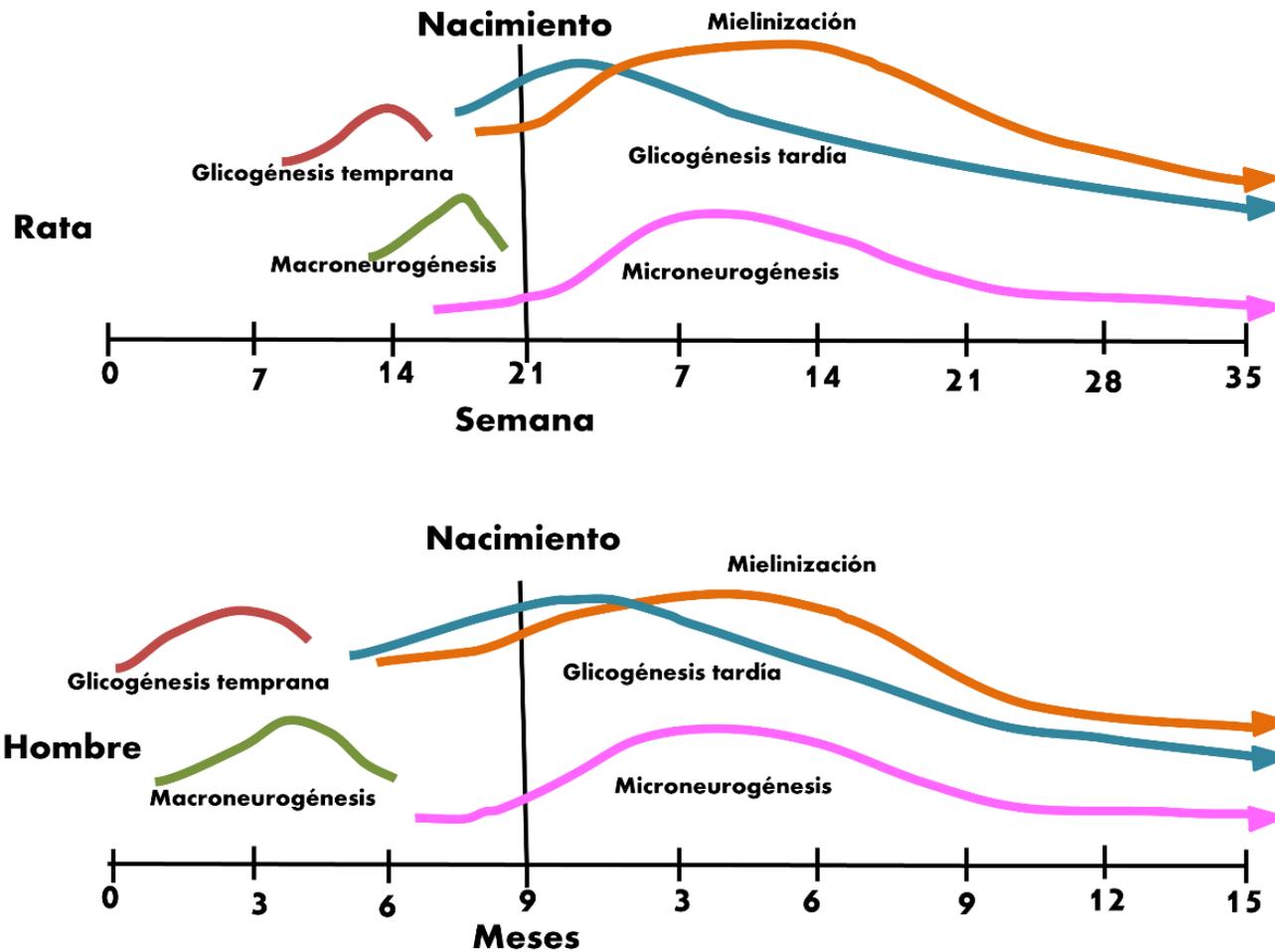


Figura 1. Periodos críticos del desarrollo del cerebro en mamíferos. Comparación de los principales eventos del desarrollo en el cerebro de ratas y humanos. Los eventos de desarrollo se muestran en relación con el nacimiento, lo que proporciona información sobre las ventanas críticas del desarrollo vinculadas con eventos específicos de maduración. Las flechas en la mielinización, glicogénesis tardía y curva de microneurogenesis indican su continuación durante periodos prolongados postnatales (*modificado de Morgane, 2002*).

2.3. Programación metabólica DOHaD

El ambiente en el que crece un organismo en las etapas tempranas como la gestación y la lactancia es fundamental para un desarrollo óptimo, en las últimas décadas se han realizado estudios en este campo en particular. Las investigaciones en los orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad (DOHaD, por sus siglas en inglés) profundizan sobre los efectos de la salud, la nutrición, el ambiente intrauterino y la programación en la descendencia. Las ventanas temporales críticas en el desarrollo pueden verse impactadas por diversos factores, entre ellos se encuentra el estilo de vida, en particular el estado nutricional de la madre antes, durante y después de la gestación es un factor clave para el desarrollo y crecimiento de la descendencia (Daher-Abdi et al., 2021).

Los orígenes evolutivos de la salud y la enfermedad también conocido como programación del desarrollo, metabólica o nutricional proponen que la nutrición fetal tiene efectos permanentes sobre el crecimiento, las estructuras y el metabolismo energético, en la cual se propone que se sensibiliza a la descendencia a presentar consecuencias adaptativas a los retos del medio, llevando a desarrollar enfermedades metabólicas a través de mecanismos epigenéticos, generando cambios a largo plazo en la conducta y la homeostasis energética (Fall, 2013).

El efecto más estudiado es la relación de la nutrición materno-neonato sobre la programación del síndrome metabólico en la vida postnatal de la descendencia programando cambios estructurales y funcionales (Morimoto et al., 2012). Estudios en ratas han demostrado que la restricción calórica o proteica durante la gestación y lactancia predispone a la descendencia macho, y particularmente a las hembras al retraso en el crecimiento, así como alteraciones en la sensibilidad a la insulina, el metabolismo de la glucosa y triglicéridos (Zambrano et al., 2006), así mismo incrementa la predisposición a la obesidad, hiperfagia e hipertrofia de adipocitos al ser expuestas a dietas hipercalóricas en etapas posteriores con mayor facilidad que organismos bien nutridos durante el desarrollo temprano (Bieswal et al., 2006).

La malnutrición también puede programar el metabolismo energético y su ritmicidad circadiana. Los efectos de la dieta sobre el ritmo circadiano implican un ajuste entre factores como los horarios de las comidas y los nutrientes (Henry et al., 2020). Las alteraciones en los ritmos perjudican el metabolismo e influyen en la patogenia de enfermedades metabólicas.

2.4. Los ritmos circadianos y el metabolismo energético en mamíferos

Las oscilaciones periódicas presentes en los organismos que se repiten aproximadamente cada 24 horas se denominan “ritmos circadianos” (del latín *circa*, que significa “alrededor de” y *dies*, que significa “día”) (Honma, 2018), estos participan en la coordinación de diversos procesos bioquímicos, fisiológicos y conductuales, proporcionando a los organismos una sincronización temporal con su medio externo, permitiendo anticipar los cambios ambientales y de esta manera optimizar los recursos (Lowrey & Takahashi, 2011; Partch et al., 2014; Rijo-Ferreira & Takahashi, 2019). Los ritmos circadianos cumplen 4 características: 1) se expresan de manera regular cada 24 horas, 2) son endógenos, es decir se presentan aún en ausencia de señales externas, 3) son sincronizables, por lo cual se ajustan al periodo de una señal externa denominada “*Zeitgeber*” (ZT, dadores de tiempo), 4) presentan compensación a la temperatura, es decir las variaciones térmicas no modifican la duración con que se presenta la oscilación del parámetro biológico (Bass & Takahashi, 2010; Honma, 2018; Lowrey & Takahashi, 2011).

Las oscilaciones presentan parámetros que permiten la evaluación de un ritmo circadiano (Cornelissen, 2014; Poggiogalle et al., 2018) , los cuales se muestran en una representación gráfica en la figura 2.

a las necesidades de un organismo en el momento específico del día (Dibner et al., 2010; Takahashi, 2017).

El mecanismo del reloj está constituido por una maquinaria molecular autosostenida formada por un sistema de retroalimentación negativo transcripcional y traduccional que se basa en cambios dinámicos del estados de la cromatina (figura 3) (Eckel-Mahan & Sassone-Corsi, 2009), estos cambios producen oscilaciones en la expresión de genes y proteínas que en conjunto se denominan reloj molecular, este está presente el NSQ y osciladores periféricos (Bass & Takahashi, 2010; Takahashi, 2017).

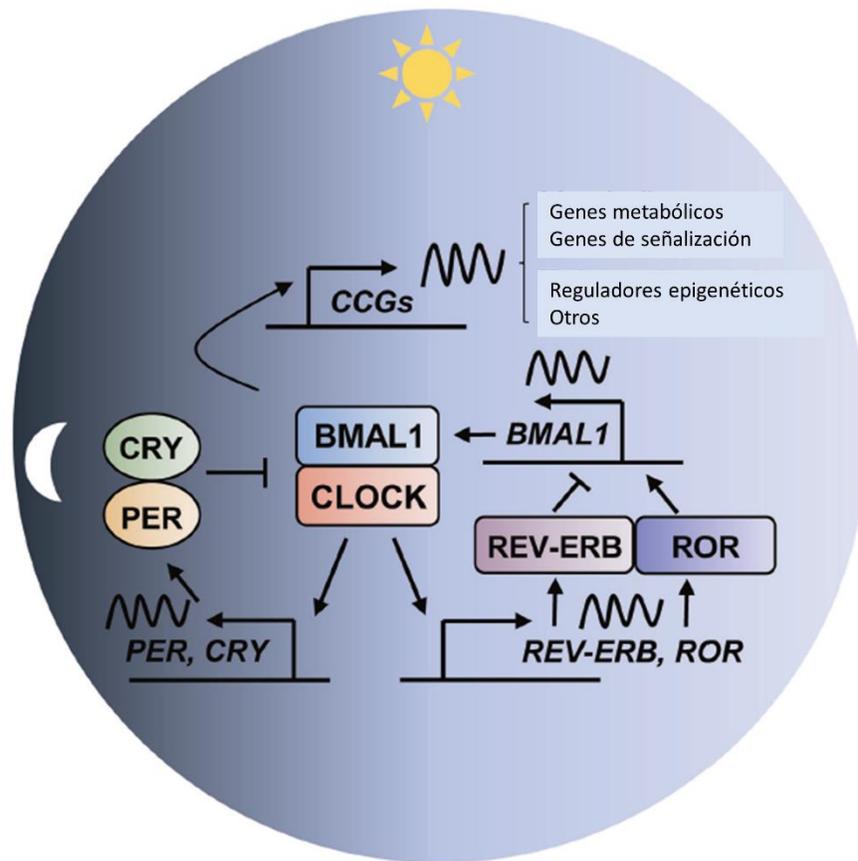


Figura 3: Reloj circadiano en mamíferos. Se muestra el asa de retroalimentación y autorregulación la maquinaria del reloj molecular en mamíferos. El complejo activador transcripcional CLOCK:BMAL, sus represores PER:CRY, REV-ERB α , o activadores ROR α/β , los cuales constituyen el oscilador de reloj molecular que impulsa la transcripción o represión de múltiples genes controlados por reloj (CCG), por ejemplo genes relacionados al metabolismo, a la señalización y reguladores epigenéticos. CLOCK: Circadian Locomotor Output Cycles Kaput, BMAL: Brain and muscle Arnt-like protein; Per: Period; CRY: Cryptochrome (modificado de Lee, 2021).

El núcleo de los genes reloj incluyen al heterodímero formado por los activadores transcripcionales Clock y Bmal y el heterodímero formado por los represores Per y Cry, la

síntesis y traducción de las proteínas CLOCK y BMAL ocurre durante el día, lo que lleva a la transcripción de los genes *Per* y *Cry*. El oscilador central se complementa con un segundo bucle en el que se mantiene la expresión periódica de BMAL por el represor REV-ERB α y el activador ROR. Los niveles de las proteínas PER y CRY aumentan durante la noche, estos dos elementos dimerizan y se translocan al núcleo reprimiendo la transcripción de las proteínas CLOCK y BMAL para reprimir su propia transcripción. Las modificaciones postraduccionales en PER y CRY inducen su degradación, para comenzar un nuevo ciclo (Kondratova & Kondratov, 2012; Y. Lee, 2021).

El reloj circadiano diariamente se somete a resincronizaciones con señales ambientales rítmicas que ocurren rítmicamente llamadas *Zeitgebers*, estos son transmitidos por potenciales de acción al NSQ, a su vez este regula diversos procesos fisiológicos, bioquímicos y conductuales a través de la sincronización de los osciladores periféricos, los cuales se ajustan mediante señales neurales y humorales (Lowrey & Takahashi, 2011).

Además del reloj maestro en el NSQ, casi todas las células del cuerpo presentan un reloj autónomo con la maquinaria del oscilador descrita previamente, generando osciladores autosuficientes en todo el cuerpo, las cuales son sincronizadas y ajustadas por el reloj maestro y denominados osciladores periféricos (Pickel & Sung, 2020). Es importante mencionar que a nivel celular cada célula se rige por su reloj independiente, sin embargo, estas se acoplan para generar un ritmo único para el tejido (oscilador). El mecanismo del reloj molecular se encuentra en el NSQ y los osciladores periféricos se distribuye en el cerebro y los sistemas de órganos periféricos. El núcleo supraquiasmático está ubicado en el hipotálamo, está constituido por 20000 neuronas, su función principal es imponer fase a los osciladores periféricos, mediando así la sincronización periódica de los ritmos con las señales ambientales externas. Esta sincronización se lleva a cabo por la liberación rítmica de neurotransmisores y neuropéptidos desde el NSQ, así como los osciladores periféricos a través de la secreción hormonal sistémica y las inervaciones neurales, coordinando rítmicamente los procesos fisiológicos y conductuales con los cambios ambientales, generando relaciones de fase entre los diferentes procesos biológicos y osciladores periféricos (Honma, 2018; Lee, 2021).

Estudios en modelos animales han mostrado oscilaciones circadianas en la expresión de genes reloj en tejidos como el corazón, pulmones, estómago, hígado, el páncreas y el tejido

adiposo, estos son sincronizados por el oscilador maestro, por lo cual son denominados relojes u osciladores periféricos (Yamamoto et al., 2004).

Entre los procesos regulados por los ritmos circadianos se encuentra el crecimiento celular, procesos fisiológicos y conductuales, que incluyen el ciclo sueño-vigilia, actividad-reposo, alimentación-ayuno, así como la regulación del metabolismo (Pickel & Sung, 2020; Takahashi, 2017); por ejemplo, como se mencionó previamente el principal sincronizador de los mamíferos es la luz, los ciclos luz-obscuridad ajustan diversos procesos fisiológicos y conductuales a un periodo de 24 horas, como los ciclos de actividad y reposo, la ingesta de alimento y el ayuno (Peek et al., 2012), por lo cual la demanda de nutrientes varía a lo largo del día y por ello el metabolismo energético presenta una organización temporal. Las respuestas fisiológicas y conductuales con una expresión cíclica presentan una diferencia sexual, enmarcando un patrón rítmico diferente en amplitud, periodo o fase entre machos y hembras, lo que desencadena respuestas adaptativas diferenciales (Joye & Evans, 2022). En modelos animales, la interrupción del reloj puede conducir a perturbaciones que se han asociado a la prevalencia de diversas enfermedades, como las enfermedades metabólicas (Bass & Takahashi, 2010).

2.4.2. Los osciladores periféricos y el metabolismo energético

Los procesos y reacciones químicas que permiten a los organismos transformar los nutrientes en energía son denominados metabolismo energético, este comprende de una serie de vías interconectadas que permiten la generación de ATP (adenosín trifosfato), la cual es indispensable para el mantenimiento de la homeostasis (Eckel-Mahan & Sassone-Corsi, 2009).

El sistema circadiano organiza el metabolismo en ciclos diarios de 24 horas, de esta manera hay una separación temporal de los procesos metabólicos anabólicos y catabólicos, aumentando la eficiencia metabólica (Brown et al., 2019).

La coordinación de los osciladores periféricos y el NSQ forma una red altamente especializada que brinda temporalidad entre otros procesos fisiológicos al metabolismo energético (figura 4), expresando una oscilación circadiana en diversas moléculas entre ellas

enzimas, hormonas y metabolitos, coordinando diversos procesos biológicos, como la alimentación y la homeostasis metabólica en una oscilación que se repite cada 24 horas (Kohsaka et al., 2007).

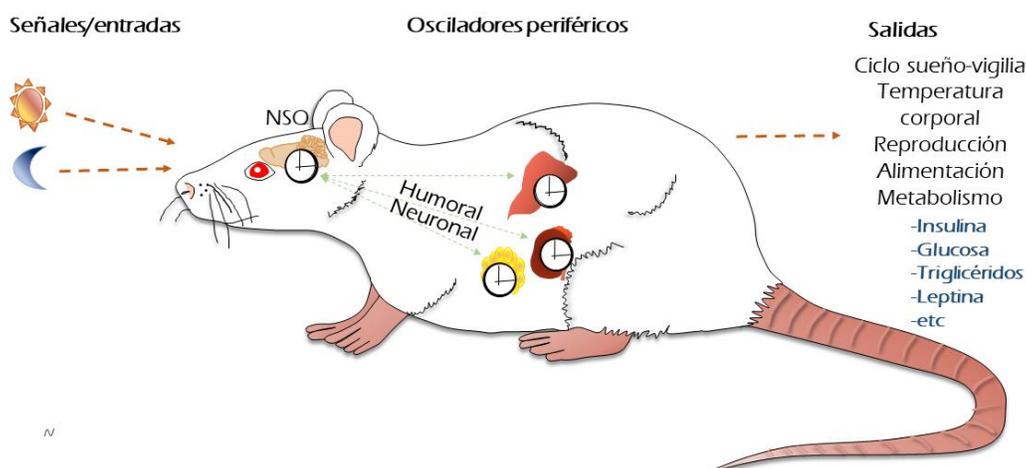


Figura 4: Los osciladores periféricos y el metabolismo energético en mamíferos. El Sistema circadiano en mamíferos se presenta de manera jerárquica, se muestra el núcleo supraquiasmático (marcapaso central) y la recepción de señales ambientales como la luz, la cual se transmite al NSQ y permite sincronizar los relojes con el medio externo. Señales eléctricas y humorales sincronizan los osciladores periféricos como el tejido adiposo, el hígado, la glándula suprarrenal y el páncreas, los cuales a su vez interactúan entre ellos para mantenerse en homeostasis con el medio externo (modificado de Kumar Jha, Challet, & Kalsbeek, 2015).

Los componentes del reloj molecular se relacionan con el metabolismo energético impulsando la liberación o inhibición de diversos reguladores, por ejemplo la glucosa e insulina la cual altera su oscilación en ratones deficientes de *Per2*, mostrando hiperglucemia y una liberación deficiente de insulina y a su vez esto provocó una disminución en la traducción de *Clock* (Zhao et al., 2012), desincronizando los relojes y modulando la transcripción de los genes reloj. Por otra parte, la eliminación del gen *Bmal1* en ratones disminuye la absorción de glucosa, desencadenando la disminución de glucógeno hepático (Onuma et al., 2022).

Por lo tanto, las vías metabólicas son reguladas por la maquinaria molecular de los osciladores periféricos y a su vez se sabe que los elementos del reloj molecular también pueden percibir cambios en el metabolismo (Eckel-Mahan & Sassone-Corsi, 2009).

Diversos tejidos distribuidos en todo el cuerpo llevan a cabo actividades metabólicas, por ejemplo el hígado, el cual tiene un importante papel en la regulación de procesos metabólicos como los ciclos de alimentación, el metabolismo de ácidos grasos (Aguilar-Roblero & Díaz-Muñoz, 2010) y el metabolismo de la glucosa (Gatfield & Schibler, 2008), el hígado también es considerado como un oscilador periférico que presenta oscilaciones de procesos energéticos y adaptaciones metabólicas que incluyen cambios en el manejo de ácidos grasos, glucogenólisis, el estado redox y señalización de receptores nucleares (Aguilar-Roblero & Díaz-Muñoz, 2010), la regulación circadiana del metabolismo hepático juega un papel importante en el almacenamiento y gasto eficiente de los nutrientes, durante los periodos diarios de alimentación y ayuno (Ferrell & Chiang, 2015).

2.4.3. Patrones rítmicos del metabolismo energético

La glucosa es la principal fuente energética de los organismos, y en particular del cerebro, sus niveles deben mantenerse en ciertas concentraciones a lo largo del día para proveer al organismo de la suficiente energía. La glucosa plasmática presenta un ritmo circadiano, la cual alcanza sus máximos niveles cerca del inicio de la fase de actividad, seguido de una disminución gradual al final de esta. Estudios en modelos animales han mostrado que la glucemia está regulada por diversos factores como la alimentación, el ayuno y las reservas en hígado y músculo, así como por el hipotálamo y en particular por el NSQ, La Fleur y cols (1999) mostraron que lesiones en el oscilador maestro muestran una abolición del ritmo circadiano de glucosa (La Fleur et al., 1999). La tolerancia a la glucosa presenta una regulación dada por la sensibilidad a la insulina, esta última muestra un ritmo circadiano que se ve alterado en organismos con lesiones en el NSQ (La Fleur et al., 2001), la interrupción del reloj conduce a trastornos en el metabolismo de la glucosa, lo que confirma el papel de los genes reloj como reguladores clave del metabolismo.

La insulina es una hormona cuya liberación se debe a las células β pancreáticas en respuesta a niveles elevados de nutrientes circulantes, su función es controlar el metabolismo de la glucosa y los lípidos (Olivares y Arellano, 2008).

Los triglicéridos contribuyen a las reservas energéticas de los mamíferos, , estos están regulados por diversas enzimas y reguladores metabólicos, entre ellos los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs – por sus siglas en inglés-), los cuales participan en las vías metabólicas que involucran lípidos y triglicéridos, también se expresan rítmicamente en diversos tejidos periféricos, además de ser reguladores directos de los componentes del reloj molecular. Estudios en modelos animales sugieren que los relojes circadianos y el tiempo de alimentación sincronizan la fase y los niveles de triglicéridos almacenados en el hígado (Adamovich et al., 2014; Chen & Yang, 2014).

El estilo de vida es el principal factor que altera el metabolismo energético, la alimentación inadecuada en cantidad, calidad o tiempo, desajusta la comunicación humoral y/o neuronal de los diferentes tejidos que regulan las vías metabólicas, la interrupción o desfase de las oscilaciones circadianas de los metabolitos influye en enfermedades metabólicas como la resistencia a la insulina, obesidad y diabetes (Adamovich et al., 2014; Poggiogalle et al., 2018), por ejemplo la exposición a una dieta alta en grasas genera una reorganización de vías metabólicas, entre ellos el ritmo circadiano del metabolismo energético de diversas moléculas en el hígado (Eckel-Mahan & Sassone-Corsi, 2013). En 2007 Kohsaka y cols observaron en ratones juveniles que una dieta alta en grasas conduce a cambios en el periodo del ritmo de actividad locomotora y una modificación de la fase del ritmo de alimentación (mayor consumo de alimento durante el día) y atenuación del ritmo de proteínas reloj en hígado y tejido adiposo (Kohsaka et al., 2007).

Estudios recientes han mostrado que la relación entre la maquinaria molecular que regula la expresión circadiana y las señales metabólicas a nivel central o/y periférico pueden verse alteradas por el estilo de vida, en particular por la ingesta de una dieta inadecuada, (Borck et al., 2017).

3. Planteamiento del problema

La nutrición es un factor importante para el desarrollo, crecimiento y salud de los organismos, en la actualidad el aumento en la mala calidad de la dieta se ha relacionado con el estilo de vida, debido a el consumo de alimento altos en carbohidratos y grasas o bajas en proteínas, generando un desbalance en los nutrientes que conlleva a alteraciones fisiológicas, conductuales y metabólicas, así como la temporalidad regulada por los relojes biológicos de estas respuestas a nivel central y periférico.

Se ha descrito que la malnutrición en etapas tempranas del desarrollo predispone a cambios en el metabolismo energético, programando la susceptibilidad a desarrollar alteraciones metabólicas en etapas posteriores diferencialmente entre machos y hembras (Castro et al., 2017; George et al., 2019; Zambrano et al., 2006), aunado a esto, diversos parámetros metabólicos presentan una regulación circadiana que les permite anticipar los cambios y mantener el balance energético así como cambios en la regulación circadiana de los parámetros metabólicos involucrados (Borengasser et al., 2014), a partir de esto, surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuáles son los efectos de una dieta de cafetería durante etapas tempranas del desarrollo (gestación y lactancia) sobre el balance energético de parámetros metabólicos (como la glucosa y los triglicéridos) y su ritmicidad circadiana en el corto y en el largo plazo?

4. Hipótesis

El modelo de malnutrición materna en rata producido por la administración de una dieta de cafetería (hipercalórica/hipoproteínica) durante la gestación y la lactancia programará el metabolismo energético de la descendencia. Modificará la ritmicidad circadiana en específico el periodo, la amplitud y la acrofase de la concentración plasmática de glucosa y triglicéridos. Estos efectos se conservarán tanto en el corto como en el largo plazo sobre la expresión del ritmo diario del metabolismo energético de la progenie presentando diferencias entre machos y hembras.

5. Objetivos

5.1. General

Determinar el efecto de una dieta de cafetería materna en rata sobre el dimorfismo sexual y la expresión del ritmo diario de metabolitos en la progenie juvenil y adulta.

5.2. Objetivos particulares

En las crías macho y hembra:

- Evaluar si la malnutrición perinatal (hipercalórica-hipoproteínica) altera los parámetros del ritmo diario de la concentración de triglicéridos en plasma.
- Evaluar si la malnutrición perinatal (hipercalórica-hipoproteínica) altera los parámetros del ritmo diario de la concentración de glucosa en plasma
- Evaluar si la malnutrición perinatal produce resistencia a la insulina mediante el índice de HOMA y comparar su respuesta en dos puntos temporales (uno de actividad y uno de reposo)
- Evaluar la eficiencia del metabolismo de la glucosa en dos puntos temporales (uno de actividad y otro de reposo)
- Determinar si la malnutrición perinatal altera diferencialmente a machos y hembras a fin de determinar dimorfismo sexual en el metabolismo energético

6. Materiales y método

6.1. Animales

Se emplearon ratas de la cepa *Sprague-Dawley* en edad reproductiva (entre 90 y 120 días) de la colonia del Laboratorio de Biología Animal Experimental de la Facultad de Ciencias de la UNAM, mantenidas con agua y alimento *ad libitum*, bajo condiciones controladas, temperatura ambiental de $21 \pm 1^\circ\text{C}$, en un fotoperiodo 12:12 Luz/Oscuridad (ZT0 = 7 am y ZT12 = 7pm). Todos los procedimientos experimentales fueron realizados bajo las recomendaciones y aprobación del comité de bioética de la Facultad de Ciencias de la UNAM, CEAR (comisión de ética académica y responsabilidad científica), con el número de proyecto PI_2021_02_01 Bustamante.

Las ratas fueron divididas aleatoriamente en 2 protocolos nutricionales, uno alimentado con una dieta estándar para roedores de laboratorio (Co) con un aporte de 4.15 Kcal/g y otro con una dieta de cafetería (hipercalórica-hipoproteica) (DCa) con un aporte de 6.32 Kcal/g (ver la tabla I), por un período de 3 semanas antes del apareamiento y durante los períodos de gestación y lactancia. Ambos grupos se mantuvieron con agua y alimento *ad libitum*. Posteriormente al destete las crías de ambos grupos fueron alimentadas con dieta estándar para roedores de laboratorio por un período de 3 semanas antes del apareamiento y durante los períodos de gestación y lactancia. Posteriormente fueron alimentadas con dieta estándar para roedores de laboratorio.

En la figura 5 se presenta el diseño experimental del presente trabajo, el cual se detalla en los siguientes párrafos.

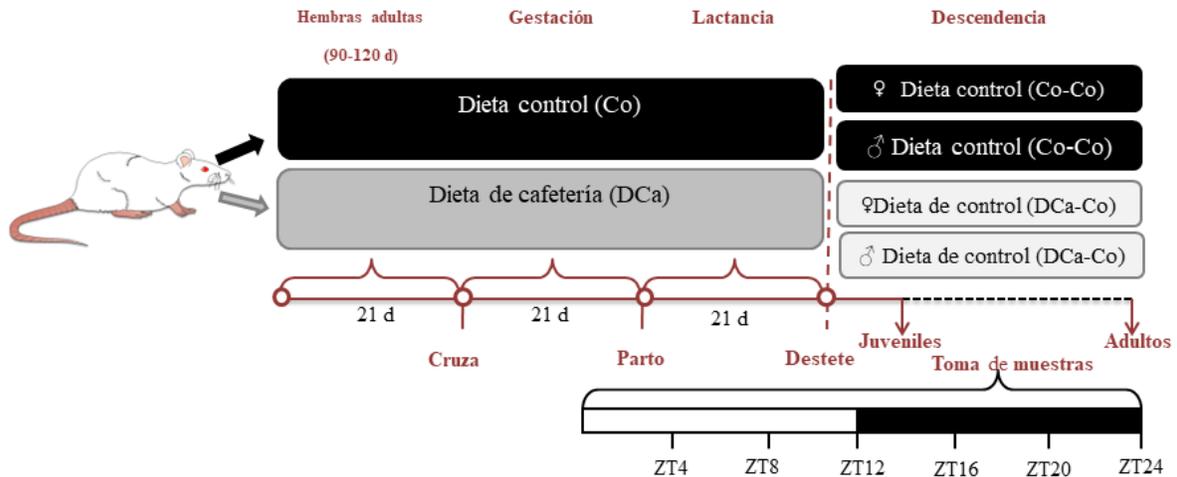


Figura 5. *Diseño experimental.* Los recuadros negros hacen referencia al grupo control y los grises al grupo con malnutrición. **Co**, alimentado con dieta control, **DCa** indica alimentación con dieta de cafetería. **DCa-Co** indica a las crías de madres alimentadas con DCa durante la gestación y lactancia y con dieta control después de destete. **Co-Co** se refiere a las crías alimentadas con dieta control durante la gestación, lactancia y posdestete. La línea punteada vino indica el destete (y cambio de dieta para el grupo DCa a dieta estándar para roedores de laboratorio). La barra inferior muestra los 6 puntos temporales de las tomas de muestras para la evaluación del ritmo de los parámetros metabólicos (en cada punto temporal las ratas presentaban 4 horas de ayuno).

6.2. Dietas

6.2.1. Dieta control (Lab Diet)

El grupo control (Co) fue alimentado con la dieta estándar para roedores de laboratorio *Lab Diet* 5008 (recomendada durante la gestación y la lactancia) con un aporte energético de 4.15 Kcal/g (carbohidratos 50.3%, proteínas 23.6%, grasas 6.7%, cenizas 6.1%, fibra cruda 3.3% y humedad 10%), esta fue administrada durante la gestación y la lactancia. Posterior al destete se administró una dieta estándar para roedores de laboratorio *Lab Diet* 5001 (la cual es recomendada para el ciclo de vida de los roedores de investigación).

6.2.2. Protocolo de Malnutrición (dieta de cafetería “DCa”)

Al grupo alimentado con una dieta de cafetería (hipercalórica-hipoproteínica) se le administró una dieta formulada con los siguientes componentes: se consideró como base la dieta *Lab Diet* 5008 y se le adicionó leche condensada, pan de caja, chocolate, galletas, coco

seco, papa hervida y manteca vegetal (Bustamante-Valdez, 2015), con un aporte de energía bruta de 6.32 Kcal/g (carbohidratos 67.16%, proteínas 8.78%, grasas 13.73%, cenizas 2.58%, fibra cruda 0.65% y humedad 7.1%)¹, esta dieta fue proporcionada durante 3 semanas antes de la cruce, durante la gestación y lactancia, posterior al destete se administró una dieta estándar para roedores de laboratorio *Lab Diet 5001*.

¹ Para determinar la composición nutrimental de la dieta de cafetería se realizó un análisis químico proximal en la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNAM.

Tabla I. Composición nutricional de los componentes de la dieta de cafetería

Componente	Gramos Empleados	Contenido energetico (g/100) (Kcal)	Carbohidratos totales (g/100)	Proteínas (g/100)	Grasas totales (g/100)	Fibra (g/100)	Sodio (g/100) (mg)	Azucares (g/100)
Pan de caja (Bimbo®)	139	244	48.6	7.1	2.4	1.7	339	4
Leche condensada (Nestlé®)	375	330	55.5	7.6	5	0	0.217	59
Chocolate (Procali®)	250	551	63	2	32	0	120	27
Galleta (Gamesa®)	80	142	29	2	6	1	140	10
Coco seco (Verde Valle®)	250	432	41.9	3.1	28	9.9	285	36.8
Manteca vegetal (Inca®)	100	894	1.2	0	98.8	0	2	0
Papa cocida	250	120	7	0	0	1.7	170	0

6.3. Cruza de las ratas

Posterior a las 3 semanas de malnutrición de las hembras DCa, ambos grupos fueron colocados en cajas de acrílico individuales, conservando el protocolo de nutrición y las condiciones ambientales. Se realizaron frotis vaginales para determinar la fase del ciclo estral e identificar el proestro, una vez registrado se colocó un macho sexualmente experto por cada dos hembras, al día siguiente se realizaron frotis vaginales y se consideró como preñadas a las hembras al encontrar la presencia de espermatozoides, durante los días subsiguientes las hembras fueron observadas para registrar la fecha de nacimiento de las crías.

6.4. Curvas de crecimiento

Las camadas de madres Co y DCa fueron sexadas y estandarizadas a 8 crías, se mantuvieron en condiciones de temperatura y fotoperiodo igual al de sus madres, al día 21 de edad las crías fueron destetadas y tanto el grupo Co como el grupo DCa fueron alimentadas con dieta *Lab Chow 5001*. Después del destete las crías fueron separadas por sexo y tanto para hembras como machos de ambos grupos se determinó semanalmente el peso y la longitud naso-anal desde el nacimiento hasta los 90 días de edad.

6.5. Parámetros morfométricos

- Se evaluaron la circunferencia torácica (CT), circunferencia abdominal (CA) e índice de Lee (I. Lee) para hembras y machos de ambos grupos en los días postnatales (pn) 21, 40 y 90. El índice de Lee es un parámetro en roedores análogo al índice de masa corporal en los humanos, el cual permite estimar la relación peso-longitud de cada organismo (Novelli et al., 2007)..

Para determinar el I. Lee se registró el peso y la longitud naso-anal.

$$\text{Índice Lee} = \frac{\sqrt[3]{\text{Peso corporal}}}{\text{Longitud naso anal} \times 10^4}$$

(Simson & Gold, 1981)

- La circunferencia torácica se determinó inmediatamente posterior a los cuartos delanteros.
- *La circunferencia abdominal* se determinó inmediatamente anterior a los cuartos traseros.

6.6. Consumo de alimento

Tanto para machos como hembras se midió el consumo de alimento semanal, se pesó el alimento colocado y al día siguiente se pesó el alimento que no fue consumido por las ratas y se dividieron entre el número de ratas por caja, el cálculo de consumo fue realizado por semana.

6.7. Análisis de parámetros plasmáticos

6.7.1. Ritmo diario de triglicéridos y glucosa

Se emplearon ratas hembra y machos juveniles (40 días) y adultas jóvenes (90 días), de ambas condiciones nutricionales, se realizaron tomas de muestras en 6 puntos temporales. Los parámetros plasmáticos se evaluaron con 4 horas de ayuno entre cada punto temporal, los horarios fueron ZT4 (11 am), ZT8 (3 pm), ZT12 (7 pm), ZT16 (11 pm) y ZT20 (3 am), ZT24 (7 am), con una n = 10 por grupo. Para la realización del presente trabajo no fue considerado el ciclo estral de las hembras, pero si el periodo de ayuno, para cada toma de muestra los animales tenían 4 horas de ayuno.

Las ratas se anestesiaron con Isoflurano (*Sofloran Vet*) y se realizó extracción de sangre de la vena caudal en tubos capilares con heparina, 3 por individuo, aproximadamente 30 µl por capilar.

Las muestras sanguíneas se centrifugaron por 10 minutos a 10 000 rpm para obtener el plasma, el cual se extrajo de los capilares empleando una jeringa Hamilton de 50µl. el plasma obtenido de cada individuo se almaceno en tubos Eppendorf por separado bajo congelación a -40°C, con el fin de analizar los parámetros en tiempos distintos y no afectar los resultados por el deterioro de muestras debido a la congelación y descongelación (Bustamante-Valdez, 2015).

Para evaluar las concentraciones plasmáticas de glucosa y triglicéridos totales se realizaron ensayos enzimáticos de colorimetría, para glucosa el Kit Spinreact Glucose-LQ y para triglicéridos se empleó el kit Spinreact Tryglycerides-LQ.

6.7.2. Concentración plasmática de insulina

Se evaluó la concentración plasmática de insulina en dos puntos temporales (♀Co n = 6, ♂Co n = 6, ♀DCa n = 6, ♂DCa n = 6): ZT4 (fotofase y fase de reposo), ZT20 (escotofase, fase de actividad). La concentración plasmática de insulina fue determinada mediante un ensayo de ELISA, empleando el Kit Rat/Mouse Insulin ELISA Millipore (Cat. #EZRMI-13K).

6.7.3. Índice de HOMA (Modelo de Evaluación Homeostática)

Basado en el análisis de glucosa e insulina en plasma, se determinó el modelo de evaluación homeostática (HOMA, por sus siglas en inglés *Homeostasis model assessment*) para la evaluación de resistencia a la insulina (HOMA-IR) en el ZT4 y ZT20 (♀Co n = 6, ♂Co n = 6, ♀DCa n = 6, ♂DCa n = 6), empleando la siguiente ecuación:

$$[\text{Insulina en plasma (uU/ml)} \times \text{Glucosa en plasma (mmol/l)}] / 22.5.$$

(Wu et al., 2014)

6.7.4. Prueba de tolerancia a la glucosa (PTG)

Cuarenta y ocho horas posteriores a la obtención de muestras plasmáticas se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa (PTG) para ambos grupos (♀Co n = 6, ♂Co n = 6, ♀DCa n = 6, ♂DCa n = 6). En ZT4 y ZT20 (con 6 horas de ayuno) cada individuo se colocó en una caja de restricción de movimiento de acrílico para rata adulta y se obtuvo una muestra de sangre por medio de una punción en la vena caudal, se midió la concentración basal de glucosa en sangre (tiempo 0), se continuó con la administración de una solución de glucosa de 2 gr. de glucosa/kg del peso del animal vía intraperitoneal, se colectaron muestras sanguíneas con el mismo método cada 30 min durante las siguientes 2 horas (30, 60, 90 y

120 min), para medir la concentración de glucosa en sangre se emplearon tiras reactivas y el glucómetro *Accu-chek perfoma* (Hoefel et al., 2011).

6.8. Análisis de los datos

Los parámetros morfométricos (peso, talla, circunferencia e índice de Lee, consumo de alimento) se graficaron mediante el programa *GraphPad Prism 8*, y se realizó una comparación entre grupos para cada uno a lo largo de tiempo empleando el programa *STATISTICA 12*, se empleó una ANOVA de 2 vías, con una prueba *Post-hoc Newman-Keuls* ($p < 0.05$), se muestran los datos como promedios \pm ee.

Para determinar las diferencias significativas de glucosa, triglicéridos, insulina plasmáticos y *HOMA-RI* en los diferentes puntos temporales se realizó una ANOVA de 2 vías, con una prueba *Post-hoc Newman-Keuls* ($p < 0.05$) con el programa *STATISTICA 12*, se muestran los datos como promedios \pm ee.

Para la evaluación del ritmo circadiano de glucosa y triglicéridos plasmáticos se realizó un análisis de *Cosinor*, empleando el programa *Chronos-Fit* (Zuther y Lemmer, 2004). El análisis *Cosinor* se basa en el ajuste de mínimos cuadrados en una función coseno, permitiendo calcular acrofase, mesor y amplitud. La ritmicidad en términos estadísticos está dada por el valor p ; $p < 0.05$, indicando que se presenta ritmicidad de los datos evaluados (Fuentes-Cano, 2013; Garaulet, Gómez-Abellan, & Madrid, 2015).

Los datos obtenidos de la prueba de tolerancia a la glucosa fueron graficados mediante el programa de *GraphPad Prism 8*, se muestra el promedio \pm ee para cada condición y el análisis estadístico para ambos grupos en cada tiempo mediante una prueba de ANOVA de 2 vías, con una prueba *Post-hoc Newman-Keuls* ($p < 0.05$) con el programa *STATISTICA 12*, se determinó la capacidad de asimilar la glucosa inyectada calculando el área bajo la curva (ABC), para determinar si existían diferencias entre grupos en cada ZT se empleó una *t-Student* ($p < 0.05$).

Todos los parámetros fueron comparados control vs malnutrido, dicha análisis se realizó de siguiente manera: machos Co vs machos DCa, hembras Co vs hembras DCa, lo que permitió determinar las diferencias entre grupos y a su vez el dimorfismo sexual.

7. Resultados

7.1. Curvas de crecimiento

El peso, la talla y el consumo de alimento de un organismo son un indicador del estado de salud, por lo cual se realizó el registro semanal de estos parámetros a partir del periodo postnatal temprano hasta la edad adulta.

En la figura 6 se observa el peso corporal de machos y hembras desde el nacimiento (semana 0) hasta los 90 días de edad (semana 13). La ganancia de peso para los machos malnutridos es menor a lo largo del tiempo en comparación con los machos control ($F_{13, 308} = 2.40$; $p = 0.004$) desde la semana 4 a la 13 *Post-hoc Newman-Keuls* $p < 0.05$). Las hembras DCa presentan una menor ganancia de peso a lo largo del tiempo en comparación con las hembras control ($F_{13, 252} = 4.14$; $p < 0.0001$) significativamente diferente de la semana 4 y de la 6 a la 13 con respecto al grupo bien nutrido (*Post-hoc Newman-Keuls* $p < 0.05$).

En cuanto a la talla (longitud naso-anal) se observa una menor talla para los machos malnutridos en las semanas 6, 7 y 8 ($F_{13, 308} = 4.4$, $p < 0.0001$, *Post-hoc Newman-Keuls* $p < 0.05$), mostrando un retraso en el crecimiento en estas semanas. Para las hembras DCa se muestra una menor talla en las semanas 4 y de la 8 a la 13, ($F_{13, 252} = 6.26$, $p < 0.0001$ *Post-hoc Newman-Keuls* $p < 0.05$) respecto al grupo control.

Al comparar las curvas de peso entre machos y hembras de ambos grupos se observó que las hembras presentan menor peso en comparación con los machos, esta diferencia se muestra en la semana 4 para el grupo Co y en la semana 5 para el grupo DCa ($F_{39, 520} = 10.11$, $p < 0.0001$ *Post-hoc Newman-Keuls* $p < 0.05$). Respecto a la talla, las hembras control presentan menor longitud naso-anal respecto a los machos control en las semanas 7 y 8, sin embargo, las hembras del grupo malnutrido presentan menor talla de la semana 4 a la 13 $F_{39, 520} = 5.11$, $p < 0.0001$ *Post-hoc Newman-Keuls* $p < 0.05$).

Ambos parámetros indican que el grupo malnutrido muestran un retraso en el crecimiento para las hembras, sin embargo, los machos presentan menor peso, pero igualan la talla con respecto al control (figura 7A y 7B).

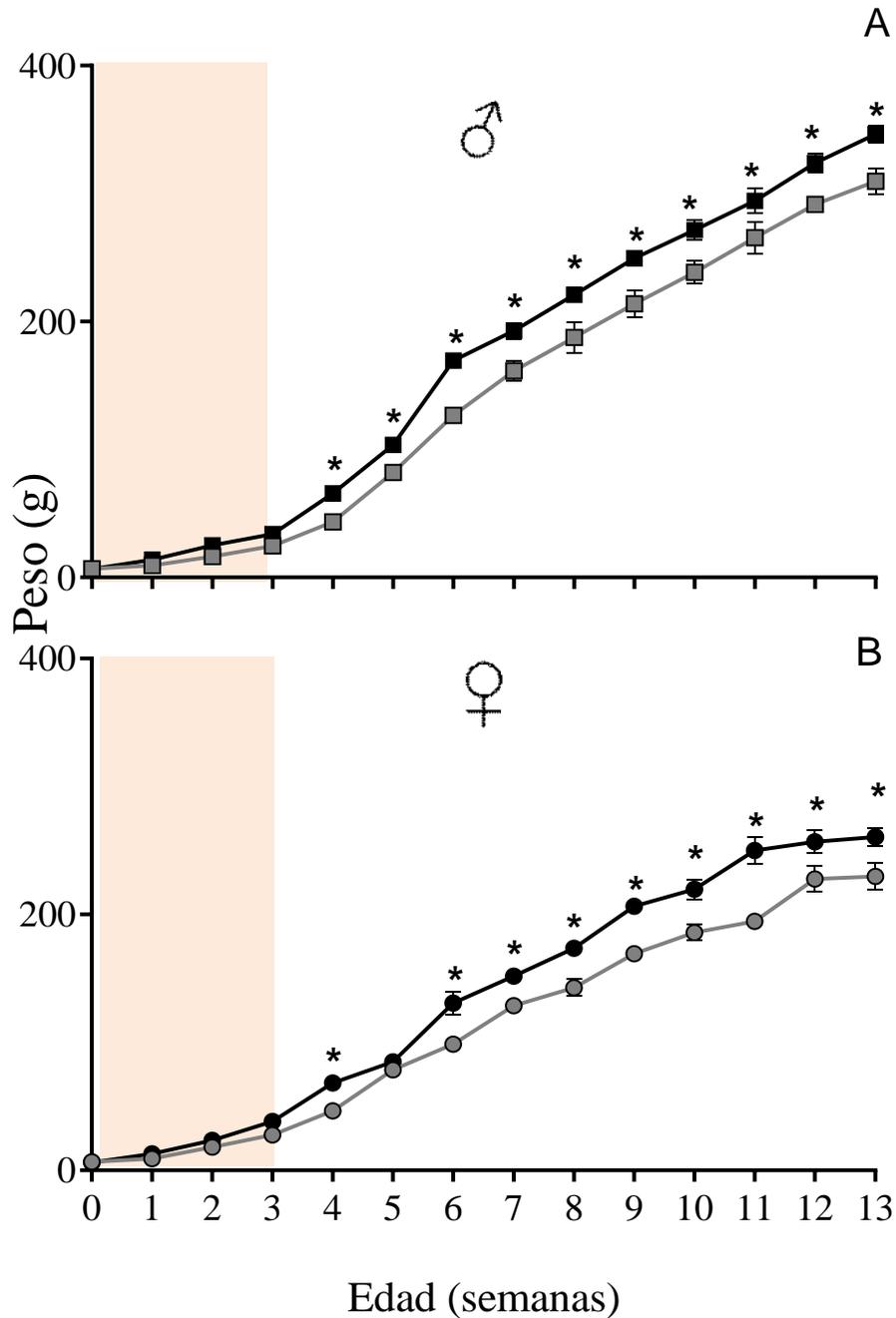


Figura 6. *Peso corporal* de las crías del nacimiento (semana 0) hasta a los 90 días de edad (semana 13). A) Machos, B) Hembras. La ganancia de peso es diferente a lo largo del tiempo en ambos grupos tanto en machos, como en hembras ($p < 0.05$). Los cuadros negros (■) corresponden a los ♂ Co, los cuadros grises (▣) corresponden a los ♂ DCa, los círculos negros (●) a las ♀ Co, los círculos grises (◐) a las ♀ DCa, la región sombreada corresponde al periodo de lactancia. Se realizó una ANOVA de 2 vías para comparar diferencias entre los grupos a lo largo del tiempo ($F_{13, 308} = 2.40$; $p = 0.004$ y $F_{13, 3252} = 6.26$; $p = 0.0001$, para las hembras). Los datos se muestran como promedio \pm ee, ♂ $n = 12$, ♀ $n = 10$, * $p < 0.05$.

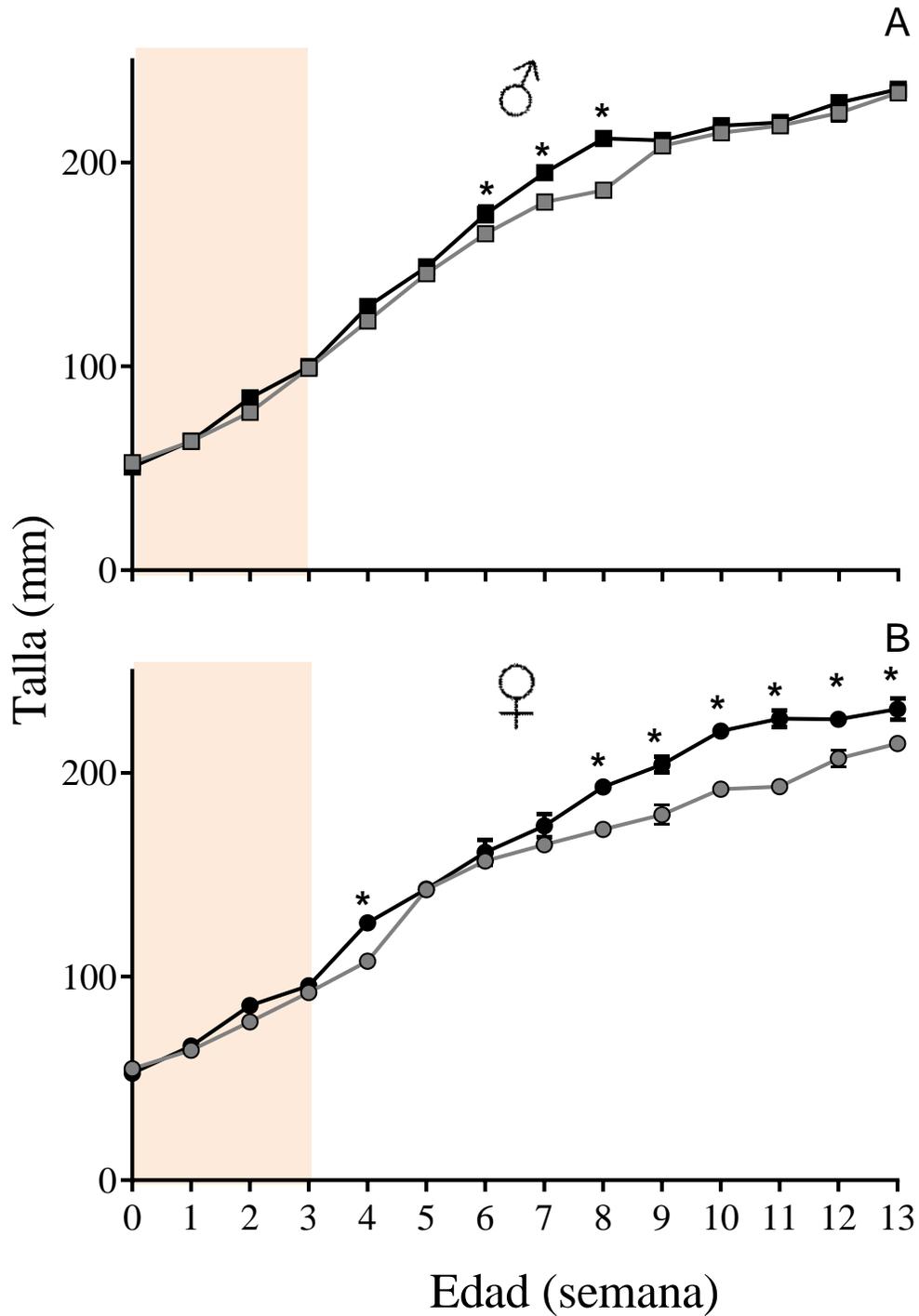


Figura 7. Talla corporal del nacimiento (semana 0) hasta a los 90 días de edad (semana 13). La longitud naso-anal es diferente entre los grupos. A) Machos, el grupo DCa tienen una menor talla en las semanas 6 a la 8 ($p < 0.05$), B) Hembras, el grupo DCa presentan menor talla desde la semana 4 hasta las 13 ($p < 0.05$). Los cuadros negros (■) corresponden a los ♂ Co, los cuadros grises (◻) corresponden a los ♂ DCa, los círculos negros (●) a las ♀ Co, los círculos grises (◉) a las ♀ DCa, la región sombreada corresponde al periodo de lactancia. Se realizó una ANOVA de 2 vías para

7.2. Consumo de alimento

Se evaluó el consumo de alimento desde el destete (semana 4) hasta la edad adulta (semana 13) para las crías control y DCa. Los machos de madres malnutridas (figura 8A) consumieron menor cantidad de alimento promedio en las semanas 8, 10-13 ($F_{1, 93} = 0.64$; $p < 0.001$, *Post-hoc Newman-Keuls* $p < 0.05$) en comparación con los machos de madres bien nutridas.

Las hembras (figura 8B) de ambos grupos tuvieron una ingesta de alimento similar durante todo el estudio, sin embargo, las hembras DCa consumen menor cantidad de alimento promedio en la semana 6 y 7 ($F_{9, 96} = 0.83$ $p < 0.59$; *Post-hoc Newman-Keuls* $p < 0.05$).

comparar diferencias entre los grupos a lo largo del tiempo. Los datos se muestran como promedio \pm ee, ♂ $n = 12$, ♀ $n = 10$, * $p < 0.05$.

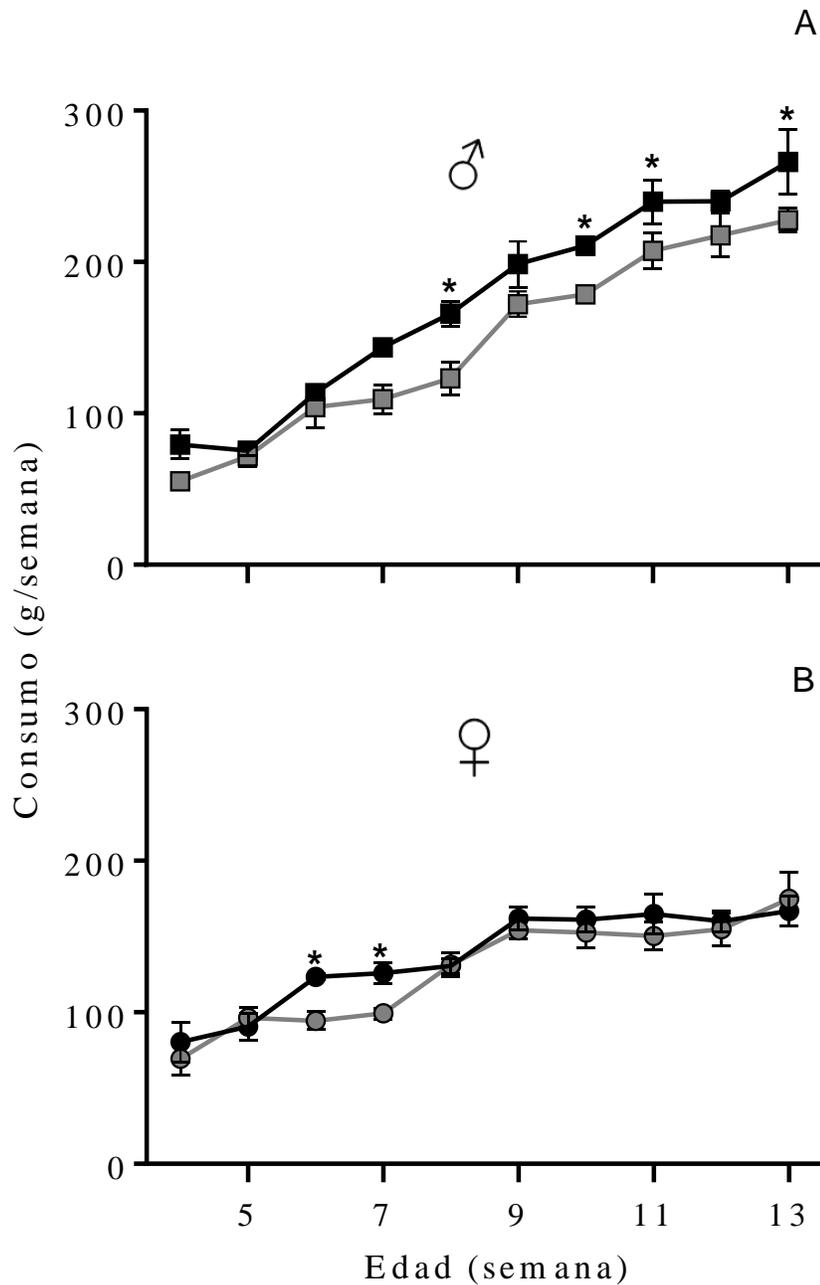


Figura 8. Consumo de alimento. La ingesta de alimento semanal promedio desde el destete (semana 4) hasta a los 90 días de edad (semana 13). A) Machos Los malnutridos consumieron menor cantidad de alimento ($p < 0.05$), B) Hembras. El grupo DCa consumió menor cantidad de alimento promedio en la semana ($p < 0.05$). Las barras negras (■) corresponden al grupo Co, las barras grises (▣) corresponden al grupo DCa. Se realizó una ANOVA de 2 vías para comparar diferencias entre los grupos a lo largo del tiempo. Los datos se muestran como promedio \pm ee, ♂ $n=6$, ♀ $n=6$, * $p < 0.05$.

7.3. Parámetros morfométricos

Por otro lado, también se realizó la evaluación de otros 3 parámetros que pueden indicar el estado de salud de los organismos: el Índice de Lee (I. Lee), la circunferencia torácica (CT) y la circunferencia abdominal (CA). Los parámetros fueron evaluados en el día 21 (el cual corresponde al día en que las crías fueron destetadas), el día 40 y 90 de edad, estos dos últimos fueron elegidos por ser los días en los que se evaluaron los ritmos circadianos de los parámetros metabólicos, correspondientes a un periodo postnatal temprano y uno tardío, de esta manera se evaluó estos parámetros en tres etapas a lo largo de la vida de los organismos. El Índice de Lee (figura 9A y 9B), el cual es un indicador de la relación entre el peso y la talla naso-anal, se emplea en los roedores como un indicador de sobrepeso y obesidad (Simson *et al*, 1982). La relación peso-talla de los machos malnutridos es menor con respecto a los controles a los 40 y 90 días, mostrando un menor índice de Lee ($F_{1, 66} = 11.39$; $p = 0.001$), ya que los machos controles incrementan su relación peso-talla en estas dos edades. En el caso de las hembras, aunque estas muestran un índice similar al control, se observa una relación opuesta a los machos, ya que tanto el grupo control como el malnutrido muestran una menor relación a los 40 y 90 días - ($F_{1, 54} = 3.23$; $p = 0.07$).

La CT (medida inmediatamente después de los cuartos delanteros) fue significativamente menor en los machos DCa al destete y 40d (figura 9C) ($F_{1, 54} = 8.11$; $p > 0.0001$, *Post-hoc Newman-Keuls*), al destete ($p = 0.001$), juveniles ($p = 0.001$). En el caso de las hembras (figura 9D), el grupo DCa juveniles (40d) presentaron menor CT en comparación con el grupo control ($F_{1, 54} = 14.67$; $p = 0.0003$, *Post-hoc Newman-Keuls*, $p < 0.05$).

La CA se midió anterior a los cuartos posteriores, al igual que el parámetro anterior fue significativamente menor en los machos malnutridos juveniles y adultos ($F_{1, 54} = 12.65$; $p > 0.0001$, *Post-hoc Newman-Keuls*, $p = 0.01$ y $p = 0.01$ respectivamente), figura 8E. En el caso de las hembras (figura 8F), se observó una CA menor en las ratas DCa juveniles ($F_{1, 54} = 12.5$; $p > 0.0001$, *Post-hoc Newman-Keuls*, $p = 0.002$). Los parámetros morfométricos muestran que tanto los machos como las hembras malnutridas presentan un retraso en el crecimiento en diferentes etapas de la vida, al igual que se observó al evaluar la ganancia de peso y talla a lo largo de la vida de los organismos.

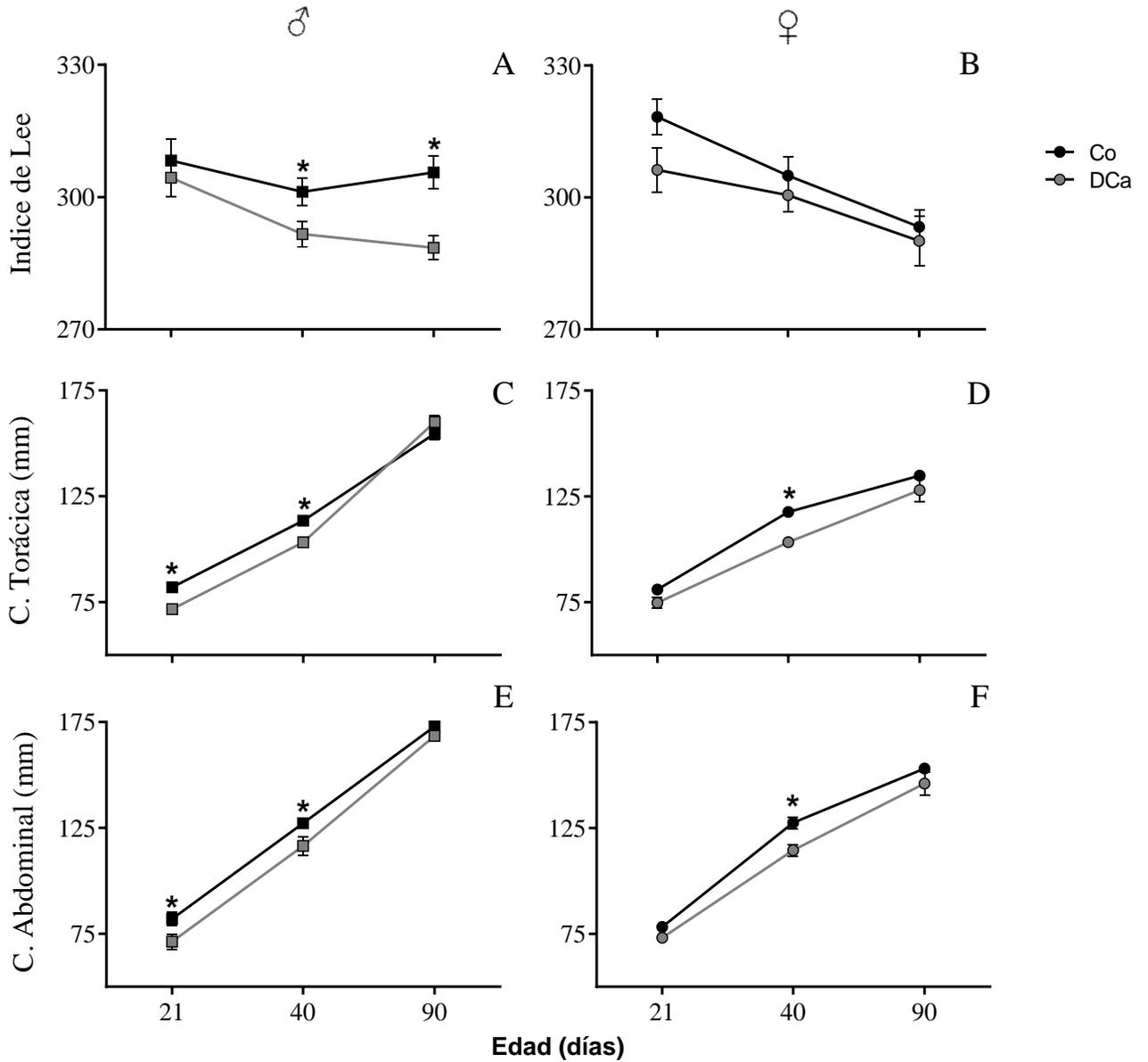


Figura 9. Parámetros morfométricos. Se muestran diferentes medidas en 3 etapas de la vida al destete (21 días), juveniles (40 días) y adultos (90 días). A) Índice de Lee de machos, B) Índice de Lee de hembras, C) Circunferencia torácica de machos, D) Circunferencia torácica de hembras, E) Circunferencia abdominal de machos, F) Circunferencia abdominal de hembras. Los cuadros negros (■) corresponden a los ♂ Co, los cuadros grises (◻) corresponden a los ♂DCa, los círculos negros (●) a las ♀Co, los círculos grises (◐) a las ♀DCa. Se realizó una ANOVA de 2 vías para comparar diferencias entre los grupos a lo largo del tiempo. Los datos se muestran como promedio ± ee. * p < 0.05, machos n=10, hembras n=10.

7.4. Triglicéridos totales

Para cumplir con el objetivo 1 se evaluaron las concentraciones plasmáticas de triglicéridos en machos y hembras juveniles (40d) y adultas (90d), se compararon las concentraciones de los organismos DCa contra los controles a lo largo de 24 horas. Para determinar la distribución temporal diaria de la concentración de este parámetro se realizó un ajuste de *Cosinor* y se compararon los parámetros determinados por este.

7.4.1. Ritmo diario de triglicéridos para machos

El ritmo diario de triglicéridos en plasma con ajuste de *Cosinor* para los machos juveniles se observa en la figura 10A (n=10), el grupo Co presenta un periodo de 24 hrs, sin embargo, el grupo DCa muestra tiene un periodo de 12 horas, también se observa un adelanto en la acrofase de 7 horas (ver tabla II) para el grupo DCa, indicando un adelanto en la expresión del ritmo diario de las ratas macho con malnutrición perinatal respecto a los Co. Además, presentaron una menor amplitud y menor mesor en comparación con el Co, indicando una atenuación del ritmo y una menor concentración plasmática de triglicéridos para los machos malnutridos. Los machos DCa presentan menores concentraciones plasmáticas de triglicéridos en ZT8 ($F_{1, 126} = 11.23$; $p < 0.001$, *Post-hoc Newman-Keuls*, $p < 0.0001$) el resto de los puntos temporales fueron similares en concentración en ambos grupos.

En la figura 10B se observa el ritmo diario de triglicéridos en plasma con el ajuste de *Cosinor* para machos adultos (n = 10), el grupo Co muestra un periodo de 24 horas, sin embargo, el grupo DCa muestra una atenuación por lo que no presenta un ritmo significativo, también se observa un menor mesor, lo que indica que el grupo con malnutrición presenta menores concentraciones promedio de triglicéridos, y en específico presentan una menor concentración en el ZT4 y ZT24 ($F_{1, 124} = 7.37$; $p = 0.007$, *Post-hoc Newman-Keuls*, $p = 0.007$ y $p = 0.02$ respectivamente).

Al comparar los ritmos en las dos edades evaluadas, los machos bien nutridos presentan un adelanto en la acrofase a los 90 días con respecto a los 40 días, así como un incremento en la amplitud. El grupo malnutrido muestra la pérdida de la ritmicidad a los 90 días con respecto a los 40 días, además de una disminución del mesor, indicando menores concentraciones plasmáticas en edades adultas. Estos resultados muestran que estos parámetros metabólicos cambian a lo largo de la vida, así como su distribución temporal diaria.

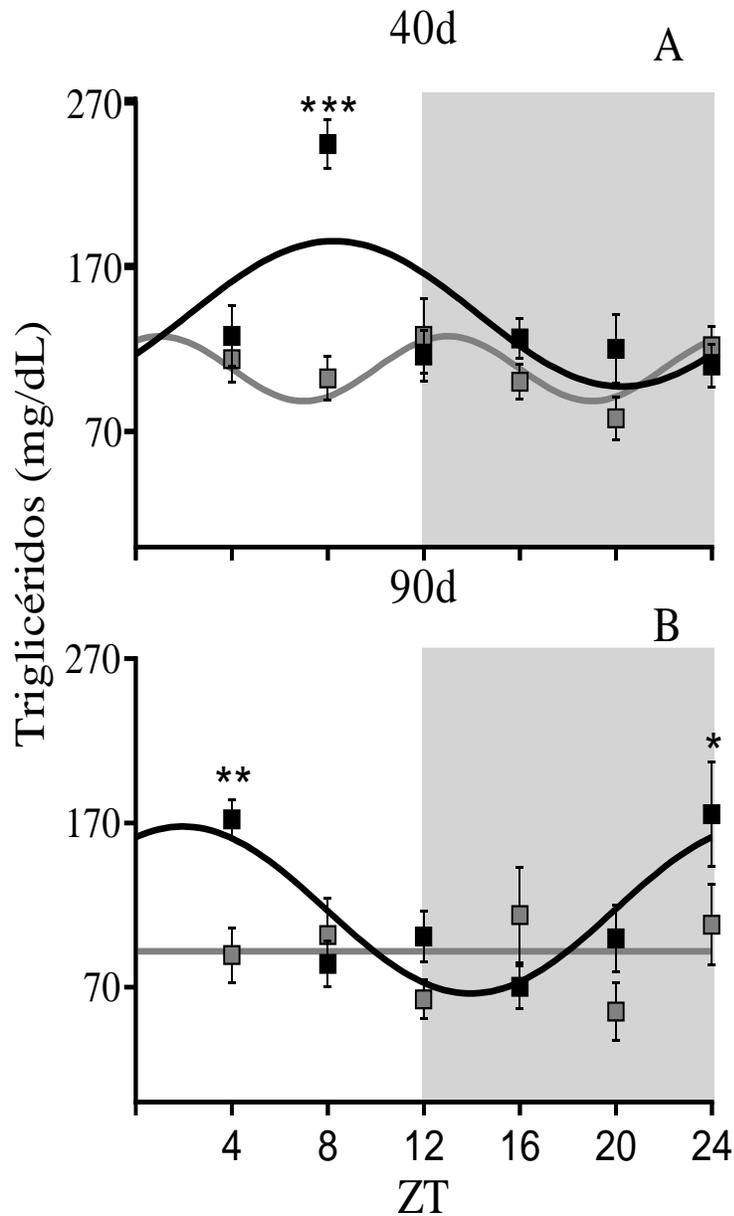


Figura 10. Perfil diario de triglicéridos en plasma de machos. A) Juveniles (40d), B) Adultos (90d). Los cuadros negros (■) corresponden al grupo Co, los cuadros grises (▣) corresponden al grupo DCa. La línea Co (---) y DCa (---) muestran el ajuste de *Cosinor* para cada grupo. La parte sombreada indica la escotofase (fase de oscuridad). ZT hace referencia a la hora del sincronizador donde ZT0 indica el encendido de las luces, ZT12 indica el apagado de las luces. Se realizó una ANOVA de 2 vías para comparar diferencias entre los grupos a lo largo del tiempo. Los datos se muestran como promedio \pm ee. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ indica diferencia significativa entre los grupos al compararlos en cada punto temporal.

Tabla II. Parámetros del ritmo de triglicéridos para machos

Triglicéridos	Grupo	Periodo	Amplitud (mg/dL)	Acrofase (ZT)	Mesor (mg/dL)	F	p
40d	Co	24	43.83	8.26	140.62	8.94	< 0.001
	DCa	12	19.5	1	107.5	3.41	= 0.03
90d	Co	24	50.8	1.9	117.1	10.46	< 0.001
	DCa	-	-	-	91.9	3.14	> 0.05

7.4.2. Ritmo diario de triglicéridos para hembras

En la evaluación del ritmo diario de triglicéridos en plasma con ajuste de *Cosinor* de hembras juveniles (figura 11A) el grupo experimental presenta un periodo de 12 horas en comparación con el grupo Co que presenta un periodo de 24 horas, así también los parámetros del ritmo muestran diferencias, una menor amplitud y mesor para el grupo DCa, lo cual indica una menor concentración plasmática promedio de triglicéridos para el grupo con malnutrición así como una menor concentración en los ZT12, ZT16 y ZT20 ($F_{1, 126} = 11.23$; $p = 0.001$, *Post-hoc Newman-Keuls* $p = 0.02$, $p = 0.02$, $p < 0.0001$ respectivamente), también se observó un retraso en la acrofase del ritmo diario de las hembras con malnutrición perinatal de 6 horas con respecto a las Co (tabla III).

En la figura 11B se observa el ritmo diario de triglicéridos en plasma con el ajuste de *Cosinor* para hembras adultas, ambos grupos presentan un periodo de 24, además presentan diferencias en los parámetros el ritmo, el grupo con malnutrición presenta menor amplitud, mesor, así como una menor concentración plasmática en ZT16 ($F_{1, 126} = 19.36$, $p < 0.0001$, *Post-hoc Newman-Keuls* $p < 0.0001$) para el grupo DCa y un retraso en la acrofase de 7 horas (tabla III), además se observa que el ritmo diario se presenta en antifase ya que la acrofase (o punto máximo) se presenta en la fase de luz para los malnutridos y en la fase de oscuridad para las hembras Co.

Al comparar los ritmos de triglicéridos totales en plasma para las hembras se muestra que el grupo control presenta un ritmo con parámetros similares en ambas edades, sin embargo, los malnutridos presentan un cambio de periodo de 12 a 24 horas de los 40 a los 90 días, así como una atenuación del ritmo (lo que se refleja en una disminución de la amplitud). Los resultados indican que una dieta de cafetería durante la gestación y la lactancia provoca hipotrigliceridemia en ciertos puntos temporales en diferentes etapas de la vida de los organismos y la expresión diaria de triglicéridos para hembras se ve modificada por una malnutrición temprana.

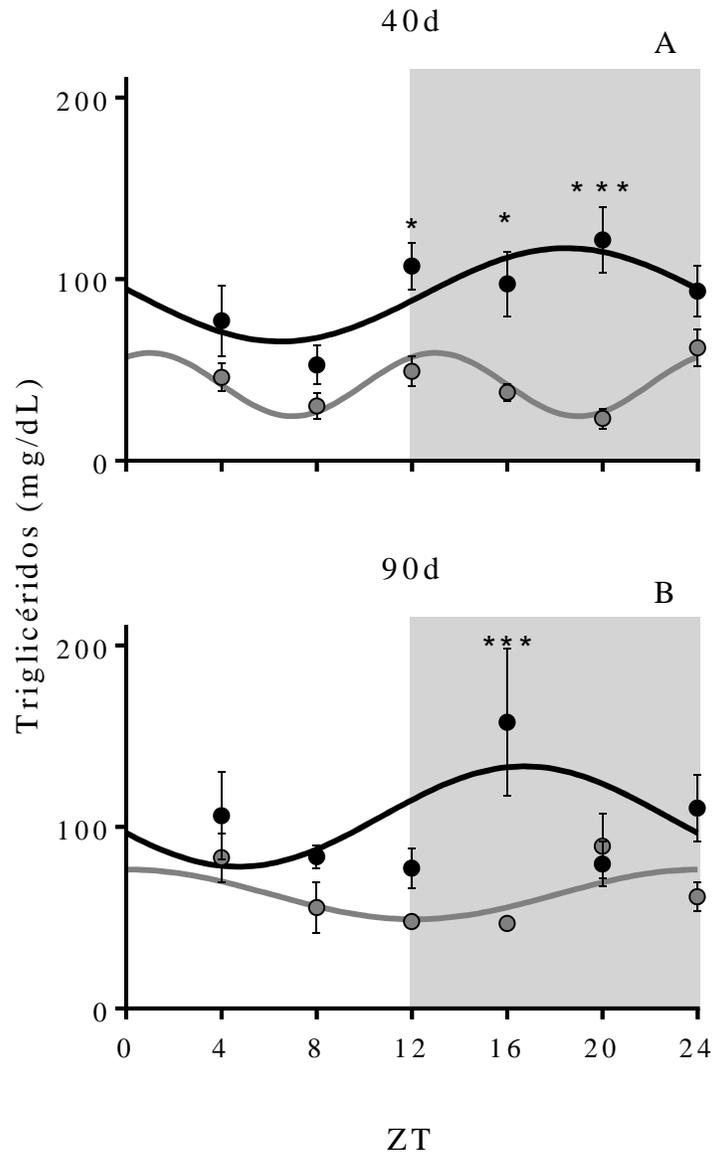


Figura 11. Perfil diario de triglicéridos en plasma de hembras. A) Juveniles (40d), B) Adultos (90d). Los círculos Co (●) y grises (●) corresponden al grupo DCa corresponden a la concentración de triglicéridos en los diferentes puntos temporales. La línea Co (---) y DCa (---) corresponde al ajuste de *Cosinor* para cada grupo. La parte sombreada corresponde a la escoto fase. ZT hace referencia a la hora del sincronizador. Se realizó una ANOVA de 2 vías para comparar diferencias entre los grupos a lo largo del tiempo. Los datos se muestran como promedio \pm ee. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ indica diferencia significativa entre los grupos al compararlos en cada punto temporal, $n = 10$.

Tabla III. Parámetros del ritmo de triglicéridos para hembras

Triglicéridos	Grupo	Periodo	Amplitud (mg/dL)	Acrofase (ZT)	Mesor (mg/dL)	F	p
40d	Co	24	25.7	18.5	91.3	8.27	< 0.001
	DCa	12	17.4	0.99	41.9	16.91	< 0.001
90d	Co	24	27.6	16.7	105.8	5.27	= 0.006
	DCa	24	13.7	0	62.9	4.68	= 0.01

La ritmicidad de los triglicéridos totales en plasma se muestra diferente entre machos y hembras, ya que al comprar los parámetros de las tablas II y III, se puede observar que las hembras Co de 40 días muestran menor amplitud, y un retraso de 10 horas en la acrofase. A los 90 días de edad los machos Co presentan una mayor amplitud, y un retraso en la acrofase, en ambas edades las concentraciones plasmáticas promedio son menores (lo que se puede corroborar con el mesor menor).

La malnutrición afecta la ritmicidad de los triglicéridos totales en plasma diferencialmente entre machos y hembras. Las hembras muestran mayor amplitud a los 40 días, pero un menor mesor en comparación con los machos, a los 90 días los machos no muestran una ritmicidad significativa, pero si un mayor mesor que las hembras, lo que indica mayores concentraciones plasmáticas circulantes. Estos resultados muestran que no solo la ritmicidad de triglicéridos totales en plasma se ve modificada por la malnutrición, además el efecto es dependiente del sexo.

7.5. Glucosa

Para cumplir el objetivo 2 se evaluaron las concentraciones plasmáticas de glucosa en machos y hembras juveniles (40d) y adultas (90d), se compararon entre grupos las concentraciones en los diferentes ZTs, para determinar la distribución temporal diaria de la concentración de este metabolito se realizó un ajuste de *Cosinor* y se compararon los parámetros determinados por este. Así también para estimar el metabolismo de la glucosa se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa (PTG) en dos puntos temporales tanto en machos como en hembras juveniles y adultos.

7.5.1. Ritmo diario de glucosa para machos

Los machos de 40 días ($n = 10$) presentan diferentes concentraciones de glucosa plasmática, que se ve modificada con la edad, las concentraciones son menores para el grupo DCa de 40d en comparación con el grupo Co ($F_{1, 124} = 10.66$; $p = 0.001$) sin embargo, el adulto DCa es hiperglucémico, mostrando mayores concentraciones glucémicas que el grupo Co ($F_{1, 108} = 7.34$; $p = 0.007$).

Al comparar la glucemia obtenida de ambos grupos en los diferentes puntos temporales (figura 12A) los machos malnutridos de 40 días presentan hipoglucemia con respecto a los machos (*Post-hoc Newman-Keuls*) en el ZT4 ($p = 0.002$), ZT20 ($p = 0.04$), es decir con una condición de hipoglucemia en la segunda mitad de la fase de luz y en la segunda mitad de la fase de oscuridad (fotofase y escotofase respectivamente), en cuanto a los parámetros del ritmo, los machos malnutridos presentan un ritmo bifásico de 12 horas, mayor amplitud, menor mesor a lo largo del día (menores concentraciones promedio de glucosa) y un retraso de 1 hora en la acrofase (tabla IV).

En el caso de los machos de 90 días el grupo malnutrido presenta mayor concentración plasmática de glucosa en ZT8 ($p = 0.0002$) y ZT16 ($p = 0.02$) respecto a los machos Co, lo cual indica hiperglucemia en la segunda mitad de la fotofase y la primera mitad de la escotofase (figura 12B). Los parámetros del ritmo de machos adultos muestran un periodo de 24 horas para ambos grupos, también se observa un adelanto de la acrofase de 1 hora y un mayor mesor (lo cual indica mayor concentración promedio de glucosa a lo largo del día) para el grupo DCa (tabla IV).

Al comparar la figura 12A y 12B se muestra que la oscilación diaria se modifica a lo largo de la vida de los organismos si se comparan los parámetros del ritmo a los 40 y 90 días de edad, los machos juveniles malnutridos presentan hipoglucemia en comparación con el grupo Co, mientras que en edades adultas se observan concentraciones hiperglucémicas. Los machos malnutridos de 40 días muestran un retraso en la acrofase, pero, a los 90 días presentan un adelanto, lo que puede estar relacionado con las altas concentraciones durante la fotofase, aunado a esto los machos malnutridos juveniles presentan un periodo de 12 horas, el cual cambia a los 90 días

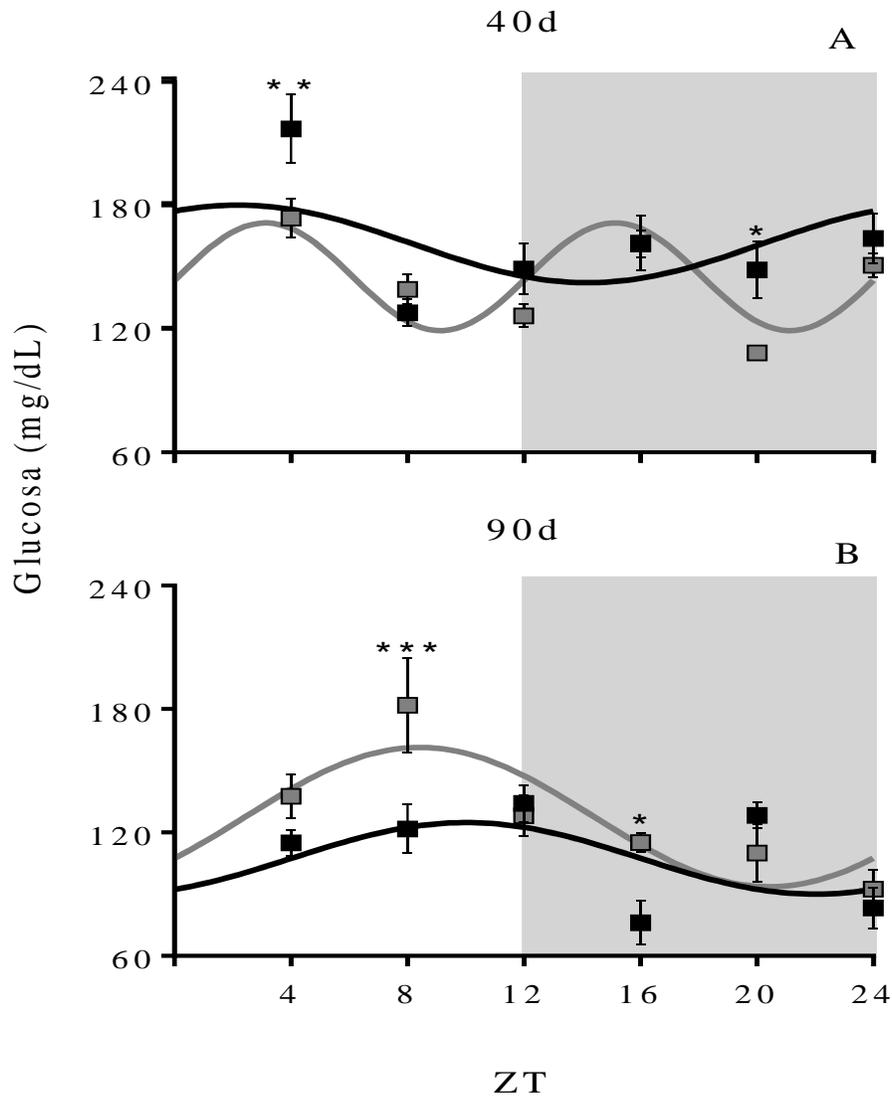


Figura 12. Perfil diario de glucosa en plasma de machos. A) Juveniles (40d), B) Adultos (90d). Los cuadrados negros (■) corresponden al grupo Co, los cuadros grises (▣) corresponden al grupo DCa, en los diferentes puntos temporales. La línea --- (Co) y --- (DCa) corresponde al ajuste de *Cosinor* para cada grupo. La parte sombreada hace referencia a la escotofase. Se realizó una ANOVA de 2 vías para comparar diferencias entre los grupos a lo largo del tiempo. Los datos se expresan en mg/dL y se muestran como la concentración promedio \pm ee. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ indica diferencia significativa entre los grupos al compararlos en cada punto temporal, $n=10$.

Tabla IV. Parámetros del ritmo de glucosa para machos

Glucosa	Grupo	Periodo	Amplitud (mg/dL)	Acrofase (ZT)	Mesor (mg/dL)	F	p
40d	Co	24	18.7	2.2	160.4	6.30	= 0.002
	DCa	12	25.9	3.1	144.6	13.73	< 0.0001
90d	Co	24	17.4	10.	107.4	4.01	= <0.002
	DCa	24	33.8	8.4	127.5	10.16	< 0.0001

7.5.2. Prueba de tolerancia a la glucosa en machos

Se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa en dos puntos temporales, uno en la fotofase (ZT4) y otro en la escotofase (ZT20), se comparó la respuesta para cada grupo en los diferentes tiempos, así como el área bajo la curva (ABC). En la figura 13 se observan los resultados de la PTG para machos juveniles y adultos controles y malnutridos, los cuales presentan respuestas diferentes a los 40 días de edad.

La PTG para los machos juveniles en ZT4 muestra una respuesta diferente para el grupo DCa en comparación con el grupo Co ($F_{1,10} = 13.61$, $p = 0.0042$, *Post-hoc Newman-Keuls*), la concentración basal, así como los minutos 60, 90 y 120 después de la administración de glucosa presentan menores niveles de glucemia circulante), sin embargo, no se muestra una diferencia en el área bajo la curva ($t_{10} = 1.617$, $p = 0.14$) (figura 13A).

Durante la escotofase (figura 13B), los machos juveniles muestran un metabolismo energético de la glucosa similar ($F_{1,10} = 1.387$, $p = 0.7182$), sin embargo, el grupo DCa muestra menor amplitud en su ABC ($t_{10} = 2.889$, $p = 0.0179$), en ambos puntos temporales los organismos regresan a concentraciones de glucosa similares a las basales ($p > 0.05$) (figura 13A).

La prueba de tolerancia a la glucosa muestra que los machos malnutridos adultos presentan una respuesta similar en ambos puntos temporales (figuras 13C y 13D) (ZT4 $F_{1,10} = 0.35$, $p = 0.56$; ZT20 $F_{1,10} = 0.04$, $p = 0.82$), ambos grupos presentan áreas bajo la curva similares tanto en ZT4 ($t_{10} = 1.008$, $p = 0.33$), como en ZT20 ($t_{10} = 0.28$, $p = 0.77$).

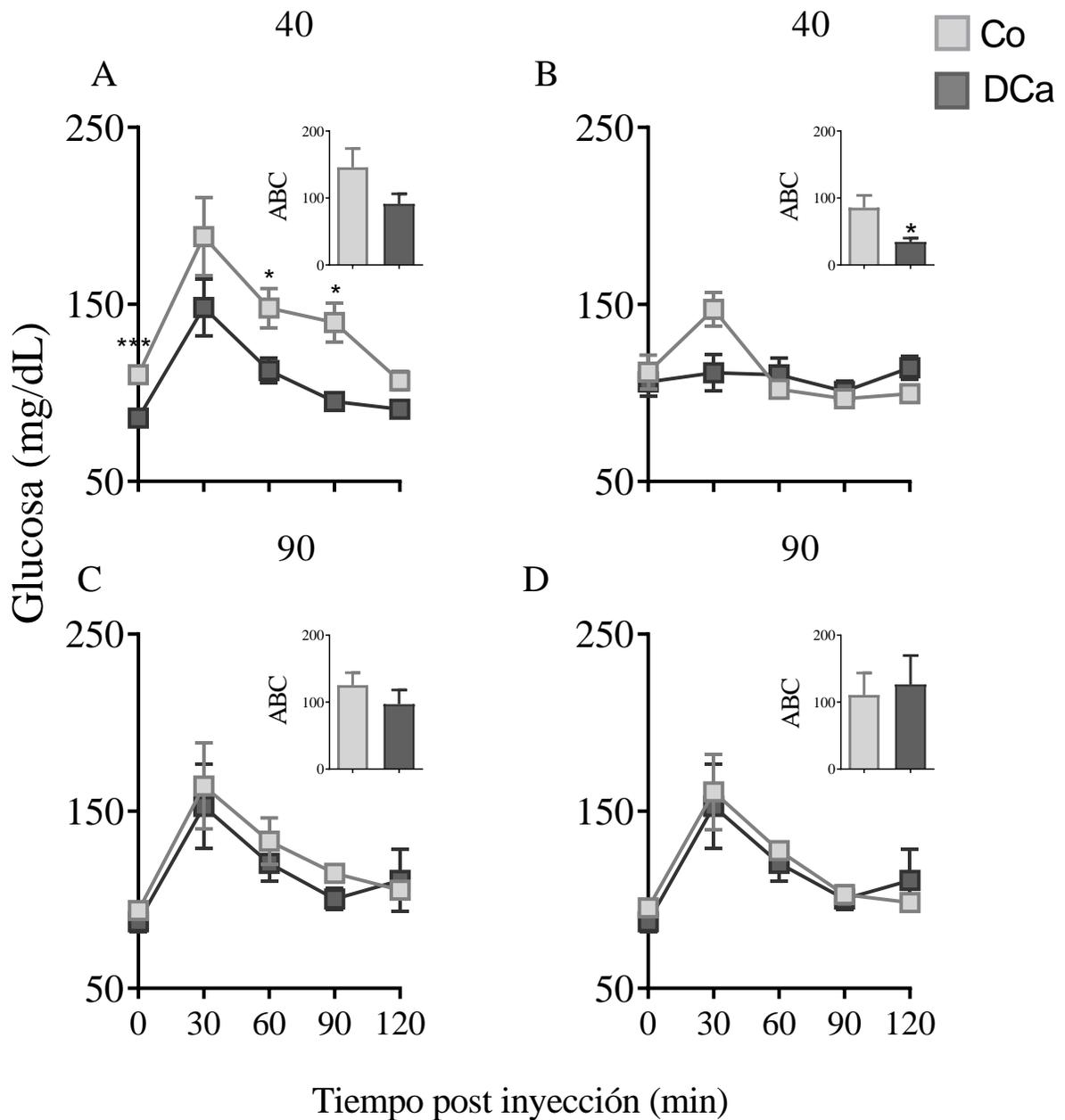


Figura 13. Prueba de tolerancia a la glucosa en machos. Los cuadros claros (■) corresponden al grupo control, los cuadros oscuros (■) corresponden al grupo malnutrido, A) Machos de 40d en ZT4, B) Machos de 40d en ZT20, C) Machos de 90d en ZT4, D) Machos de 90d en ZT20. Los insertos en cada gráfica corresponden al área bajo la curva (ABC), ZT4 corresponde a la fotofase, ZT20 corresponde a la escotofase. Se realizó una prueba de t para comparar diferencias del ABC entre los ZT para el mismo grupo. Los datos se muestran como promedio \pm ee. ** $p < 0.01$, $n = 6$.

7.5.3. Ritmo diario de glucosa para hembras

Para el caso de las hembras, en el ritmo diario de glucosa en plasma se observan modificaciones en las concentraciones y los parámetros del ritmo al comparar ambos grupos. Las hembras malnutridas de 40d presentan menores concentraciones ($F_{1, 126} = 7.5$; $p < 0.006$, *Post-hoc Newman-Keuls*) en el ZT16 ($p = 0.02$) y en el ZT20 ($p = 0.01$), es decir con una condición de hipoglucemia a la mitad y final de la escotofase (figura 14A), el ajuste de Cosinor muestra que el grupo control presenta un periodo de 12 horas y el grupo DCa un periodo de 24 horas, amplitud similar para ambos grupos, menor mesor para el grupo malnutrido (lo cual indica menores concentraciones de glucosa promedio a lo largo del día) y un adelanto de 3 horas en la acrofase (tabla V).

Las hembras adultas DCa tienen mayor concentración de glucosa en sangre en comparación con el grupo control ($F_{1, 122} = 9.07$; $p = 0.003$) en el ZT8 ($p = 0.006$) a la mitad de la fase de reposo (figura 14B). El análisis de Cosinor muestra que ambos grupos presentan un periodo de 24 horas, el grupo DCa presenta un retraso de una hora en la acrofase, menor amplitud y mayor mesor (lo cual indica que las hembras malnutridas presentan hiperglucemia) en comparación con el grupo Co (tabla V). Al comparar la figura 14A y 14B se muestra que la oscilación diaria se modifica a lo largo de la vida de los organismos si se comparan los parámetros del ritmo a los 40 y 90 días de edad, en edades juveniles las concentraciones son hipoglucémicas en comparación con el grupo Co, mientras que en edades adultas se observan concentraciones hiperglucémicas. Tanto juveniles como adultas DCa presentan un desfase en el punto máximo de glucemia en la acrofase.

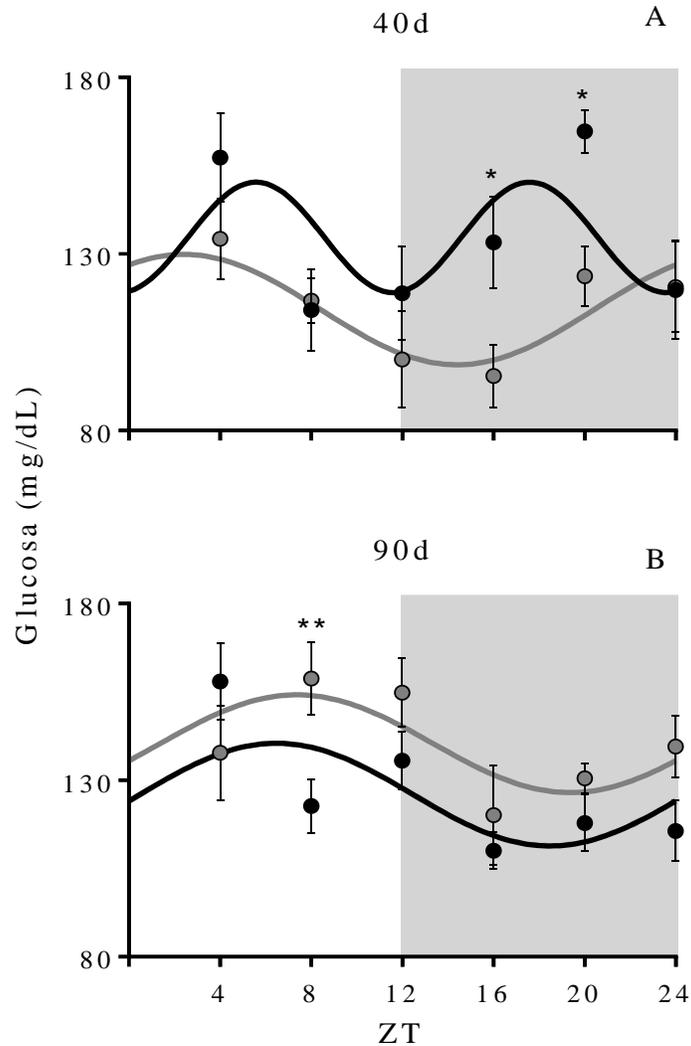


Figura 14. Perfil diario de glucosa en plasma de hembras. A) Juveniles (40d), B) Adultas (90d). Los círculos negros corresponden al grupo Co (●) y los círculos grises corresponden al grupo Dca (●). La línea --- (Co) y --- (Dca) corresponde al ajuste de *Cosinor* para cada grupo. La parte sombreada hace referencia escotofase. Se realizó una ANOVA de 2 vías para comparar diferencias entre los grupos a lo largo del tiempo. Los datos se expresan en mg/dL y se muestran como la concentración promedio \pm ee. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ $n=10$.

Tabla V. Parámetros del ritmo de glucosa de hembras

Glucosa	Grupo	Periodo	Amplitud (mg/dL)	Acrofase (h)	Mesor (mg/dL)	F	p
40d	Co	12	15.7	5.6	135	5.22	= 0.006
	Dca	24	15.6	2.4	114	7.26	< 0.001
90d	Co	24	14.8	6.4	124	9.18	= 0.0001
	Dca	24	12.5	7.5	139.6	4.87	< 0.009

7.5.4. Prueba de tolerancia a la glucosa en hembras

Al realizar la PTG en hembras juveniles en el ZT4 (figura 15A) al contrario de los machos no se observa una diferencia entre el grupo Co y el grupo DCa ($F_{1,10} = 0.014$, $p = 0.90$), ya que los organismos de ambos grupos muestran una respuesta metabólica similar, así como un área bajo la curva sin diferencia significativa ($t_{10} = 0.82$, $p = 0.4$). Durante la fase oscura en el ZT20 (figura 15B) contrario a la respuesta metabólica de los machos, las hembras malnutridas presentan menores concentraciones circulantes de glucosa en los tiempos 30, 60, 90 y 120 después de la administración de glucosa ($F_{1,10} = 23.17$, $p = 0.0007$), lo que se relaciona con una menor área bajo la curva ($t_{10} = 3.6$, $p = 0.0048$).

Respecto a las hembras adultas durante la fotofase en el ZT4 las hembras malnutridas presentan concentraciones similares a los controles ($F_{1,10} = 1.59$, $p = 0.023$), regresando a sus niveles basales al término de la prueba similar a la respuesta que se observó en los machos de la misma edad (figura 15C), por lo tanto, también se observó un ABC similar para Co y DCa ($t_{10} = 0.04$, $p = 0.96$). Las hembras DCa adultas durante el ZT20 (figura 15D) presentan menores concentraciones de glucosa circulantes en el minuto 30 ($F_{1,10} = 3.278$, $p = 0.09$), sin embargo, el resto de la prueba presentan respuestas similares al control, así como un área bajo la curva igual ($t_{10} = 1.43$, $p = 0.18$).

La prueba de tolerancia a la glucosa muestra dimorfismo sexual, ya que las respuestas son diferentes entre machos y hembras malnutridas con respecto al grupo control, las hembras malnutridas últimas presentan menores concentraciones de glucosa circulante a los 40 y 90 días en el ZT4 y ZT20, lo que podría relacionarse con alteraciones del metabolismo energético de la glucosa durante la fase de actividad de los organismos.

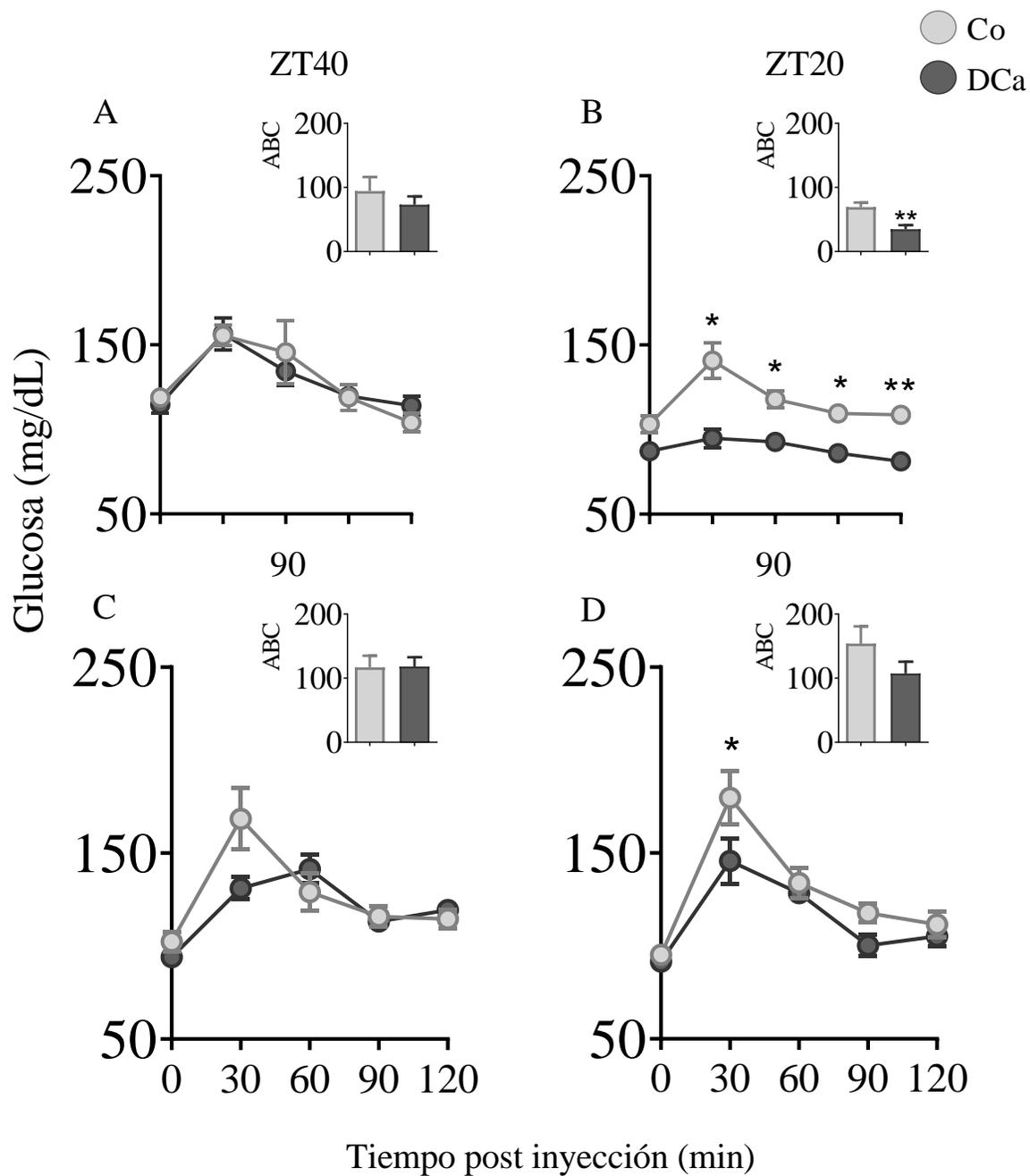


Figura 15. Prueba de tolerancia a la glucosa en hembras. Los círculos claros (○) corresponden al grupo control, los círculos oscuros (●) corresponden al grupo malnutrido. A) Hembras de 40d en ZT4, B) Hembras de 40d en ZT20, C) Hembras de 90d en ZT4, D) Hembras de 90d en ZT20. Los insertos en cada gráfica corresponden al área bajo la curva (ABC), ZT4 corresponde a la fotofase, ZT20 corresponde a la escotofase. Se realizó una prueba de t para comparar diferencias del ABC entre los ZT para el mismo grupo. Los datos se muestran como promedio \pm ee. * $p < 0.05$, $n = 6$.

7.6. Insulina

Se midieron los niveles plasmáticos de insulina en ayuno (4 horas) en dos puntos temporales, uno de reposo (ZT4) y otro de actividad (ZT20) para las ratas juveniles y adultas para determinar si este parámetro varia en los diferentes grupos en un ciclo de 24 horas (figura 16).

En ZT4 tanto machos ($t_{10} = 1.5$; $p = 0.17$) como hembras ($t_8 = 1.17$; $p = 0.27$), juveniles presentan concentraciones similares de insulina plasmática (figura 16A). Sin embargo, en ZT20 los machos malnutridos presentaron hipoinsulinemia con respecto a los machos control ($t_{10} = 7.6$; $p < 0.0001$) al igual que las hembras malnutridas con respecto a las hembras control ($t_{10} = 3.4$ $p = 0.006$) (figura 16B), lo cual indica un cambio en el metabolismo energético de la insulina para el grupo malnutrido. Los machos malnutridos adultos presentan menores concentraciones de insulina con respecto al control ($t_9 = 2.5$; $p = 0.03$), sin embargo, las hembras DCa adultas muestran concentraciones similares al grupo control ($t_{10} = 0.6$; $p = 0.054$) (figura 16C).

Las concentraciones plasmáticas de insulina para machos y hembras adultas malnutridas son similares a las del grupo control en ZT20 ($t_{10} = 1.17$; $p = 0.27$; $t_{10} = 0.9$ $p = 0.39$ respectivamente) (figura 16D).

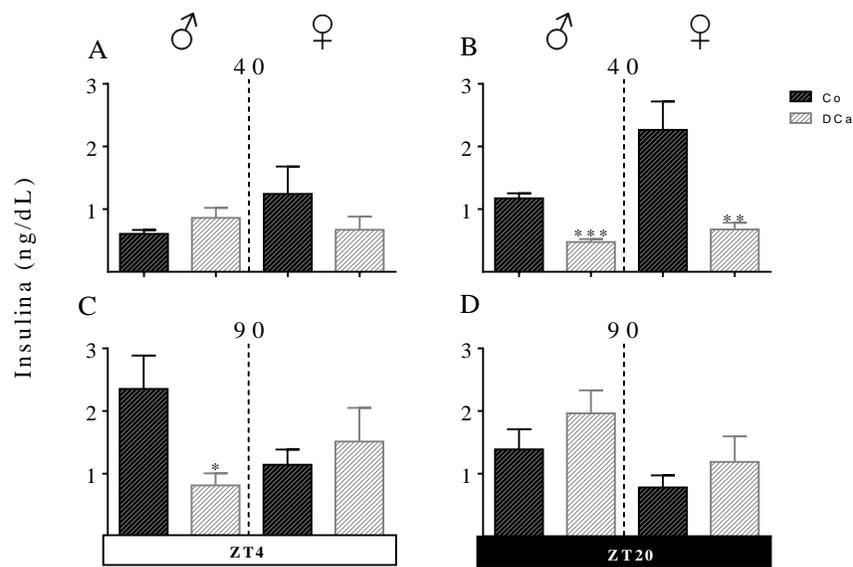


Figura 16. Concentraciones plasmáticas de insulina. Los cuadros negros (■) corresponden al grupo Co, los cuadros grises (▨) corresponden al grupo DCa, A) Juveniles, ZT4, B) Juveniles, ZT20, C) Adultos, ZT4, D) Adultos, ZT20. La barra blanca significa la fotofase, la barra negra la escotofase. Los datos se muestran como promedio \pm ee. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, ♂ $n = 6$, ♀ $n = 6$.

7.7. Resistencia y sensibilidad a la insulina

Se analizó la resistencia y sensibilidad a la insulina empleando el índice de HOMA-RI, el cual toma en cuenta los valores en ayuno de glucosa e insulina en plasma, las cuales se evaluaron en dos puntos temporales, uno correspondiente a la fase de reposo (ZT4) y otro en la fase de actividad (ZT20).

En ZT4 tanto machos como hembras juveniles (figura 17A) presentan una sensibilidad a la insulina similar al presentar un índice de HOMA-RI similar entre controles y malnutridos ($t_{10} = 0.13$; $p = 0.89$, $t_8 = 0.85$; $p = 0.4$ respectivamente), sin embargo, en la fase de actividad tanto machos como hembras juveniles malnutridas presentan mayor sensibilidad a la insulina que el grupo control dado que obtuvieron un índice menor que el grupo control ($t_{10} = 3.01$; $p = 0.01$, $t_8 = 3.07$; $p = 0.01$ respectivamente) (figura 17B).

En la figura 17C se observa que los machos malnutridos adultos tienen una mayor sensibilidad a la insulina ya que el índice HOMA-RI es menor que el que presenta el grupo

CO ($t_8 = .386$; $p = 0.005$), en cambio las hembras adultas presentan una sensibilidad a la insulina similar al grupo control ($t_{10} = 0.32$; $p = 0.75$).

Durante la fase de reposo (ZT20, figura 17D) machos ($t_{10} = 0.8$; $p = 0.41$) y hembras ($t_{10} = 0.04$; $p = 0.96$) adultas malnutridas presentan similar sensibilidad a la insulina ya que presentan un índice de HOMA similar al compararlos con el grupo control. Estos resultados muestran que el metabolismo de la glucosa e insulina puede verse modificado por una malnutrición perinatal y que los efectos son diferentes a lo largo de la vida.

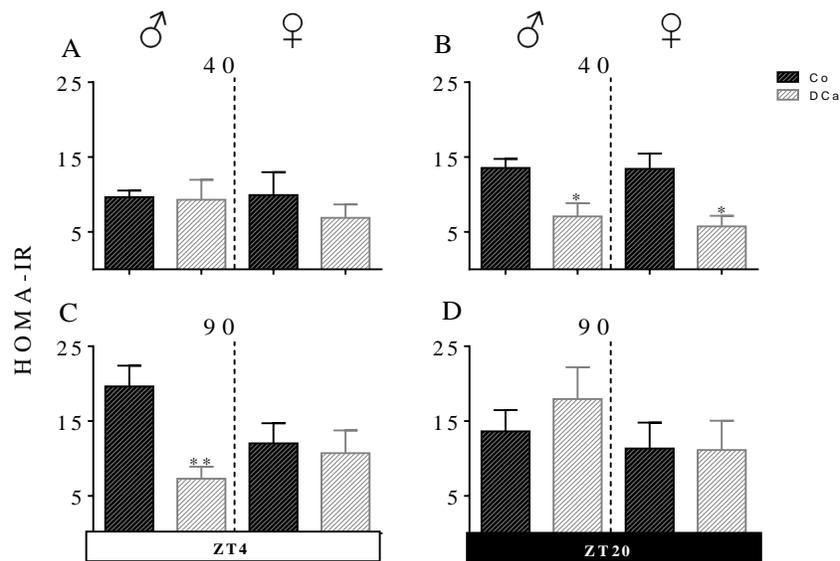


Figura 17. HOMA-IR. Se observan los valores del índice de HOMA para evaluar la resistencia a la insulina. Las barras negras (■) corresponden al grupo Co, las barras grises (▨) corresponden al grupo DCa, A) Juveniles ZT4, B) Juveniles, ZT20, C) Adultos, ZT4, D) Adultos, ZT20. La barra blanca significa la fotofase, la barra negra la escotofase. Los datos se muestran como promedio \pm ee. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, ♂ $n = 6$, ♀ $n = 6$.

8. Discusión

Diversos estudios en modelos animales han demostrado que una nutrición materna adecuada es fundamental para un óptimo desarrollo de la descendencia, cambios en la cantidad o calidad de la dieta puede desencadenar adaptaciones fisiológicas que perduren por diversas etapas de la vida de la progeñie desencadenando una programación metabólica. Aunque existen diversos protocolos de malnutrición perinatal (gestación y/o lactancia) gran parte de ellos se enfocan en el desbalance la dieta provocado por alguno de los componentes de la misma, por ejemplo dietas hipercalóricas y altas en grasas (Kruse et al., 2013) o dietas bajas en proteínas (Mouille et al., 2023), sin embargo, los efectos observados en las poblaciones pueden deberse a la interacción de diversos nutrientes y la pobre calidad de esta dieta, lo cual se puede estudiar con la administración de una dieta de cafetería (George et al., 2019), aunado a esto pocos son los estudios que han relacionado los efectos en el corto y largo plazo de la malnutrición materna sobre la ritmicidad circadiana de las respuestas metabólicas en la descendencia y sus diferencias sexuales.

Los presentes resultados muestran que la exposición a una dieta industrializada y altamente palatable, alta en calorías, grasas y baja en proteínas administrada a las madres durante los periodos críticos gestación y lactancia programa diferencialmente en la descendencia macho y hembra la ritmicidad circadiana del metabolismo energético de la glucosa, triglicéridos e insulina, predisponiendo a las crías de madres malnutridas a alteraciones en el metabolismo energético y su regulación temporal en el largo plazo.

La nutrición materna tiene un papel fundamental en el estado físico de la descendencia, particularmente en el crecimiento, el aporte de los nutrientes adecuados es crítico para el mantenimiento de este y como consecuencia del desarrollo óptimo de los organismos y su fisiología (Morgane et al., 1993), las dietas deficientes durante la gestación conllevan a modificaciones fisiológicas y conductuales en la descendencia (Duran et al., 2011). La exposición a una malnutrición en periodos críticos del desarrollo implica alteraciones en los parámetros morfométricos como el peso y la talla, esto se ha relacionado a la deficiencia de proteínas en una malnutrición hipoproteica durante la gestación y la lactancia (Morgane et al., 1993). Las crías DCa machos y hembras mostraron menor peso corporal posterior al destete (semana 4) en comparación con las crías Co, tanto en machos como hembras las

diferencias de peso se mantuvieron hasta concluir el estudio. La menor ganancia de peso para el grupo DCa podría deberse a la exposición a una dieta alta en calorías y baja en proteínas característica propia de las dietas de cafetería, afectando la disponibilidad de macronutrientes presentes en la leche materna provocando entre otros efectos alteraciones metabólicas en la descendencia como el aumento en la acumulación de grasa en ratas macho en edades juveniles y adultas, esto último se relaciona con el fenotipo “delgado por fuera-obeso por dentro” en el cual los organismos presentan menor ganancia de peso pero un incremento en la acumulación de grasas (George et al., 2019; Pomar et al., 2017).

Las ratas macho DCa presentan menores índice de Lee en comparación con el grupo Co, lo que indica una menor relación talla y peso, así como menor circunferencia torácica y abdominal, lo cual contrastaría con lo reportado con Pomar (2017), en donde la mayor acumulación de grasa se presenta en machos, por otra parte las hembras presentan un índice de Lee similar al grupo control, esto a pesar de presentar menor ganancia de peso como se mencionó previamente, sin embargo, también presentan menor talla corporal, en comparación con el grupo Co, efecto que no se observa en los machos DCa. La administración de una dieta de cafetería durante etapas perinatales predispone diferencialmente a las crías debido al aumento de acumulación de grasa en machos, pero no en hembras posterior al destete y en etapas adultas (Pomar et al., 2017). Estos resultados indican alteraciones en el desarrollo y crecimiento de la descendencia malnutrida con efectos dependientes del sexo, los cuales se conservan en las etapas evaluadas (juveniles de 40 días y adultos jóvenes de 90 días), dichas alteraciones han sido reportadas con anterioridad mostrando un dimorfismo sexual en el crecimiento de las ratas malnutridas (Zambrano et al., 2006).

Las crías expuestas durante la gestación y lactación a una dieta alta en grasas muestran que, a pesar de tener un peso similar al nacer, a los 6 meses tienen más tejido adiposo y triglicéridos más elevados (Borengasser et al., 2014), por lo que, la malnutrición perinatal predispone a la obesidad en edades adultas, aunque en los presentes resultados tanto machos como hembras presentan menor peso post destete, estos pueden presentar una predisposición a la acumulación de grasa y obesidad en etapas posteriores pues se ha reportado en ratones que la exposición a dietas de bajo contenido proteico presentan bajo peso durante las primeras

semanas de vida, y posteriormente un crecimiento acelerado (*catch up*), obesidad y resistencia a la insulina en su vida adulta (Sutton et al., 2010).

Aunado a esto, los modelos animales de dietas maternas han demostrado que la altas calorías, desde la concepción hasta el periodo postnatal temprano es suficiente para programar la predisposición a la obesidad en edades adultas programando el crecimiento, adiposidad de la descendencia en etapas adultas, disminución en la concentración de ácidos grasos libres y triglicéridos totales (Stanford et al., 2013). La exposición a una dieta baja en proteínas se ha asociado a hiperfagia debido al aumento en la expresión del NPY (neuropéptido Y) y alteraciones circadianas anoxigénicas de *Pomc* (proopiomelanocortina) en el hipotálamo, lo cual predispone a la crías malnutridas a desarrollar obesidad en etapas posteriores, sin embargo, no se observó el desarrollo de obesidad a las 13 semanas, aunque si una mejor sensibilidad a la insulina mediante el análisis de HOMA, previamente se ha demostrado que la restricción de proteínas mejora la sensibilidad a la insulina (Borck et al., 2017), por lo que es posible que el metabolismo se programe diferente durante la exposición a dietas de cafetería a dietas restrictivas a proteínas o con excesos a grasas y carbohidratos. Las dietas de cafetería resultan efectivas para incrementar las alteraciones metabólicas que permiten el desarrollo del síndrome metabólico (Gomez-Smith et al., 2016), dichas alteraciones se observan dependiendo de la etapa de la vida en que se exponga al desequilibrio nutricional. En la actualidad se ha incrementado el consumo de alimentos altamente industrializados con alto contenido graso y azúcares añadidos, estas dietas están al alcance de cualquier grupo poblacional, entre ellos se encuentran las mujeres en edades reproductivas, generando efectos en diversas edades en la descendencia, un ejemplo de ello es la programación circadiana del metabolismo energético. La programación metabólica, así como la organización temporal son fundamentales para la interacción eficiente con el medio ambiente, los presentes resultados muestran que la exposición a una dieta de cafetería durante el desarrollo temprano genera repercusiones en diferentes etapas de la vida, incluso después de largos períodos expuestos a una dieta balanceada, por lo cual los efectos de una malnutrición perinatal predisponen a efectos permanentes afectando la calidad de vida.

La ingesta de alimentos la cual es regulada a nivel central por el hipotálamo proporciona los sustratos como la glucosa, los lípidos y los aminoácidos, estos mantienen un proceso homeostático durante las fases de actividad y reposo de los organismos (Kalsbeek et al.,

2014). Diversos procesos fisiológicos como el metabolismo energético y el consumo de alimento están regulados entre otros factores por los relojes circadianos mediante los osciladores periféricos y el reloj maestro (Adamovich et al., 2014), por ejemplo, el consumo de alimento es sincronizado por la coordinación entre los osciladores periféricos y el NSQ (Kessler & Pivovarov-Ramich, 2019). La malnutrición perinatal hipocalórica e hipoproteínica genera menor consumo en machos desde la semana 8 hasta la 13, sin embargo en hembras solo durante las semanas 6 y 7, lo que podría relacionarse con un desajuste entre dos diferentes osciladores como el NSQ y el hígado, páncreas y/o tejido adiposo, generando una respuesta errónea que conlleve a cambios en el metabolismo energético, la exposición a dietas altas en grasas conlleva a la atenuación de la ritmicidad de alimentación, lo que podría relacionarse con un menor consumo y alteraciones metabólicas (Kohsaka et al., 2007; Marine-Casado et al., 2018).

El desajuste o alteraciones en la ritmicidad de los elementos del metabolismo energético conlleva a la predisposición de enfermedades metabólicas alteraciones en los triglicéridos (Borengasser et al., 2014). Por otra parte la restricción proteica materna durante la gestación y/o la lactancia altera el crecimiento postnatal, la ingesta de alimentos, la fisiología de la leptina, las concentraciones de triglicéridos y colesterol, modifica el metabolismo de la glucosa y la resistencia a la insulina en ventanas de tiempo específicas (Zambrano et al., 2006). Las alteraciones encontradas en los niveles de triglicéridos totales en la fase de reposo en machos (ZT8 en juveniles y ZT4 en adultos) y en la fase de actividad para las hembras (ZT12, ZT16, ZT20 en juveniles y ZT16 en adultos), muestra una diferencia en la ritmicidad del metabolismo energético entre machos y hembras, tanto en machos como en hembras estas respuestas podrían relacionarse con alteraciones a largo plazo como la obesidad, resistencia a la insulina y diabetes (Gomez-Smith et al., 2016).

Las alteraciones en las oscilaciones circadianas pueden ser generadas por causas genéticas o ambientales, particularmente en la actualidad se ha relacionado el estilo de vida y el consumo de una dieta desequilibrada con los cambios en parámetros metabólicos como los lípidos, predisponiendo a los organismos a enfermedades como dislipidemia y fenotipos similares a la diabetes (Shi et al., 2013).

Los triglicéridos son una fuente importante de energía para los organismos, el desequilibrio homeostático de estos se ha relacionado a la exposición de dietas como la de cafetería, dónde

los efectos difieren según la etapa de vida y el tiempo de la exposición a esta (Adamovich et al., 2015; Guedine et al., 2018). Los cambios en los ritmos circadianos de los triglicéridos totales se relacionan con alteraciones en las reservas energéticas disponibles para el organismo en un periodo de 24 horas, estos efectos pueden deberse a la modificaciones de los reguladores del metabolismo de los lípidos, particularmente a los PPAR α y PPAR γ , así como enzimas involucradas en el metabolismo de los triglicéridos, y su expresión circadiana (Adamovich et al., 2014). Las diferencias mostradas en los niveles plasmáticos de triglicéridos a los 40 y 90 días muestran que el metabolismo energético se ve alterado a lo largo de la vida de los organismos.

La disminución de los triglicéridos, aunado al menor peso corporal, incrementan la sensibilidad a la insulina tanto en machos como hembras en la etapa juvenil del presente estudio. Los osciladores periféricos desempeñan un papel fundamental en el metabolismo, particularmente en el hígado, el tejido adiposo y el páncreas, tejidos que participan en la homeostasis metabólica, así como una regulación temporal con una dinámica que puede verse alterada por la desregulación de la relación de fase entre los diferentes osciladores periféricos, así como con el NSQ, debido a la exposición a una dieta alta en grasas .

La relación entre los ritmos circadianos y el metabolismo es debido a los diferentes componentes del reloj molecular, así como diversas moléculas señalizadoras como los PPARs y elementos que participan en las vías metabólicas, un desajuste o remodelación en esta señalización se ha relacionado con diversas alteraciones a nivel celular, y fisiológico. Procesos que implican una reprogramación a diferentes niveles como la remodelación en las cromatinas y expresión de genes y proteínas, como el caso particular de la sobre activación de PPAR γ en hígado, así como un adelanto de fase como respuesta a la exposición alta en grasas, lo que desencadena una reorganización de la vía metabólica de los lípidos, así como de la oscilación circadiana (Eckel-Mahan et al., 2013).

La principal fuente de energía para los mamíferos es la glucosa, esta presenta una ritmicidad circadiana, proveyendo a los organismos de los recursos necesarios para llevar a cabo sus procesos fisiológicos y conductuales de manera eficiente. En cuanto a los niveles plasmáticos de glucosa en los animales expuestos a la dieta de cafetería uno de los factores que participa en su regulación es la maduración del sistema, ya que esto se modifica en edades adultas presentando hiperglucemia en la fase de reposo tanto para machos como para hembras, a

pesar del incremento de sensibilidad a la insulina, lo que podría indicar una predisposición a presentar resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa en edades posteriores como se ha reportado previamente por Akyol et al., 2012.

La diferencia de concentraciones en los niveles plasmáticos de glucosa en ratas malnutridas juveniles y adultas que en las primeras etapas de la vida existen ventanas temporales críticas para el desarrollo de tejidos periféricos como el hígado y el páncreas, donde las células muestran baja sensibilidad a la insulina en comparación con ratas adultas (Aguayo-Mazzucato et al., 2006), por lo cual tanto machos como hembras presentan hiperglucemia en edades juveniles, respuesta que se ve modificada en edades adultas al presentar hipoglucemia.

La nutrición materna particularmente aquella que desencadena respuestas mal adaptativas no es solo un riesgo para la madre, sino también la descendencia, los efectos pueden presentarse a largo plazo, particularmente en respuestas metabólicas programando el desarrollo fetal. La exposición a una dieta de cafetería durante la gestación y la lactancia programa entre otras respuestas el metabolismo de la glucosa, las dietas bajas en proteínas y alta en carbohidratos predisponen a la reducción de las concentraciones basales de insulina y glucosa, pesos reducidos al destete, esto se asocia a cambios en las vías de señalización MAPKs en el hipotálamo, una estructura que regula el metabolismo energético a nivel central, el transcriptoma hipotalámico sugieren que las vías pueden conducir a circuitos neurales anormales, el cual juega un papel clave en el balance energético, contribuyendo a la desregulación de la homeostasis metabólica como el aumento de grasa e intolerancia a la glucosa en la edad adulta (Martin et al., 2018).

La exposición materna a una dieta de cafetería no predispone a las crías a la hiperfagia como se observa en los resultados, pero se asocia a la reducción de la adiposidad y a la disminución de la concentración de glucosa e insulina en ayunas, incrementando la sensibilidad a la insulina, y una intolerancia a la glucosa, se ha reportado que la exposición a la dieta de cafetería perinatal aumenta la expresión hepática de Akt2 (señalizador de la vía de la insulina) (Akyol et al., 2012), también se ha asociado el aumento a la sensibilidad a la insulina como un indicador de la predisposición a la resistencia a la insulina e hiperfagia en organismos con sobrenutrición u obesidad (Durham & Truett, 2006), lo cual podría explicar los resultados observados en el presente trabajo, a pesar que en las edades evaluadas no se observa

resistencia a la insulina u obesidad, esto podría presentarse en edades posteriores, debido a que la malnutrición perinatal predispone a la descendencia a estas alteraciones metabólicas. Diversos estudios en roedores han mostrado que la mala nutrición en etapas tempranas del desarrollo, programa alteraciones metabólicas, como la hiperglucemia, resistencia a la insulina (Gomez-Smith et al., 2016) y alteraciones en el metabolismo de los lípidos (Lee et al., 2016; Torres et al., 2010), la exposición a una dieta materna baja en proteínas durante la gestación y la lactancia incrementa la resistencia a la insulina en las ratas macho y hembras adultas y disminuye la sensibilidad a la insulina, generando consecuencias adaptativas (Morimoto et al., 2012). Sin embargo, la mayoría de estos estudios solo evalúan cambios en organismos expuestos durante edades adultas, mientras que el presente estudio se enfoca sobre el proceso de maduración evaluando las primeras 13 semanas de edad, lo que podría explicar una posible discordancia, ya que se observó un aumento en la sensibilidad a la insulina tanto en machos como en hembras juveniles en la fase de actividad y en la fase de reposo para los machos adultos, el incremento a la sensibilidad a la insulina se ha reportado en la exposición perinatal a una dieta de cafetería incrementado la susceptibilidad a la resistencia a insulina en edades posteriores. este efecto también se ha reportado en otros estudios en particular de los machos (George et al., 2019; Lecoutre et al., 2017).

Aunado a estos cambios, se sabe que entre los metabolitos que presentan una oscilación circadiana se encuentra la glucosa, esta está regulada por diferentes factores como el consumo de alimentos, y la interacción entre el músculo y el hígado (Smith et al., 2023). Las concentraciones de glucosa se ven afectadas por la disponibilidad de alimento (horas de ayuno) debido a la regulación del NSQ, quien se encarga de ajustar la liberación de hormonas y metabolitos circulantes en condiciones emergentes como el ayuno (La Fleur et al., 1999) el NSQ es capaz de regular las concentraciones de glucosa a nivel central y periférico, particularmente se ha reportado que mediante la liberación de vasopresina envía señales al núcleo arqueado para regular la glucosa circulante a nivel central y periférico, presentando concentraciones elevadas durante la fase de actividad y una reducción de estas durante la fase de reposo (Rodriguez-Cortes et al., 2022), cambios en esta regulación podrían relacionarse con la oscilación de las concentraciones circulantes tanto en edades juveniles como adultas. La exposición intrauterina y perinatal a la dieta de cafetería programa el metabolismo energética través de modificaciones en períodos críticos del desarrollo produciendo

alteraciones a mediano y largo plazo, por ejemplo, el adelanto de la acrofase de corticosterona (un regulador del metabolismo de la glucosa) en machos malnutridos perinatalmente expuestos a una dieta de cafetería durante la gestación y la lactancia (Bustamante-Valdez, 2015), además la dieta alta en grasas y baja en proteínas puede conducir a un desajuste en el ritmo de glucosa y triglicéridos que desencadena modificaciones metabólicas severas que pueden predisponer a presentar síndrome metabólico (Gomez-Smith et al., 2016), por lo cual la programación nutricional materna genera modificaciones en la homeostasis energética mediante cambios en la regulación tanto a nivel central como periférico en el mediano y largo plazo.

La evidencia fisiológica indica que los ritmos circadianos y el metabolismo energético están estrechamente vinculados, se ha reportado que los roedores que carecen de la expresión de genes reloj o mutantes de estos presentan fenotipos metabólicos adaptivos. El reloj molecular de los osciladores periféricos, por ejemplo, hígado, páncreas, músculo esquelético y tejido adiposo, regulan la ritmicidad de la homeostasis energética (Kalsbeek et al., 2014). La expresión de *Bmal1* y *Clock*, factores positivos en el bucle del reloj molecular, está vinculada a la expresión circadiana de genes que participan en la lipogénesis hepática (Honma et al., 2016). Por el contrario, los componentes negativos del asa (*Per* y *Cry*) están relacionados con la respuesta al ayuno en el hígado, promoviendo el almacenamiento de glucosa en la forma de glucógeno (Zani et al., 2013), también se ha reportado que las alteraciones en la ritmicidad de los genes del reloj en ratones muestran atenuación en los patrones rítmicos y disminución de la concentración de insulina, glucosa y triglicéridos (Borck et al., 2017; Varcoe et al., 2016). Es importante señalar que la pérdida de sincronización de los genes del reloj en los osciladores periféricos implica un desequilibrio en el metabolismo de los lípidos y los carbohidratos lo que podría explicar los cambios observados en los ritmos circadianos de glucosa y triglicéridos en el presente estudio.

Los genes *Bmal1* y *Clock* regulan el metabolismo de la glucosa y triglicéridos, alteraciones sus proteínas han mostrado que se suprime la oscilación diurna de glucosa y triglicéridos, así como a presencia hipoglucemia (Rudic et al., 2004). Particularmente la homeostasis de la glucosa puede verse alterada por la disrupción del reloj circadiano, Onuma y cols (2022) demostraron que ratones mutantes del gen *Bmal1* disminuye los niveles de glucógeno hepático en ZT4 (Onuma et al., 2022), todos estos datos en conjunto demuestran que la

integridad de los componentes del reloj molecular es necesaria para la regulación y sincronización del ritmo circadiano del metabolismo energético. Como se afirma, las alteraciones en el reloj molecular provocadas por la malnutrición materna podrían explicar las modificaciones del oscilador observadas en el presente estudio. Nuestros resultados muestran que los ritmos se alteran durante el día lo que puede desencadenar otras patologías en otros sistemas fisiológicos, como las respuestas conductuales, las cuales también presentan una oscilación circadiana.

Los ritmos de los metabolitos pueden ser modificados por la dieta; sin embargo, pocos estudios han evaluado el efecto de la desnutrición materna sobre los ritmos circadianos del metabolismo energético de la descendencia en diferentes edades. En este contexto, se propone que la malnutrición perinatal provocada por una dieta de cafetería durante la gestación y la lactancia, genera una alteración en la relación de fase entre el NSQ y los osciladores periféricos, predisponiendo a un desarrollo erróneo del metabolismo energético de la glucosa y los triglicéridos totales en sangre, predisponiendo enfermedades metabólicas en edades posteriores.

9. Conclusiones

En conclusión, los resultados obtenidos muestran que la nutrición materna es un factor que programa el metabolismo energético de la descendencia diferencialmente entre machos y hembras, alterando la ritmicidad y concentración de la glucosa y triglicéridos totales en plasma en el corto y largo plazo. Particularmente la exposición a una dieta de cafetería (hipercalórica e hipoproteica) durante la gestación y la lactancia programa una disminución plasmática de triglicéridos totales para los machos en la fase de reposo y para las hembras en la fase de actividad a los 40 y 90 días, hipoglucemia a los 40 días tanto en reposo como en actividad, así como hiperglucemia en la fase de reposo a los 90 días para machos y hembras con acrofases en diferentes puntos temporales para ambos metabolitos.

Por lo tanto las alteraciones en la ritmicidad incluyen hiperglucemia en etapas de reposo y aumenta la sensibilidad a la insulina en la fase de actividad en machos y hembras, aunado a esto la malnutrición perinatal generada por la administración de una dieta de cafetería durante la gestación y la lactancia retrasa el crecimiento, disminuyendo la ganancia de peso y talla, así como parámetros morfométricos como el índice de Lee, la circunferencia torácica y la circunferencia abdominal como se ha reportado previamente con otros tipos de dietas administradas durante periodos críticos del desarrollo.

10. Perspectivas

- Evaluar la predisposición de ganancia de peso, obesidad y resistencia a la insulina en edades posteriores a las analizadas en el presente trabajo.
- Evaluar la ritmicidad circadiana de reguladores del metabolismo energético de la glucosa, insulina y triglicéridos como el glucagón y la corticosterona en el modelo de malnutrición perinatal generada por la administración de una dieta de cafetería durante la gestación y la lactancia.
- Analizar la expresión de genes reloj relacionados con el metabolismo para establecer la relación de fase entre los diferentes osciladores periféricos que pueden verse alterados por la malnutrición perinatal.
- Evaluar la expresión de los PPARs como posible mecanismo de regulación del metabolismo de glucosa y triglicéridos en las crías malnutridas y su implicación en las adaptaciones circadianas del metabolismo energético

11. Referencias Bibliograficas

- Adamovich, Y., Aviram, R., & Asher, G. (2015). The emerging roles of lipids in circadian control. *Biochim Biophys Acta*, 1851(8), 1017-1025. <https://doi.org/10.1016/j.bbaliip.2014.11.013>
- Adamovich, Y., Rousso-Noori, L., Zwihaft, Z., Neufeld-Cohen, A., Golik, M., Kraut-Cohen, J., Wang, M., Han, X., & Asher, G. (2014). Circadian clocks and feeding time regulate the oscillations and levels of hepatic triglycerides. *Cell Metab*, 19(2), 319-330. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.12.016>
- Aguayo-Mazzucato, C., Sanchez-Soto, C., Godinez-Puig, V., Gutierrez-Ospina, G., & Hiriart, M. (2006). Restructuring of pancreatic islets and insulin secretion in a postnatal critical window. *PLoS One*, 1, e35. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000035>
- Aguilar-Roblero, R., & Díaz-Muñoz, M. (2010). Chronostatic adaptations in the liver to restricted feeding: The FEO as an emergent oscillator. *Sleep and Biological Rhythms*, 8(1), 9-17. <https://doi.org/10.1111/j.1479-8425.2009.00415.x>
- Akyol, A., McMullen, S., & Langley-Evans, S. C. (2012). Glucose intolerance associated with early-life exposure to maternal cafeteria feeding is dependent upon post-weaning diet. *Br J Nutr*, 107(7), 964-978. <https://doi.org/10.1017/S0007114511003916>
- Bass, J., & Takahashi, J. S. (2010). Circadian integration of metabolism and energetics. *Science*, 330(6009), 1349-1354. <https://doi.org/10.1126/science.1195027>
- Bautista, C. J., Montano, S., Ramirez, V., Morales, A., Nathanielsz, P. W., Bobadilla, N. A., & Zambrano, E. (2016). Changes in milk composition in obese rats consuming a high-fat diet. *Br J Nutr*, 115(3), 538-546. <https://doi.org/10.1017/S0007114515004547>
- Borck, P. C., Batista, T. M., Vettorazzi, J. F., Camargo, R. L., Boschero, A. C., Vieira, E., & Carneiro, E. M. (2017). Protein malnutrition after weaning disrupts peripheral clock and daily insulin secretion in mice. *J Nutr Biochem*, 50, 54-65. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.08.013>
- Borengasser, S. J., Kang, P., Faske, J., Gomez-Acevedo, H., Blackburn, M. L., Badger, T. M., & Shankar, K. (2014). High fat diet and in utero exposure to maternal obesity disrupts circadian rhythm and leads to metabolic programming of liver in rat offspring. *PLoS One*, 9(1), e84209. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084209>
- Brown, A., Pendergast, J., & Yamasaki, S. (2019). Peripheral Circadian Oscillators. *Yale Journal of Biology and Medicine* 92, 327-335.
- Bustamante-Valdez, D. J. (2015). Efecto de una ambiente hipercalórico perinatal sobre la expresión del ritmo diario de glucosa, insulina y leptina en la rata juvenil, Tesis que presenta para obtener el grado de Biologa. *Facultad de Ciencias*, 90.
- Castro, H., Pomar, C. A., Palou, A., Pico, C., & Sanchez, J. (2017). Offspring predisposition to obesity due to maternal-diet-induced obesity in rats is preventable by dietary normalization before mating. *Mol Nutr Food Res*, 61(3). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201600513>
- Castrogiovanni, P., & Ibesi, R. (2017). The Role of Malnutrition during Pregnancy and Its Effects on Brain and Skeletal Muscle Postnatal Development. *Journal of Functional Morphology and Kinesiology*, 2(3), 30. <https://doi.org/10.3390/jfkm2030030>
- Catalano, P. M. (2010). The impact of gestational diabetes and maternal obesity on the mother and her offspring. *J Dev Orig Health Dis*, 1(4), 208-215. <https://doi.org/10.1017/S2040174410000115>
- Chen, L., & Yang, G. (2014). PPARs Integrate the Mammalian Clock and Energy Metabolism. *PPAR Res*, 2014, 653017. <https://doi.org/10.1155/2014/653017>
- Colombo, J., Gustafson, K. M., & Carlson, S. E. (2019). Critical and Sensitive Periods in Development and Nutrition. *Ann Nutr Metab*, 75 Suppl 1, 34-42. <https://doi.org/10.1159/000508053>
- Cornelissen, G. (2014). Cosinor-based rhythmometry. *Theoretical Biology and Medical Modelling*.

- Daher-Abdi, A., Olvera Hernandez, S., Reyes Castro, L. A., Mezo-Gonzalez, C. E., Croyal, M., Garcia-Santillan, J. A., Ouguerram, K., Zambrano, E., & Bolanos-Jimenez, F. (2021). Maternal DHA Supplementation during Pregnancy and Lactation in the Rat Protects the Offspring against High-Calorie Diet-Induced Hepatic Steatosis. *Nutrients*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/nu13093075>
- Dehorter, N., & Del Pino, I. (2020). Shifting Developmental Trajectories During Critical Periods of Brain Formation. *Front Cell Neurosci*, 14, 283. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00283>
- Dibner, C., Schibler, U., & Albrecht, U. (2010). The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks. *Annu Rev Physiol*, 72, 517-549. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135821>
- Dudele, A., Lund, S., Jessen, N., Wegener, G., Winther, G., Elnif, J., Frische, S., Wang, T., & Mayntz, D. (2012). Maternal protein restriction before pregnancy reduces offspring early body mass and affects glucose metabolism in C57BL/6J Bom mice. *J Dev Orig Health Dis*, 3(5), 364-374. <https://doi.org/10.1017/S2040174412000347>
- Duran, P., Miranda-Anaya, M., Romero-Sanchez Mde, J., Mondragon-Soto, K., Granados-Rojas, L., & Cintra, L. (2011). Time-place learning is altered by perinatal low-protein malnutrition in the adult rat. *Nutr Neurosci*, 14(4), 145-150. <https://doi.org/10.1179/147683011X13009738172567>
- Durham, H. A., & Truett, G. E. (2006). Development of insulin resistance and hyperphagia in Zucker fatty rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 290(3), R652-658. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00428.2004>
- Eckel-Mahan, K., & Sassone-Corsi, P. (2009). Metabolism control by the circadian clock and vice versa. *Nat Struct Mol Biol*, 16(5), 462-467. <https://doi.org/10.1038/nsmb.1595>
- Eckel-Mahan, K., & Sassone-Corsi, P. (2013). Metabolism and the circadian clock converge. *Physiol Rev*, 93(1), 107-135. <https://doi.org/10.1152/physrev.00016.2012>
- Eckel-Mahan, K. L., Patel, V. R., de Mateo, S., Orozco-Solis, R., Ceglia, N. J., Sahar, S., Dilag-Penilla, S. A., Dyar, K. A., Baldi, P., & Sassone-Corsi, P. (2013). Reprogramming of the circadian clock by nutritional challenge. *Cell*, 155(7), 1464-1478. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.11.034>
- ENSANUT. (2012). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, Evidencia para la política pública en salud. *Instituto Nacional de Salud Publica*.
- ENSANUT. (2018). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19, Resultados Nacionales. 268.
- Fall, C. H. (2013). Fetal malnutrition and long-term outcomes. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*, 74, 11-25. <https://doi.org/10.1159/000348384>
- FAO. (2021). Nutrición y sistemas alimentarios. *Manual para parlametarios N° 32*. <https://doi.org/10.4060/cb2005es>
- Ferrell, J. M., & Chiang, J. Y. (2015). Circadian rhythms in liver metabolism and disease. *Acta Pharm Sin B*, 5(2), 113-122. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.01.003>
- Forgie, A. J., Drall, K. M., Bourque, S. L., Field, C. J., Kozyrskyj, A. L., & Willing, B. P. (2020). The impact of maternal and early life malnutrition on health: a diet-microbe perspective. *BMC Med*, 18(1), 135. <https://doi.org/10.1186/s12916-020-01584-z>
- Gatfield, D., & Schibler, U. (2008). Circadian glucose homeostasis requires compensatory interference between brain and liver clocks. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(39), 14753-14754. <https://doi.org/10.1073/pnas.0807861105>
- George, G., Draycott, S. A. V., Muir, R., Clifford, B., Elmes, M. J., & Langley-Evans, S. C. (2019). The impact of exposure to cafeteria diet during pregnancy or lactation on offspring growth and adiposity before weaning. *Sci Rep*, 9(1), 14173. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50448-x>

- Gomez-Smith, M., Karthikeyan, S., Jeffers, M. S., Janik, R., Thomason, L. A., Stefanovic, B., & Corbett, D. (2016). A physiological characterization of the Cafeteria diet model of metabolic syndrome in the rat. *Physiol Behav*, *167*, 382-391. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.09.029>
- Guedine, C. R. C., Pordeus, L. C. M., Riul, T. R., Jordao, A. A. J., & Almeida, S. S. (2018). Cafeteria diet during lactation and/or post-lactation altered lipid profile/lipid peroxidation and increased anxiety-like behavior in male rat offspring. *Nutr Neurosci*, 1-11. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2018.1529283>
- Henry, C. J., Kaur, B., & Quek, R. Y. C. (2020). Chrononutrition in the management of diabetes. *Nutr Diabetes*, *10*(1), 6. <https://doi.org/10.1038/s41387-020-0109-6>
- Hoefel, A. L., Hansen, F., Rosa, P. D., Assis, A. M., Silveira, S. L., Denardin, C. C., Pettenuzzo, L., Augusti, P. R., Somacal, S., Emanuelli, T., Perry, M. L., & Wannmacher, C. M. (2011). The effects of hypercaloric diets on glucose homeostasis in the rat: influence of saturated and monounsaturated dietary lipids. *Cell Biochem Funct*, *29*(7), 569-576. <https://doi.org/10.1002/cbf.1789>
- Honma. (2018). The mammalian circadian system: a hierarchical multi-oscillator structure for generating circadian rhythm. *J Physiol Sci*, *68*(3), 207-219. <https://doi.org/10.1007/s12576-018-0597-5>
- Honma, K., Hikosaka, M., Mochizuki, K., & Goda, T. (2016). Loss of circadian rhythm of circulating insulin concentration induced by high-fat diet intake is associated with disrupted rhythmic expression of circadian clock genes in the liver. *Metabolism*, *65*(4), 482-491. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.12.003>
- Howie, G. J., Sloboda, D. M., & Vickers, M. H. (2012). Maternal undernutrition during critical windows of development results in differential and sex-specific effects on postnatal adiposity and related metabolic profiles in adult rat offspring. *Br J Nutr*, *108*(2), 298-307. <https://doi.org/10.1017/S000711451100554X>
- Joye, D. A. M., & Evans, J. A. (2022). Sex differences in daily timekeeping and circadian clock circuits. *Semin Cell Dev Biol*, *126*, 45-55. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2021.04.026>
- Kalsbeek, A., la Fleur, S., & Fliers, E. (2014). Circadian control of glucose metabolism. *Mol Metab*, *3*(4), 372-383. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2014.03.002>
- Kessler, K., & Pivovarovova-Ramich, O. (2019). Meal Timing, Aging, and Metabolic Health. *Int J Mol Sci*, *20*(8). <https://doi.org/10.3390/ijms20081911>
- Kohsaka, A., Laposky, A. D., Ramsey, K. M., Estrada, C., Joshu, C., Kobayashi, Y., Turek, F. W., & Bass, J. (2007). High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. *Cell Metab*, *6*(5), 414-421. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.09.006>
- Kruse, M., Seki, Y., Vuguin, P. M., Du, X. Q., Fiallo, A., Glenn, A. S., Singer, S., Breuhahn, K., Katz, E. B., & Charron, M. J. (2013). High-fat intake during pregnancy and lactation exacerbates high-fat diet-induced complications in male offspring in mice. *Endocrinology*, *154*(10), 3565-3576. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1877>
- la Fleur, S., Kalsbeek, A., Wortel, J., Fekkes, M., & Buijs, R. (2001). A Daily Rhythm in Glucose Tolerance: A Role for the Suprachiasmatic Nucleus. *Diabetes*, *50*(6). <https://doi.org/10.2337/diabetes.50.6.1237>
- La Fleur, S., Kalsbeek, A., Wortel, J., & RM., B. (1999). A suprachiasmatic nucleus generated rhythm in basal glucose concentrations. *J Neuroendocrinol*, *11*, 643-652.
- Lecoutre, S., Deracinois, B., Laborie, C., Eberle, D., Guinez, C., Panchenko, P. E., Lesage, J., Vieau, D., Junien, C., Gabory, A., & Breton, C. (2016). Depot- and sex-specific effects of maternal

- obesity in offspring's adipose tissue. *J Endocrinol*, 230(1), 39-53. <https://doi.org/10.1530/JOE-16-0037>
- Lecoutre, S., Marouze, L., Drougard, A., Knauf, C., Guinez, C., Eberle, D., Laborie, C., Vieau, D., Lesage, J., & Breton, C. (2017). Maternal undernutrition programs the apelinergic system of adipose tissue in adult male rat offspring. *J Dev Orig Health Dis*, 8(1), 3-7. <https://doi.org/10.1017/S2040174416000702>
- Lee, S., You, Y. A., Kwon, E. J., Jung, S. C., Jo, I., & Kim, Y. J. (2016). Maternal Food Restriction during Pregnancy and Lactation Adversely Affect Hepatic Growth and Lipid Metabolism in Three-Week-Old Rat Offspring. *Int J Mol Sci*, 17(12). <https://doi.org/10.3390/ijms17122115>
- Lee, Y. (2021). Roles of circadian clocks in cancer pathogenesis and treatment. *Exp Mol Med*, 53(10), 1529-1538. <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00681-0>
- Lowrey, P. L., & Takahashi, J. S. (2011). Genetics of circadian rhythms in Mammalian model organisms. *Adv Genet*, 74, 175-230. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-387690-4.00006-4>
- Marine-Casado, R., Domenech-Coca, C., Del Bas, J. M., Blade, C., Arola, L., & Caimari, A. (2018). Intake of an Obesogenic Cafeteria Diet Affects Body Weight, Feeding Behavior, and Glucose and Lipid Metabolism in a Photoperiod-Dependent Manner in F344 Rats. *Front Physiol*, 9, 1639. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01639>
- Martin, L. J., Meng, Q., Blencowe, M., Lagarrigue, S., Xiao, S., Pan, C., Wier, J., Temple, W. C., Devaskar, S. U., Lusic, A. J., & Yang, X. (2018). Maternal High-Protein and Low-Protein Diets Perturb Hypothalamus and Liver Transcriptome and Metabolic Homeostasis in Adult Mouse Offspring. *Front Genet*, 9, 642. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00642>
- Morgane, P. J., Austin-LaFrance, R., Bronzino, J., Tonkiss, J., Díaz-Cintra, S., Cintra, L., Kemper, T. L., & Galler, J. R. (1993). Prenatal Malnutrition and Development of the Brain. *Neuroscience and Biobehavioral Review*, 17, 91-128.
- Morgane, P. J., Mokler, D. J., & Galler, J. R. (2002). Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. *Neuroscience and Biobehavioral Review*, 26, 471-483.
- Morimoto, S., Sosa, T. C., Calzada, L., Reyes-Castro, L. A., Diaz-Diaz, E., Morales, A., Nathanielsz, P. W., & Zambrano, E. (2012). Developmental programming of aging of isolated pancreatic islet glucose-stimulated insulin secretion in female offspring of mothers fed low-protein diets in pregnancy and/or lactation. *J Dev Orig Health Dis*, 3(6), 483-488. <https://doi.org/10.1017/S2040174412000463>
- Moulle, V. S., Frapin, M., Amarger, V., & Parnet, P. (2023). Maternal Protein Restriction in Rats Alters Postnatal Growth and Brain Lipid Sensing in Female Offspring. *Nutrients*, 15(2). <https://doi.org/10.3390/nu15020463>
- Mucellini, A. B., Goularte, J. F., de Araujo da Cunha, A. C., Caceres, R. C., Noschang, C., da Silva Benetti, C., Silveira, P. P., & Sanvitto, G. L. (2014). Effects of exposure to a cafeteria diet during gestation and after weaning on the metabolism and body weight of adult male offspring in rats. *Br J Nutr*, 111(8), 1499-1506. <https://doi.org/10.1017/S0007114513003838>
- Novelli, E. L., Diniz, Y. S., Galhardi, C. M., Ebaid, G. M., Rodrigues, H. G., Mani, F., Fernandes, A. A., Cicogna, A. C., & Novelli Filho, J. L. (2007). Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab Anim*, 41(1), 111-119. <https://doi.org/10.1258/00236770779399518>
- OMS. (2020). www.who.int.
- Onuma, S., Kinoshita, S., Shimba, S., Ozono, K., Michigami, T., & Kawai, M. (2022). The Lack of Bmal1, a Core Clock Gene, in the Intestine Decreases Glucose Absorption in Mice. *Endocrinology*, 163(9). <https://doi.org/10.1210/endo/bqac119>
- OPS. (2019). Organización Panamericana de la Salud-Organizacion Mundial de la Salud.

- Partch, C. L., Green, C. B., & Takahashi, J. S. (2014). Molecular architecture of the mammalian circadian clock. *Trends Cell Biol*, 24(2), 90-99. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2013.07.002>
- Peek, C. B., Ramsey, K. M., Marcheiva, B., & Bass, J. (2012). Nutrient sensing and the circadian clock. *Trends Endocrinol Metab*, 23(7), 312-318. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2012.02.003>
- Pickel, L., & Sung, H. K. (2020). Feeding Rhythms and the Circadian Regulation of Metabolism. *Front Nutr*, 7, 39. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00039>
- Poggiogalle, E., Jamshed, H., & Peterson, C. M. (2018). Circadian regulation of glucose, lipid, and energy metabolism in humans. *Metabolism*, 84, 11-27. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.11.017>
- Pomar, C. A., van Nes, R., Sanchez, J., Pico, C., Keijer, J., & Palou, A. (2017). Maternal consumption of a cafeteria diet during lactation in rats leads the offspring to a thin-outside-fat-inside phenotype. *Int J Obes (Lond)*, 41(8), 1279-1287. <https://doi.org/10.1038/ijo.2017.42>
- Reh, R. K., Dias, B. G., Nelson, C. A., 3rd, Kaufer, D., Werker, J. F., Kolb, B., Levine, J. D., & Hensch, T. K. (2020). Critical period regulation across multiple timescales. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 117(38), 23242-23251. <https://doi.org/10.1073/pnas.1820836117>
- Reynolds, C. M., Segovia, S. A., & Vickers, M. H. (2017). Experimental Models of Maternal Obesity and Neuroendocrine Programming of Metabolic Disorders in Offspring. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 8, 245. <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00245>
- Ribeiro, A., Batista, T. H., Veronesi, V. B., Giusti-Paiva, A., & Vilela, F. C. (2018). Cafeteria diet during the gestation period programs developmental and behavioral courses in the offspring. *Int J Dev Neurosci*, 68, 45-52. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2018.05.001>
- Rijo-Ferreira, F., & Takahashi, J. S. (2019). Genomics of circadian rhythms in health and disease. *Genome Med*, 11(1), 82. <https://doi.org/10.1186/s13073-019-0704-0>
- Rodriguez-Cortes, B., Hurtado-Alvarado, G., Martinez-Gomez, R., Leon-Mercado, L. A., Prager-Khoutorsky, M., & Buijs, R. M. (2022). Suprachiasmatic nucleus-mediated glucose entry into the arcuate nucleus determines the daily rhythm in blood glycemia. *Curr Biol*, 32(4), 796-805 e794. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.12.039>
- Rothwell, N. J., & Stock, M. J. (2009). Effects of feeding a palatable 'cafeteria' diet on energy balance in young and adult lean (+/?) Zucker rats. *British Journal of Nutrition*, 103(3), 461. <https://doi.org/10.1079/bjn19820058>
- Rudic, R. D., McNamara, P., Curtis, A. M., Boston, R. C., Panda, S., Hogenesch, J. B., & Fitzgerald, G. A. (2004). BMAL1 and CLOCK, two essential components of the circadian clock, are involved in glucose homeostasis. *PLoS Biol*, 2(11), e377. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020377>
- Saengnipanthkul, S., Noh, H. L., Friedline, R. H., Suk, S., Choi, S., Acosta, N. K., Tran, D. A., Hu, X., Inashima, K., Kim, A. M., Lee, K. W., & Kim, J. K. (2021). Maternal exposure to high-fat diet during pregnancy and lactation predisposes normal weight offspring mice to develop hepatic inflammation and insulin resistance. *Physiol Rep*, 9(6), e14811. <https://doi.org/10.14814/phy2.14811>
- Serin, Y., & Acar Tek, N. (2019). Effect of Circadian Rhythm on Metabolic Processes and the Regulation of Energy Balance. *Ann Nutr Metab*, 74(4), 322-330. <https://doi.org/10.1159/000500071>
- Shi, S. Q., Ansari, T. S., McGuinness, O. P., Wasserman, D. H., & Johnson, C. H. (2013). Circadian disruption leads to insulin resistance and obesity. *Curr Biol*, 23(5), 372-381. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.01.048>
- Simson, E., & Gold, R. (1981). The Lee Obesity Vindicated? *Physiology & Behavior*, 29, 371-376.
- Smith, J. G., Koronowski, K. B., Mortimer, T., Sato, T., Greco, C. M., Petrus, P., Verlande, A., Chen, S., Samad, M., Deyneka, E., Mathur, L., Blazev, R., Molendijk, J., Kumar, A., Deryagin, O., Vaca-

- Dempere, M., Sica, V., Liu, P., Orlando, V., Parker, B. L., Baldi, P., Welz, P. S., Jang, C., Masri, S., Benitah, S. A., Munoz-Canoves, P., & Sassone-Corsi, P. (2023). Liver and muscle circadian clocks cooperate to support glucose tolerance in mice. *Cell Rep*, 42(6), 112588. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112588>
- Stanford, K. I., Middelbeek, R. J., Townsend, K. L., An, D., Nygaard, E. B., Hitchcox, K. M., Markan, K. R., Nakano, K., Hirshman, M. F., Tseng, Y. H., & Goodyear, L. J. (2013). Brown adipose tissue regulates glucose homeostasis and insulin sensitivity. *J Clin Invest*, 123(1), 215-223. <https://doi.org/10.1172/JCI62308>
- Stiles, J., & Jernigan, T. L. (2010). The basics of brain development. *Neuropsychol Rev*, 20(4), 327-348. <https://doi.org/10.1007/s11065-010-9148-4>
- Sutton, G. M., Centanni, A. V., & Butler, A. A. (2010). Protein malnutrition during pregnancy in C57BL/6J mice results in offspring with altered circadian physiology before obesity. *Endocrinology*, 151(4), 1570-1580. <https://doi.org/10.1210/en.2009-1133>
- Takahashi, J. S. (2017). Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock. *Nat Rev Genet*, 18(3), 164-179. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.150>
- Torres, N., Bautista, C. J., Tovar, A. R., Ordaz, G., Rodriguez-Cruz, M., Ortiz, V., Granados, O., Nathanielsz, P. W., Larrea, F., & Zambrano, E. (2010). Protein restriction during pregnancy affects maternal liver lipid metabolism and fetal brain lipid composition in the rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 298(2), E270-277. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00437.2009>
- Trujillo-Villarreal, L. A., Romero-Diaz, V. J., Marino-Martinez, I. A., Fuentes-Mera, L., Ponce-Camacho, M. A., Devenyi, G. A., Mallar Chakravarty, M., Camacho-Morales, A., & Garza-Villarreal, E. E. (2021). Maternal cafeteria diet exposure primes depression-like behavior in the offspring evoking lower brain volume related to changes in synaptic terminals and gliosis. *Transl Psychiatry*, 11(1), 53. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01157-x>
- UNICEF. (2019). Niños, alimentos y nutrición, Crecer bien en un mundo en transformación *Fondo de las Naciones Unidas para los niños*. <https://www.unicef.org/media/62486/file/Estado-mundial-de-la-infancia-2019.pdf>
- Varcoe, T. J., Voultzios, A., Gatford, K. L., & Kennaway, D. J. (2016). The impact of prenatal circadian rhythm disruption on pregnancy outcomes and long-term metabolic health of mice progeny. *Chronobiol Int*, 33(9), 1171-1181. <https://doi.org/10.1080/07420528.2016.1207661>
- Vithayathil, M. A., Gugusheff, J. R., Ong, Z. Y., Langley-Evans, S. C., Gibson, R. A., & Muhlhausler, B. S. (2018). Exposure to maternal cafeteria diets during the suckling period has greater effects on fat deposition and Sterol Regulatory Element Binding Protein-1c (SREBP-1c) gene expression in rodent offspring compared to exposure before birth. *Nutr Metab (Lond)*, 15, 17. <https://doi.org/10.1186/s12986-018-0253-3>
- Wilkins, E., Wickramasinghe, K., Pullar, J., Demaio, A. R., Roberts, N., Perez-Blanco, K. M., Noonan, K., & Townsend, N. (2021). Maternal nutrition and its intergenerational links to non-communicable disease metabolic risk factors: a systematic review and narrative synthesis. *J Health Popul Nutr*, 40(1), 20. <https://doi.org/10.1186/s41043-021-00241-2>
- Wu, C., Yuen, J., Boyda, H. N., Procyshyn, R. M., Wang, C. K., Asiri, Y. I., Pang, C. C., Honer, W. G., & Barr, A. M. (2014). An evaluation of the effects of the novel antipsychotic drug lurasidone on glucose tolerance and insulin resistance: a comparison with olanzapine. *PLoS One*, 9(9), e107116. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107116>
- Yamamoto, T., Nakahata, Y., Soma, H., Akashi, M., Mamime, T., & Takumi, T. (2004). Transcriptional oscillation of canonical clock genes in mouse peripheral tissues. *BMC Mol Biol*, 5, 18. <https://doi.org/10.1186/1471-2199-5-18>

- Zambrano, E., Bautista, C. J., Deas, M., Martinez-Samayoa, P. M., Gonzalez-Zamorano, M., Ledesma, H., Morales, J., Larrea, F., & Nathanielsz, P. W. (2006). A low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex- and window of exposure-specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin in the rat. *J Physiol*, 571(Pt 1), 221-230. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.100313>
- Zani, F., Breasson, L., Becattini, B., Vukolic, A., Montani, J. P., Albrecht, U., Provenzani, A., Ripperger, J. A., & Solinas, G. (2013). PER2 promotes glucose storage to liver glycogen during feeding and acute fasting by inducing Gys2 PTG and G L expression. *Mol Metab*, 2(3), 292-305. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2013.06.006>
- Zhao, Y., Zhang, Y., Zhou, M., Wang, S., Hua, Z., & Zhang, J. (2012). Loss of mPer2 increases plasma insulin levels by enhanced glucose-stimulated insulin secretion and impaired insulin clearance in mice. *FEBS Lett*, 586(9), 1306-1311. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.03.034>