



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas

Impacto de la obesidad materna en la rata sobre la programación del metabolismo de lípidos en la descendencia: efectos de la intervención materna con resveratrol

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
Maestra en Ciencias

PRESENTA:

Q.F.B. Alejandra Hernández Rojas

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Elena Zambrano González

[Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán](#)

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

Dra. Norma Araceli Bobadilla Sandoval

[Instituto de Investigaciones Biomédicas](#)

Dr. Armando Roberto Tovar Palacio

[Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán](#)

Ciudad Universitaria, Cd. Mx. Marzo, 2021.



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.

Hernández Rojas Alejandra
Estudiante de Maestría en Ciencias Bioquímicas
Presente

Los miembros del Subcomité Académico en reunión ordinaria del día 24 de agosto del presente año, conocieron su solicitud de asignación de **JURADO DE EXAMEN** para optar por el grado de **Maestra EN CIENCIAS**, con la réplica de la tesis **"Impacto de la obesidad materna en la rata sobre la programación del metabolismo de lípidos en la descendencia: efectos de la intervención materna con resveratrol"**, dirigida por el/la Dr(a). **Zambrano González Elena**.

De su análisis se acordó nombrar el siguiente jurado integrado por los doctores:

PRESIDENTE	Canizales Quinteros Samuel
VOCAL	Valdés Rodríguez Víctor Julián
VOCAL	Cerbón Cervantes Marco Antonio
VOCAL	Velasco Torres Myrian
SECRETARIO	Camacho Arroyo Ignacio

Sin otro particular por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA, HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 24 de agosto de 2020



Dra. Ana Brígida Clorinda Arias Álvarez
Coordinadora

Agradecimientos

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca 812572, otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

A la Dra. Elena Zambrano González, tutora principal, así como a la Dra. Norma Araceli Bobadilla Sandoval y al Dr. Armando Roberto Tova Palacio, miembros del comité tutor, por sus valiosas aportaciones a este trabajo.

El presente trabajo fue realizado como parte del proyecto RCUK-CONACyT 1000/726/2016 FONCICYT/49/2016.

ÍNDICE

RESUMEN.....	5
1. INTRODUCCIÓN.....	6
1.1. Obesidad.....	6
1.1.1. Definición y consecuencias en la salud.....	6
1.1.2. Indicadores de obesidad en México.....	7
1.1.3. Epidemiología de la obesidad.....	7
1.2. Obesidad Materna.....	8
1.3. Orígenes del desarrollo de la salud y enfermedad (DOHaD).....	9
1.4. Obesidad materna y programación fetal.....	10
1.4.1. Estudios epidemiológicos.....	11
1.4.2. Estudios en modelos animales.....	11
1.5. Tejido adiposo.....	13
1.6. Adipogénesis.....	15
1.6.1. Cascada transcripcional de la adipogénesis.....	16
1.7. Papel del tejido adiposo en la obesidad.....	18
1.8. Alteraciones del tejido adiposo programadas por la obesidad materna.....	19
1.9. Intervenciones maternas.....	22
1.10. Resveratrol.....	25
1.10.1. Efectos biológicos del resveratrol.....	26
1.10.2. Efectos y mecanismos antiobesogénicos del resveratrol.....	26
1.10.3. Efectos del consumo materno de resveratrol en la descendencia.....	28
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	30
3. JUSTIFICACIÓN.....	31
4. HIPÓTESIS.....	32
5. OBJETIVOS.....	33
5.1. Objetivo general.....	33
5.2. Objetivos particulares.....	33
6. METODOLOGÍA.....	34
6.1. Diseño experimental.....	34
6.2. Animales experimentales.....	35
6.3. Dietas experimentales.....	36
6.4. Medición de ingesta de alimento en F0.....	37
6.5. Eutanasia de los animales experimentales.....	37

6.6.	Extracción de suero	37
6.7.	Recolección y almacenamiento de muestras biológicas	38
6.8.	Índice de adiposidad.....	38
6.9.	Determinaciones bioquímicas en sangre	38
6.10.	Determinaciones hormonales en sangre	39
6.10.1.	Leptina.....	39
6.10.2.	Insulina	39
6.11.	Índice de Resistencia a la Insulina	39
6.12.	Procesamiento histológico del tejido adiposo de los descendientes	40
6.13.	Análisis microscópico.....	41
6.14.	Extracción de RNA y síntesis de cDNA del tejido adiposo.....	41
6.15.	PCR en tiempo real.....	41
6.16.	Análisis estadístico.....	43
6.16.1.	Parámetros maternos F0	43
6.16.2.	Parámetros de los descendientes F1.....	43
6.16.3.	Ánalysis del tamaño del adipocito en crías a los 130 d.....	43
7.	RESULTADOS	46
7.1.	Parámetros morfométricos maternos (F0) al final de la lactancia.....	46
7.2.	Variables metabólicas maternas al final de la lactancia	46
7.3.	Ingesta de alimento materna durante la lactancia	47
7.4.	Parámetros morfométricos de las crías a los 130 DPN	48
7.5.	Variables metabólicas de las crías a los 130 DPN	49
7.6.	Tamaño del adipocito en las crías a los 130 DPN.....	51
7.7.	Distribución de tamaño del adipocito de las crías a los 130 DPN.....	53
7.8.	Caracterización de la distribución del tamaño del adipocito de las crías a los 130 DPN.....	54
7.9.	Expresión de genes reguladores de la adipogénesis en el tejido adiposo de las crías a los 130 DPN	56
8.	DISCUSIÓN.....	61
9.	CONCLUSIONES	78
10.	PERSPECTIVAS.....	79
11.	REFERENCIAS.....	80

RESUMEN

La obesidad materna (OM) impacta negativamente en la salud de la madre y predispone a la cría a enfermedades metabólicas en la edad adulta, observándose un dimorfismo sexual en esta respuesta. El tejido adiposo (TA) es susceptible a ser programado por la OM ocasionando alteraciones en su función. Debido a esto, las estrategias de intervención efectivas son esenciales para prevenir los resultados adversos. El resveratrol (RES) es un compuesto con la capacidad de regular procesos como la adipogénesis, lo cual lo convierte en un blanco de estudio para contrarrestar las alteraciones metabólicas programadas por la OM. Planteamos la hipótesis de que la intervención materna con RES antes y durante la gestación y lactancia en madres obesas mejorará el metabolismo materno y en la descendencia ayudará a prevenir la hipertrofia del TA y el desbalance metabólico programados por la OM en las crías adultas. Para esto, ratas hembra de la cepa Wistar (F0) fueron destetadas con dieta control (C – 5% de grasa) o dieta alta en grasa (OM – 25% de grasa). Un mes antes del apareamiento (día 90) y durante la gestación y la lactancia, la mitad de las ratas de cada grupo recibió 20 mg/kg/día de RES por vía oral y fueron mantenidas en sus respectivas dietas, dando lugar a dos grupos más (CRES y OMRES). Todas las ratas F0 fueron apareadas con machos no experimentales a los 120 días. Las crías descendientes (F1) se asignaron al mismo grupo experimental de la madre y se destetaron con dieta C en el día postnatal (DPN) 21 hasta el final del experimento. Se realizó la eutanasia y se determinó peso corporal, grasa total, índice de adiposidad (IA), así como concentraciones de insulina, triglicéridos (TG) y leptina sérica tanto en F0 (al final de la lactancia) como en F1 (a los 130 DPN). En F1 se fijó el TA retroperitoneal para determinar el tamaño del adipocito y las proporciones de adipocitos grandes y pequeños, mediante el modelaje con la distribución gamma. Así mismo, se evaluó la expresión de genes adipogénicos asociados a la expansión del TA mediante RT-PCR. Nuestros resultados muestran que en las madres OM, al final de la lactancia, el peso corporal, la grasa total, IA, TG y leptina sérica fueron más altos en comparación con el C. El RES redujo los parámetros metabólicos observados en OMRES. Por otra parte, las crías OM de ambos sexos a los 130 DPN tenían mayor peso corporal, grasa, IA, TG y niveles de leptina sérica en comparación con el C. El RES previno estos resultados metabólicos adversos. La mediana de tamaño del adipocito aumentó en OM y mostró proporciones reducidas de adipocitos pequeños y aumentadas de adipocitos grandes en comparación con C. En OMRES se previno el aumento en la mediana del tamaño del adipocito y se observó aumento en la proporción de adipocitos pequeños y disminución en la de adipocitos grandes. Adicionalmente, los genes que regulan la adipogénesis se encontraron regulados a la baja en machos OM, mientras que en las hembras fueron regulados a la alta. El RES modificó la expresión de estos genes regulándolos a la alta en el caso de los machos y a la baja en el caso de las hembras. CRES no se vio afectado por la intervención con RES. En conclusión, la OM programa la hipertrofia y la disfunción en genes adipogénicos del TA en F1 con alteraciones en el metabolismo lipídico y de manera dependiente del sexo. La intervención materna con RES antes y durante el embarazo y la lactancia mejora la expresión de genes clave que se asocia con la reducción en el tamaño del adipocito y el metabolismo de lípidos mejorado.

1. INTRODUCCIÓN

La obesidad es un problema de salud pública mundial y el creciente número de individuos que la padecen, ha ocasionado que se considere actualmente como una pandemia global. En las últimas décadas, la cantidad de mujeres en edad reproductiva con sobrepeso y obesidad ha aumentado considerablemente y como consecuencia, la prevalencia de obesidad en el embarazo (Rivera Dommarco & Shamah Levy, 2002). En este aspecto, la salud materna puede impactar significativamente en el desarrollo, ya que las alteraciones nutricionales de un individuo durante periodos críticos del desarrollo, como la gestación y la lactancia, pueden modificar su fisiología y metabolismo de manera permanente. Estudios epidemiológicos y en modelos experimentales señalan que la obesidad materna impacta negativamente en la salud de la madre y en el fenotipo de la cría predisponiéndola a modificaciones en el desarrollo de órganos y tejidos (Lukaszewski et al., 2011) y a padecer enfermedades metabólicas en la vida adulta, tales como diabetes, resistencia a la insulina y obesidad (Leddy et al., 2008; Ravelli et al., 1999).

1.1. Obesidad

1.1.1. Definición y consecuencias en la salud

La obesidad es una enfermedad crónica multifactorial compleja que se desarrolla por la interacción de factores genéticos, sociales y ambientales. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la obesidad se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa que supone un riesgo para la salud (OMS, 2020). El aumento en los depósitos de grasa corporal es causado por un balance positivo de energía, el cual ocurre cuando la ingesta calórica excede el gasto energético y, como consecuencia, el exceso se almacena en forma de grasa en el organismo conduciendo al incremento de peso corporal (Rivera et al., 2012).

La obesidad es el principal factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas como diabetes mellitus, hipertensión arterial, dislipidemias, enfermedades cardiovasculares y osteoarticulares y algunos tipos de cáncer como

el de mama, próstata y colon (Schelbert, 2009); las cuales disminuyen la calidad de vida e incrementan el riesgo de muerte prematura entre quienes la padecen.

1.1.2. Indicadores de obesidad en México

Identificar a las personas con sobrepeso u obesidad permite predecir quienes están en mayor riesgo de padecer enfermedades crónicas asociadas o sufrir una muerte prematura. Los indicadores más utilizados para identificar a personas con sobrepeso u obesidad son el índice de masa corporal (IMC = peso (kg)/ talla (m²)), de acuerdo con la clasificación de la OMS, y la circunferencia de cintura, con base en la Norma Oficial Mexicana (NOM) 043-SSA2-2005 (Tabla 1) (Dommmarco, 2018).

Tabla 1. Clasificación por IMC de acuerdo con la OMS y NOM.

Clasificación		Fuente	
		IMC	NOM
Peso bajo		<18.5	-
Normal		18.5-24.9	-
Sobrepeso		25.0-29.9	25.0-29.9 en población general o ≥ 23 y < 25 en adultos de baja talla*
Obesidad	Grado I	30.0-34.9	≥ 30 en población general o ≥ 25 en adultos de baja talla*
	Grado II	35.0-39.9	Obesidad abdominal (circunferencia de cintura) Hombres ≥ 90 cm Mujeres ≥ 80 cm
	Grado III	>40.0	

*Talla baja= estatura menor a 1.50 metros en mujer adulta y menor de 1.60 metros en hombre adulto.

1.1.3. Epidemiología de la obesidad.

De acuerdo con datos de la OMS, la prevalencia de obesidad ha incrementado a nivel mundial en los últimos años. En 2016, más de 1900 millones de adultos mayores de 18 años tenían sobrepeso, de los cuales más de 650 millones eran obesos. En general, alrededor del 39% de los hombres y 40% de las mujeres tenían sobrepeso mientras que el 11% de hombres y el 15% de mujeres eran obesos (OMS, 2020).

Datos de la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE), destacan que, en 2017, en México el 72.5% de la población padecía

sobrepeso y obesidad, ocupando el segundo lugar a nivel mundial en obesidad en adultos, antecedido por Chile y precedido por Estados Unidos (OCDE, 2008).

Dentro del plano nacional, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en adultos mayores de 20 años reportada por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) en 2018 fue de 75.2% (39.1% de sobrepeso y 36.1% de obesidad), porcentaje que en 2012 fue de 71.3 %. La ENSANUT 2018 también reporta que la prevalencia tanto de sobrepeso como de obesidad fue mayor en mujeres (76.8%) que en hombres (73.0%) (Secretaría de Salud Pública, 2018).

1.2. Obesidad Materna

El sobrepeso y la obesidad afectan a todos los grupos de edad, incluidos niños, adolescentes y adultos; sin embargo, en los últimos años, su prevalencia ha tenido mayor incremento en mujeres en edad reproductiva y en adolescentes y adultos residentes de zonas rurales. De acuerdo con datos de la ENSANUT del 2018, el 40.2% de mujeres mayores de 20 años padece obesidad (Secretaría de Salud Pública, 2018).

El consumo de dietas con alto contenido energético en mujeres jóvenes en edad reproductiva aunado al bajo gasto energético ha traído como consecuencia un creciente problema de obesidad pregestacional. Las mujeres con obesidad usualmente continúan sobrealimentándose durante la gestación y lactancia, ganando aún más peso durante el primer embarazo y alcanzando alto peso corporal en cada embarazo subsecuente (Martin-Gronert & Ozanne, 2006). Esta condición durante la edad reproductiva es particularmente importante ya que la capacidad de una madre para proporcionar nutrientes al feto depende de su estado nutricional y su metabolismo, los cuales se establecen a lo largo de su vida por factores que se presentan en su propio entorno de desarrollo desde la etapa fetal y durante la infancia, adolescencia y vida adulta (Martin-Gronert & Ozanne, 2006).

La prevalencia de obesidad durante el embarazo tiene grandes implicaciones tanto para la salud de la madre como para la de la descendencia. En madres se asocia con mayor riesgo de aborto espontáneo, diabetes gestacional, preeclamsia,

parto prematuro y parto por cesárea, así como con elevado riesgo de mortalidad durante el embarazo y el parto (Davies et al., 2010; Galtier-Dereure et al., 2000). En la descendencia, debido a que tanto la fisiología como el metabolismo fetal se ven alterados con la obesidad materna, se presenta mayor riesgo de desarrollar enfermedades como hipertensión, enfermedades cardiovasculares, obesidad y otras enfermedades metabólicas en la vida adulta (White et al., 2009).

Los efectos observados en la salud de los descendientes de madres obesas han permitido deducir que las condiciones ambientales intrauterinas y postnatales tempranas pueden “programar” a un individuo a sufrir alteraciones permanentes a lo largo de la vida.

1.3. Orígenes del desarrollo de la salud y enfermedad (DOHaD)

Actualmente, está bien establecido que el fenotipo de un individuo puede ser inducido por las condiciones ambientales intrauterinas y postnatales tempranas establecidas por el estado nutricional materno, de tal manera que el feto y el recién nacido orquestan su crecimiento y desarrollo para poder adaptarse a las condiciones ambientales encontradas en cualquier periodo; sin embargo, cuando los desafíos o estímulos ambientales abarcan periodos de organogénesis o plasticidad del desarrollo, las adaptaciones pueden ser permanentes y manifestarse a lo largo de la vida (Armitage et al., 2008). Esto ha dado lugar a la hipótesis de la “programación del desarrollo” o concepto “orígenes del desarrollo de la salud y enfermedad” (“Developmental Origins of Health and Disease”, DOHaD por sus siglas en inglés) como se conoce actualmente.

El concepto DOHaD se define como la respuesta de un organismo a un reto ambiental específico durante una ventana crítica del desarrollo que es capaz de alterar la trayectoria del desarrollo con efectos adversos en la salud que persisten durante toda la vida (Zambrano & Nathanielsz, 2013).

El concepto DOHaD se desarrolló originalmente con base en datos y observaciones poblacionales de sujetos que habían experimentado ambientes fetales y de vida temprana adversos y que presentaron alteraciones en la salud

durante la vida adulta. Una de las primeras aportaciones en este campo fueron las basadas en observaciones realizadas a lo largo del periodo de “Invierno del Hambre Holandés”, ocurrido de 1944-1945 durante la ocupación alemana de los Países Bajos en la Segunda Guerra Mundial, en el cual las raciones de alimento se redujeron de 1800 kcal/día a 600 kcal/día y posteriormente aumentaron a 1700 kcal/día al terminar la invasión. En este estudio se identificó que los sujetos expuestos al periodo de hambruna intrauterina durante la primera mitad del embarazo tuvieron mayor predisposición al desarrollo de obesidad (Ravelli et al., 1976) y enfermedad coronaria (Roseboom et al., 2000) a la edad de 50 años, en comparación con los sujetos cuyas madres habían sufrido desnutrición durante los últimos tres meses de embarazo, quienes exhibieron una baja tasa de incidencia a la obesidad (Ravelli et al., 1976).

Años más tarde, utilizando datos epidemiológicos de la población de Inglaterra y Gales, Barker y Osmond reportaron una correlación entre el bajo peso al nacer (como marcador de mala nutrición fetal) y el riesgo de padecer cardiopatía isquémica 50 años después (Barker & Osmond, 1986), proponiendo la hipótesis de que los factores ambientales adversos en la vida temprana causan un trastorno en el crecimiento y desarrollo resultando en un fenotipo adulto propenso a enfermedad cardiovascular (Barker, 1995). Estudios posteriores realizados en otras cohortes humanas (Bavdekar et al., 1999; Bhargava et al., 2004; Frankel et al., 1996; Gillman et al., 2003) hicieron que esta hipótesis tomara mayor fuerza.

1.4. Obesidad materna y programación fetal

Dado el creciente aumento de la obesidad materna, una gran cantidad de estudios tanto epidemiológicos como en modelos animales han centrado su interés en evaluar los posibles efectos perjudiciales de la sobrenutrición fetal sobre la salud de la descendencia y comprender los posibles mecanismos de la programación del desarrollo en respuesta a la obesidad materna.

1.4.1. Estudios epidemiológicos

Diversos estudios epidemiológicos han demostrado que el IMC materno pre-gestacional y gestacional es un fuerte determinante de obesidad en la descendencia (Salsberry & Reagan, 2005). Los niños nacidos de madres obesas tienen mayor riesgo de desarrollar obesidad (Whitaker, 2004) y presentar acumulación de grasa corporal, perfil lipídico alterado (Godfrey et al., 2017), resistencia a la insulina (Mingrone et al., 2008) y síndrome metabólico (Boney et al., 2005) en comparación con aquellos nacidos de madre con IMC normal. Cuando los hijos de madres obesas entran a la edad de 20 años exhiben mayor resistencia a la insulina en comparación con los hijos nacidos de madres no obesas (Mingrone et al., 2008). También se ha descubierto que el aumento de peso materno y el aumento del IMC entre embarazos aumenta el riesgo de sobrepeso en la descendencia en comparación con sus hermanos (Villamor & Cnattingius, 2006).

La programación del desarrollo no se limita al ambiente intrauterino. El periodo temprano postnatal también puede influir en el desarrollo de la descendencia debido a que los sistemas fisiológicos continúan desarrollándose después del nacimiento. El periodo de lactancia es una ventana durante la cual las alteraciones en la composición de la leche afectan el metabolismo (Hauff et al., 2014), por lo cual el impacto de la dieta materna sobre los nutrientes de la leche puede ser un aspecto importante para la programación del desarrollo; sin embargo, aún existe una limitada investigación en humanos sobre el grado en el que la composición de nutrientes en la leche de madres obesas influye en el desarrollo de la progenie.

1.4.2. Estudios en modelos animales

Aunque las investigaciones de cohortes humanas son de gran importancia para establecer asociaciones entre el estado nutricional materno y la salud de la progenie, el uso de modelos animales ha sido de gran utilidad para evaluar los efectos y elucidar los posibles mecanismos de la programación del desarrollo en respuesta a la obesidad materna durante la gestación y el periodo postnatal temprano en la descendencia.

Los primeros estudios en primates no humanos mostraron que la alimentación con dietas con alto contenido energético durante el periodo de lactancia condujo a niveles elevados de colesterol (Mott et al., 1990), triglicéridos e hipertrofia de los adipocitos lo que dio lugar al incremento de la adiposidad en la edad adulta (Lewis et al., 1986). Un estudio realizado en macacos encontró que la descendencia de madres alimentadas con una dieta con alto contenido en grasa desarrolló características de la enfermedad de hígado graso no alcohólico e hipertrigliceridemia, que persistió en el periodo postnatal y condujo a un aumento del doble en el porcentaje de grasa corporal, en comparación con los descendientes de madres control (McCurdy et al., 2009). Se han observado también cambios en la morfología y función placentaria en madres con obesidad inducida por dieta lo que puede dar como resultado un mayor suministro de nutrientes al feto (Farley et al., 2009).

En modelos en ovejas, la obesidad materna inducida por dieta causó una mayor expresión del transportador de ácidos grasos placentarios, lo que resultó en altos niveles de triglicéridos en los fetos (McCurdy et al., 2009). Otros estudios mostraron genes lipogénicos regulados a la alta (Muhlhausler et al., 2007), mayor depósito de grasa en la descendencia y defectos en el desarrollo del músculo esquelético (Yan et al., 2010; Zhu et al., 2008).

Estudios en roedores, reportan que los descendientes de madres alimentadas con dieta alta en grasa durante la gestación y lactancia y destetados con dieta control, presentan incremento en el peso y adiposidad, hiperleptinemia, trigliceridemia, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina e hipertrofia de los adipocitos (Buckley et al., 2005; Ibáñez et al., 2018; Lomas-Soria et al., 2018; Nivoit et al., 2009; Rodríguez-González et al., 2019; Samuelsson et al., 2008; Taylor et al., 2005; Vega et al., 2015; Zambrano et al., 2010) e hipertensión (Khan et al., 2003, 2005). Se ha observado que esta respuesta puede ser dependiente del sexo, indicando un dimorfismo sexual inducido por la obesidad materna (Alfaradhi et al., 2014; Dahlhoff et al., 2014; Ibáñez et al., 2018; Lomas-Soria et al., 2018; Ornellas et al., 2013; Rodríguez-González et al., 2019; Vega et al., 2015).

Los modelos en roedores también han investigado los efectos de la dieta alta en grasa en el periodo postnatal temprano. En este aspecto, los experimentos de crianza cruzada se han utilizado para demostrar los posibles efectos de la dieta materna postnatal en la contribución del fenotipo obeso en la vida adulta. Los modelos muestran que las crías de ratas control amamantadas por madres alimentadas con dieta alta en grasa, desarrollan hipertensión, disfunción de células endoteliales, además de hiperinsulinemia e incremento de la adiposidad, similar al que presentaron las crías de ratas alimentadas con dieta alta en grasa durante el periodo de gestación o de lactancia (Khan et al., 2005). En combinación con otros estudios en roedores de sobrealimentación postnatal, existe evidencia clara de que el periodo de lactancia es una etapa crítica del desarrollo (Armitage et al., 2008).

En general, los diversos modelos animales parecen converger en un fenotipo relativamente común en los descendientes de madres obesas, caracterizado por la presencia de resistencia a la insulina, hipertrigliceridemia, hiperleptinemia y aumento de la adiposidad. A pesar de que la magnitud de los efectos difiere de acuerdo con el periodo de exposición al reto nutricional y la composición de la dieta, la diversidad de modelos con resultados fenotípicos similares sugiere algunas vías de mecanismos comunes que incluyen el desarrollo alterado de órganos, alteraciones en respuestas de señalización celular y modificaciones epigénéticas (Zambrano et al., 2016).

1.5. Tejido adiposo

El tejido adiposo es un órgano endocrino cuya función principal es mantener la homeostasis energética (Unamuno et al., 2019). En mamíferos, existen dos tipos principales de tejido adiposo, los cuales difieren en su origen, localización, morfología y función: el tejido adiposo blanco, cuya función principal es el almacenamiento de energía; y el tejido adiposo pardo, el cual posee actividad termogénica.

El tejido adiposo blanco es el depósito de grasa más frecuente en el cuerpo humano. Este tejido brinda protección mecánica a algunos órganos y se encarga de

mantener la homeostasis energética mediante el almacenamiento de triglicéridos y la liberación de ácidos grasos para la síntesis de energía. También se encarga de la regulación inmune e inflamatoria, el mantenimiento de la homeostasis de glucosa y el control de la ingesta de alimentos mediante la secreción y expresión de una amplia gama de moléculas biológicamente activas, conocidas como adipocinas (Rutkowski et al., 2015; Unamuno et al., 2019). Puede ser dividido anatómicamente en: visceral o intra-abdominal (alrededor de los órganos abdominales), el cual está asociado con el riesgo de enfermedades metabólicas; y subcutáneo (debajo de la piel), asociado con efectos protectores sobre la homeostasis energética (Schoettl et al., 2018; Unamuno et al., 2019).

El adipocito es la unidad funcional del tejido adiposo y se encarga de almacenar el exceso de energía en forma de triglicéridos dentro de una grande y única gota lipídica rodeada por un delgado borde de citoplasma, desplazando al núcleo y otros componentes celulares hacia la membrana. Estas células pueden alcanzar tamaños variables que van de 25-200 μm de diámetro, o incluso mayores, y adoptan una configuración poliédrica cuando se agrupan y constituyen los lobulillos que forman el tejido adiposo (Unamuno et al., 2019). Los adipocitos secretan una variedad de adipocinas, las cuales tienen acciones locales y sistémicas con efectos específicos que ayudan a regular las funciones biológicas del tejido adiposo; por ejemplo, la adiponectina mejora la sensibilidad a la insulina, incrementa la oxidación de ácidos grasos y mejora la gluconeogénesis; las interleucinas (IL) -1β , -6 y -8 y el factor de necrosis tumoral α (TNF α) tienen actividad proinflamatoria; y la leptina, cuya principal función es la regulación del apetito y la saciedad, además de controlar la homeostasis energética y la respuesta inflamatoria (Fasshauer & Blüher, 2015; Gupta, 2014; Khan & Joseph, 2014).

Aunque los adipocitos son las principales células del tejido adiposo, este tejido está formado por otros tipos celulares diferentes, incluidos los preadipocitos, fibroblastos y células del sistema inmune y sistema nervioso, además de contar con matriz extracelular y estar altamente vascularizados (Flores-Lázaro et al., 2011; Unamuno et al., 2019). Cabe destacar que los adipocitos son células

completamente diferenciadas que una vez que alcanzan la madurez son incapaces de dividirse mitóticamente, por lo cual el recambio y maduración de estas células se lleva a cabo a través de un proceso altamente controlado llamado adipogénesis.

1.6. Adipogénesis

La adipogénesis es un proceso altamente orquestado a través del cual una célula precursora mesenquimal da origen a un adipocito maduro mediante la activación secuencial de numerosos factores de transcripción. Existen dos aspectos importantes que caracterizan a este proceso: el compromiso y la diferenciación; el compromiso, hace referencia a la capacidad de la célula para restringirse al linaje adipogénico, mientras que la diferenciación dará lugar a la expresión de genes específicos que determinarán el fenotipo exacto y le permitirán llevar a cabo la función para la cual este destinada (Ali et al., 2013; Sarjeant & Stephens, 2012).

El control y mecanismos moleculares de la adipogénesis se ha estudiado ampliamente mediante el uso de diferentes líneas celulares. Se ha descrito que previo al inicio de la adipogénesis ocurre una etapa en la cual se induce la proliferación de las células mesenquimales que darán origen a la formación de preadipocitos, la cual se conoce como fase proliferativa. Posterior a esta fase, se presentan cuatro estadios a través de los cuales se lleva a cabo el proceso de compromiso y diferenciación (Ali et al., 2013; Esteve Ràfols, 2014) (Fig. 1):

1. *Arresto del crecimiento de los precursores.* Los precursores en proliferación entran en una fase de arresto del crecimiento, la cual es inducida por inhibición por contacto al alcanzar la confluencia. Durante esta fase ocurre el proceso de compromiso donde las células mesenquimales se restringen al linaje adipogénico y se convierten en preadipocitos comprometidos.
2. *Expansión clonal de los preadipocitos.* Los preadipocitos reingresan al ciclo celular y llevan a cabo al menos dos ciclos de división mitótica inducido por señales hormonales. Durante esta etapa es necesaria la señalización de los inductores adecuados para llevar a cabo este proceso y continuar con las fases subsecuentes de diferenciación.

3. *Diferenciación temprana*. La división celular se detiene y se empiezan a expresar algunos genes característicos del adipocito, iniciándose la acumulación de lípidos.
4. *Diferenciación terminal*. Se alcanza la morfología y fenotipo típicos del adipocito y se expresan genes específicos que permitirán realizar las funciones características del adipocito maduro.



Figura 1. Proceso de adipogénesis. Adaptado de (Esteve Ràfols, 2014).

1.6.1. Cascada transcripcional de la adipogénesis

La adipogénesis está controlada por una cascada transcripcional estrictamente regulada donde los factores de transcripción activan o reprimen la expresión de los demás de manera secuencial (Rosen & MacDougald, 2006). En esta cascada transcripcional el receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma y la proteína de unión al potenciador CCAAT alpha (PPAR γ y C/EBP α , por sus siglas en inglés, respectivamente) son los factores clave. Tanto en estudios *in vitro* como *in vivo*, PPAR γ y C/EBP α han demostrado ser importantes reguladores de la diferenciación de adipocitos, por lo cual ambos son considerados genes maestros de la adipogénesis (Siersbæk et al., 2012), y en conjunto con otros factores de transcripción, coactivadores y correpresores de reciente descubrimiento dirigen este proceso de manera ordenada.

Se ha demostrado que, en las primeras etapas de la adipogénesis, la proteína morfogénica ósea (BMP) y la señalización del factor de diferenciación del crecimiento (GDF), regulan el compromiso de las células madre mesenquimales con

el linaje adipogénico y son necesarios para la diferenciación adipogénica *in vitro* (Chen & Tong, 2013; Ghaben & Scherer, 2019; Siersbæk et al., 2012).

Otras proteínas, como las ciclinas de tipo D y las quinasas dependientes de ciclinas (Cdk) participan durante la fase de expansión clonal mitótica. La proteína del retinoblastoma (pRb), otra proteína relacionada con el ciclo celular, tienen un rol dual cuando está hiperfosforilada estimulando la adipogénesis al mejorar la unión y transcripción de C/EBP α y al inhibir la adipogénesis a través de su interacción con PPAR γ (Ali et al., 2013).

Por otra parte, C/EBP β y δ son reconocidos como factores de transcripción pro-adipogénicos tempranos clave que están involucrados en el inicio del programa adipogénico. C/EBP β y δ activan PPAR γ y C/EBP α , los cuales inducen la expresión de todos aquellos genes que conducirán al fenotipo de adipocito maduro, entre los que se encuentran la familia de factores de transcripción de unión a elementos regulados por esteroides (SREBP) (Farmer, 2006). SREBP regula la lipogénesis y la homeostasis de lípidos controlando la expresión de muchas enzimas involucradas en la síntesis de colesterol, ácidos grasos, triglicéridos y fosfolípidos, y además ha sido identificado como un factor pro-adipogénico al inducir la expresión de PPAR γ (Ali et al., 2013; Rosen & MacDougald, 2006; Sarjeant & Stephens, 2012). Algunos miembros de la familia de transductores de señal y activadores de transcripción (STAT) y de la familia de factores tipo Krüppel (KLF), así como los elementos de respuesta a AMPc (CREB) son factores de transcripción que participan promoviendo la adipogénesis (Ali et al., 2013; Rosen & MacDougald, 2006). Se sabe también que algunas hormonas y ligandos modulan el proceso de diferenciación de los adipocitos; por ejemplo, los glucocorticoides y la insulina participan en la señalización del proceso de adipogénesis y se ha observado que ambos son componentes esenciales para la diferenciación del adipocito en modelos *in vitro* (Ghaben & Scherer, 2019).

Muchos otros factores de transcripción reprimen la adipogénesis, estos son reguladores positivos de otras vías celulares y son reprimidos por factores pro-adipogénicos y vías de señalización, por lo cual se encuentran disminuidos en su

expresión durante la diferenciación de los adipocitos. Se ha descrito que varios genes de la familia de proteínas Wnt juegan un papel importante en la tasa de diferenciación de los adipocitos al ser, quizá, los supresores más establecidos de la adipogénesis. Se ha observado en modelos *in vitro* que la vía de señalización Wnt inhibe la diferenciación de los adipocitos al bloquear la expresión de PPAR γ y C/EBP α (Ali et al., 2013; Ghaben & Scherer, 2019; Rosen & MacDougald, 2006). Por otra parte, la familia de proteínas quinasa activadas por mitógenos (MAPK) tienen efectos diferentes en distintas fases de la adipogénesis. Se ha identificado que MAPK3 y p38 son necesarias para la adipogénesis; sin embargo, MAPK3 es requerida en la fase proliferativa y su bloqueo inhibe la adipogénesis, mientras que durante la fase de diferenciación terminal conduce a la fosforilación de PPAR γ , lo cual inhibe la diferenciación (Rosen & MacDougald, 2006). Otros factores de transcripción que reprimen la adipogénesis incluyen varios miembros de la familia GATA, algunos miembros de la familia KLF, proteínas homologas a C/EBP (CHOP, también conocidas como DDIT), la sirtuina 1 (Sirt1) y el correpresor de receptor nuclear (NCoR), así como citocinas inflamatorias (Ali et al., 2013; Rosen & MacDougald, 2006).

1.7. Papel del tejido adiposo en la obesidad

La obesidad se caracteriza anatómicamente por el incremento en la masa de tejido adiposo lo que eventualmente conduce al aumento de peso corporal. La expansión del tejido adiposo es necesaria para almacenar el exceso de energía y puede llevarse a través de dos mecanismos diferentes, mediante el aumento de tamaño de los adipocitos existentes (hipertrofia) o mediante la formación de nuevos adipocitos funcionales a partir de los preadipocitos existentes (hiperplasia) (Ornellas et al., 2013). Durante la progresión de obesidad, la hipertrofia del tejido adiposo ocurre antes que la hiperplasia, debido a la necesidad de almacenar el exceso de grasa y proteger a los tejidos adyacentes de la lipotoxicidad. La hiperplasia ocurre como un mecanismo de recuperación para equilibrar la hipertrofia y así regular la homeostasis del tejido adiposo, es decir que la hiperplasia y la hipertrofia están reguladas recíprocamente (Muir et al., 2016).

La hipertrofia de los adipocitos tiene efectos pleiotrópicos sobre la función del adipocito, por lo cual las alteraciones morfológicas en esta célula conllevan a grandes implicaciones metabólicas. La expresión de la mayoría de las citocinas en los adipocitos está determinada por su tamaño, por lo cual la hipertrofia de los adipocitos conduce a una alteración en la secreción de citocinas que conlleva a inflamación local y sistémica y al desarrollo de alteraciones metabólicas (Ali et al., 2013), como resistencia a la insulina o dislipidemias. Por otra parte, la hiperplasia, se ha asociado a una secreción mejorada de adipocinas y mayor sensibilidad a la insulina (Tandon et al., 2018) (Fig. 2).

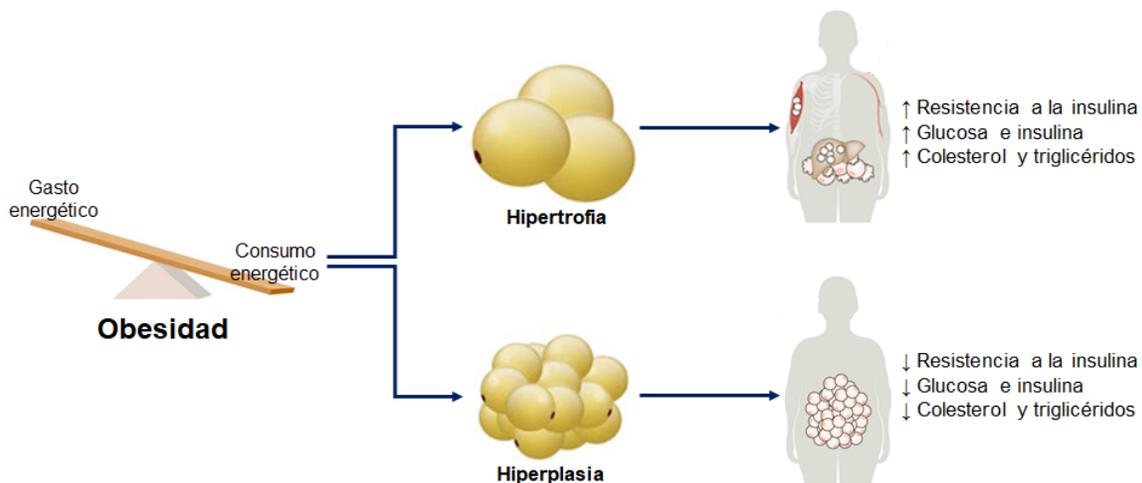


Figura 2. Mecanismos de expansión del tejido adiposo. Adaptado de (Ghaben & Scherer, 2019).

1.8. Alteraciones del tejido adiposo programadas por la obesidad materna

Una gran cantidad de estudios sugiere que los tejidos y órganos son particularmente susceptibles a ser programados cuando la obesidad materna se presenta en ventanas críticas como la gestación y lactancia (Ellsworth et al., 2018; Fall & Kumaran, 2019; Heindel & Vandenberg, 2015).

Existen ventanas críticas de programación durante la gestación y lactancia, las cuales están relacionadas con etapas de la organogénesis, desarrollo y maduración de diversos tejidos y órganos. En mamíferos, los adipocitos comienzan a formarse durante el segundo y último tercio de la gestación, alrededor de la

semana 14 de gestación en humanos (Sarr et al., 2012) y del día embrionario 17 en ratas (Atanassova, 2002) (Fig. 3). En humanos, después de la semana 23 el número total de adipocitos permanece aproximadamente constante y hasta la semana 29, el aumento de tamaño de los adipocitos determina el crecimiento del tejido adiposo (Sarr et al., 2012). Se considera que, durante edades tempranas, iniciando desde la vida fetal y continuando en la infancia y pubertad (Hirsch & Knittle, 1970; Knittle et al., 1979), se establece el número de adipocitos completándose el desarrollo del tejido adiposo; mientras que, en la edad adulta el número de adipocitos se mantiene relativamente estable y con una tasa baja de renovación (Muhlhausler & Smith, 2009), aproximadamente el 10% de los adipocitos se renueva anualmente durante la edad adulta sin importar el grado de IMC (Spalding et al., 2008). En ratas, el desarrollo del tejido adiposo es particularmente activo durante el periodo perinatal, específicamente durante la última semana de gestación y se acelera durante la vida postnatal temprana (lactancia) hasta que las crías se destetan por completo (Lecoutre & Breton, 2014). Por tanto, dado que el periodo fetal y postnatal temprano son críticos para el desarrollo y maduración de las funciones celulares del tejido adiposo (Muhlhausler & Smith, 2009; Parlee et al., 2014) y la exposición a un ambiente nutricional dañino durante estas etapas podría conducir a un fenotipo metabólico alterado en la descendencia.

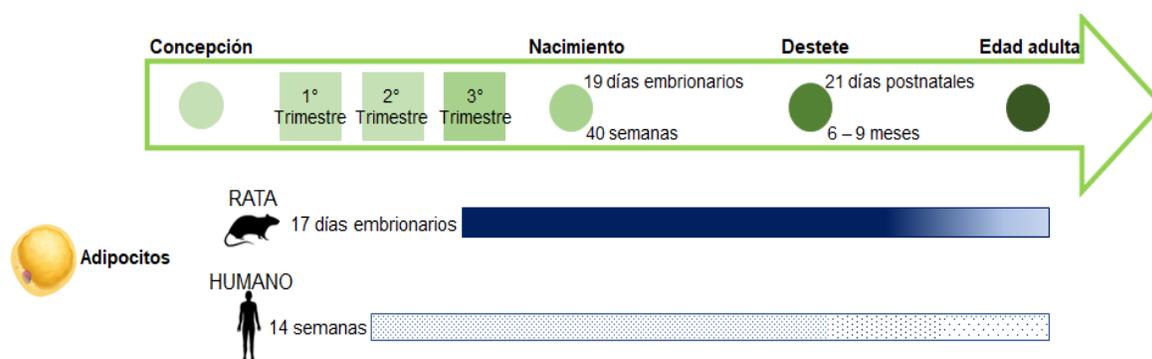


Figura 3. Cronología del desarrollo del tejido adiposo en rata y humano. Adaptado de (Chang et al., 2019; Hill, 2018).

Los modelos animales en los que las ratas madres son alimentadas con dieta obesogénica demuestran que las crías expuestas a la obesidad materna durante la gestación y lactancia son propensas a presentar mayor peso corporal y aumento de

la adiposidad, aun cuando estas fueron destetadas dentro de una dieta control (Guberman et al., 2013; Howie et al., 2009; Nivoit et al., 2009; Rajia et al., 2010; Samuelsson et al., 2008; Shankar et al., 2008; White et al., 2009).

El análisis histológico realizado al tejido adiposo de estos animales mostró hipertrofia de los adipocitos en la vida adulta, definida por una disminución en la cantidad de adipocitos pequeños y aumento de los grandes, en comparación con lo observado en los descendientes de madres del grupo control, en los que se encontró mayor número de adipocitos pequeños (Ibáñez et al., 2018; Samuelsson et al., 2008; Shankar et al., 2008; Zambrano et al., 2010). La distribución de frecuencias del tamaño de células adiposas fue diferente entre sexos, ya que se observó que el aumento de adipocitos grandes fue más exacerbado en machos que en hembras descendientes de madres obesas (Ibáñez et al., 2018).

Los cambios en la distribución de tamaños del tejido adiposo son una consecuencia importante de la proliferación y diferenciación de los adipocitos, ya que los adipocitos pequeños están directamente relacionados con una mayor tasa de proliferación mientras que los grandes están asociados con una mayor capacidad de almacenamiento de lípidos (Ibáñez et al., 2018; Welte, 2015), por tanto, la exposición a la obesidad materna durante periodos críticos del desarrollo puede estar asociada con alteraciones programadas en genes importantes para la diferenciación y funcionamiento de los adipocitos.

En la descendencia adulta de madres obesas, la hipertrofia de los adipocitos se acompañó de un aumento en la expresión de genes pro-adipogénicos y lipogénicos, tales como PPAR γ (Borengasser et al., 2013; Samuelsson et al., 2008), C/EBP α y β (Agarwal et al., 2018), SREBP1, sintasa de ácidos grasos (FAS), lipasa sensible a hormonas (HSL) y lipoproteinlipasa (LPL) (Sen & Simmons, 2010), así como con una disminución en la expresión de correpresores de PPAR γ , tales como Sirt1 y NCoR (correpressor del receptor nuclear) (Desai & Ross, 2011). Estos resultados hacen suponer que la obesidad materna parece aumentar el potencial adipogénico.

Dentro de nuestro grupo de investigación, para determinar los mecanismos involucrados en la acumulación excesiva de tejido adiposo en los descendientes de madres obesas, se analizó el perfil de expresión adipogénico en el tejido graso de estos animales encontrándose una respuesta dependiente del sexo en la expresión de genes involucrados en la hipertrofia del tejido adiposo programada por la obesidad materna. En machos la hipertrofia del tejido adiposo se asoció con deficiencias en la diferenciación de los adipocitos a partir de sus precursores y con una disminución significativa de la expresión de genes relacionados con la diferenciación terminal del adipocito, lo que dio origen a adipocitos disfuncionales; mientras que, en hembras se asoció con un incremento en la diferenciación de adipocitos a partir de sus precursores y aumento en la expresión de genes relacionados con las vías de señalización que favorecen la acumulación excesiva de lípidos y la progresión de la resistencia a la insulina en adipocitos diferenciados (Ibáñez-Chávez, 2019).

1.9. Intervenciones maternas

Debido a todas las alteraciones que la obesidad materna genera en sus descendientes, resulta importante evitar los efectos negativos de la programación del desarrollo mediante la implementación de intervenciones efectivas.

Las principales estrategias de intervención materna empleadas durante el embarazo son el control de la dieta y la implementación de ejercicio, las cuales se han utilizado solas o en combinación para mejorar la función metabólica y los resultados perinatales (Catalano & deMouzon, 2015).

La implementación de dietas con bajo índice glucémico, desde el inicio del embarazo hasta el término, mejora la glucemia materna y se relaciona con una baja circunferencia de muslo en los recién nacidos, lo que se ha asociado con un efecto positivo en la adiposidad neonatal (Donnelly et al., 2015). Mientras que, la actividad física durante el embarazo ha sido efectiva para prevenir el aumento excesivo de peso gestacional y se ha asociado con la prevención de preeclampsia, parto prematuro y diabetes gestacional. En mujeres con sobrepeso u obesidad, además

de lograr menor ganancia de peso durante el embarazo, la actividad física se asocia con una mayor pérdida de peso corporal después del parto (Zambrano et al., 2016). Sin embargo, la implementación de actividad física más intervención dietética ha mostrado tener resultados más efectivos (Choi et al., 2013).

Por otra parte, la cirugía bariátrica, usada como medida para el control del peso en sujetos con obesidad mórbida, ha mostrado tener efectos benéficos en la salud de los hijos de mujeres que fueron intervenidas quirúrgicamente. Los estudios que examinaron a los hermanos que nacieron antes y después de que su madre se sometiera a una cirugía bariátrica mostraron que los hermanos nacidos después de la cirugía son más delgados, más sensibles a la insulina y tienen una presión arterial más baja en comparación con el hermano nacido antes de la cirugía bariátrica (Murphy et al., 2017; Zambrano et al., 2016). Sin embargo, la cirugía bariátrica no es una opción de intervención que este dirigida a todas las mujeres obesas, ya que esta alternativa solo es recomendada en casos de obesidad mórbida y cuando la dieta, el ejercicio y el tratamiento farmacológico han fallado como alternativas para lograr la reducción de peso corporal.

Desafortunadamente, dentro de cada una de estas estrategias existen variaciones en los resultados sobre la salud materna y la morbilidad y mortalidad fetal y neonatal, debido a las limitaciones metodológicas y al tamaño de muestra y del efecto observado. En este aspecto, el uso de modelos animales experimentales ha sido de gran importancia para estudiar la efectividad de las intervenciones maternas sobre el fenotipo metabólico de la descendencia, debido a el control de las diversas condiciones experimentales y a que es posible evaluar el efecto de la intervención en diversos sistemas de órganos, por lo cual los resultados son más contundentes. Actualmente, diversos estudios en animales han demostrado que algunos de los efectos metabólicos adversos que se manifiestan como consecuencia de la obesidad materna pueden mejorarse mediante la implementación de intervenciones dirigidas en ventanas críticas del desarrollo.

Dentro de la línea de investigación de nuestro grupo se han evaluado, en un modelo de obesidad materna en ratas, diferentes tipos de intervención con el

objetivo de prevenir y/o disminuir las complicaciones asociadas, tanto en la cría, como en la madre. El cambio de dieta alta en grasa a dieta control, un mes previo y durante la gestación y la lactancia (intervención nutricional materna) previene parcialmente el aumento en el tamaño del adipocito, así como los efectos metabólicos adversos de la programación por obesidad materna en la descendencia en la edad adulta (George et al., 2019; Zambrano et al., 2010). Es importante señalar que con la intervención nutricional no fue necesario que la madre obesa recuperara el peso corporal materno al nivel de los controles para observar los beneficios en la descendencia.

Por otra parte, el ejercicio materno, durante el mismo periodo de intervención muestra efectos benéficos en la función endocrina y metabólica tanto de la madre como de la cría, pese a no encontrarse cambios en el peso corporal de ambos (Vega et al., 2015). Otros autores también han demostrado que el ejercicio materno antes y durante el embarazo tiene efectos benéficos en el metabolismo de la descendencia (Carter et al., 2013; Laker et al., 2014).

El ambiente intrauterino y la vida postnatal temprana representan ventanas importantes para una intervención dirigida; sin embargo, mejorar el peso corporal y la salud metabólica de las mujeres obesas antes de la concepción podría ser más efectiva, ya que se obtendrían mejores resultados tanto para la salud de la madre como la de la descendencia. A pesar de que las intervenciones que incluyen cambio de dieta o implementación de regímenes de ejercicio resultan ser extremadamente beneficiosas para la prevención de la obesidad tanto en la madre como en la cría, estas no parecen ser efectivas para la población humana debido a la falta de apego. Como consecuencia, resulta necesaria la búsqueda de nuevas alternativas de intervención que puedan ser fácilmente adoptadas y que ayuden a cumplir el mismo objetivo. El uso de suplementos alimenticios resultan ser una novedosa alternativa, debido a su fácil acceso y a que representa un cambio no tan drástico en el estilo de vida.

1.10. Resveratrol

El resveratrol (3, 5, 4'-trihidroxistilbeno) es un compuesto polifenólico natural producido por una variedad de plantas en respuesta a la infección por patógenos, lesiones y tensiones abióticas o a la radiación ultravioleta (Hou et al., 2019). Fue aislado por primera vez de la planta *Veratrum grandiflorum* y muchos años más tarde fue identificado en más de 70 diferentes tipos de plantas y frutos como uvas, arándanos, frambuesas, ciruelas y manís. El vino tinto es otra de las fuentes más conocidas para el consumo de resveratrol, aunque la cantidad presente de este polifenol depende de varios factores, como el tipo de uva o el proceso de producción (Peñalva et al., 2018).

Su estructura base consiste en dos anillos fenólicos unidos por un doble enlace, lo que da lugar a la formación de 2 isómeros geométricos en donde los anillos fenólicos presentes en la estructura están dispuestos en configuración *cis* o *trans* (Fig. 4). Aunque tanto los *isómeros cis* como los *trans* están presentes en la naturaleza, generalmente el isómero *trans* es la forma mayoritaria debido a que es la más estable (Weiskirchen & Weiskirchen, 2016). Sin embargo, esta puede cambiar a su configuración *cis* en presencia de luz ultravioleta (Thapa et al., 2019). La forma *trans* ha sido la más estudiada y se considera la forma más activa biológicamente (Weiskirchen & Weiskirchen, 2016).

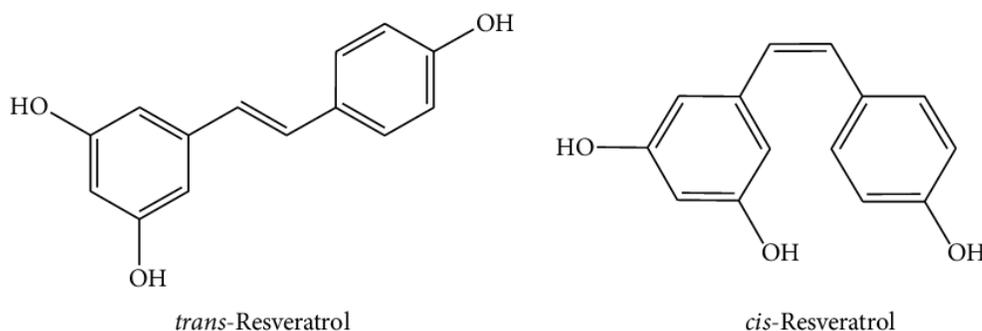


Figura 4. Estructura química del resveratrol. Tomado de (Gambini et al., 2013).

1.10.1. *Efectos biológicos del resveratrol*

Las primeras observaciones que evidenciaron los posibles efectos del resveratrol sobre la salud humana fueron obtenidas de estudios epidemiológicos, los cuales reportaron una menor incidencia en la morbilidad y mortalidad por enfermedad coronaria en Francia, a pesar de los altos niveles de grasas saturadas contenidos en la dieta, fenómeno que se conoce como “paradoja francesa” (Pangeni et al., 2014). Dicha paradoja fue atribuida al consumo de vino tinto por parte de la población francesa, ya que en estudios posteriores se observó que el consumo moderado de vino tinto podía reducir el riesgo de enfermedad coronaria en al menos un 40%. Este efecto fue asociado con el alto contenido de polifenoles, como el resveratrol, contenidos en el vino tinto (Renaud & de Lorgeril, 1992).

El resveratrol posee una potente actividad antioxidante. Es capaz de eliminar especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno (ROS y RNS, por sus siglas en inglés, respectivamente) e incrementar la expresión de ciertas enzimas, necesarias para mantener el balance de oxido-reducción en la célula, y reducir la actividad de algunas otras, como aquellas encargadas de la producción de ROS; además, inhibe la peroxidación de lípidos (Gerszon et al., 2014). Adicionalmente, un gran número de estudios, tanto *in vivo* como *in vitro*, han señalado que el resveratrol posee una amplia variedad de efectos benéficos para la salud debido a sus acciones antiinflamatorias, anticancerígenas, cardioprotectoras, antidiabéticas y antiobesogénicas (Zheng et al., 2018). Estos efectos han sido atribuidos a su actividad antioxidante y a su capacidad para activar vías de señalización, al unirse a receptores de membrana celular o receptores nucleares (Gambini et al., 2015).

1.10.2. *Efectos y mecanismos antiobesogénicos del resveratrol*

Como un suplemento alimenticio, el resveratrol ha mostrado ejercer una respuesta protectora contra la obesidad. Estudios clínicos señalan que la suplementación con resveratrol en sujetos con obesidad, a una dosis de 150 mg/día por un periodo de 30 días, induce cambios metabólicos al incrementar el gasto energético, reducir los niveles de marcadores inflamatorios en suero, disminuir la lipólisis del tejido adiposo y los niveles de ácidos grasos saturados plasmáticos

(Timmers et al., 2011); además, logra disminuir significativamente el tamaño de los adipocitos en el tejido adiposo subcutáneo con una marcada reducción en el tamaño de adipocitos grandes y extremadamente grandes y un incremento en la cantidad de adipocitos pequeños (Konings et al., 2014).

En modelos murinos, el tratamiento con resveratrol protege de la ganancia de peso corporal inducida por el consumo de dieta alta en grasa al incrementar el gasto energético, lo cual es mediado por la estimulación de la oxidación y la supresión de la síntesis de ácidos grasos y al inducir la formación de adipocitos de tipo marrón en el tejido adiposo blanco (Zhao et al., 2017). El resveratrol también atenúa la inflamación, inducida por el consumo de dieta alta en grasa, del tejido adiposo blanco suprimiendo los niveles de TNF α , IFN- α y - β e IL-6 y disminuyendo la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo (Gómez-Zorita et al., 2013; Jeon et al., 2012; Kim et al., 2011).

Los posibles mecanismos de acción que subyacen a los efectos anti-obesogénicos del resveratrol (Fig. 5), han sido obtenidos de las observaciones en los modelos *in vivo* y complementadas con los resultados de estudios *in vitro* (Aguirre et al., 2014). Estos estudios señalan que el resveratrol puede disminuir la adipogénesis del tejido adiposo al reducir la estabilidad y actividad transcripcional de C/EBP α y PPAR γ , los genes reguladores más importantes en la adipogénesis. En adipocitos maduros puede aumentar la apoptosis y aunque este compuesto *per se* parece ser incapaz de inducir lipólisis, aumenta la movilización de lípidos estimulada por agentes β -adrenérgicos. Por otra parte, tanto la inhibición de la lipogénesis *de novo* como la absorción de ácidos grasos en el tejido adiposo desempeñan un papel en la reducción de la grasa corporal inducida por este polifenol, ya que se encarga de disminuir la expresión de genes lipogénicos. El resveratrol inhibe también la inflamación del tejido adiposo al disminuir los niveles de IL-6, IL-8 y de leptina. Además de sus efectos sobre el tejido adiposo, el resveratrol también puede actuar sobre otros órganos y tejidos, por ejemplo, en músculo esquelético e hígado aumentando la oxidación de ácidos grasos (Aguirre et al., 2014; Baile et al., 2011; Zhao et al., 2017).

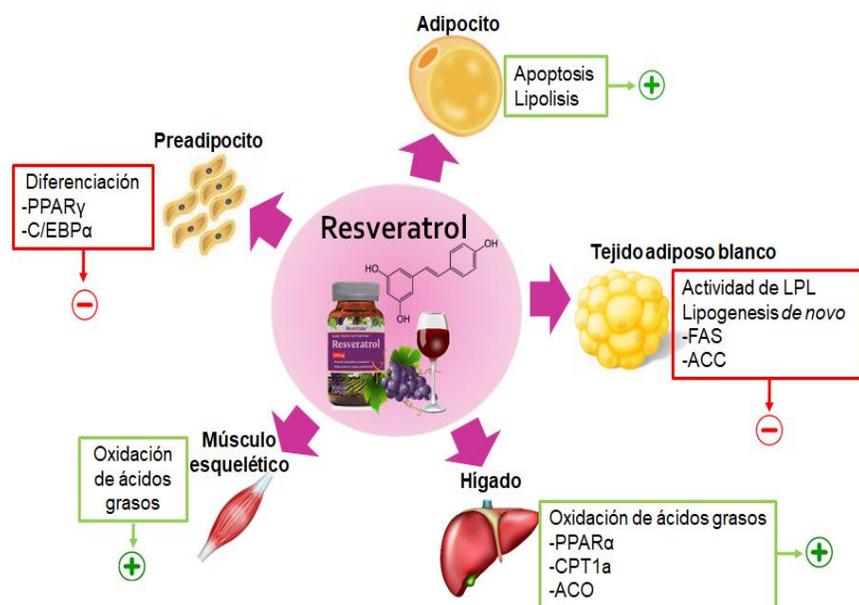


Figura 5. Mecanismos anti-obesogénicos del resveratrol. ACC: Acetil-CoA carboxilasa; ACO: Acil-CoA oxidasa; C/EBP α : Proteína de unión al potenciador CCAAT alpha; CPT-1A: Carnitina palmitoiltransferasa 1A; FAS: Ácido graso sintasa; LPL: Lipoprotein lipasa; PPAR α y γ : Receptor activado por proliferadores de peroxisomas alpha y gamma. Adaptado de (Aguirre et al., 2014).

1.10.3. Efectos del consumo materno de resveratrol en la descendencia

Mientras que la mayoría de los estudios en animales han mostrado los efectos directos del resveratrol en la obesidad (Alberdi et al., 2011; Gómez-Zorita et al., 2013; Kim et al., 2011; Rivera et al., 2009), los efectos de la suplementación con resveratrol en madres obesas sobre la fisiología y metabolismo de su descendencia han sido menos explorados. Algunos estudios señalan que la ingesta materna de resveratrol mejora los resultados adversos fetales ocasionados por la hipoxia (Bourque et al., 2012), la exposición al etanol (Kumar et al., 2011) y la restricción proteínica materna (Vega et al., 2016).

En lo que respecta a sus efectos en la obesidad materna, estudios clínicos en mujeres embarazadas con sobrepeso mostraron que la suplementación con una dosis de 80 mg de resveratrol reduce la incidencia de diabetes gestacional y mejora el perfil lipídico y de glucosa significativamente después de 60 días, en comparación con las mujeres que no recibieron tratamiento. Los resultados y efectos adversos en la descendencia no fueron reportados (Malvasi et al., 2017).

Por otra parte, estudios en roedores han reportado que el consumo materno de resveratrol durante la gestación y lactancia disminuye la ganancia de peso corporal, la masa de tejido adiposo y la adiposidad y, además, reduce las concentraciones de triglicéridos en suero y se mejora la sensibilidad a la insulina en las madres alimentadas con dieta alta en grasa y en la descendencia adulta (Ros et al., 2020; Zou et al., 2017). En la descendencia adulta también se observó reducción en las concentraciones de leptina en suero e incremento del gasto energético, lo cual fue asociado con una mejora en la función termogénica del tejido adiposo marrón y el pardeamiento del tejido adiposo blanco (Zou et al., 2017); y disminución del tamaño del adipocito, de una manera dependiente del sexo (Ros et al., 2020).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Tanto estudios epidemiológicos como estudios en modelos animales experimentales señalan que la obesidad materna programa a la descendencia a padecer desordenes metabólicos en la vida adulta a través de diversos mecanismos. En este sentido, el uso de modelos animales ha sido de gran importancia ya que ha permitido establecer que diversos órganos y tejidos pueden ser programados por la obesidad materna, con consecuencias adversas en su función durante la vida postnatal.

El tejido adiposo es uno de los principales órganos programados por la obesidad materna. Se ha observado que los descendientes de madres obesas presentan incremento de la adiposidad y del tamaño del adipocito y, como consecuencia, incremento en el peso corporal y un fenotipo metabólico alterado, independientemente del tipo de alimentación recibida en la vida postnatal.

Dado que el tejido adiposo ejerce un papel muy importante en la regulación del metabolismo energético y que su disfunción metabólica depende en gran medida de los mecanismos que conllevan a su desarrollo y expansión, la adipogénesis representa uno de los principales blancos para evaluar y contrarrestar los efectos programados por la obesidad materna durante el desarrollo temprano de la descendencia, mediante la implementación de intervenciones que puedan ser fácilmente adoptadas por la población materna.

3. JUSTIFICACIÓN

En las últimas décadas, la cantidad de mujeres en edad reproductiva con sobrepeso y obesidad ha aumentado considerablemente y, como consecuencia el número de embarazos que cursan con un cuadro de obesidad y de complicaciones asociadas a esta. El sobrepeso y la obesidad alteran el estado nutricional y el metabolismo y, por tanto, la capacidad de la madre para proporcionar nutrientes al feto. Durante periodos críticos del desarrollo como la gestación y la lactancia, las alteraciones nutricionales maternas pueden modificar la fisiología y metabolismo de la descendencia de manera permanente y programar al desarrollo de enfermedades crónicas en la vida adulta. Por tanto, mejorar la salud materna frente a la creciente prevalencia de obesidad durante el embarazo, es de vital importancia para prevenir los resultados metabólicos adversos tanto en la madre como en la descendencia.

En modelos animales experimentales, el uso de intervenciones nutricionales y de ejercicio, dirigidas durante las ventanas críticas de la programación del desarrollo, han demostrado el potencial de revertir los resultados metabólicos no deseados en la descendencia. Sin embargo, estas no parecen ser efectivas para la población humana debido a la falta de apego, haciendo necesaria la búsqueda de diferentes opciones y mecanismos de intervención que conduzcan a mejores resultados.

Algunos estudios demuestran que el resveratrol, además de poseer una potente capacidad antioxidante, tiene importantes efectos biológicos directos en la obesidad inducida por el consumo de dieta alta en grasa. En los descendientes de madres obesas se ha observado que el consumo materno de resveratrol previene la acumulación excesiva de grasa corporal y mejora el perfil metabólico. Sin embargo, la información acerca de cómo el resveratrol actúa sobre los mecanismos de desarrollo y expansión del tejido adiposo de la descendencia adulta es limitada. Por tanto, es de nuestro interés evaluar el efecto de la intervención con resveratrol en la rata madre con obesidad sobre la programación del metabolismo y la expansión del tejido adiposo de las crías adultas.

4. HIPÓTESIS

La intervención con resveratrol previo y durante la gestación y la lactancia mejorará las alteraciones fisiológicas y metabólicas en madres obesas, lo cual tendrá un efecto positivo en el desarrollo del tejido adiposo de la cría, ayudando a prevenir la hipertrofia de los adipocitos y el desbalance metabólico programados por la obesidad materna de forma dependiente del sexo.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Determinar los efectos de la intervención materna con resveratrol sobre la fisiología y metabolismo de la rata madre obesa y sobre el desarrollo e hipertrofia de los adipocitos de sus crías machos y hembras.

5.2. Objetivos particulares

- Evaluar el efecto del consumo de resveratrol previo y durante la gestación y lactancia sobre la fisiología y metabolismo de las madres experimentales con obesidad.
- Evaluar los cambios morfométricos y metabólicos, causados por el consumo materno de resveratrol, en las crías de madres obesas.
- Determinar los efectos del consumo materno de resveratrol sobre la hipertrofia del adipocito de las crías de madres obesas.
- Estudiar los efectos de la intervención materna con resveratrol durante ventanas críticas del desarrollo sobre la expresión de genes adipogénicos en tejido adiposo retroperitoneal de crías de madres obesas.
- Estudiar el dimorfismo sexual en respuesta a la obesidad materna y a la intervención materna con resveratrol.

6. METODOLOGÍA

6.1. Diseño experimental

Se emplearon ratas hembra (F0) recién destetadas de 21 días de edad, las cuales fueron alimentadas, a partir del destete, durante el crecimiento, la gestación y hasta el final de la lactancia, con dieta Chow (5% grasa, 4 kcal/g) o dieta obesogénica (25% grasa, 5kcal/g); formando el grupo control (C) y de Obesidad Materna (OM), respectivamente. A los 90 días posnatales (DPN) y durante la gestación y lactancia, la mitad de las ratas de cada grupo fueron suplementadas vía oral con resveratrol a una dosis de 20 mg/kg/día (Fig. 6), usando como vehículo carboximetilcelulosa al 0.5%, quedando los grupos experimentales de la siguiente manera:

- Grupo control (C)
- Grupo de obesidad materna (OM)
- Grupo control intervenido con resveratrol previo y durante la gestación y la lactancia (CRES)
- Grupo de obesidad materna intervenido con resveratrol previo y durante la gestación y la lactancia (OMRES)

A los 120 DPN, todas las hembras experimentales (F0) fueron alojadas por un periodo no mayor a tres días con machos adultos de la misma cepa (alimentados con dieta control), a fin de que se pudieran aparear. El inicio de la preñez se determinó por medio de frotis vaginal, considerando como resultado positivo la presencia de espermatozoides en los campos observados en el microscopio. El día del parto fue asignado como inicio de la lactancia. Las camadas (n= 8 camadas/grupo) fueron ajustadas a 10 crías, en proporción 1:1 (hembra: macho) en medida de lo posible. Las crías (F1) permanecieron en la misma caja que su madre desde el nacimiento y hasta los 21 días de lactancia (dL), a fin de ser amamantadas. Al destete (21 DPN) todas las crías fueron separadas de acuerdo con su sexo en grupos de 3 a 4 crías por caja y a partir de ese momento se alimentaron con dieta control hasta el final del experimento (130 DPN), identificándolas con la misma nomenclatura del grupo asignado a la madre (Fig. 6).

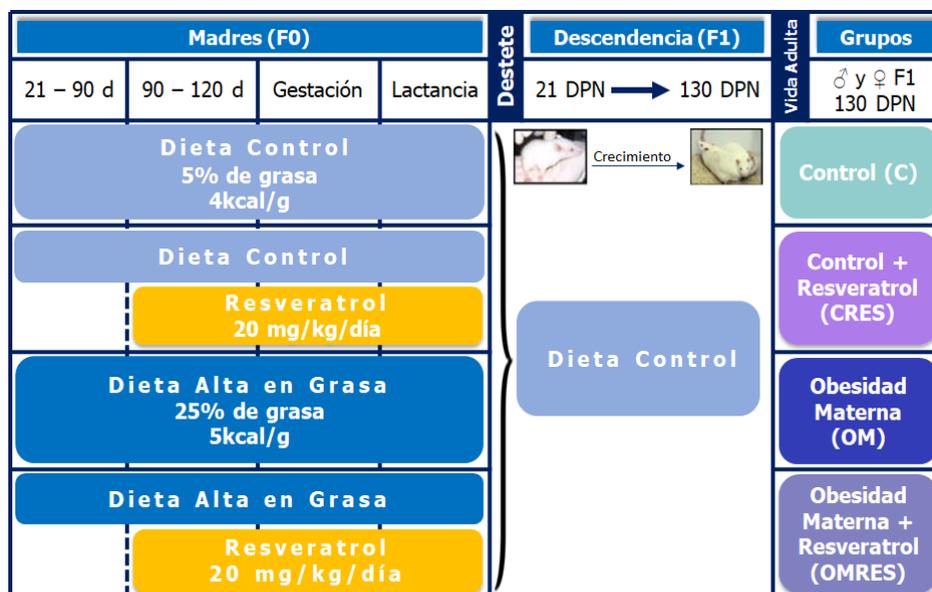


Figura 6. Esquema general del diseño experimental.

6.2. Animales experimentales

Los animales utilizados para este estudio fueron ratas de la especie *Rattus norvegicus* de la cepa *Wistar* provenientes de una colonia mantenida en el Departamento de Investigación Experimental y Bioterio del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Todos los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio del mismo Instituto (CINVA-1868) y se llevaron a cabo de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999) en materia de cuidado y uso de animales de laboratorio.

Tanto el alimento como el agua de bebida fueron proporcionados *ad libitum* y durante todo el estudio todas las ratas permanecieron en el área concedida dentro de las instalaciones del bioterio, donde se mantuvieron en condiciones de humedad relativa (75%) y temperatura controladas ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), con ciclos de luz/obscuridad de 12 horas.

Los animales fueron alojados en cajas estándar de acrílico (adecuadas para ratas) con una cama de aserrín de madera virgen (Northeastern Products) cambiada periódicamente. Se colocaron 3 animales por cada caja hasta antes del

apareamiento, periodo a partir del cual sólo se colocó a una hembra por caja hasta el final del estudio.

Las hembras de la generación materna (F0) utilizadas en este experimento se produjeron apareando hembras de entre 16 y 17 semanas de edad, de 200-240 g de peso corporal con machos de fertilidad probada de diferente camada. Tanto hembras como machos fueron alimentados con dieta Chow (Purina 5001).

6.3. Dietas experimentales

La dieta control consistió en alimento comercial para roedor Chow (Purina 5001) formulada para mantenimiento, crecimiento, reproducción y lactancia de ratas y ratones convencionales, con 5% peso a peso (% p/p) de grasa vegetal y un contenido energético de 4kcal/g (Tabla 2). La dieta obesogénica fue preparada en la planta piloto del Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos del INCMNSZ, con 25% p/p de grasa y un contenido energético de 5 kcal/g (Tabla 2 y 3). La formulación de esta dieta fue diseñada con base a la recomendación AIN-93 del American Institute of Nutrition (Reeves et al., 1993) así como modificaciones hechas a esta, previamente publicadas por nuestro grupo de investigación (Zambrano et al., 2010). Para su elaboración se utilizó una mezcladora de paletas Hobart modelo A-200 de 20 litros de capacidad, potencia de 1/3 HP y 1425 rpm, en donde fueron mezclados todos los ingredientes de la dieta hasta obtener una pasta moldeable con la cual se formaron galletas sólidas, a fin de facilitar que las ratas pudieran roer el alimento.

Tabla 2. Composición nutricional de las dietas

Nutrimento	% (p/p)	
	Dieta control (Purina 5001)	Dieta obesogénica
Proteína	22.0	23.4
Grasa total	5.0	25.0
Aceite vegetal	5.0	5.0
Manteca de cerdo	0.0	20.0
Polisacáridos	31.0	20.59
Azúcares simples	31.0	20.59
Fibra dietética	4.0	5.0
Minerales	6.0	5.0
Vitaminas	1.0	1.0
Contenido energético	4.0 kcal/g	5 kcal/g

Tabla 3. Formulación de la dieta obesogénica

Componente	Concentración (g/100g de dieta)
Caseína	11.55
Caseinato de calcio	11.55
L-Cistina, Diclorhidrato	0.3
Mezcla de minerales AIN-76	5.0
Mezcla de vitaminas AIN-93 VX	1.0
Colina, Clorhidrato	0.17
α -Celulosa	5.0
Almidón de maíz	20.59
Glucosa anhidra	20.59
Aceite vegetal	5.0
Manteca de cerdo	20.0

6.4. Medición de ingesta de alimento en F0

De las hembras experimentales F0, se determinó la ingesta de alimento (Ec.1) diariamente durante la lactancia. La determinación se realizó pesando la cantidad de alimento presente en el comedero cada día y reponiéndolo, de tal manera que la cantidad de este no fuera inferior a 50 g. Para cada rata se calculó la ingesta promedio por día.

Ecuación 1. Ingesta de alimento por día

$$\text{Ingesta de alimento promedio} = \frac{Ai(g) - Af(g)}{n}$$

Donde:

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

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

n = animales en la caja durante la determinación

6.5. Eutanasia de los animales experimentales

A los 21 dL en las madres y a los 130 DPN en las crías experimentales se realizó la eutanasia (después de 6 h de ayuno) por medio de decapitación rápida con guillotina para roedor (©Thomas Scientific), previa anestesia con isoflurano (Sofloran® Vet, PiSA ®).

6.6. Extracción de suero

Al momento de la eutanasia, tanto en las madres experimentales como en las crías descendientes, se recolectaron muestras sanguíneas de la región cervical,

las cuales se centrifugaron a 2000×g por 15 minutos a 4°C en una centrifuga refrigerada (Sorvall RT7) a fin de extraer el suero, el cual fue conservado a -20°C hasta el momento de su análisis.

6.7. Recolección y almacenamiento de muestras biológicas

Al terminar la extracción de sangre, se realizó la disección del tejido adiposo en madres y crías experimentales. Según el sexo, se extrajo el tejido adiposo de diferente localización anatómica: retroperitoneal, pancreática, esternón, mesentérica, ovárica y uterina (en hembras) y epidídimo (en machos). Todos ellos fueron pesados individualmente en una balanza analítica (BP 310S, Sartorius; Cap. Máx.= 320 g, d=0.001 g).

En el caso de las crías, las muestras de tejido adiposo retroperitoneal fueron recolectadas; una parte fue seccionada y fijada en paraformaldehído al 10% y el resto fue colocada en nitrógeno líquido y almacenada a -70°C en ultracongelador para su posterior análisis.

6.8. Índice de adiposidad

Para cada rata se determinó el índice de adiposidad (IA) mediante la suma del peso de cada depósito extraído, descrito anteriormente, y el peso corporal (Ec. 2).

Ecuación 2. Índice de adiposidad

$$IA = \left(\frac{\text{Peso total del tejido adiposo extraído (g)}}{\text{Peso corporal (g)}} \right) \times 100$$

Este parámetro calculado nos permitió hacer una mejor estimación del desarrollo del fenotipo obeso en los animales experimentales, debido a que está estrechamente relacionado con el metabolismo de lípidos y carbohidratos.

6.9. Determinaciones bioquímicas en sangre

La determinación de la concentración sanguínea de glucosa, colesterol total y triglicéridos, así como sus muestras de control de calidad correspondientes, fueron realizadas con un sistema automatizado (Beckman-Coulter, Synchron CX[®] 5 Delta).

Las determinaciones se llevaron a cabo con reactivos diseñados especialmente para este sistema (Glucosa: Synchron GLU, Ref.:467825; Colesterol: CHOL, Ref.: 467825; Triglicéridos: Synchron GPO, Ref.: 445850) mediante análisis espectrofotométrico a partir de ensayos enzimáticos. Las concentraciones de los parámetros evaluados en las muestras se expresaron en mg/dL.

6.10. Determinaciones hormonales en sangre

Tanto la concentración de insulina como de leptina se determinaron por radioinmunoanálisis (RIA). En dicha técnica, una concentración establecida de antígeno marcado radiactivamente es mezclada con una concentración desconocida de antígeno de la muestra (analito) e incubada con una dilución constante de antisuero.

6.10.1. Leptina

Para la cuantificación de la concentración de leptina se utilizó un estuche para leptina de rata (LINCO® RL-83K), el cual utiliza leptina marcada con el isótopo radiactivo ¹²⁵I y un antisuero específico para leptina de rata con una sensibilidad de 0.5 ng/ml.

6.10.2. Insulina

Asimismo, se utilizó un estuche de RIA para insulina de muestras de rata (LINCO® RI-13K), en el cual se emplea insulina marcada con el isótopo radiactivo ¹²⁵I y un antisuero específico para insulina de rata con una sensibilidad de 0.1 ng/ml.

Cabe señalar que cada estuche contiene sus propios estándares con los cuales se elaboró la curva patrón. Para ambas determinaciones, se usó un contador de radiaciones y (Packard Instruments).

6.11. Índice de Resistencia a la Insulina

El índice de resistencia a la insulina (IRI) se determinó de acuerdo con la Ec. 3, tomando en cuenta que 1ng/mL de insulina equivale a 18 µU/mL y 1ng/mL de glucosa a 25 µmol/L. De acuerdo con el modelo de análisis homeostático (HOMA

por sus siglas en inglés) el producto de la glucosa en mM y la insulina en mUI/L es dividido entre 22.5 (Matthews et al., 1985).

Ecuación 3. Índice de resistencia a la insulina

$$IRI = \frac{\left(\frac{\text{Glucosa} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}} \right)}{18} \right) \times \left(\text{Insulina} \left(\frac{\text{ng}}{\text{ml}} \right) \right) \times 25}{22.5}$$

6.12. Procesamiento histológico del tejido adiposo de los descendientes

Inmediatamente después de la recolección y determinación del peso del tejido adiposo retroperitoneal, se seccionó una porción de aproximadamente 300 mg y se fijó con 8 ml de solución al 10% de paraformaldehído en PBS 0.05 mM por 24 horas a 4°C. Transcurrido este tiempo, el tejido fijado se lavó tres veces y se almacenó a 4°C en PBS 0.05mM hasta el momento de su procesamiento.

Cada porción de tejido fijado se colocó en un casete de hidratación para análisis histológico (Histosette I, Simport[□]) y fue sometido a proceso de deshidratación mediante lavados sucesivos con soluciones alcohólicas de concentración creciente, continuando con etanol absoluto (50%) - xilol (50%), seguido de su procesamiento con xilol y finalizando con parafina. Este proceso fue realizado de manera automática en Histoquinete (TP1020, Leica[□]).

Una vez terminado el procesamiento del tejido, las muestras fueron incluidas en parafina fundida (Paraplast[□]) en un procesador de tejidos (Arcadia H, Leica[®]). Se realizaron cortes histológicos de 5µm de grosor en micrótopo (RM2125 RTS, Leica[□]) que se fueron adheridos a laminillas previamente etiquetadas y tratadas con Poli-L-Lisina (P8920, Sigma-Aldrich[□]).

Los cortes montados en las laminillas fueron desparafinados en un horno a 60°C durante 20 min para continuar con la tinción del tejido con hematoxilina y eosina, colocando las laminillas en un rack que contenía xilol, concentraciones decrecientes de alcohol y colorantes.

6.13. Análisis microscópico

Los cortes histológicos teñidos fueron observados al microscopio (BX51, Olympus®) a un objetivo de 20X. Se obtuvieron microfotografías digitales en diferentes campos al azar con una cámara (DP-72, Olympus®) adaptada al equipo y usando el software DP2-BSW Ver. 2.1 (Olympus®). Finalmente, usando el software AxioVision Rel. 4.8 (©Carl Zeiss Microscopy GmbH, 2009) se delimitaron manualmente los bordes de los adipocitos enteros presentes en las microfotografías del tejido adiposo de cada rata experimental obteniéndose el valor del área transversal correspondiente a cada célula observada en μm^2 . Cada microfotografía fue calibrada con la barra de escala basada en el aumento del microscopio utilizado.

6.14. Extracción de RNA y síntesis de cDNA del tejido adiposo

A partir de 150 mg de las muestras de tejido adiposo retroperitoneal conservadas a -70°C se extrajo el RNA total con estuche comercial (Zymo Direct-zol™ RNA MiniPrep, R2053) siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración, calidad y pureza del RNA obtenido se midió espectrofotométricamente a 260/280nm con NanoDrop ND-1000 Instrument (©Thermo-Fisher Scientific).

Usando 500 ng del RNA extraído de cada muestra, se sintetizó el DNA complementario (cDNA) correspondiente mediante retro-transcripción con estuche comercial (Cat. 04897030001, Transcriptor First Strand cDNA Synthesis, Roche).

6.15. PCR en tiempo real

La expresión de genes adipogénicos se determinó mediante PCR en tiempo real en sistema automatizado (LightCycler® 480 Real- Time PCR System Instrument II) con estuche comercial (LightCycler® 480 Probes Master, ©Roche) usando el cDNA obtenido. Las condiciones del equipo se establecieron de la siguiente manera: 1 ciclo de pre-incubación (95°C por 10 min), 45 ciclos de amplificación (95°C , 10 s; 60°C , 30 s; y 72°C , 1 s) y 1 ciclo de enfriamiento (40° por 30 s). La reacción se llevó a cabo usando 1 μl de cDNA, sondas específicas para cada gen de estudio (Universal ProbeLibrary, ©Roche) y 0.5 mM del oligonucleótido

correspondiente (Tabla 4). Los oligonucleótidos para cada uno de los genes se diseñaron utilizando el programa en línea del fabricante (*Universal Probe Library Assay Design Center*, ©Roche).

Las muestras de todos los grupos se corrieron por duplicado, incluyéndose en cada corrida un control negativo. Los resultados se evaluaron por el método $2^{-\Delta\Delta CT}$ (Livak & Schmittgen, 2001). Los valores obtenidos se normalizaron dividiéndolos entre el valor de amplificación del gen estructural en cada reacción; *L-32 (Ribosomal Protein L32)*, fue usado como gen de referencia. Los resultados se expresan como veces de diferencia en expresión con respecto al grupo control.

Tabla 4. Secuencia de los oligonucleótidos usados para el análisis de PCR en tiempo real en muestras de tejido adiposo retroperitoneal.

Gen	NCBI ID	Oligonucleótido sentido (5'-3')	Oligonucleótido sentido (3'-5')
<i>L-32</i>		cagcacagtaagatttgttcac	ccggaagttctgtgccac
<i>CCND1</i>	NM_171992	gcacaacgcactttcttcc	tccagaagggctcaatctg
<i>CDKN1A</i>	NM_080782	gggatgcatctatcttgatg	tgtggaacaggtcggaca
<i>C/EBPα</i>	NM_012524	tggctctgggtctggaaa	ccagtggcaggggtgtgta
<i>CREB-1</i>	NM_031017	tggagtgttatggcgtcct	acgacattctctgctgctc
<i>DDIT3</i>	NM_024134	cgtcgatcatacctgttgaa	ctgtaattggaccggttctct
<i>JUN</i>	NM_021835	gccaccgagaccgtaaag	ctgtgcgagctggtatgagt
<i>LMNA</i>	NM_001002016	gagcaaagtgcgtgaggagt	tccccctcttctgttatt
<i>LPL</i>	NM_012598	gaaatgatgtggccaggctc	tggacattgtctaggggtagt
<i>LRP5</i>	NM_001106321	catccatgctgtggagga	tgtctcgggcacaaggat
<i>MAPK14</i>	NM_031020	ttcacgcaaaaaggacctac	cattctcgtgctcatgtgc
<i>NCOR1</i>	NM_001271103	ccgaaattattgatggccttt	aaagctgccgatttgttt
<i>NR1H3</i>	NM_031627	agggtccaggaagagatgt	caactccgttcagagtcag
<i>PPARα</i>	NM_013196	tcggagggtctgtcatc	catctgtactgggtgggaca
<i>PPARδ</i>	NM_013141	gaggacaaaccacggtaaa	catgactgacccccactg
<i>PPARγ</i>	NM_013124	gggggtgatatgttgaacttg	caggaaagacaacagacaaatca
<i>RB1</i>	NM_017045	cagcctccctctccagagta	tttcttggagatcttataggagaaag
<i>SIRT1</i>	NM_001107627	gtaacagcactctgattctcctg	tggggcattccctgtaatc
<i>VDR</i>	NM_017058	gcttctccggaactcct	cggatggtccatcatgtct
<i>WNT5B</i>	NM_001100489	cctataccaacgggtctaaaagca	ggaccaacatcttcaaagc

6.16. Análisis estadístico

6.16.1. Parámetros maternos F0

Los diversos parámetros maternos fueron expresados como la media aritmética \pm el error estándar de la media (EE) y se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza (ANOVA) de una vía seguida de la prueba post hoc Tukey. Se empleó una $n= 6-8$ ratas por grupo experimental, considerando un valor de $p<0.05$ como significativo.

6.16.2. Parámetros de los descendientes F1

Un macho y una hembra de diferente camada fueron escogidos al azar para obtener un tamaño de muestra de $n=6-8$ ratas por grupo de cada sexo. Los parámetros obtenidos en las crías (peso corporal, tejido adiposo total e índice de adiposidad, parámetros bioquímicos y la expresión de genes adipogénicos) se expresan como la media \pm EE y fueron analizados mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba post hoc Tukey. Se consideró diferencia significativa con $p<0.05$.

6.16.3. Análisis del tamaño del adipocito en crías a los 130 d

Para la cuantificación del área del adipocito se utilizó una $n= 6$ ratas por grupo experimental y sexo. Debido a que los datos del tamaño del adipocito no se pudieron modelar con la distribución normal, este fue analizado de diferentes maneras.

Los datos de todos los animales experimentales fueron agrupados y visualizados en gráficas de dispersión. Los datos también fueron reportados como la mediana con rango intercuartílico y se analizaron mediante la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis ANOVA de una vía en ranks seguido de la prueba de comparación múltiple Dunn's. Se consideró diferencia significativa con $p<0.05$.

Las diferencias en la distribución de los datos del tamaño del adipocito fueron analizadas mediante la comparación de su distribución acumulada empleando la prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov para dos muestras.

Además de los análisis descritos anteriormente, se llevó a cabo la caracterización de la distribución del tamaño del adipocito de los animales

experimentales mediante su ajuste a la distribución gamma, lo cual nos permitió realizar una comparación estadística de las porciones de adipocitos pequeños y grandes entre los grupos de estudio.

Se ha descrito que los adipocitos adoptan una configuración poliédrica cuando se observan en un corte histológico. En esta morfología, cada célula adiposa se asemeja a un polígono convexo, es decir, con todos los vértices apuntando hacia afuera de manera similar a un diagrama de Poisson-Voronoi (Fig. 7A) (Ibáñez et al., 2018). La distribución del área de los polígonos en un diagrama de Poisson-Voronoi se ajusta a la distribución gamma (Tanemura, 2003), lo cual nos permite el uso de la distribución gamma como modelo estadístico para evaluar la distribución de tamaño de los adipocitos observados en un corte histológico (Fig. 7B, C y D).

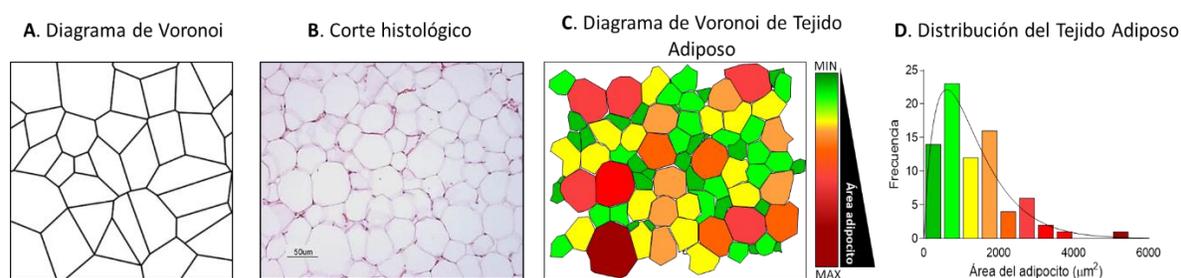


Figura X. Ajuste de la distribución gamma al tamaño del adipocito. A) Diagrama de Poisson-Voronoi; B) Microfotografía de tejido adiposo retroperitoneal teñido con hematoxilina y eosina a 20X; C) Vista transversal del tejido adiposo representado como un diagrama de Poisson-Voronoi y D) Distribución del tamaño del adipocito ajustado a la distribución gamma. Modificado de (Ibáñez et al., 2018).

Con la finalidad de tener una visión general de la distribución del tamaño de los adipocitos, se construyeron histogramas de frecuencia relativa para cada grupo experimental utilizando en conjunto todos los datos del área obtenidos. Los datos se agruparon desde el origen en categorías correspondientes a intervalos de 500 μm^2 en el caso de los machos y de 200 μm^2 en el caso de las hembras. El ancho de categoría (w ; Ec. 4) se determinó en función del total de datos empleados mediante la regla de Sturges ($1+\log_2n$) (Sturges, 1926).

Ecuación 4. Ancho de categoría

$$w \approx \frac{\text{Valor máximo} - \text{Valor mínimo}}{(1 + \log_2 n)}$$

Donde n representa el número de datos empleados.

Cada histograma fue ajustado con su correspondiente función de densidad de probabilidad gamma (Ec. 5).

Ecuación 5. Función de densidad de probabilidad gamma

$$f(x) = \frac{b^a}{\Gamma(a)} x^{a-1} e^{-bx}$$

Dónde:

$f(x)$ = Frecuencia relativa

x = Área del adipocito

a = Parámetro de forma

b = Parámetro de escala inverso

$\Gamma(a)$ = Función gamma

$e = 2.71828 \dots$ = Base de los logaritmos naturales

Adicionalmente, se calcularon las proporciones de adipocitos pequeños y grandes para cada rata definiendo como puntos de corte los percentiles 10 y 90, respectivamente, de la distribución gamma del grupo C.

Para evaluar las diferencias estadísticas en los adipocitos de tamaños extremos se realizó un análisis no paramétrico. Se empleó la prueba Kruskal-Wallis ANOVA de una vía en ranks seguido de la prueba de comparación múltiple de Dunn's. $p < 0.05$ fue considerada estadísticamente diferente.

7. RESULTADOS

7.1. Parámetros morfométricos maternos (F0) al final de la lactancia

Al final de la lactancia, las madres obesas tuvieron un incremento significativo en el peso corporal, la cantidad de grasa total e índice de adiposidad en comparación con las madres del grupo control. La intervención materna con resveratrol en el grupo OM redujo estos parámetros, siendo estadísticamente diferentes al grupo C, CRES y OM (Fig. 8).

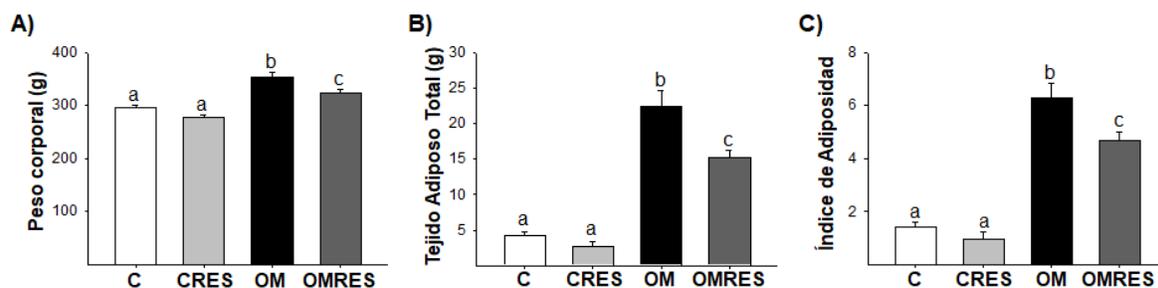


Figura 8. Características corporales maternas al final de la lactancia. A) Peso corporal, B) Tejido Adiposo Total y C) Índice de Adiposidad. Media \pm EE, n=6-8. Grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.2. Variables metabólicas maternas al final de la lactancia

Las concentraciones de colesterol en suero fueron similares entre los grupos de estudio (Fig. 9A). Se observó incremento en la concentración en suero de triglicéridos y de leptina en las madres del grupo OM, comparadas con las del grupo C. La concentración de triglicéridos en el grupo OMRES fue similar al grupo OM y C (Fig. 9B); el resveratrol disminuyó la concentración en suero de leptina, siendo similares a la del grupo C (Fig. 9C). No se observaron cambios en el grupo CRES ocasionados por la suplementación con resveratrol.

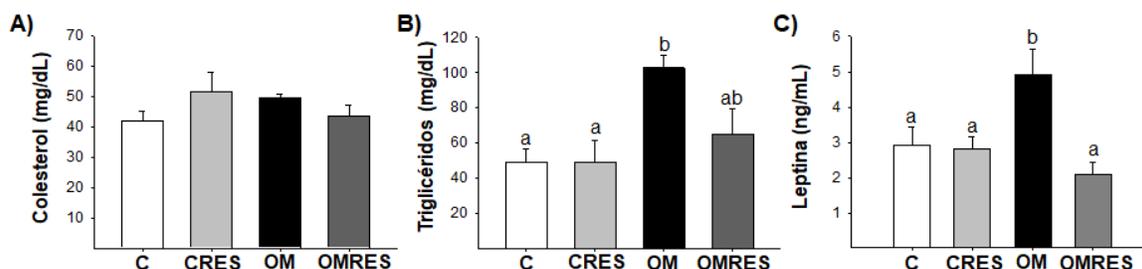


Figura 9. Concentraciones en suero de A) Colesterol (mg/dL), B) Triglicéridos (mg/dL) y C) Leptina (ng/mL). Media \pm EE, n=6-8. Grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.3. Ingesta de alimento materna durante la lactancia

La ingesta de alimento en F0 no se vio afectada por la suplementación con resveratrol ya que no se observaron diferencias significativas entre la ingesta del grupo C y CRES ni entre los grupos OM y OMRES (Fig. 10A). A pesar de que la ingesta de alimento fue menor en los grupos alimentados con dieta alta en grasa, la ingesta calórica es igual entre los grupos de estudio al no observarse diferencias significativas (Fig.10B).

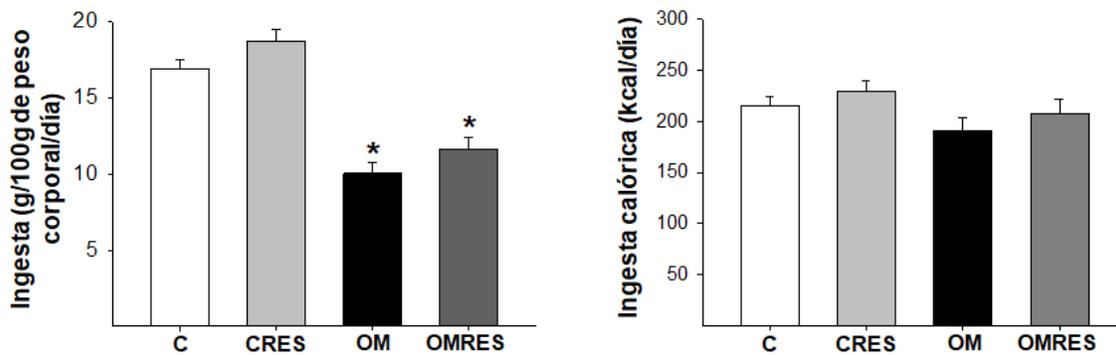


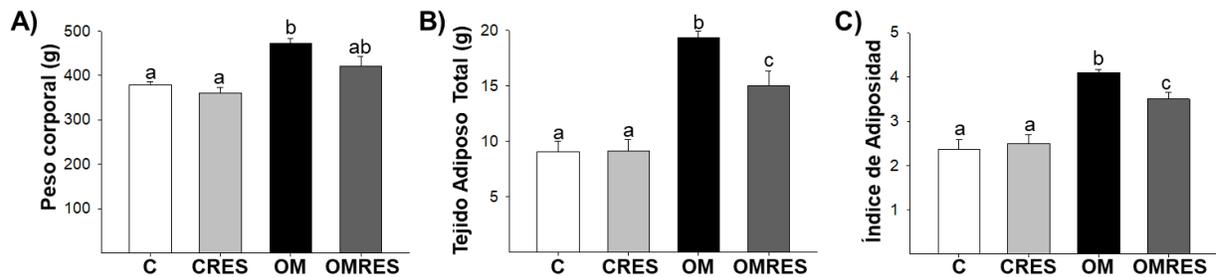
Figura 10. Ingesta de las hembras F0 durante la lactancia. A) Ingesta de alimento (g/100g de peso corporal/día) y B) Ingesta calórica (kcal/día). Media \pm EE, n=6-8. (*) diferencia significativa entre C vs OM y CRES vs OMRES, $p < 0.05$.

7.4. Parámetros morfométricos de las crías a los 130 DPN

Los descendientes machos y hembras del grupo de obesidad materna presentaron incremento en el peso corporal, tejido adiposo total e índice de adiposidad, en contraste con el grupo C (Fig. 11). Las crías macho de madres que fueron intervenidas con resveratrol, grupo OMRES, mostraron menor peso corporal, siendo similar al grupo C y CRES; así como, reducción en la grasa total e índice de adiposidad (Fig. 11A, B y C).

En las hembras, la suplementación materna con resveratrol previno en F1 el incremento en el peso corporal y redujo la grasa total, pese a no observarse cambios en el índice de adiposidad (Fig. 11D, E y F).

Machos



Hembras

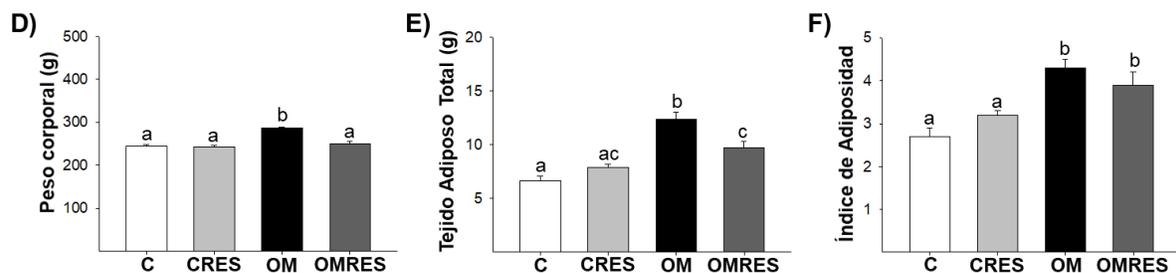


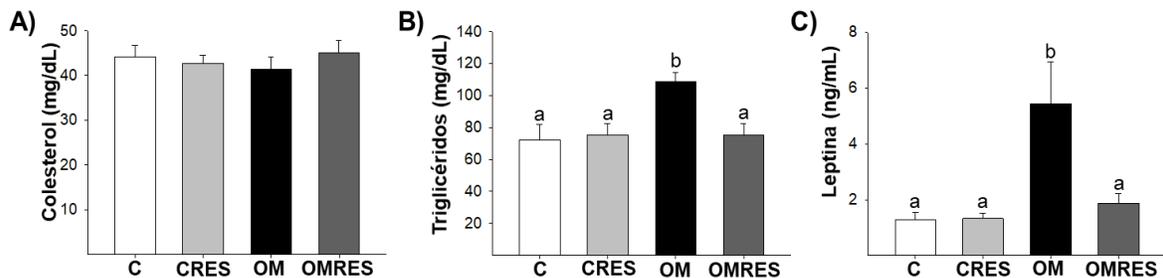
Figura 11. Características morfométricas de las crías macho y hembra a los 130 DPN. Se muestra A y D) Peso corporal, B y E) Tejido Adiposo Total y C y F) Índice de Adiposidad. Media \pm EE, n=6-8, grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.5. Variables metabólicas de las crías a los 130 DPN

Las concentraciones en suero de triglicéridos y de leptina se encontraron elevadas en el grupo OM en comparación con los descendientes del grupo C para ambos sexos. No se observaron cambios en las concentraciones en suero de colesterol (Fig. 12).

En los descendientes machos y hembras del grupo OMRES se previno el incremento en la concentración de triglicéridos en suero, las cuales llegaron a ser iguales a las del grupo C y CRES (Fig. 12B y E). En el grupo OMRES, la intervención con resveratrol solo previno el incremento en las concentraciones de leptina en suero de machos, mientras que en las hembras la intervención materna evitó un aumento en este parámetro, el cual no es diferente del grupo OM y es similar al grupo C y CRES (Fig. 12C y F).

Machos



Hembras

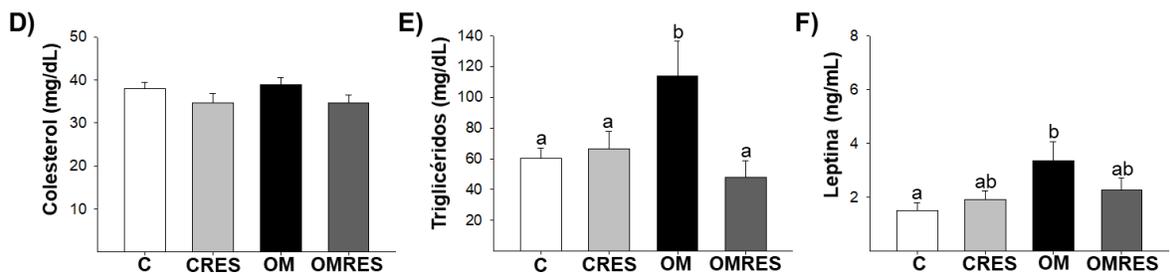
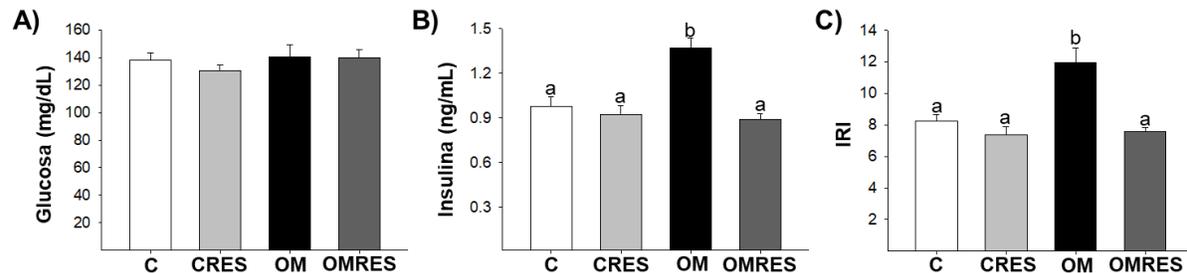


Figura 12. Concentraciones en suero de A y D) Colesterol (mg/dL), B y E) Triglicéridos (mg/dL) y C y F) Leptina (ng/mL). Media \pm EE, n=6-8, grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

En ambos sexos, también se observó incremento en la concentración en suero de insulina y aumento del índice de resistencia a la insulina en el grupo OM en comparación con los descendientes del grupo C, a pesar de no encontrarse cambios en las concentraciones en suero de glucosa en ninguno de los grupos (Fig. 13).

No obstante, tanto en crías macho como en hembras del grupo OMRES, la suplementación materna con resveratrol previno el incremento en la concentración de insulina en suero y por tanto en el índice de resistencia a la insulina (Fig. 13B, C, E y F). No se observaron cambios en el grupo CRES ocasionados por la intervención materna con resveratrol.

Machos



Hembras

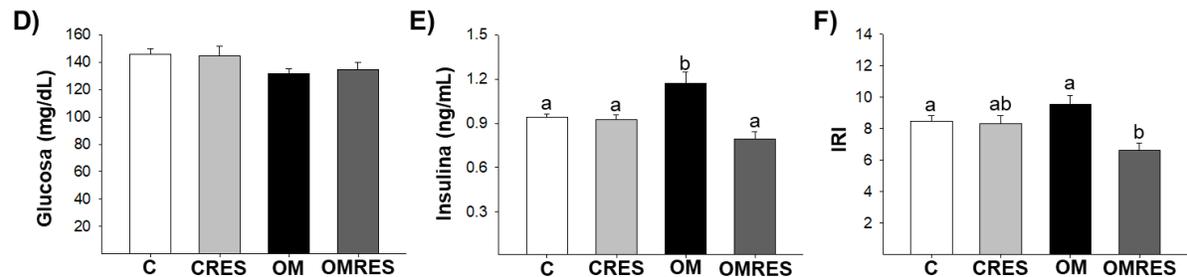


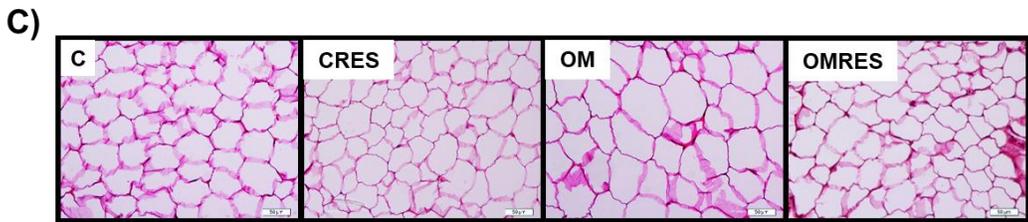
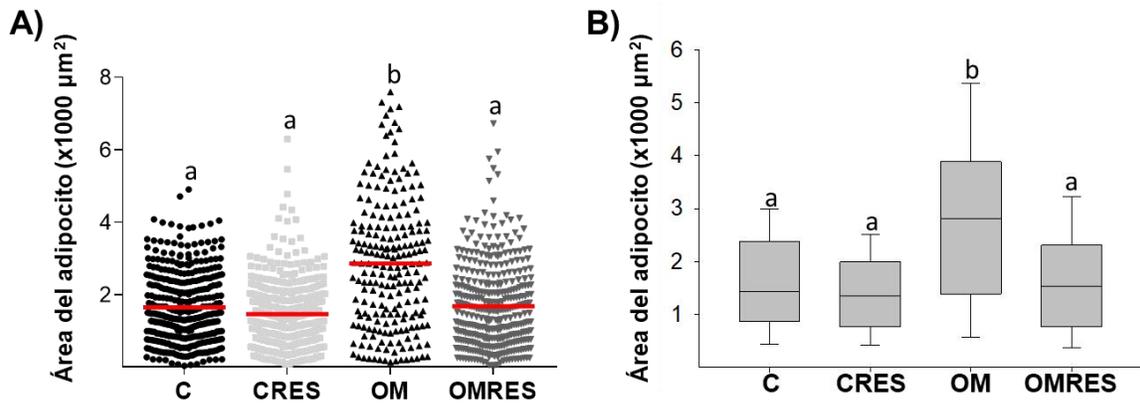
Figura13. Concentraciones en suero de A y D) Glucosa (mg/dL), B y E) Insulina (ng/mL) y C y F) IRI (Índice de Resistencia a la Insulina). Media \pm EE, n=6-8, grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.6. Tamaño del adipocito en las crías a los 130 DPN

Tanto en crías macho como en hembras, observamos mayor dispersión en los datos del tamaño del adipocito en el grupo OM en comparación con los descendientes del grupo C, en donde se observa menor dispersión (Fig. 14A y D). Además, en las crías del grupo OM de ambos sexos también podemos observar que el tamaño del adipocito, en cuanto a la media (Fig.14A y D) y la mediana (Fig.14B y E), fue significativamente mayor con respecto al grupo C, diferencia que podemos observar en la microfotografía representativa (Fig. 14C y F). Cabe señalar que tanto la media como la mediana del tamaño del adipocito es mayor en machos que en hembras, a pesar de ser las hembras las que presentan adipocitos grandes de mayor tamaño en comparación con los machos.

La intervención con resveratrol en madres obesas tuvo un efecto benéfico en el tamaño del adipocito de las crías machos y hembras, ya que en los grupos OMRES observamos que los datos de tamaño del adipocito son menos dispersos y la media (Fig.14A y D) y mediana (Fig.14B y E) del adipocito disminuye, llegando a ser, todas estas características, iguales a las de su respectivo grupo C. Los cambios en el tamaño de las células adiposas del grupo OMRES y su similitud en tamaño con el grupo C pueden ser observadas en la microfotografía representativa (Fig. 14C y F). Finalmente, la intervención materna con resveratrol no muestra cambios significativos en el grupo CRES siendo igual al grupo C para ambos sexos.

Machos



Hembras

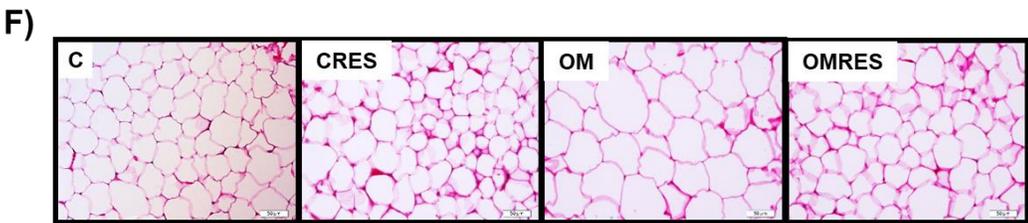
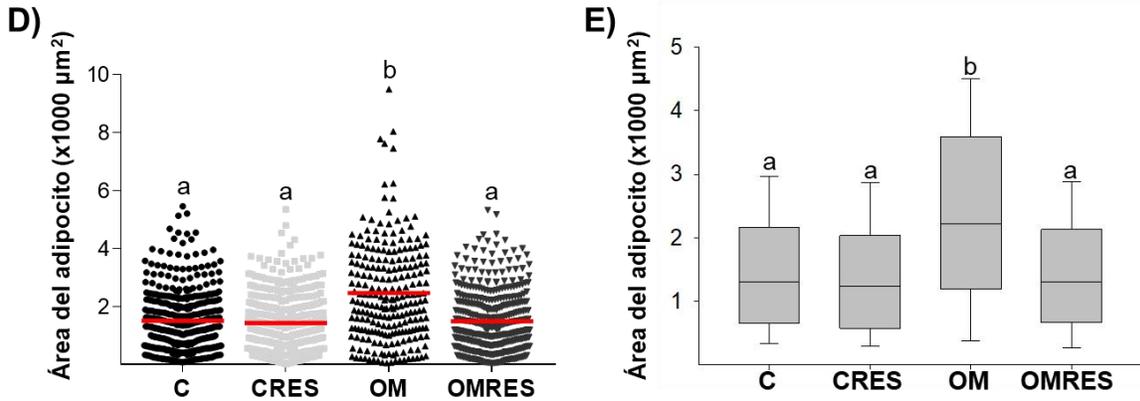


Figura 14. Tamaño del adipocito en tejido adiposo retroperitoneal de crías macho y hembra a 130 DPN. A y D) Dispersión de tamaños del adipocito, la línea roja representa la media de los datos, B y E) Mediana y rango intercuartílico, los percentiles 10 y 90 representan las barras de error; n=6, grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$). C y F) Microfotografías representativas obtenidas a partir de la tinción con hematoxilina-eosina a 20X.

7.7. Distribución de tamaño del adipocito de las crías a los 130 DPN

Además de las diferencias en el tamaño medio de los adipocitos encontradas en el análisis anterior, observamos que también existen diferencias significativas cuando se comparan no sólo los adipocitos de tamaño medio sino también los de tamaños extremos, pequeños y grandes, mediante el análisis de la distribución (Fig. 15).

En ambos sexos se observó que la distribución acumulada de los descendientes del grupo OM fue diferente del grupo C ($p < 0.0001$, para ambos sexos; Fig. 15A y E). La intervención materna con resveratrol tuvo un cambio importante en la distribución de tamaños en las crías machos y hembras del grupo OMRES, ya que observamos que la distribución acumulada de dicho grupo fue diferente del OM ($p < 0.0001$, para ambos sexos; Fig. 15B y F) pero igual al grupo C ($p = 0.4637$ en machos y $p = 0.9393$ en hembras; Fig. 15C y G). Se observó diferencia significativa entre la distribución del grupo C y CRES ($p = 0.0089$; Fig. 15D) en machos, mientras que en hembras la distribución acumulada del grupo CRES no es estadísticamente diferente del grupo C ($p = 0.7758$; Fig. 15H).

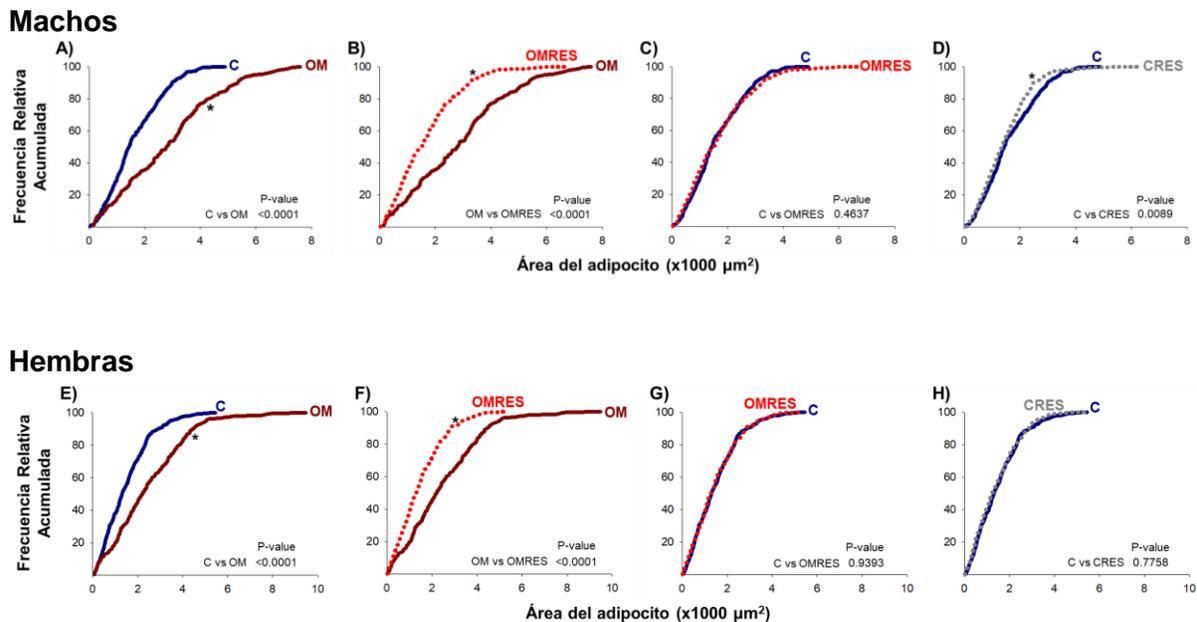


Figura 15. Distribución acumulada del tamaño del adipocito en machos y hembras a los 130 DPN. A y E) C vs OM; B y F) OM vs OMRES; C y G) C vs OMRES y D y H) C vs CRES. $n = 213-400$ adipocitos de 6 ratas por grupo. * $p < 0.05$ entre los grupos comparados mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov para distribuciones acumuladas.

7.8. Caracterización de la distribución del tamaño del adipocito de las crías a los 130 DPN

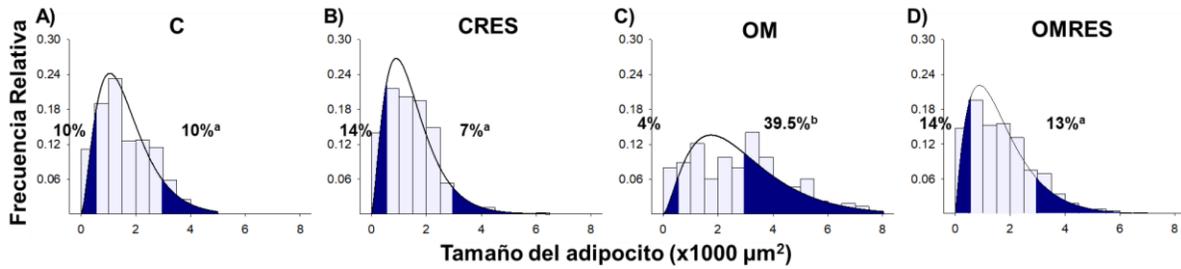
La figura 16 muestra los histogramas y la función de distribución gamma para cada grupo experimental en crías machos y hembras. Los puntos de corte de adipocitos pequeños y grandes fueron definidos por los percentiles 10 y 90, respectivamente, de la distribución gamma del grupo C de cada sexo. El valor calculado fue de $574\mu\text{m}^2$ para adipocitos pequeños y $2958\mu\text{m}^2$ para los grandes en machos del grupo C; y $415\mu\text{m}^2$ para los adipocitos pequeños y $2906\mu\text{m}^2$ para adipocitos grandes en hembras del grupo C.

A pesar de no tener cambios estadísticamente significativos en el porcentaje de adipocitos pequeños de ningún grupo experimental en ambos sexos (Tabla 5), si podemos observar que hay cambios en la proporción de estos adipocitos en los grupos OM tanto de hembras como de machos (Fig. 16).

Se observó disminución de adipocitos pequeños e incremento en los grandes en machos y hembras descendientes del grupo OM en comparación con su respectivo grupo C; cabe destacar que el aumento en la proporción de adipocitos grandes fue mayor en machos (39.5%, con un tamaño máximo de $\sim 7600\mu\text{m}^2$) que en hembras (32%, con un tamaño máximo de $\sim 9500\mu\text{m}^2$) del grupo OM (Fig. 16C y G; Tabla 5).

La intervención materna con resveratrol logró aumentar la proporción de adipocitos pequeños, a pesar de no ser estadísticamente significativo, y disminuir los adipocitos grandes en las crías OMRES de ambos sexos en comparación con el grupo OM, siendo similares a los de su respectivo grupo C (Fig. 16D y H; Tabla 5). Los cambios observados en la proporción de adipocitos pequeños y grandes del grupo CRES, no fueron estadísticamente significativos del grupo C (Fig. 16B y F; Tabla 5).

Machos



Hembras

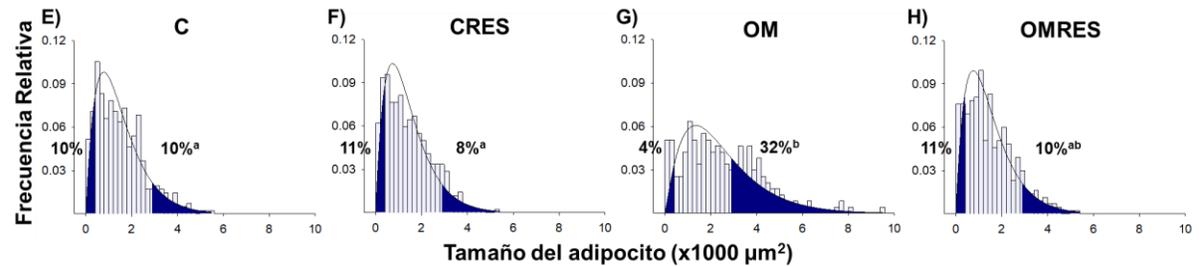


Figura 16. Distribución del tamaño del adipocito en tejido adiposo retroperitoneal de las crías macho a los 130 DPN. Los histogramas de frecuencia relativa y la función de distribución gamma (línea) se representan para cada grupo materno. Las proporciones de adipocitos pequeños y grandes están representadas por la región sombreada debajo de la curva y fueron definidos por los percentiles 10 y 90 del grupo control, el valor porcentual es representado en la tabla. n=6, grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Tabla 5. Proporción de adipocitos pequeños y grandes en F1.

Grupo experimental	Machos		Hembras	
	Adipocitos pequeños ($\leq 574 \mu\text{m}^2$)	Adipocitos grandes ($\geq 2958 \mu\text{m}^2$)	Adipocitos pequeños ($\leq 415 \mu\text{m}^2$)	Adipocitos grandes ($\geq 2906 \mu\text{m}^2$)
C	10%	10% ^a	10%	10% ^a
CRES	14%	7% ^a	11%	8% ^a
OM	4%	39.5% ^b	4%	32% ^b
OMRES	14%	13% ^a	11%	10% ^{ab}

Los puntos de corte para los adipocitos pequeños y grandes fueron definidos, respectivamente, por los percentiles 10 y 90 de la distribución gamma del grupo C para cada sexo y analizados mediante comparación no paramétrica. n=6 ratas por grupo. Datos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

7.9. Expresión de genes reguladores de la adipogénesis en el tejido adiposo de las crías a los 130 DPN

Como se mencionó anteriormente, un estudio realizado dentro de nuestro grupo de investigación mostró que la amplia dispersión y baja cantidad de adipocitos pequeños observados en los descendientes machos y hembras de madres obesas podría ser consecuencia de la expresión disminuida de genes relacionados con la adipogénesis (Ibáñez-Chávez, 2019). Para evaluar si el efecto observado por la intervención con resveratrol en madres obesas sobre el tamaño del adipocito de las crías se debe a cambios producidos en la expresión de genes relacionados con la adipogénesis, se evaluó en nuestros grupos experimentales la expresión de algunos de los genes reportados en el estudio previamente mencionado.

Los genes con cambios significativos en machos corresponden a: *PPAR γ* , *C/EBP α* , *LMNA*, *RB1*, *CDKN1A*, *NCOR1* y *CREB1* (Tabla 6). Mientras que en hembras los genes con cambios significativos corresponden a: *PPAR γ* , *CDKN1A*, *MAPK14*, *CREB1* y *DDIT3* (Tabla 7).

Machos

Tabla 6. Expresión génica en tejido adiposo de crías machos a los 130 DPN.

Gen	C	CRES	OM	OMRES
Compromiso				
<i>PPARα</i>	1 \pm 0.09 ^a	0.85 \pm 0.11 ^{ab}	0.61 \pm 0.08 ^b	1.09 \pm 0.14 ^a
<i>PPARδ</i>	1 \pm 0.18 ^a	3.2 \pm 0.45 ^b	1.43 \pm 0.12 ^a	1.38 \pm 0.16 ^a
<i>PPARγ</i>	1 \pm 0.02^a	1.25 \pm 0.07^a	0.76 \pm 0.03^b	1.03 \pm 0.09^a
<i>C/EBPα</i>	1 \pm 0.09^{ab}	1.27 \pm 0.07^a	0.79 \pm 0.11^b	1.21 \pm 0.09^a
Diferenciación temprana				
<i>WNT5B</i>	1 \pm 0.10 ^a	1.30 \pm 0.17 ^a	0.44 \pm 0.11 ^b	0.19 \pm 0.11 ^b
<i>LRP5</i>	1 \pm 0.09 ^a	1.63 \pm 0.07 ^b	0.79 \pm 0.10 ^a	1.47 \pm 0.14 ^b
<i>LMNA</i>	1 \pm 0.20^a	0.82 \pm 0.12^a	0.37 \pm 0.06^b	0.62 \pm 0.10^{ab}
<i>RB1</i>	1 \pm 0.10^a	3.76 \pm 0.27^b	1.94 \pm 0.25^c	3.45 \pm 0.10^b
<i>CCND1</i>	1 \pm 0.10 ^{ab}	1.40 \pm 0.15 ^a	0.81 \pm 0.03 ^b	1.24 \pm 0.08 ^a
<i>CDKN1A</i>	1 \pm 0.15^a	1.23 \pm 0.15^{ab}	1.72 \pm 0.14^b	3.38 \pm 0.18^c
<i>SIRT1</i>	1 \pm 0.09 ^a	0.63 \pm 0.04 ^b	0.62 \pm 0.04 ^{bc}	0.45 \pm 0.03 ^c
Diferenciación terminal				
<i>VDR</i>	1 \pm 0.10 ^a	0.66 \pm 0.07 ^b	0.37 \pm 0.05 ^c	0.47 \pm 0.05 ^{bc}
<i>NCOR1</i>	1 \pm 0.11^a	0.96 \pm 0.10^a	0.62 \pm 0.05^b	0.87 \pm 0.09^a
<i>NR1H3</i>	1 \pm 0.06 ^a	1.01 \pm 0.07 ^a	0.46 \pm 0.05 ^b	0.55 \pm 0.05 ^b
<i>MAPK14</i>	1 \pm 0.07	0.98 \pm 0.10	0.73 \pm 0.06	0.84 \pm 0.06

CREB1	1 ± 0.08^a	0.98 ± 0.07^a	0.70 ± 0.03^b	1.24 ± 0.10^a
<i>JUN</i>	1 ± 0.10 ^a	0.84 ± 0.05 ^{ab}	0.53 ± 0.08 ^c	0.58 ± 0.09 ^{bc}
<i>LPL</i>	1 ± 0.15 ^a	0.30 ± 0.04 ^{bc}	0.21 ± 0.02 ^b	0.56 ± 0.08 ^c
<i>DDIT3</i>	1 ± 0.07 ^a	0.72 ± 0.08 ^{ab}	0.54 ± 0.03 ^b	0.68 ± 0.09 ^b

Media ± EE, n=5, grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes (p<0.05).

Hembras

Tabla 7. Expresión génica en tejido adiposo de crías hembras a los 130 DPN.

Gen	C	CRES	OM	OMRES
Compromiso				
<i>PPARα</i>	1 ± 0.08	0.94 ± 0.09	0.73 ± 0.11	0.94 ± 0.11
PPARδ	1 ± 0.07^a	0.46 ± 0.09^b	0.45 ± 0.11^b	0.31 ± 0.07^b
<i>PPARγ</i>	1 ± 0.06 ^{ab}	1.20 ± 0.11 ^a	0.69 ± 0.09 ^b	1.09 ± 0.08 ^a
<i>C/EBPα</i>	1 ± 0.09 ^{ac}	1.19 ± 0.09 ^a	0.89 ± 0.07 ^{ac}	0.89 ± 0.05 ^{bc}
Diferenciación temprana				
<i>WNT5B</i>	1 ± 0.10 ^a	1.30 ± 0.17 ^b	0.44 ± 0.11 ^b	0.19 ± 0.11 ^b
<i>LRP5</i>	1 ± 0.10	1.02 ± 0.10	0.85 ± 0.06	0.83 ± 0.06
<i>LMNA</i>	1 ± 0.12 ^{ab}	1.10 ± 0.07 ^a	1.16 ± 0.08 ^a	0.60 ± 0.12 ^b
<i>RB1</i>	1 ± 0.12	1.00 ± 0.10	0.80 ± 0.07	0.76 ± 0.06
<i>CCND1</i>	1 ± 0.07 ^a	1.06 ± 0.11 ^a	0.64 ± 0.06 ^b	0.56 ± 0.05 ^b
CDKN1A	1 ± 0.05^a	1.43 ± 0.11^a	1.87 ± 0.15^b	1.03 ± 0.06^a
<i>SIRT1</i>	1 ± 0.09 ^a	1.07 ± 0.11 ^a	1.04 ± 0.12 ^a	0.52 ± 0.08 ^b
Diferenciación terminal				
<i>VDR</i>	1 ± 0.13 ^a	1.52 ± 0.07 ^b	2.16 ± 0.16 ^c	2.79 ± 0.14 ^d
<i>NCOR1</i>	1 ± 0.10	1.12 ± 0.10	1.02 ± 0.08	1.29 ± 0.11
<i>NR1H3</i>	1 ± 0.11 ^{ab}	0.74 ± 0.08 ^a	0.77 ± 0.09 ^a	1.28 ± 0.12 ^b
MAPK14	1 ± 0.10^{ab}	0.75 ± 0.08^a	1.38 ± 0.16^b	1.09 ± 0.23^{ab}
CREB1	1 ± 0.09^{ab}	0.69 ± 0.10^a	1.48 ± 0.21^b	0.83 ± 0.12^a
<i>JUN</i>	1 ± 0.12 ^{ab}	1.18 ± 0.05 ^a	1.10 ± 0.07 ^a	0.71 ± 0.06 ^b
<i>LPL</i>	1 ± 0.16	0.88 ± 0.18	0.85 ± 0.18	0.80 ± 0.09
DDIT3	1 ± 0.08^{ab}	1.02 ± 0.07^{ab}	1.26 ± 0.14^b	0.73 ± 0.05^a

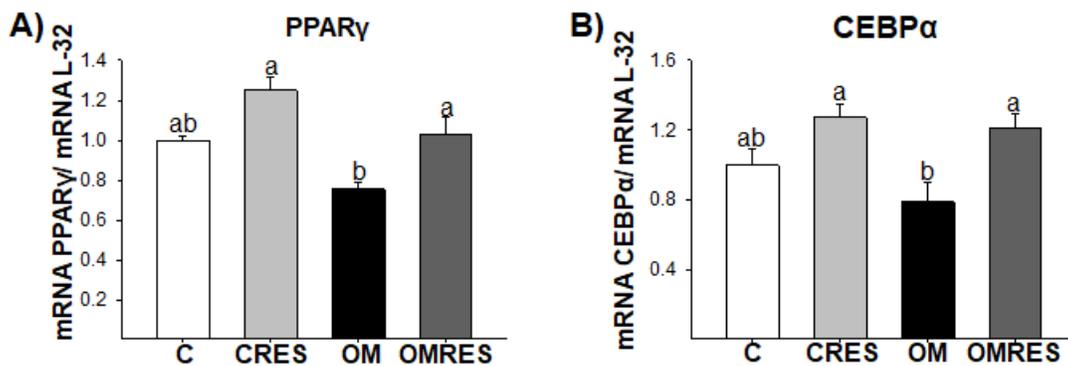
Media ± EE, n=5, grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes (p<0.05).

A continuación, se detallan y muestran gráficamente los resultados de los genes que presentaron significancia estadística tanto en machos como en hembras.

En machos, *PPAR γ* y *C/EBP α* , genes maestros de la adipogénesis, se encontraron disminuidos en su expresión en el grupo OM, respecto al grupo C. En los descendientes del grupo OMRES, se observó aumento en la expresión de ambos genes, siendo estadísticamente iguales al grupo C. El grupo CRES no fue estadísticamente diferente del grupo C (Fig. 17A y B).

En el caso de las hembras, solo la expresión de *PPAR γ* se encontró disminuida en el grupo OM en comparación con el grupo C. En el grupo OMRES, se observó aumento en la expresión de este gen, en comparación con las descendientes del grupo OM (Fig. 17C). Finalmente, no se observaron cambios en la expresión *C/EBP α* entre los grupos C y OM, ni tampoco cambios con la intervención con resveratrol en el grupo CRES (Fig. 17D).

Machos



Hembras

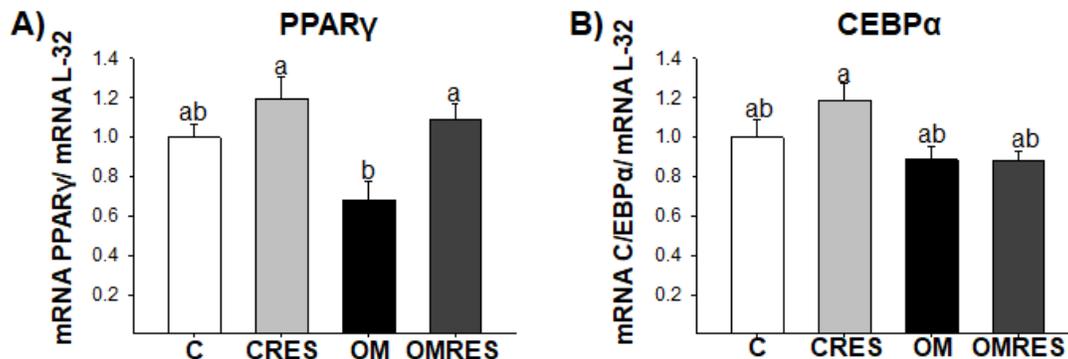
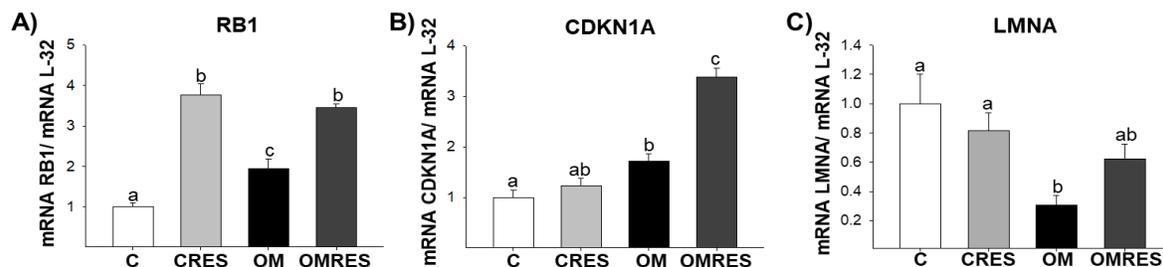


Figura 17. Genes reguladores de la adipogénesis en tejido adiposo retroperitoneal de crías macho y hembra a los 130 DPN. Concentración relativa del mRNA de los genes A y C) *PPAR γ* y B y D) *C/EBP α* . n=5, grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

En crías machos, tanto *RB1* como *CDKN1A* se encontraron expresados en mayor proporción en el grupo OM en comparación con el grupo C. Las crías del grupo OMRES mostraron mayor expresión de estos genes siendo diferentes del grupo C y OM (Fig. 18A y B). El resveratrol incrementó la expresión de *RB1* en los descendientes del grupo CRES en comparación con el grupo C (Fig.18A). Por otra parte, la expresión de *LMNA* se encontró disminuida significativamente en el grupo OM en comparación con el grupo C; la intervención con resveratrol mostró un incremento en la expresión de este gen en el grupo OMRES, a pesar de no ser estadísticamente diferente del grupo C y OM (Fig.18C). Mientras que, en hembras el gen *CDKN1A* se encontró elevado en las crías del grupo OM con respecto al grupo C. La intervención materna con resveratrol en madres obesas ocasionó una disminución en la expresión de *CDKN1A* en el tejido adiposo en las crías del grupo OMRES en comparación con las crías del grupo OM y siendo similar al grupo C (Fig. 18E). La expresión de *RB1* no mostró cambios significativos entre los grupos de estudio (Fig. 18D), mientras que el gen *LMNA* se observó disminuido en el grupo OMRES y sin cambios en los grupos restantes (Fig. 18F).

Machos



Hembras

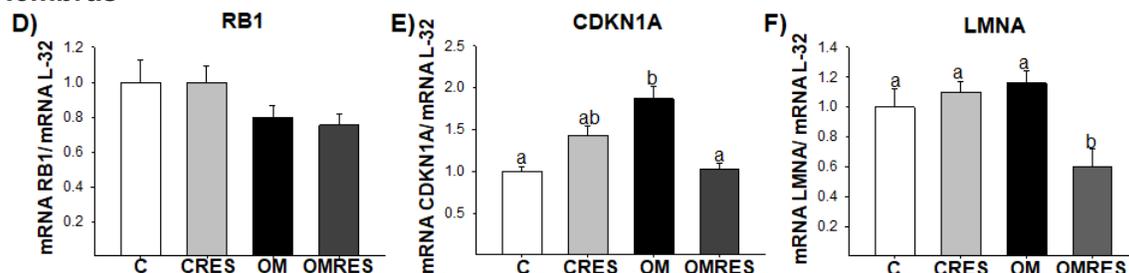


Figura 18. Genes reguladores de la adipogénesis en tejido adiposo retroperitoneal de crías macho y hembra a los 130 DPN. Concentración relativa del mRNA de los genes A y D) *Rb1*, B y E) *CDKN1A* y C y F) *LMNA*. n=5, grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

Así mismo, en machos *NCOR1* y *CREB1* presentaron expresión disminuida en el grupo OM en comparación con el grupo C. En los descendientes del grupo OMRES se observó aumento en la expresión de estos genes, siendo estadísticamente iguales al grupo C (Fig. 19B). *DDIT3* disminuyó su expresión en los descendientes de madres obesas, sin embargo, la intervención materna no logró ningún cambio significativo en el grupo OMRES (Fig. 19C). No se observaron cambios significativos en la expresión de *MAPK14* entre los grupos de estudio (Fig. 19A).

Por su parte, en hembra *MAPK14*, *CREB1* y *DDIT3* presentaron mayor expresión en el grupo OM en comparación con el grupo C. Tras la intervención materna, las crías del grupo OMRES muestran disminución significativa, con respecto al grupo OM, en la expresión de los 3 genes analizados y esta logra ser estadísticamente igual al grupo C (Fig. 19). *NCOR1* no mostró ningún cambio significativo en su expresión en tejido adiposo entre los grupos de estudio.

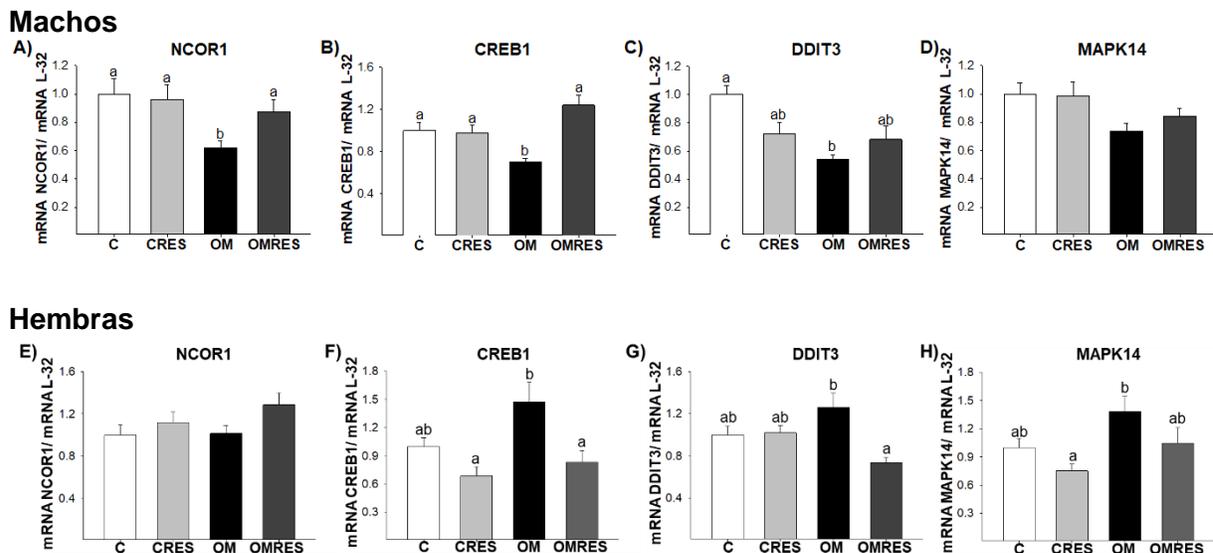


Figura 19. Genes reguladores de la adipogénesis en tejido adiposo retroperitoneal de crías macho a los 130 DPN. Concentración relativa del mRNA de los genes A y E) *NCOR1*, B y F) *CREB1*, C y G) *DDIT3* y D y H) *MAPK14*. n=5, grupos que no comparten la misma letra son estadísticamente diferentes ($p < 0.05$).

8. DISCUSIÓN

Fenotipo materno y de los descendientes

La obesidad materna previa y durante la gestación y lactancia tiene un profundo impacto a largo plazo tanto sobre la salud de la madre como de la cría, por lo cual resulta importante estudiar los posibles mecanismos mediante los cuales la obesidad materna ejerce sus efectos adversos para encontrar modelos de intervención eficaces que ayuden a revertir o prevenir dichos efectos en la mujer y su descendencia. En el presente trabajo se utilizó un modelo de obesidad materna en ratas Wistar para probar los efectos del consumo de dieta alta en grasa y de la intervención materna con resveratrol en hembras experimentales F0, sobre la programación del desarrollo del tejido adiposo de la descendencia F1 masculina y femenina. Los resultados obtenidos mostraron que al final de la lactancia, las hembras experimentales F0 que consumieron dieta alta en grasa presentaron mayor peso corporal, cantidad de tejido adiposo e índice de adiposidad y, consecuentemente, mayor concentración de triglicéridos y leptina en suero en comparación con las hembras F0 que consumieron dieta control. Estos resultados indican que la dieta experimental fue capaz de producir características compatibles con la obesidad materna en humanos y demuestran la validez del modelo experimental, además de que replican los resultados reportados en estudios previos realizados dentro de nuestro grupo de trabajo (Bautista et al., 2016, 2017; Castro-Rodríguez et al., 2020; De Los Santos et al., 2020; Ibáñez et al., 2018; Lomas-Soria et al., 2018; Rodríguez-González et al., 2019; Santos et al., 2015; Zambrano et al., 2010).

Por otra parte, cuando las hembras F0 que consumieron dieta alta en grasa fueron suplementadas con resveratrol, un mes previo y durante la gestación y lactancia, se observó disminución en la cantidad de grasa total que condujo a la reducción del índice de adiposidad, peso corporal y concentración de triglicéridos en suero, además de mejorar totalmente las concentraciones de leptina. Estos hallazgos son similares a los reportados en otros estudios y confirman el efecto positivo del resveratrol en la homeostasis metabólica materna (Zou et al., 2017). Es

importante destacar que, los efectos benéficos del resveratrol sobre la adiposidad y peso corporal no pueden ser atribuidos a una menor ingesta de alimento, ya que tanto las ratas tratadas con resveratrol como las no tratadas consumieron la misma cantidad de calorías, independientemente del tipo de dieta. Por lo cual, la reducción de la grasa corporal y, eventualmente, la pérdida de peso, además de las mejoras en el metabolismo de lípidos inducidas por el resveratrol en nuestras ratas F0 pueden ser atribuidas a la capacidad de este compuesto para inhibir la adipogénesis y regular el control de la acumulación de grasa mediante la captación de ácidos grasos y la lipogénesis *de novo* en el tejido adiposo (Alberdi et al., 2011; Gómez-Zorita et al., 2013; Rivera et al., 2009). Sin embargo, dado que el objetivo del presente estudio no fue el evaluar los efectos directos del tratamiento con resveratrol sobre el tejido adiposo de las ratas hembra F0, no se llevaron a cabo más experimentos para elucidar los mecanismos que conducen a los efectos observados.

En lo que respecta a las crías, tanto los descendientes machos como hembras de madres obesas fueron más pesados, en comparación con los descendientes de madres control, con incremento en la grasa corporal e índice de adiposidad, así como elevación en las concentraciones de triglicéridos y leptina en suero y, a pesar de que los niveles de glucosa no fueron diferentes, los niveles de insulina también se encontraron elevados, lo que indica la presencia de resistencia a la insulina. Es importante recordar que estos efectos se observaron aun cuando las crías fueron alimentadas con dieta control después del destete; en este sentido, la composición de la dieta materna juega un papel muy importante. De acuerdo con nuestros resultados, a pesar de que la ingesta de alimento materna fue menor en las ratas que fueron alimentadas con dieta alta en grasa que en las ratas alimentadas con dieta control, ambos grupos consumieron el mismo número de calorías. Esto concuerda con reportes previos en ratas (Mitra et al., 2009; Page et al., 2009; Picchi et al., 2011) y nos sugiere que las alteraciones en el desarrollo de la descendencia de madres obesas son principalmente consecuencia de la composición nutricional de la dieta más que del alto consumo energético materno. Por tanto, el fenotipo observado en los descendientes de madres obesas puede ser

considerado como un efecto únicamente programado por el estado nutricional y el metabolismo materno asociado al consumo de dieta alta en grasa en las ratas F0.

Asimismo, observamos que la obesidad materna afectó en mayor medida a los descendientes machos que a las hembras, dado que los machos experimentaron un mayor efecto del insulto en parámetros como el peso y grasa corporal, así como en las concentraciones de leptina e insulina. Nuestros hallazgos son consistentes con los reportados en estudios previos los cuales describen que existe dimorfismo sexual en el fenotipo programado por la obesidad materna (Fuente-Martín et al., 2012; Pankey et al., 2017; Sun et al., 2012; Vega et al., 2015). Parte de estas diferencias pueden ser mediadas por la acción de hormonas sexuales y metabólicas, el epigenoma o la placenta ante los cambios del estado nutricional materno. Por ejemplo, la placenta masculina es particularmente vulnerable al daño por estados nutricionales adversos y esto puede ser la base de algunos de los fenotipos metabólicos observados en la edad adulta (Dearden et al., 2018).

Aunque el presente estudio destaca principalmente los efectos programados por la obesidad materna en los descendientes adultos, es importante señalar que los efectos fisiológicos programados pueden originarse desde antes de la fecundación (Sasson et al., 2015). De la misma manera, el tipo de dieta que ingiere la madre durante la lactancia tiene un efecto sobre la composición y contenido de ácidos grasos de la leche que consume la cría (Bautista et al., 2016), contribuyendo de esta manera a la predisposición a la obesidad en la edad adulta. Por tanto, para prevenir de manera efectiva los efectos de la obesidad materna tanto en la madre como en la cría, la mejor intervención indudablemente será aquella que inicie antes de la edad reproductiva y permanezca durante el embarazo y la lactancia.

En lo que respecta a la intervención materna, la suplementación con resveratrol además de tener efectos benéficos en morfología y metabolismo de las madres obesas también tuvo efectos positivos en la morfología y metabolismo de los descendientes; sin embargo, dichos efectos también fueron dependientes del sexo. Es decir, observamos que las crías machos de madres obesas suplementadas con resveratrol fueron menos pesadas y tuvieron menor cantidad de grasa corporal

e índice de adiposidad en comparación con los descendientes de madres obesas que no fueron suplementadas con resveratrol, mientras que en las crías hembras el aumento en el peso corporal se previno y la grasa total se redujo, pese a no observarse cambios en el índice de adiposidad. Si bien, en ambos sexos se previno el incremento en la concentración de triglicéridos en suero, así como en la concentración de insulina y por tanto en el índice de resistencia a la insulina, llegando a ser todos estos parámetros iguales a los de las crías de los grupos C, el consumo de resveratrol materno sólo previno el incremento en las concentraciones de leptina en suero de las crías machos, mientras que en las hembras la intervención materna evitó un aumento en este parámetro, el cual no es diferente del grupo OM y es similar al grupo C. Estos hallazgos indican que el resveratrol consumido por las madres podría tener efectos potenciales sobre el tejido adiposo de la descendencia.

Los efectos benéficos del consumo materno de resveratrol sobre las alteraciones metabólicas programadas por la obesidad materna en la descendencia pueden ser atribuidos tanto a sus efectos observados sobre el metabolismo materno como a sus efectos directos sobre el feto. Es decir, de acuerdo con los resultados observados en las hembras F0, la intervención con resveratrol, si bien no logra revertir totalmente los efectos adversos de la obesidad inducida por el consumo de dieta alta en grasa, es capaz de mejorar el metabolismo materno lo cual puede conducir a cambios importantes en el ambiente nutricional intrauterino y postnatal temprano, y por tanto prevenir la mala programación en la descendencia. Por otra parte, se ha descrito que el resveratrol puede atravesar la placenta y afectar al feto directamente (Bourque et al., 2012), disminuyendo de esta manera la inflamación placentaria y los niveles elevados de estrés oxidante embrionarios, debido a sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes; además de actuar como un modulador epigenético en pronúcleos cigóticos, lo que conduce a un mejor desarrollo embrionario (Hsu et al., 2020). La leche materna puede ser otra de las vías por las cuales el resveratrol puede actuar directamente sobre la cría, sin embargo, no existen reportes que informen si el resveratrol puede ser transportado en la leche materna.

Adiposidad y caracterización del tamaño del adipocito de los descendientes

Nuestros resultados sugieren que la obesidad materna programa mayor acumulación de grasa visceral en las crías a la edad de adulto joven de forma dependiente del sexo, siendo mayor la cantidad de grasa total acumulada en machos que en hembras. Estos hallazgos son consistentes con los reportados en estudios previos de obesidad materna en roedores que señalan que los machos son más susceptibles a cambios en la adiposidad y peso corporal (Dearden et al., 2018). Se ha descrito que, el crecimiento masculino es más sensible a los entornos prenatales alterados que el crecimiento femenino, independientemente del tipo de estrés prenatal. Adicionalmente, la evidencia de datos epidemiológicos muestra que el IMC materno afecta el peso al nacer de los hombres más que el de las mujeres y que se ven más afectados por la suplementación de nutrientes de la madre durante la gestación (Pankey et al., 2017).

Los tejidos adiposos masculino y femenino son sexualmente dimórficos, existen claras diferencias en su cantidad, distribución y capacidad metabólica. Independientemente del IMC, las mujeres suelen tener un 10% más de grasa corporal y tienden a acumular mayor cantidad de tejido adiposo subcutáneo en comparación con los hombres, quienes acumulan significativamente mayor cantidad de grasa visceral (Fuente-Martín et al., 2013). Parte de estas diferencias pueden ser asociadas al genotipo del individuo, ya que se ha descrito que el número de cromosomas X tiene efectos importantes sobre el peso corporal, la adiposidad y la susceptibilidad a enfermedades metabólicas (Chen et al., 2013). Sin embargo, la mayoría de estas diferencias son atribuidas a los efectos de las hormonas sexuales. Se ha sugerido ampliamente que el estrógeno protege contra la obesidad al modular la expansión, distribución, inflamación y fibrosis del tejido adiposo a través de la expresión de receptores de estrógenos (Davis et al., 2013). Por otra parte, tanto el tamaño como el número de adipocitos también puede contribuir a las diferencias sexuales observadas en la distribución de grasa (Karastergiou et al., 2012), por lo cual el estudio de la morfología y metabolismo de los adipocitos, así como de su capacidad de proliferación y diferenciación podría ayudar a una mejor comprensión

de los factores que influyen en la programación de la expansión del tejido adiposo específica por sexo, así como de los efectos del consumo materno de resveratrol sobre este tejido.

El análisis histológico realizado al tejido adiposo retroperitoneal de los descendientes mostró una amplia heterogeneidad y dispersión, así como aumento en la media del tamaño de los adipocitos de las crías del grupo OM de ambos sexos en comparación con su respectivo grupo C, en donde se observó menor dispersión. La intervención materna con resveratrol logró que los descendientes de madres obesas, tanto machos como hembras, presentaran menor dispersión en los datos de tamaño del adipocito en la edad adulta y que además esta dispersión, así como la media del tamaño fueran más parecidas a las del grupo C. Sin embargo, a causa de la alta heterogeneidad en los datos, la comparación de la media del tamaño resulta un enfoque un tanto incorrecto que debe usarse con precaución para evaluar la morfología de las células del tejido adiposo (Ibáñez et al., 2018). En este aspecto, el valor de la mediana resulta ser un dato más representativo que no se ve afectado por la dispersión. De acuerdo con nuestros resultados, la mediana del tamaño de los adipocitos en los descendientes F1 del grupo OM, en ambos sexos, fue significativamente mayor con respecto a su grupo C. La intervención con resveratrol durante la gestación y lactancia en madres obesas previno el aumento en la mediana del tamaño en las crías en ambos sexos, siendo estadísticamente igual a la del grupo C, revirtiendo de esta manera los efectos programados por la obesidad materna en términos de la mediana del tamaño del adipocito.

Por otra parte, la comparación de las distribuciones acumuladas de los grupos de estudio nos permitió realizar un análisis más completo no solo en términos de los adipocitos cercanos a la mediana del tamaño, sino también de aquellos que se encuentran en los extremos de la distribución (correspondiendo a adipocitos pequeños y grandes) y que son eliminados estadísticamente del análisis de la mediana pero que tiene una contribución importante en la distribución de tamaños. En relación con esto, la comparación de las distribuciones acumuladas de los grupos C y OM, tanto de machos como de hembras, demuestra que existen

diferencias más marcadas en el extremo de la distribución correspondiente a la región de adipocitos grandes. La intervención materna con resveratrol muestra un efecto contundente en la distribución del tamaño de los adipocitos en los descendientes de ambos sexos, ya que logra prevenir el aumento en el tamaño de tal manera que las crías de madres obesas intervenidas presentan adipocitos prácticamente del mismo tamaño que los de las crías del grupo control; además, se observan cambios importantes en los extremos de la distribución acumulada, los cuales son más marcados en el caso de las hembras.

Dentro de nuestro grupo de investigación se ha propuesto estimar la distribución del tamaño de los adipocitos bajo el supuesto de la distribución gamma y así evaluar los valores extremos de tamaños que no pueden ser estudiados mediante la comparación de las medianas (Ibáñez et al., 2018). De acuerdo con el ajuste realizado, se observó que en los machos y hembras descendientes de madres control la distribución gamma del tamaño del adipocito fue asimétrica y sesgada a la izquierda, es decir que, la mayoría de los datos se concentraron en la región de los adipocitos pequeños (asociados con una morfología hiperplásica) y posteriormente se distribuyeron en un amplio rango de tamaños finalizando en una cola corta, la cual representa una baja proporción de adipocitos grandes (asociados con una morfología hipertrófica) con un tamaño máximo de $4906 \mu\text{m}^2$ en machos y $5456 \mu\text{m}^2$ en hembras. Por otro lado, en los descendientes de madres obesas, tanto en machos como en hembras, se observó una mayor dispersión, denotada por el aplanamiento de la curva, y una cola más alargada hacia valores más grandes de tamaño. Así mismo, tanto la forma como la amplitud de la distribución se vieron modificadas por la obesidad materna, lo que en consecuencia originó diferencias en las proporciones de adipocitos pequeños y grandes. Los adipocitos pequeños representaron el 4% del total de adipocitos en los descendientes de ambos sexos, lo que indica que la obesidad materna disminuyó la tasa de adipocitos pequeños independientemente del sexo de los descendientes; mientras que, el porcentaje de adipocitos grandes fue mayor en ambos sexos, 39.5% en machos y 32% en hembras, en comparación con los descendientes de madres control. Cabe destacar que a pesar de que la proporción de adipocitos grandes es mayor en machos que

en hembras, la hipertrofia de los adipocitos es más acentuada en las hembras ya que llegan a alcanzar adipocitos de mayor tamaño ($9492 \mu\text{m}^2$) en comparación con los machos ($7599 \mu\text{m}^2$), lo cual puede ser un indicativo de las diferencias programadas en su mecanismo de expansión.

El aumento en la proporción de adipocitos con hipertrofia explica en gran medida el hecho de que los descendientes de madres obesas presenten hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia y mayor índice de resistencia a la insulina a pesar de haber sido destetados y alimentados con dieta control durante toda su vida experimental. Así mismo, se ha demostrado que los adipocitos con hipertrofia tienen una expresión y secreción anormal de adipocinas (Skurk et al., 2007), por lo cual el aumento en la proporción de adipocitos grandes puede estar asociado con la hiperleptinemia observada tanto en machos como en hembras, la cual además parece estar relacionada de manera más específica con la amplitud de la distribución que con el tamaño máximo alcanzado, ya que son los machos los que presentan mayor proporción de adipocitos grandes y mayores concentraciones de leptina en suero en comparación con las hembras, que tienden a presentar adipocitos de mayor tamaño.

Por otra parte, la suplementación materna con resveratrol logró que tanto la forma como amplitud de la distribución del tamaño de los adipocitos de las crías del grupo OMRES se recuperara y fuera similar a la del grupo C e incluso similar a la del grupo CRES, en el cual la distribución de tamaño y proporción de adipocitos pequeños y grandes no se vio afectada por la intervención materna. Por otra parte, la proporción de adipocitos pequeños fue mayor en las crías del grupo OMRES (14% en machos y 11% en hembras) en comparación con las crías del grupo OM, lo cual nos habla de un aumento en la hiperplasia de los adipocitos en este grupo; mientras que, la proporción de adipocitos grandes disminuyó notablemente, representando el 13% en machos y 10% en hembras y siendo estadísticamente igual a la de los grupos C y CRES. En los machos, la cola de la distribución disminuyó y los adipocitos alcanzaron un tamaño máximo de $6724 \mu\text{m}^2$; mientras que, en las hembras la cola de la distribución se acorta con un tamaño máximo de

5320 μm^2 , alcanzando valores de tamaño similares al control. Con base en estos resultados podemos destacar que el resveratrol consumido por la madre obesa tiene un efecto importante en la disminución del tamaño de los adipocitos de sus crías, en hembras logrando evitar totalmente el aumento en el tamaño máximo, lo que considerablemente contribuye a la reducción en la adiposidad y peso corporal. Así mismo, los cambios en la disminución del tamaño de los adipocitos ocasionados por la intervención materna con resveratrol se asocian con la disminución en las concentraciones en suero de triglicéridos e insulina, así como del índice de resistencia a la insulina. El aumento en las concentraciones de leptina en suero se previene totalmente en machos, mientras que en hembras solo se observa una mejora parcial.

En un estudio llevado a cabo en sujetos obesos suplementados con una dosis de 150 mg de resveratrol al día durante un período de 30 días se reportó que el resveratrol logró disminuir significativamente el tamaño de los adipocitos, logrando una menor proporción de adipocitos grandes y extremadamente grandes y aumentando la proporción de adipocitos pequeños (Konings et al., 2014). Por otra parte, en ratas alimentadas con dieta obesogénica se ha observado que el tratamiento con una dosis de resveratrol de 30 mg/ kg de peso corporal/ día después de 6 semanas muestra una reducción significativa en el tamaño del tejido adiposo de diferentes localizaciones anatómicas (Alberdi et al., 2011). Sin embargo, en el presente trabajo hemos observado que el resveratrol también disminuye el tamaño de los adipocitos aun cuando este compuesto no es ingerido de manera directa por la cría. Nuestros resultados son consistentes con los reportados por otros autores que señalan que en crías macho de madres obesas el resveratrol logra una reducción en el tamaño del adipocito de diferentes localizaciones anatómicas (Liu et al., 2020; Zou et al., 2017). Adicionalmente, nuestros resultados muestran que las crías hembras también se ven beneficiadas por el consumo materno de resveratrol previniendo totalmente el aumento en el tamaño de los adipocitos.

Expresión de genes adipogénicos en el tejido adiposo de los descendientes

Los efectos observados en la distribución del tamaño de los adipocitos, programados tanto por la obesidad materna como por el consumo de resveratrol, pueden ser explicados por defectos en los procesos de proliferación y/o compromiso y diferenciación temprana de nuevos adipocitos (Ibáñez-Chávez, 2019), por lo cual los cambios que ocurren en la expresión génica del tejido adiposo podrían ayudar a dilucidar un mecanismo que explique los resultados observados. En el presente trabajo, del total de genes analizados observamos que, la expresión de 9 de ellos (los cuales se encontraron diferencialmente expresados en las crías de madres obesas) fue regulada por el resveratrol consumido por la madre y se describen con mayor detalle a continuación.

En lo que respecta a los genes maestro de la adipogénesis, tanto machos como hembras descendientes de madres obesas mostraron una expresión disminuida de PPAR γ , siendo en hembras el único gen con expresión disminuida significativamente. La expresión de C/EBP α también se observó a la baja en los machos, mientras que en hembras no se encontraron diferencias. Consistentemente con nuestros resultados, otros estudios han reportado que en el tejido adiposo de ratas descendientes de madres obesas se observa una expresión persistentemente más disminuida de PPAR γ durante la edad adulta (Lecoutre et al., 2016, 2018). Dado que PPAR γ promueve la adipogénesis y el almacenamiento de lípidos dentro de los adipocitos, la baja expresión de PPAR γ observada se asocia con la disfunción y alteración de la capacidad de expansión del tejido adiposo (Corrales et al., 2018). A pesar de que experimentalmente se ha demostrado que la expresión de PPAR γ es obligada y suficiente para mantener la adipogénesis (Farmer, 2006; Rosen & MacDougald, 2006; Siersbæk et al., 2012), durante este proceso C/EBP α , además de participar en la diferenciación celular, está implicado en el control de la transcripción de muchos otros genes involucrados en el metabolismo, por lo que es considerado un regulador central del metabolismo energético (Yang et al., 2005); en consecuencia, las células deficientes en C/EBP α suelen ser resistentes a la insulina (Desai et al., 2015). De acuerdo con estos datos,

la expresión disminuida de PPAR γ y C/EBP α se asocia con la disminución en la diferenciación de adipocitos y con el incremento en la resistencia a la insulina en los descendientes de madres obesas.

Con la intervención materna con resveratrol observamos que la expresión de PPAR γ , tanto en machos como en hembras del grupo OMRES, y de C/EBP α , en el caso de los machos OMRES, se encontraron a la alta en el tejido adiposo de los descendientes a la edad de adulto joven. Nuestros resultados, en cuanto a la expresión de PPAR γ , son consistentes con los reportados por Ros y colaboradores, quienes evaluaron el efecto de la intervención materna con resveratrol, proporcionada en al agua de bebida de ratas madres obesas a una dosis de 50 mg, encontrando que la expresión de PPAR γ en el tejido adiposo visceral incrementa en los descendientes de madres alimentadas con dieta alta en grasa (Ros et al., 2020). A pesar de que el efecto observado se presenta a una dosis mayor a la administrada por nuestro grupo de trabajo, es importante considerar la cantidad real de agua consumida por las ratas, de tal forma que la dosis farmacológica que termina produciendo el efecto observado es menor (González-Rodríguez et al., 2015).

De acuerdo con nuestros resultados, el resveratrol logra revertir el efecto programado por la obesidad materna en la regulación de los genes maestro de la adipogénesis al incrementar la expresión de PPAR γ y C/EBP α en el tejido adiposo de los descendientes de madres obesas. El incremento en la expresión de dichos genes por el resveratrol contribuye al aumento en la diferenciación de nuevos adipocitos, mismo que podemos ver representado con el aumento en la proporción de adipocitos pequeños en las crías del grupo OMRES de ambos sexos. Si bien, en las hembras no se observaron cambios en la expresión de C/EBP α , el aumento en la expresión de PPAR γ fue suficiente para inducir la diferenciación de nuevos adipocitos. En consecuencia, el aumento en la proporción de adipocitos pequeños incrementa la capacidad del tejido adiposo para almacenar el excedente energético, evitando así la hipertrofia del tejido, y logra mantener el estado metabólico estable.

Por otra parte, se observó una disminución en la expresión de NCoR1 en los machos descendientes de madres obesas, mientras que en las hembras se

mantuvo sin cambios significativos. En estudios realizados en ratones machos knockout de NCoR1 específico de tejido adiposo (Li et al., 2011), la reducción de este gen se ha asociado con aumento en la adipogénesis, reducción en la inflamación, mayor sensibilidad a la insulina y cambios en la secreción de adipocinas en el tejido adiposo. Por otra parte, en descendientes machos de madres obesas se ha observado que el fenotipo obeso, consecuencia del incremento en la hiperplasia de adipocitos de las crías, se asocia con una menor expresión de NCoR1 (Desai et al., 2015). Estos efectos son atribuidos principalmente a la desrepresión de PPAR γ . En tejido adiposo, la función dominante de NCoR1 es suprimir la adipogénesis al inhibir la actividad de PPAR γ (Korman et al., 2018), por lo que los roedores con deficiencia o menor expresión de NCoR1 específico de adipocitos se vuelven más obesos. Por el contrario, nuestros datos sugieren que la disminución observada en la expresión de PPAR γ , y por tanto su incapacidad para estimular la adipogénesis, tanto en machos como en hembras, no es dependiente de la actividad correpresora de NCoR1, ya que la expresión de este gen también se encontró disminuida en los machos mientras que en las hembras se mantuvo sin cambios significativos. La disminución en la expresión de este correpresor, en el caso de los machos, podría deberse a su vez a la baja expresión de PPAR γ programada por la obesidad materna. Efectos dependientes del sexo en la expresión de NCoR1 no han sido descritos en la literatura.

Con la intervención, la expresión de este gen en los descendientes macho de madres obesas que consumieron resveratrol aumentó y fue igual a la del grupo C. En las hembras, la intervención materna con resveratrol no produjo ningún cambio. Se ha descrito que el resveratrol puede activar indirectamente a NCoR1 mediante la activación de Sirt1 y así influir en la actividad transcripcional de PPAR γ (Shakibaei et al., 2012). Sin embargo, de acuerdo con nuestros resultados el aumento observado en la expresión de NCoR1 en los descendientes macho de madres obesas tratadas con resveratrol no estuvo mediado por Sirt1, ya que no se observaron cambios en la expresión de este gen en respuesta a la obesidad materna ni al efecto de la intervención con resveratrol. Por tanto, en el presente estudio el aumento en la expresión de NCoR1 podría ser consecuencia del aumento

en la expresión de PPAR γ , y no a un efecto directo del resveratrol sobre este gen, con el fin de regular su expresión.

Adicionalmente, en los machos descendientes de madres obesas se observó expresión disminuida de LMNA, CREB1 y DDIT3. En contraste con los machos, tanto CREB1 como DDIT3 se expresaron a la alta en las hembras descendientes de madres obesas, mientras que la expresión del LMNA permaneció sin cambios. Actualmente no existe suficiente información en la literatura sobre la expresión de dichos genes en descendientes de madres obesas. Sin embargo, tanto en modelos *in vitro*, empleando células de tejido adiposo humano, como en modelos animales en ratones knockout se ha observado que en condiciones de obesidad existe mayor expresión génica de DDIT3, LMNA y CREB1 en el tejido adiposo (Han et al., 2013; Qi et al., 2009; Sánchez et al., 2015). Durante la adipogénesis, LMNA funciona como andamiaje para el ensamblaje de otras proteínas y se ha observado que su expresión aumenta con la diferenciación de adipocitos (Lelliott et al., 2002; Miranda et al., 2008); CREB1 regula la transcripción de genes específicos que participan en el metabolismo de lípidos (Kim et al., 2010; Qi et al., 2009); mientras que, DDIT3 es un regulador importante que controla la fase de expansión clonal de los preadipocitos al funcionar como un inhibidor transcripcional (Batchvarova et al., 1995; Fabre et al., 2012). Además, la expresión alterada de dichos genes se asocia con una mayor susceptibilidad al desarrollo de síndrome metabólico, metabolismo lipídico alterado y resistencia a la insulina (Han et al., 2013; Qi et al., 2009; Rodríguez-Acebes et al., 2010; Sánchez et al., 2015).

Por su parte, la intervención materna con resveratrol provocó un aumento en la expresión de los genes anteriormente señalados (LMNA, CREB1 y DDIT3) en el tejido adiposo de las crías macho del grupo OM a la edad de adulto joven. Mientras que en hembras descendientes de madres obesas que fueron intervenidas con resveratrol, tanto CREB1 como DDIT3 mostraron expresión disminuida logrando ser igual a la del grupo C. Si bien, la expresión de LMNA en hembras OM no fue diferente del C, en las descendientes de madres obesas intervenidas con resveratrol si se observó disminución en su expresión. Estos resultados revelan que los efectos

moleculares del resveratrol son dependientes de los procesos de programación determinados por la obesidad materna, los cuales a su vez han sido programados de una manera dependiente del sexo en los descendientes. A través de la intervención materna, el resveratrol puede regular la expresión de estos genes, permitiendo que de esta forma lleven a cabo de manera adecuada la función para la cual están destinados dentro del proceso adipogénico (permitir el ensamblaje de otras proteínas, regular la transcripción de otros genes que participan en el metabolismo de lípidos o regular la expansión clonal), de esta manera los cambios en su expresión también pueden asociarse con las mejoras observadas en el metabolismo lipídico y la resistencia a la insulina.

Así mismo, en los machos descendientes de madres obesas también se observó expresión aumentada únicamente de los genes Rb1 y CDKN1A/p21, este último igualmente se encontró expresado a la alta en las hembras hijas de madres obesas. Tanto Rb1 como CDKN1A/p21 inhiben la progresión del ciclo celular, por lo cual son considerados reguladores importantes de este proceso. La eliminación o reducción de Rb1 y CDKN1A/p21 en roedores se asocia con un fenotipo más obesos como resultado del aumento en la hiperplasia de adipocitos (Moreno-Navarrete et al., 2013; Seong & Ha, 2019). Ambos genes, además de participar en etapas tempranas de la diferenciación de adipocitos (durante la proliferación), se mantienen durante la diferenciación terminal. En adipocitos maduros, Rb1 es necesario para el mantenimiento de la capacidad adipogénica/lipogénica (Moreno-Navarrete et al., 2013), efectos que son atribuidos a su capacidad de unirse y aumentar la actividad de C/EBP β (Hallenborg et al., 2009); mientras que, CDKN1A/p21 está implicado en el control del tamaño de los adipocitos y se encuentra altamente expresado en el tejido adiposo hipertrófico, incluso, se ha sugerido que su participación es más importante durante la hipertrofia de los adipocitos que durante las etapas tempranas de diferenciación (Inoue et al., 2008). En nuestro estudio, el hecho de que Rb1 se haya observado al alza en los machos descendientes del grupo de obesidad materna se relaciona con la disminución observada en la proporción de adipocitos pequeños, algunos estudios han demostrado que la activación de Rb1 durante la expansión clonal mitótica conduce

a una adipogénesis atenuada (Moreno-Navarrete et al., 2013); sin embargo, dado que Rb1 también es necesario para el mantenimiento de la capacidad adipogénica y lipogénica en adipocitos maduros, su expresión elevada sea posiblemente en respuesta a la baja expresión de PPAR γ , al cual regula positivamente, y ante la necesidad de mantener la capacidad de almacenamiento en el tejido adiposo. Mientras que, el aumento encontrado en la expresión de CDKN1A/p21 tanto en machos como en hembras descendientes de madres obesas está estrechamente relacionado con el fenotipo hipertrófico observado en el tejido adiposo de ambos sexos. Adicionalmente, se sabe que C/EBP α induce su expresión y estabilización (Wang et al., 2001), mientras que PPAR γ lo requiere para mediar tanto la supresión de la proliferación como la diferenciación de células terminales (Mota de Sá et al., 2017; Zhao et al., 2020), por lo cual la baja expresión de los genes maestros de la adipogénesis encontrada en el tejido adiposo de los descendientes en nuestro estudio resulta insuficiente para controlar la expresión de CDKN1A/p21 y mantener el control del tamaño de los adipocitos.

Con la intervención materna con resveratrol, las crías macho del grupo OMRES mostraron mayor expresión tanto de Rb1 como de CDKN1A/p21. Dado que ambos son genes importantes en la regulación del ciclo celular, el aumento en su expresión ocasionado por el resveratrol en los descendientes puede ser asociado con el aumento en la capacidad adipogénica y por tanto con la mayor presencia de adipocitos pequeños. A pesar de que la expresión observada es aún mayor con la intervención con resveratrol, una mayor expresión tanto de Rb1 como de CDKN1A/p21 resulta necesaria para mediar la proliferación y diferenciación de los adipocitos dado el aumento en la expresión de los genes adipogénicos. En lo que respecta a las hembras la intervención materna con resveratrol ocasionó una disminución en la expresión de CDKN1A/p21 en el tejido adiposo de las crías del grupo OMRES, que es similar a la del grupo C. En este caso, dado que en las hembras descendientes de madres obesas hubo una menor afectación en la expresión de genes adipogénicos, la disminución en p21 pudiera estar más enfocada en lograr la reducción del tamaño de los adipocitos (ya que, al igual que en los machos, podemos observar que la cantidad de adipocitos con hipertrofia es

menor en el grupo de descendientes de madres obesas intervenidas con resveratrol) que en regular la proliferación de estos.

Adicionalmente, las hembras presentaron aumento en la expresión de MAPK14, el cual se mantuvo sin cambios en las crías macho. MAPK14 regula negativamente la adipogénesis a través de la inhibición de las actividades transcripcionales de CEBP β y PPAR γ (Aouadi et al., 2006, 2007), y además se ha descrito de MAPK14 fosforila directamente a DDIT3 para bloquear la diferenciación de adipocitos (Aouadi et al., 2007; Bost et al., 2005). En modelos animales de obesidad inducida por dieta y en estudios en humanos en mujeres con obesidad mórbida se ha encontrado una mayor expresión de MAPK14 en el tejido adiposo (Aouadi et al., 2007; Bashan et al., 2007; Bost et al., 2005). Asimismo, se ha sugerido que el aumento en su expresión puede contribuir a la resistencia a la insulina en adipocitos (Bashan et al., 2007). En este trabajo, la intervención materna con resveratrol se asoció con la disminución en la expresión de MAPK14, lo cual resulta benéfico en la regulación transcripcional de PPAR γ y C/EBP α mejorando de esta manera la diferenciación de adipocitos y el fenotipo de resistencia a la insulina.

Con base en los resultados anteriormente descritos, el resveratrol modificó la expresión de genes maestro de la adipogénesis, genes asociados a la supresión de genes maestro y genes asociados con el ciclo celular y la diferenciación terminal en el tejido adiposo de las crías macho de madres obesas suplementadas con resveratrol, grupo OMRES, a la edad de adulto joven. Esto condujo a un aumento en la adipogénesis que se refleja en una mayor proporción de adipocitos pequeños, provocando así la reducción en el tamaño y proporción de los adipocitos con hipertrofia en los machos del grupo OMRES. Sin embargo, a pesar de que hay una disminución total en la proporción de adipocitos hipertrofiados, se observa que tanto la grasa total como el índice de adiposidad sólo se reducen parcialmente. Esto nos indica que la reducción en el tamaño de los adipocitos en los machos OMRES se debe principalmente al incremento en la capacidad adipogénica lograda por la intervención materna con resveratrol dando lugar a la transición de obesidad hipertrófica a obesidad hiperplásica.

En lo que respecta a las hembras, la suplementación materna con resveratrol reguló negativamente genes asociados a la supresión de los genes maestro y a la diferenciación terminal en el tejido adiposo de las crías OMRES a la edad de adulto joven. A pesar de que el efecto observado no indica una mejora en el proceso de adipogénesis, la regulación de estos genes tiene un importante efecto en la diferenciación terminal y en las mejoras en el fenotipo hipertrófico del tejido adiposo contribuyendo al cambio hacia una mayor proporción de adipocitos pequeños. Por lo tanto, la reducción en la proporción de adipocitos grandes, así como en la grasa total, y el aumento en la proporción de adipocitos pequeños, nos indica que el principal mecanismo por el cual se revierte la hipertrofia del tejido adiposo programada por la obesidad materna en las crías hembras podría ser a través de la regulación de genes asociados a la diferenciación terminal del adipocito.

9. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos, la obesidad materna programa mayor acumulación de tejido adiposo e hipertrofia de los adipocitos en los descendientes en la edad adulta. Estos efectos son más pronunciados en machos que hembras, lo cual conduce a que parámetros como el peso corporal y las concentraciones de triglicéridos, leptina e insulina sean mayores en este sexo. En adición, nuestros datos muestran diferencias entre sexos en la expresión génica del tejido adiposo retroperitoneal; observándose que, en algunos de los genes diferencialmente expresados la dirección de cambio se da en el mismo sentido en ambos sexos y en otros difiere entre sexos o bien, se encuentran diferencialmente expresados en machos, pero no en hembras. Estos datos nos sugieren mecanismos de programación diferentes entre sexos en la disfunción del tejido adiposo de los descendientes de madres obesas.

La suplementación materna con resveratrol antes y durante la gestación y la lactancia, logró cambios importantes en el tamaño de los adipocitos de los descendientes de madres obesas al inducir un incremento en la proporción de adipocitos pequeños y disminución en los adipocitos grandes, lo que hizo que la distribución de tamaños fuera igual al de las crías control. Sin embargo, a pesar de estos resultados, en los machos se observa que tanto la grasa total como el peso corporal sólo se reducen parcialmente; mientras que, en las hembras la reducción en la grasa previene el aumento de peso corporal. Este fenotipo se atribuye, principalmente, a la acción del resveratrol sobre los genes que se encontraron diferencialmente expresados en el tejido adiposo. En el caso de los machos, la regulación de estos genes da lugar al incremento de la capacidad adipogénica favoreciendo la transición de obesidad hipertrófica a obesidad hiperplásica; mientras que, en las hembras la regulación de estos genes tiene un importante efecto en la diferenciación terminal de los adipocitos, que favorece la capacidad lipogénica del tejido adiposo y contribuye a la disminución del tamaño de los adipocitos. Estos datos proporcionan evidencia de que el consumo de resveratrol

materno durante la gestación y la lactancia puede revertir los efectos adversos programados por la obesidad materna.

10.PERSPECTIVAS

- Sería de gran utilidad analizar la expresión de genes en precursores de adipocitos aislados en el tejido adiposo de los descendientes para determinar la influencia del ambiente intrauterino y del resveratrol sobre la capacidad proliferativa, específicamente.
- Nuestros datos proporcionan evidencia de que el resveratrol puede revertir las alteraciones metabólicas y la disfunción del tejido adiposo programadas por la obesidad materna. Previamente se ha descrito que, el resveratrol puede atravesar la placenta y actuar sobre el feto directamente. La leche materna puede ser otra de las vías por las cuales el resveratrol puede ser transportado y actuar directamente sobre la cría, sin embargo, no existen reportes que informen si el resveratrol puede ser transportado en la leche materna. Debido a esto sería necesario evaluar la presencia de resveratrol o sus principales metabolitos en la leche materna y en el suero de las crías lactantes para determinar si los efectos observados se deben a la acción directa del resveratrol o si son atribuidos a sus efectos sobre el metabolismo materno.
- La obesidad materna y la calidad de los nutrientes consumidos durante la gestación y lactancia también pueden causar cambios epigenéticos en el genoma fetal, modificaciones que pueden ser persistentes y tener efectos a largo plazo sobre la expresión de genes adipogénicos y lipogénicos y que pueden dar lugar a los efectos de programación específicos por sexo; así mismo, el resveratrol también puede modular importantes dianas epigénéticas. Por lo cual, sería de gran importancia determinar el impacto del consumo de dieta alta en grasa y de resveratrol en nuestro modelo de obesidad materna sobre las marcas epigenéticas del tejido adiposo de los descendientes. Esto sería de gran utilidad para determinar de forma más específica los mecanismos del resveratrol.

11. REFERENCIAS

- Agarwal, P., Morriseau, T. S., Kereliuk, S. M., Doucette, C. A., Wicklow, B. A., & Dolinsky, V. W. (2018). Maternal obesity, diabetes during pregnancy and epigenetic mechanisms that influence the developmental origins of cardiometabolic disease in the offspring. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 55(2), 71–101. <https://doi.org/10.1080/10408363.2017.1422109>
- Aguirre, L., Fernández-Quintela, A., Arias, N., & Portillo, M. P. (2014). Resveratrol: anti-obesity mechanisms of action. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(11), 18632–18655. <https://doi.org/10.3390/molecules191118632>
- Alberdi, G., Rodríguez, V. M., Miranda, J., Macarulla, M. T., Arias, N., Andrés-Lacueva, C., & Portillo, M. P. (2011). Changes in white adipose tissue metabolism induced by resveratrol in rats. *Nutrition & Metabolism*, 8(1), 29. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-8-29>
- Alfaradhi, M. Z., Fernandez-Twinn, D. S., Martin-Gronert, M. S., Musial, B., Fowden, A., & Ozanne, S. E. (2014). Oxidative stress and altered lipid homeostasis in the programming of offspring fatty liver by maternal obesity. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 307(1), R26-34. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00049.2014>
- Ali, A. T., Hochfeld, W. E., Myburgh, R., & Pepper, M. S. (2013). Adipocyte and adipogenesis. *European Journal of Cell Biology*, 92(6), 229–236. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2013.06.001>
- Aouadi, Jager, J., Laurent, K., Gonzalez, T., Cormont, M., Binétruy, B., Le Marchand-Brustel, Y., Tanti, J.-F., & Bost, F. (2007). p38MAP Kinase activity is required for human primary adipocyte differentiation. *FEBS Letters*, 581(29), 5591–5596. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.febslet.2007.10.064>
- Aouadi, Laurent, K., Prot, M., Le Marchand-Brustel, Y., Binétruy, B., & Bost, F. (2006). Inhibition of p38MAPK increases adipogenesis from embryonic to adult stages. *Diabetes*, 55(2), 281–289. <https://doi.org/10.2337/diabetes.55.02.06.db05-0963>
- Armitage, J. A., Poston, L., & Taylor, P. D. (2008). Developmental origins of obesity and the metabolic syndrome: the role of maternal obesity. *Frontiers of Hormone Research*, 36, 73–84. <https://doi.org/10.1159/000115355>
- Atanassova, P. K. (2002). Electron microscopic study of the differentiation of rat white subcutaneous adipocytes in situ. *Folia Medica*, 44(4), 45–49.
- Baile, C. A., Yang, J.-Y., Rayalam, S., Hartzell, D. L., Lai, C.-Y., Andersen, C., & Della-Fera, M. A. (2011). Effect of resveratrol on fat mobilization. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1215, 40–47. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05845.x>
- Barker, D. J. (1995). The fetal and infant origins of disease. *European Journal of Clinical Investigation*, 25(7), 457–463. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.1995.tb01730.x>
- Barker, & Osmond, C. (1986). INFANT MORTALITY, CHILDHOOD NUTRITION, AND ISCHAEMIC HEART DISEASE IN ENGLAND AND WALES. *The Lancet*, 327(8489), 1077–1081. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(86\)91340-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(86)91340-1)
- Bashan, N., Dorfman, K., Tarnovscki, T., Harman-Boehm, I., Liberty, I. F., Blüher, M., Ovadia, S., Maymon-Zilberstein, T., Potashnik, R., Stumvoll, M., Avinoach, E., & Rudich, A. (2007). Mitogen-activated protein kinases, inhibitory-kappaB kinase, and insulin signaling in human omental versus subcutaneous adipose tissue in obesity. *Endocrinology*, 148(6), 2955–2962. <https://doi.org/10.1210/en.2006-1369>
- Batchvarova, N., Wang, X. Z., & Ron, D. (1995). Inhibition of adipogenesis by the stress-induced protein CHOP (Gadd153). *The EMBO Journal*, 14(19), 4654–4661.
- Bautista, Montañó, 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. *The British Journal of Nutrition*, 115(3), 538–546. <https://doi.org/10.1017/S0007114515004547>

- Bautista, Rodríguez-González, G. L., Morales, A., Lomas-Soria, C., Cruz-Pérez, F., Reyes-Castro, L. A., & Zambrano, E. (2017). Maternal obesity in the rat impairs male offspring aging of the testicular antioxidant defence system. *Reproduction, Fertility, and Development*, *29*(10), 1950–1957. <https://doi.org/10.1071/RD16277>
- Bavdekar, A., Yajnik, C. S., Fall, C. H., Bapat, S., Pandit, A. N., Deshpande, V., Bhave, S., Kellingray, S. D., & Joglekar, C. (1999). Insulin resistance syndrome in 8-year-old Indian children: small at birth, big at 8 years, or both? *Diabetes*, *48*(12), 2422–2429. <https://doi.org/10.2337/diabetes.48.12.2422>
- Bhargava, S. K., Sachdev, H. S., Fall, C. H. D., Osmond, C., Lakshmy, R., Barker, D. J. P., Biswas, S. K. D., Ramji, S., Prabhakaran, D., & Reddy, K. S. (2004). Relation of serial changes in childhood body-mass index to impaired glucose tolerance in young adulthood. *The New England Journal of Medicine*, *350*(9), 865–875. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa035698>
- Boney, C. M., Verma, A., Tucker, R., & Vohr, B. R. (2005). Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics*, *115*(3), e290–6. <https://doi.org/10.1542/peds.2004-1808>
- Borengasser, S. J., Zhong, Y., Kang, P., Lindsey, F., Ronis, M. J. J., Badger, T. M., Gomez-Acevedo, H., & Shankar, K. (2013). Maternal obesity enhances white adipose tissue differentiation and alters genome-scale DNA methylation in male rat offspring. *Endocrinology*, *154*(11), 4113–4125. <https://doi.org/10.1210/en.2012-2255>
- Bost, F., Aouadi, M., Caron, L., & Binétruy, B. (2005). The role of MAPKs in adipocyte differentiation and obesity. *Biochimie*, *87*(1), 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2004.10.018>
- Bourque, S. L., Dolinsky, V. W., Dyck, J. R. B., & Davidge, S. T. (2012). Maternal resveratrol treatment during pregnancy improves adverse fetal outcomes in a rat model of severe hypoxia. *Placenta*, *33*(5), 449–452. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2012.01.012>
- Buckley, A. J., Keserü, B., Briody, J., Thompson, M., Ozanne, S. E., & Thompson, C. H. (2005). Altered body composition and metabolism in the male offspring of high fat-fed rats. *Metabolism*, *54*(4), 500–507. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.metabol.2004.11.003>
- Carter, L. G., Qi, N. R., De Cabo, R., & Pearson, K. J. (2013). Maternal exercise improves insulin sensitivity in mature rat offspring. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *45*(5), 832–840. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31827de953>
- Castro-Rodríguez, D. C., Juárez-Pilares, G., Cano-Cano, L., Pérez-Sánchez, M., Ibáñez, C. A., Reyes-Castro, L. A., Yáñez-Fernández, J., & Zambrano, E. (2020). Impact of Leuconostoc SD23 intake in obese pregnant rats: benefits for maternal metabolism. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, *11*(5), 533–539. <https://doi.org/10.1017/S2040174420000367>
- Catalano, P., & deMouzon, S. H. (2015). Maternal obesity and metabolic risk to the offspring: why lifestyle interventions may have not achieved the desired outcomes. *International Journal of Obesity (2005)*, *39*(4), 642–649. <https://doi.org/10.1038/ijo.2015.15>
- Chang, E., Hafner, H., Varghese, M., Griffin, C., Clemente, J., Islam, M., Carlson, Z., Zhu, A., Hak, L., Abrishami, S., Gregg, B., & Singer, K. (2019). Programming effects of maternal and gestational obesity on offspring metabolism and metabolic inflammation. *Scientific Reports*, *9*(1), 16027. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52583-x>
- Chen, M.-H., & Tong, Q. (2013). An update on the regulation of adipogenesis. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*, *10*(1), e15–e19. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ddmec.2013.04.002>
- Chen, McClusky, R., Itoh, Y., Reue, K., & Arnold, A. P. (2013). X and Y chromosome complement influence adiposity and metabolism in mice. *Endocrinology*, *154*(3), 1092–1104. <https://doi.org/10.1210/en.2012-2098>
- Choi, J., Fukuoka, Y., & Lee, J. H. (2013). The effects of physical activity and physical activity plus

- diet interventions on body weight in overweight or obese women who are pregnant or in postpartum: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Preventive Medicine*, 56(6), 351–364. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2013.02.021>
- Corrales, P., Vidal-Puig, A., & Medina-Gómez, G. (2018). PPARs and Metabolic Disorders Associated with Challenged Adipose Tissue Plasticity. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7). <https://doi.org/10.3390/ijms19072124>
- Dahlhoff, M., Pfister, S., Blutke, A., Rozman, J., Klingenspor, M., Deutsch, M. J., Rathkolb, B., Fink, B., Gimpfl, M., Hrabě de Angelis, M., Roscher, A. A., Wolf, E., & Ensenauer, R. (2014). Peri-conceptual obesogenic exposure induces sex-specific programming of disease susceptibilities in adult mouse offspring. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1842(2), 304–317. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.11.021>
- Davies, G. A. L., Maxwell, C., McLeod, L., Gagnon, R., Basso, M., Bos, H., Delisle, M.-F., Farine, D., Hudon, L., Menticoglou, S., Mundle, W., Murphy-Kaulbeck, L., Ouellet, A., Pressey, T., Roggensack, A., Leduc, D., Ballerman, C., Biringer, A., Duperron, L., ... Wilson, K. (2010). Obesity in Pregnancy: No. 239, February 2010. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, 110(2), 167–173. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2010.03.008>
- Davis, K. E., D Neinast, M., Sun, K., M Skiles, W., D Bills, J., A Zehr, J., Zeve, D., D Hahner, L., W Cox, D., M Gent, L., Xu, Y., V Wang, Z., A Khan, S., & Clegg, D. J. (2013). The sexually dimorphic role of adipose and adipocyte estrogen receptors in modulating adipose tissue expansion, inflammation, and fibrosis. *Molecular Metabolism*, 2(3), 227–242. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2013.05.006>
- De Los Santos, S., Reyes-Castro, L. A., Coral-Vázquez, R. M., Méndez, J. P., Leal-García, M., Zambrano, E., & Canto, P. (2020). (-)-Epicatechin reduces adiposity in male offspring of obese rats. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 11(1), 37–43. <https://doi.org/10.1017/S2040174419000345>
- Dearden, L., Bouret, S. G., & Ozanne, S. E. (2018). Sex and gender differences in developmental programming of metabolism. *Molecular Metabolism*, 15, 8–19. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.molmet.2018.04.007>
- Desai, Jellyman, J. K., Han, G., Lane, R. H., & Ross, M. G. (2015). Programmed regulation of rat offspring adipogenic transcription factor (PPAR γ) by maternal nutrition. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 6(6), 530–538. <https://doi.org/10.1017/S2040174415001440>
- Desai, M., & Ross, M. G. (2011). Fetal programming of adipose tissue: effects of intrauterine growth restriction and maternal obesity/high-fat diet. *Seminars in Reproductive Medicine*, 29(3), 237–245. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1275517>
- Dommarco, J. Á. R. (2018). *La obesidad en México: estado de la política pública y recomendaciones para su prevención y control*. Instituto Nacional de Salud Pública.
- Donnelly, J. M., Walsh, J. M., Byrne, J., Molloy, E. J., & McAuliffe, F. M. (2015). Impact of maternal diet on neonatal anthropometry: a randomized controlled trial. *Pediatric Obesity*, 10(1), 52–56. <https://doi.org/10.1111/j.2047-6310.2013.00216.x>
- Ellsworth, L., Harman, E., Padmanabhan, V., & Gregg, B. (2018). Lactational programming of glucose homeostasis: a window of opportunity. *Reproduction (Cambridge, England)*, 156(2), R23–R42. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0780>
- Esteve Ràfols, M. (2014). Tejido adiposo: heterogeneidad celular y diversidad funcional. *Endocrinología y Nutrición*, 61(2), 100–112. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.endonu.2013.03.011>
- Fabre, O., Salehzada, T., Lambert, K., Boo Seok, Y., Zhou, A., Mercier, J., & Bisbal, C. (2012). RNase L controls terminal adipocyte differentiation, lipids storage and insulin sensitivity via CHOP10 mRNA regulation. *Cell Death & Differentiation*, 19(9), 1470–1481.

<https://doi.org/10.1038/cdd.2012.23>

- Fall, C. H. D., & Kumaran, K. (2019). Metabolic programming in early life in humans. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 374(1770), 20180123. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0123>
- Farley, D., Tejero, M. E., Comuzzie, A. G., Higgins, P. B., Cox, L., Werner, S. L., Jenkins, S. L., Li, C., Choi, J., Dick Jr, E. J., Hubbard, G. B., Frost, P., Dudley, D. J., Ballesteros, B., Wu, G., Nathanielsz, P. W., & Schlabritz-Loutsevitch, N. E. (2009). Feto-placental adaptations to maternal obesity in the baboon. *Placenta*, 30(9), 752–760. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2009.06.007>
- Farmer, S. R. (2006). Transcriptional control of adipocyte formation. *Cell Metabolism*, 4(4), 263–273. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.07.001>
- Fasshauer, M., & Blüher, M. (2015). Adipokines in health and disease. *Trends in Pharmacological Sciences*, 36(7), 461–470. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.04.014>
- Flores-Lázaro, J. R., Rodríguez-Martínez, E., & Rivas-Arancibia, S. (2011). Consecuencias metabólicas de la alteración funcional del tejido adiposo en el paciente con obesidad. *Revista Médica Del Hospital General de México*, 74(3), 157–165. <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-del-hospital-general-325-articulo-consecuencias-metabolicas-alteracion-funcional-del-X0185106311356353>
- Frankel, S., Elwood, P., Sweetnam, P., Yarnell, J., & Smith, G. D. (1996). Birthweight, body-mass index in middle age, and incident coronary heart disease. *Lancet (London, England)*, 348(9040), 1478–1480. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(96\)03482-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)03482-4)
- Fuente-Martín, E., Argente-Arizón, P., Ros, P., Argente, J., & Chowen, J. A. (2013). Sex differences in adipose tissue: It is not only a question of quantity and distribution. *Adipocyte*, 2(3), 128–134. <https://doi.org/10.4161/adip.24075>
- Fuente-Martín, E., Granado, M., García-Cáceres, C., Sanchez-Garrido, M. A., Frago, L. M., Tena-Sempere, M., Argente, J., & Chowen, J. A. (2012). Early nutritional changes induce sexually dimorphic long-term effects on body weight gain and the response to sucrose intake in adult rats. *Metabolism*, 61(6), 812–822. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.metabol.2011.11.003>
- Galtier-Dereure, F., Boegner, C., & Bringer, J. (2000). Obesity and pregnancy: complications and cost. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71(5 Suppl), 1242S-8S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/71.5.1242s>
- Gambini, Inglés, M., Olaso, G., Lopez-Grueso, R., Bonet-Costa, V., Gimeno-Mallench, L., Mas-Bargues, C., Abdelaziz, K. M., Gomez-Cabrera, M. C., Vina, J., & Borrás, C. (2015). Properties of Resveratrol: In Vitro and In Vivo Studies about Metabolism, Bioavailability, and Biological Effects in Animal Models and Humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, 837042. <https://doi.org/10.1155/2015/837042>
- Gambini, López-Grueso, R., Olaso-González, G., Inglés, M., Abdelazid, K., El Alami, M., Bonet-Costa, V., Borrás, C., & Viña, J. (2013). Resveratrol: distribución, propiedades y perspectivas. *Revista Española de Geriátria y Gerontología*, 48(2), 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.regg.2012.04.007>
- George, G., Draycott, S. A. V., Muir, R., Clifford, B., Elmes, M. J., & Langley-Evans, S. C. (2019). Exposure to maternal obesity during suckling outweighs in utero exposure in programming for post-weaning adiposity and insulin resistance in rats. *Scientific Reports*, 9(1), 10134. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46518-9>
- Gerszon, J., Rodacka, A., & Puchała, M. (2014). Antioxidant Properties of Resveratrol and its Protective Effects in Neurodegenerative Diseases. *Medical Journal of Cell Biology*, 4(2), 97–117. <https://doi.org/https://doi.org/10.2478/acb-2014-0006>
- Ghaben, A. L., & Scherer, P. E. (2019). Adipogenesis and metabolic health. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 20(4), 242–258. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0093-z>

- Gillman, M. W., Rifas-Shiman, S., Berkey, C. S., Field, A. E., & Colditz, G. A. (2003). Maternal gestational diabetes, birth weight, and adolescent obesity. *Pediatrics*, *111*(3), e221-6. <https://doi.org/10.1542/peds.111.3.e221>
- Godfrey, K. M., Reynolds, R. M., Prescott, S. L., Nyirenda, M., Jaddoe, V. W. V., Eriksson, J. G., & Broekman, B. F. P. (2017). Influence of maternal obesity on the long-term health of offspring. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, *5*(1), 53–64. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(16\)30107-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(16)30107-3)
- Gómez-Zorita, S., Fernández-Quintela, A., Lasa, A., Hijona, E., Bujanda, L., & Portillo, M. P. (2013). Effects of resveratrol on obesity-related inflammation markers in adipose tissue of genetically obese rats. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, *29*(11–12), 1374–1380. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.04.014>
- González-Rodríguez, Á., Santamaría, B., Mas-Gutierrez, J. A., Rada, P., Fernández-Millán, E., Pardo, V., Álvarez, C., Cuadrado, A., Ros, M., Serrano, M., & Valverde, Á. M. (2015). Resveratrol treatment restores peripheral insulin sensitivity in diabetic mice in a sirt1-independent manner. *Molecular Nutrition & Food Research*, *59*(8), 1431–1442. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201400933>
- Guberman, C., Jellyman, J. K., Han, G., Ross, M. G., & Desai, M. (2013). Maternal high-fat diet programs rat offspring hypertension and activates the adipose renin-angiotensin system. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *209*(3), 262.e1-262.e2628. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.05.023>
- Gupta, R. K. (2014). Adipocytes. *Current Biology*, *24*(20), R988–R993. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2014.09.003>
- Hallenborg, P., Feddersen, S., Madsen, L., & Kristiansen, K. (2009). The tumor suppressors pRB and p53 as regulators of adipocyte differentiation and function. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, *13*(2), 235–246. <https://doi.org/10.1517/14712590802680141>
- Han, J., Murthy, R., Wood, B., Song, B., Wang, S., Sun, B., Malhi, H., & Kaufman, R. J. (2013). ER stress signalling through eIF2 α and CHOP, but not IRE1 α , attenuates adipogenesis in mice. *Diabetologia*, *56*(4), 911–924. <https://doi.org/10.1007/s00125-012-2809-5>
- Hauff, L. E., Leonard, S. A., & Rasmussen, K. M. (2014). Associations of maternal obesity and psychosocial factors with breastfeeding intention, initiation, and duration. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *99*(3), 524–534. <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.071191>
- Heindel, J. J., & Vandenberg, L. N. (2015). Developmental origins of health and disease: a paradigm for understanding disease cause and prevention. *Current Opinion in Pediatrics*, *27*(2), 248–253. <https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000191>
- Hill, M. A. (2018). *Embryology*. Carnegie Stage Comparison. https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Carnegie_Stage_Comparison
- Hirsch, J., & Knittle, J. L. (1970). Cellularity of obese and nonobese human adipose tissue. *Federation Proceedings*, *29*(4), 1516–1521.
- Hou, C.-Y., Tain, Y.-L., Yu, H.-R., & Huang, L.-T. (2019). The Effects of Resveratrol in the Treatment of Metabolic Syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(3). <https://doi.org/10.3390/ijms20030535>
- Howie, G. J., Sloboda, D. M., Kamal, T., & Vickers, M. H. (2009). Maternal nutritional history predicts obesity in adult offspring independent of postnatal diet. *The Journal of Physiology*, *587*(Pt 4), 905–915. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.163477>
- Hsu, M.-H., Chen, Y.-C., Sheen, J.-M., & Huang, L.-T. (2020). Maternal Obesity Programs Offspring Development and Resveratrol Potentially Reprograms the Effects of Maternal Obesity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(5). <https://doi.org/10.3390/ijerph17051610>

- Ibáñez-Chávez, C. A. (2019). *Impacto de la obesidad materna de la rata sobre el crecimiento del tejido adiposo de los descendientes*. UNAM.
- Ibáñez, C. A., Vázquez-Martínez, M., León-Contreras, J. C., Reyes-Castro, L. A., Rodríguez-González, G. L., Bautista, C. J., Nathanielsz, P. W., & Zambrano, E. (2018). Different Statistical Approaches to Characterization of Adipocyte Size in Offspring of Obese Rats: Effects of Maternal or Offspring Exercise Intervention. *Frontiers in Physiology*, 9, 1571. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01571>
- Inoue, N., Yahagi, N., Yamamoto, T., Ishikawa, M., Watanabe, K., Matsuzaka, T., Nakagawa, Y., Takeuchi, Y., Kobayashi, K., Takahashi, A., Suzuki, H., Hasty, A. H., Toyoshima, H., Yamada, N., & Shimano, H. (2008). Cyclin-dependent kinase inhibitor, p21WAF1/CIP1, is involved in adipocyte differentiation and hypertrophy, linking to obesity, and insulin resistance. *The Journal of Biological Chemistry*, 283(30), 21220–21229. <https://doi.org/10.1074/jbc.M801824200>
- Jeon, B. T., Jeong, E. A., Shin, H. J., Lee, Y., Lee, D. H., Kim, H. J., Kang, S. S., Cho, G. J., Choi, W. S., & Roh, G. S. (2012). Resveratrol attenuates obesity-associated peripheral and central inflammation and improves memory deficit in mice fed a high-fat diet. *Diabetes*, 61(6), 1444–1454. <https://doi.org/10.2337/db11-1498>
- Karastergiou, K., Smith, S. R., Greenberg, A. S., & Fried, S. K. (2012). Sex differences in human adipose tissues - the biology of pear shape. *Biology of Sex Differences*, 3(1), 13. <https://doi.org/10.1186/2042-6410-3-13>
- Khan, Dekou, V., Douglas, G., Jensen, R., Hanson, M. A., Poston, L., & Taylor, P. D. (2005). A high-fat diet during rat pregnancy or suckling induces cardiovascular dysfunction in adult offspring. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 288(1), R127-33. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00354.2004>
- Khan, M., & Joseph, F. (2014). Adipose Tissue and Adipokines: The Association with and Application of Adipokines in Obesity. *Scientifica*, 2014, 328592. <https://doi.org/10.1155/2014/328592>
- Khan, Taylor, P. D., Dekou, V., Seed, P. T., Lakasing, L., Graham, D., Dominiczak, A. F., Hanson, M. A., & Poston, L. (2003). Gender-linked hypertension in offspring of lard-fed pregnant rats. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, 41(1), 168–175. <https://doi.org/10.1161/01.hyp.0000047511.97879.fc>
- Kim, Kim, W. H., Han, K. L., Park, J. H., Lee, J., Yeo, J., & Jung, M. H. (2010). cAMP-response element binding protein (CREB) positively regulates mouse adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 391(1), 634–639. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.11.111>
- Kim, S., Jin, Y., Choi, Y., & Park, T. (2011). Resveratrol exerts anti-obesity effects via mechanisms involving down-regulation of adipogenic and inflammatory processes in mice. *Biochemical Pharmacology*, 81(11), 1343–1351. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2011.03.012>
- Knittle, J. L., Timmers, K., Ginsberg-Fellner, F., Brown, R. E., & Katz, D. P. (1979). The growth of adipose tissue in children and adolescents. Cross-sectional and longitudinal studies of adipose cell number and size. *The Journal of Clinical Investigation*, 63(2), 239–246. <https://doi.org/10.1172/JCI109295>
- Konings, E., Timmers, S., Boekschoten, M. V., Goossens, G. H., Jocken, J. W., Afman, L. A., Müller, M., Schrauwen, P., Mariman, E. C., & Blaak, E. E. (2014). The effects of 30 days resveratrol supplementation on adipose tissue morphology and gene expression patterns in obese men. *International Journal of Obesity (2005)*, 38(3), 470–473. <https://doi.org/10.1038/ijo.2013.155>
- Korman, B., Marangoni, R. G., Lord, G., Olefsky, J., Tourtellotte, W., & Varga, J. (2018). Adipocyte-specific Repression of PPAR-gamma by NCoR Contributes to Scleroderma Skin Fibrosis. *Arthritis Research & Therapy*, 20(1), 145. <https://doi.org/10.1186/s13075-018-1630-z>
- Kumar, A., Singh, C. K., Lavoie, H. A., Dipette, D. J., & Singh, U. S. (2011). Resveratrol restores Nrf2 level and prevents ethanol-induced toxic effects in the cerebellum of a rodent model of fetal

- alcohol spectrum disorders. *Molecular Pharmacology*, 80(3), 446–457. <https://doi.org/10.1124/mol.111.071126>
- Laker, R. C., Lillard, T. S., Okutsu, M., Zhang, M., Hoehn, K. L., Connelly, J. J., & Yan, Z. (2014). Exercise prevents maternal high-fat diet-induced hypermethylation of the Pgc-1 α gene and age-dependent metabolic dysfunction in the offspring. *Diabetes*, 63(5), 1605–1611. <https://doi.org/10.2337/db13-1614>
- Lecoutre, S., & Breton, C. (2014). The cellularity of offspring's adipose tissue is programmed by maternal nutritional manipulations. *Adipocyte*, 3(4), 256–262. <https://doi.org/10.4161/adip.29806>
- Lecoutre, S., Deracinois, B., Laborie, C., Eberlé, 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. *The Journal of Endocrinology*, 230(1), 39–53. <https://doi.org/10.1530/JOE-16-0037>
- Lecoutre, S., Pourpe, C., Butruille, L., Marousez, L., Laborie, C., Guinez, C., Lesage, J., Vieau, D., Eeckhoute, J., Gabory, A., Oger, F., Eberlé, D., & Breton, C. (2018). Reduced PPAR γ 2 expression in adipose tissue of male rat offspring from obese dams is associated with epigenetic modifications. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 32(5), 2768–2778. <https://doi.org/10.1096/fj.201700997R>
- Leddy, M. A., Power, M. L., & Schulkin, J. (2008). The impact of maternal obesity on maternal and fetal health. *Reviews in Obstetrics & Gynecology*, 1(4), 170–178.
- Lelliott, C. J., Logie, L., Sewter, C. P., Berger, D., Jani, P., Blows, F., O'Rahilly, S., & Vidal-Puig, A. (2002). Lamin expression in human adipose cells in relation to anatomical site and differentiation state. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(2), 728–734. <https://doi.org/10.1210/jcem.87.2.8256>
- Lewis, D. S., Bertrand, H. A., McMahan, C. A., McGill, H. C. J., Carey, K. D., & Masoro, E. J. (1986). Prewaning food intake influences the adiposity of young adult baboons. *The Journal of Clinical Investigation*, 78(4), 899–905. <https://doi.org/10.1172/JCI112678>
- Li, P., Fan, W., Xu, J., Lu, M., Yamamoto, H., Auwerx, J., Sears, D. D., Talukdar, S., Oh, D., Chen, A., Bandyopadhyay, G., Scadeng, M., Ofrecio, J. M., Nalbandian, S., & Olefsky, J. M. (2011). Adipocyte NCoR knockout decreases PPAR γ phosphorylation and enhances PPAR γ activity and insulin sensitivity. *Cell*, 147(4), 815–826. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.09.050>
- Liu, T.-Y., Yu, H.-R., Tsai, C.-C., Huang, L.-T., Chen, C.-C., Sheen, J.-M., Tiao, M.-M., Tain, Y.-L., Lin, I.-C., Lai, Y.-J., Lin, Y.-J., & Hsu, T.-Y. (2020). Resveratrol intake during pregnancy and lactation re-programs adiposity and ameliorates leptin resistance in male progeny induced by maternal high-fat/high sucrose plus postnatal high-fat/high sucrose diets via fat metabolism regulation. *Lipids in Health and Disease*, 19(1), 174. <https://doi.org/10.1186/s12944-020-01349>
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} Method. *Methods (San Diego, Calif.)*, 25(4), 402–408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Lomas-Soria, C., Reyes-Castro, L. A., Rodríguez-González, G. L., Ibáñez, C. A., Bautista, C. J., Cox, L. A., Nathanielsz, P. W., & Zambrano, E. (2018). Maternal obesity has sex-dependent effects on insulin, glucose and lipid metabolism and the liver transcriptome in young adult rat offspring. *The Journal of Physiology*, 596(19), 4611–4628. <https://doi.org/10.1113/JP276372>
- Lukaszewski, M.-A., Mayeur, S., Fajardy, I., Delahaye, F., Dutriez-Casteloot, I., Montel, V., Dickes-Coopman, A., Laborie, C., Lesage, J., Vieau, D., & Breton, C. (2011). Maternal prenatal undernutrition programs adipose tissue gene expression in adult male rat offspring under high-fat diet. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 301(3), E548-59. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00011.2011>
- Malvasi, A., Kosmas, I., Mynbaev, O. A., Sparic, R., Gustapane, S., Guido, M., & Tinelli, A. (2017).

Can trans resveratrol plus d-chiro-inositol and myo-inositol improve maternal metabolic profile in overweight pregnant patients? *La Clinica Terapeutica*, 168(4), e240–e247. <https://doi.org/10.7417/T.2017.2013>

- Martin-Gronert, M. S., & Ozanne, S. E. (2006). Maternal nutrition during pregnancy and health of the offspring. *Biochemical Society Transactions*, 34(Pt 5), 779–782. <https://doi.org/10.1042/BST0340779>
- Matthews, D. R., Hosker, J. P., Rudenski, A. S., Naylor, B. A., Treacher, D. F., & Turner, R. C. (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28(7), 412–419. <https://doi.org/10.1007/BF00280883>
- McCurdy, C. E., Bishop, J. M., Williams, S. M., Grayson, B. E., Smith, M. S., Friedman, J. E., & Grove, K. L. (2009). Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. *The Journal of Clinical Investigation*, 119(2), 323–335. <https://doi.org/10.1172/JC132661>
- Mingrone, G., Manco, M., Mora, M. E. V., Guidone, C., Iaconelli, A., Gniuli, D., Leccesi, L., Chiellini, C., & Ghirlanda, G. (2008). Influence of maternal obesity on insulin sensitivity and secretion in offspring. *Diabetes Care*, 31(9), 1872–1876. <https://doi.org/10.2337/dc08-0432>
- Miranda, M., Chacón, M. R., Gutiérrez, C., Vilarrasa, N., Gómez, J. M., Caubet, E., Megía, A., & Vendrell, J. (2008). LMNA mRNA expression is altered in human obesity and type 2 diabetes. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 16(8), 1742–1748. <https://doi.org/10.1038/oby.2008.276>
- Mitra, A., Alvers, K. M., Crump, E. M., & Rowland, N. E. (2009). Effect of high-fat diet during gestation, lactation, or postweaning on physiological and behavioral indexes in borderline hypertensive rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 296(1), R20-8. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.90553.2008>
- Moreno-Navarrete, J. M., Petrov, P., Serrano, M., Ortega, F., García-Ruiz, E., Oliver, P., Ribot, J., Ricart, W., Palou, A., Bonet, M. L., & Fernández-Real, J. M. (2013). Decreased RB1 mRNA, protein, and activity reflect obesity-induced altered adipogenic capacity in human adipose tissue. *Diabetes*, 62(6), 1923–1931. <https://doi.org/10.2337/db12-0977>
- Mota de Sá, P., Richard, A. J., Hang, H., & Stephens, J. M. (2017). Transcriptional Regulation of Adipogenesis. *Comprehensive Physiology*, 7(2), 635–674. <https://doi.org/10.1002/cphy.c160022>
- Mott, G. E., Jackson, E. M., McMahan, C. A., & McGill Jr., H. C. (1990). Cholesterol Metabolism in Adult Baboons Is Influenced by Infant Diet. *The Journal of Nutrition*, 120(3), 243–251. <https://doi.org/10.1093/jn/120.3.243>
- Muhlhauser, B., & Smith, S. R. (2009). Early-life origins of metabolic dysfunction: role of the adipocyte. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 20(2), 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2008.10.006>
- Muhlhauser, Duffield, J. A., & McMillen, I. C. (2007). Increased maternal nutrition stimulates peroxisome proliferator activated receptor-gamma, adiponectin, and leptin messenger ribonucleic acid expression in adipose tissue before birth. *Endocrinology*, 148(2), 878–885. <https://doi.org/10.1210/en.2006-1115>
- Muir, L. A., Neeley, C. K., Meyer, K. A., Baker, N. A., Brosius, A. M., Washabaugh, A. R., Varban, O. A., Finks, J. F., Zamarron, B. F., Flesher, C. G., Chang, J. S., DelProposto, J. B., Geletka, L., Martinez-Santibanez, G., Kaciroti, N., Lumeng, C. N., & O'Rourke, R. W. (2016). Adipose tissue fibrosis, hypertrophy, and hyperplasia: Correlations with diabetes in human obesity. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 24(3), 597–605. <https://doi.org/10.1002/oby.21377>
- Murphy, J., Moullec, G., & Santosa, S. (2017). Factors associated with adipocyte size reduction after weight loss interventions for overweight and obesity: a systematic review and meta-regression. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 67, 31–40. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2016.09.009>

- Nivoit, P., Morens, C., Van Assche, F. A., Jansen, E., Poston, L., Remacle, C., & Reusens, B. (2009). Established diet-induced obesity in female rats leads to offspring hyperphagia, adiposity and insulin resistance. *Diabetologia*, *52*(6), 1133–1142. <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1316-9>
- OCDE. (2008). Health at a Glance 2007. In *Health at a Glance 2007*. <https://doi.org/10.1787/9789264055896-ko>
- OMS. (2020). *Obesidad y sobrepeso*. Obesidad y Sobrepeso. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Ornellas, F., Mello, V. S., Mandarim-de-Lacerda, C. A., & Aguila, M. B. (2013). Sexual dimorphism in fat distribution and metabolic profile in mice offspring from diet-induced obese mothers. *Life Sciences*, *93*(12–14), 454–463. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.08.005>
- Page, K. C., Malik, R. E., Ripple, J. A., & Anday, E. K. (2009). Maternal and postweaning diet interaction alters hypothalamic gene expression and modulates response to a high-fat diet in male offspring. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *297*(4), R1049–57. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.90585.2008>
- Pangeni, R., Sahni, J. K., Ali, J., Sharma, S., & Baboota, S. (2014). Resveratrol: review on therapeutic potential and recent advances in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, *11*(8), 1285–1298. <https://doi.org/10.1517/17425247.2014.919253>
- Pankey, C. L., Walton, M. W., Odhiambo, J. F., Smith, A. M., Ghnenis, A. B., Nathanielsz, P. W., & Ford, S. P. (2017). Intergenerational impact of maternal overnutrition and obesity throughout pregnancy in sheep on metabolic syndrome in grandsons and granddaughters. *Domestic Animal Endocrinology*, *60*, 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2017.04.002>
- Parlee, S. D., Lentz, S. I., Mori, H., & MacDougald, O. A. (2014). Quantifying size and number of adipocytes in adipose tissue. *Methods in Enzymology*, *537*, 93–122. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411619-1.00006-9>
- Peñalva, R., Morales, J., González-Navarro, C. J., Larrañeta, E., Quincoces, G., Peñuelas, I., & Irache, J. M. (2018). Increased Oral Bioavailability of Resveratrol by Its Encapsulation in Casein Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(9). <https://doi.org/10.3390/ijms19092816>
- Picchi, M. G., Mattos, A. M. de, Barbosa, M. R., Duarte, C. P., Gandini, M. de A., Portari, G. V., & Jordão, A. A. (2011). A high-fat diet as a model of fatty liver disease in rats. *Acta Cirurgica Brasileira*, *26 Suppl 2*, 25–30. <https://doi.org/10.1590/s0102-86502011000800006>
- Qi, L., Saberi, M., Zmuda, E., Wang, Y., Altarejos, J., Zhang, X., Dentin, R., Hedrick, S., Bandyopadhyay, G., Hai, T., Olefsky, J., & Montminy, M. (2009). Adipocyte CREB promotes insulin resistance in obesity. *Cell Metabolism*, *9*(3), 277–286. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.01.006>
- Rajia, S., Chen, H., & Morris, M. J. (2010). Maternal overnutrition impacts offspring adiposity and brain appetite markers-modulation by postweaning diet. *Journal of Neuroendocrinology*, *22*(8), 905–914. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2010.02005.x>
- Ravelli, G. P., Stein, Z. A., & Susser, M. W. (1976). Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *The New England Journal of Medicine*, *295*(7), 349–353. <https://doi.org/10.1056/NEJM197608122950701>
- Ravelli, van Der Meulen, J. H., Osmond, C., Barker, D. J., & Bleker, O. P. (1999). Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *70*(5), 811–816. <https://doi.org/10.1093/ajcn/70.5.811>
- Reeves, P. G., Nielsen, F. H., & Fahey, G. C. J. (1993). AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. In *The Journal of nutrition* (Vol. 123, Issue 11, pp. 1939–1951). <https://doi.org/10.1093/jn/123.11.1939>

- Renaud, S., & de Lorgeril, M. (1992). Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet (London, England)*, 339(8808), 1523–1526. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(92\)91277-f](https://doi.org/10.1016/0140-6736(92)91277-f)
- Rivera Dommarco, J., & Shamah Levy, T. (2002). Presentación de resultados de la Encuesta Nacional de Nutrición 1999: Estado nutricional de niños y mujeres en México. *Salud Pública de México*, 44(2), 188–189. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000200013&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Rivera, J. A., Hernández, M., Aguilar, C., Vadillo, F., & Murayama, C. (2012). Obesidad en México: recomendaciones para una política de estado. *Obesidad En México: Recomendaciones Para Una Política de Estado*.
- Rivera, Morón, R., Zarzuelo, A., & Galisteo, M. (2009). Long-term resveratrol administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in obese Zucker rats. *Biochemical Pharmacology*, 77(6), 1053–1063. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.11.027>
- Rodríguez-Acebes, S., Palacios, N., Botella-Carretero, J. I., Olea, N., Crespo, L., Peromingo, R., Gómez-Coronado, D., Lasunción, M. A., Vázquez, C., & Martínez-Botas, J. (2010). Gene expression profiling of subcutaneous adipose tissue in morbid obesity using a focused microarray: distinct expression of cell-cycle- and differentiation-related genes. *BMC Medical Genomics*, 3, 61. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-3-61>
- Rodríguez-González, G. L., Reyes-Castro, L. A., Bautista, C. J., Beltrán, A. A., Ibáñez, C. A., Vega, C. C., Lomas-Soria, C., Castro-Rodríguez, D. C., Elías-López, A. L., Nathanielsz, P. W., & Zambrano, E. (2019). Maternal obesity accelerates rat offspring metabolic ageing in a sex-dependent manner. *The Journal of Physiology*, 597(23), 5549–5563. <https://doi.org/10.1113/JP278232>
- Ros, P., Díaz, F., Freire-Regatillo, A., Argente-Arizón, P., Barrios, V., Argente, J., & Chowen, J. A. (2020). Sex Differences in Long-term Metabolic Effects of Maternal Resveratrol Intake in Adult Rat Offspring. *Endocrinology*, 161(8). <https://doi.org/10.1210/endo/bqaa090>
- Roseboom, T. J., van der Meulen, J. H., Osmond, C., Barker, D. J., Ravelli, A. C., Schroeder-Tanka, J. M., van Montfrans, G. A., Michels, R. P., & Bleker, O. P. (2000). Coronary heart disease after prenatal exposure to the Dutch famine, 1944-45. *Heart (British Cardiac Society)*, 84(6), 595–598. <https://doi.org/10.1136/heart.84.6.595>
- Rosen, E. D., & MacDougald, O. A. (2006). Adipocyte differentiation from the inside out. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 7(12), 885–896. <https://doi.org/10.1038/nrm2066>
- Rutkowski, J. M., Stern, J. H., & Scherer, P. E. (2015). The cell biology of fat expansion. *The Journal of Cell Biology*, 208(5), 501–512. <https://doi.org/10.1083/jcb.201409063>
- Salsberry, P. J., & Reagan, P. B. (2005). Dynamics of early childhood overweight. *Pediatrics*, 116(6), 1329–1338. <https://doi.org/10.1542/peds.2004-2583>
- Samuelsson, A.-M., Matthews, P. A., Argenton, M., Christie, M. R., McConnell, J. M., Jansen, E. H. J. M., Piersma, A. H., Ozanne, S. E., Twinn, D. F., Remacle, C., Rowlerson, A., Poston, L., & Taylor, P. D. (2008). Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 51(2), 383–392. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.101477>
- Sánchez, P., Infante, A., de Eguino, G. R., Fuentes-Maestre, J. A., García-Verdugo, J. M., & Rodríguez, C. I. (2015). Age-Related Lipid Metabolic Signature in Human LMNA-Lipodystrophic Stem Cell-Derived Adipocytes. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 100(7), E964-73. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-4528>
- Santos, M., Rodríguez-González, G. L., Ibáñez, C., Vega, C. C., Nathanielsz, P. W., & Zambrano, E. (2015). Adult exercise effects on oxidative stress and reproductive programming in male offspring of obese rats. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and*

- Comparative Physiology*, 308(3), R219-25. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00398.2014>
- Sarjeant, K., & Stephens, J. M. (2012). Adipogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(9), a008417–a008417. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a008417>
- Sarr, O., Yang, K., & Regnault, T. R. H. (2012). In utero programming of later adiposity: the role of fetal growth restriction. *Journal of Pregnancy*, 2012, 134758. <https://doi.org/10.1155/2012/134758>
- Sasson, I. E., Vitins, A. P., Mainigi, M. A., Moley, K. H., & Simmons, R. A. (2015). Pre-gestational vs gestational exposure to maternal obesity differentially programs the offspring in mice. *Diabetologia*, 58(3), 615–624. <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3466-7>
- Schelbert, K. B. (2009). Comorbidities of Obesity. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 36(2), 271–285. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pop.2009.01.009>
- Schoettl, T., Fischer, I. P., & Ussar, S. (2018). Heterogeneity of adipose tissue in development and metabolic function. *Journal of Experimental Biology*, 121. <https://doi.org/10.1242/jeb.162958>
- Secretaría de Salud Pública. (2018). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. *Ensanut*, 1, 47. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Sen, S., & Simmons, R. A. (2010). Maternal antioxidant supplementation prevents adiposity in the offspring of Western diet-fed rats. *Diabetes*, 59(12), 3058–3065.
- Seong, H.-A., & Ha, H. (2019). Thr55 phosphorylation of p21 by MPK38/MELK ameliorates defects in glucose, lipid, and energy metabolism in diet-induced obese mice. *Cell Death & Disease*, 10(6), 380. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1616-z>
- Shakibaei, M., Shayan, P., Busch, F., Aldinger, C., Buhmann, C., Lueders, C., & Mobasher, A. (2012). Resveratrol mediated modulation of Sirt-1/Runx2 promotes osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells: potential role of Runx2 deacetylation. *PloS One*, 7(4), e35712. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035712>
- Shankar, K., Harrell, A., Liu, X., Gilchrist, J. M., Ronis, M. J. J., & Badger, T. M. (2008). Maternal obesity at conception programs obesity in the offspring. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 294(2), R528–R538. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00316.2007>
- Siersbæk, R., Nielsen, R., & Mandrup, S. (2012). Transcriptional networks and chromatin remodeling controlling adipogenesis. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 23(2), 56–64. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2011.10.001>
- Skurk, T., Alberti-Huber, C., Herder, C., & Hauner, H. (2007). Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 92(3), 1023–1033. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1055>
- Spalding, K. L., Arner, E., Westermark, P. O., Bernard, S., Buchholz, B. A., Bergmann, O., Blomqvist, L., Hoffstedt, J., Näslund, E., Britton, T., Concha, H., Hassan, M., Rydén, M., Frisén, J., & Arner, P. (2008). Dynamics of fat cell turnover in humans. *Nature*, 453(7196), 783–787. <https://doi.org/10.1038/nature06902>
- Sturges, H. A. (1926). The choice of a class interval. *Journal of the American Statistical Association*, 21(153), 65–66.
- Sun, B., Purcell, R. H., Terrillion, C. E., Yan, J., Moran, T. H., & Tamashiro, K. L. K. (2012). Maternal high-fat diet during gestation or suckling differentially affects offspring leptin sensitivity and obesity. *Diabetes*, 61(11), 2833–2841. <https://doi.org/10.2337/db11-0957>
- Tandon, P., Wafer, R., & Minchin, J. E. N. (2018). Adipose morphology and metabolic disease. *The Journal of Experimental Biology*, 221(Pt Suppl 1). <https://doi.org/10.1242/jeb.164970>
- Tanemura, M. (2003). Statistical distributions of Poisson Voronoi cells in two and three dimensions. *FORMA-TOKYO*, 18(4), 221–247.

- Taylor, P. D., McConnell, J., Khan, I. Y., Holemans, K., Lawrence, K. M., Asare-Anane, H., Persaud, S. J., Jones, P. M., Petrie, L., Hanson, M. A., & Poston, L. (2005). Impaired glucose homeostasis and mitochondrial abnormalities in offspring of rats fed a fat-rich diet in pregnancy. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 288(1), R134-9. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00355.2004>
- Thapa, S. B., Pandey, R. P., Park, Y. II, & Kyung Sohng, J. (2019). Biotechnological Advances in Resveratrol Production and its Chemical Diversity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(14), 2571. <https://doi.org/10.3390/molecules24142571>
- Timmers, S., Konings, E., Bilet, L., Houtkooper, R. H., van de Weijer, T., Goossens, G. H., Hoeks, J., van der Krieken, S., Ryu, D., Kersten, S., Moonen-Kornips, E., Hesselink, M. K. C., Kunz, I., Schrauwen-Hinderling, V. B., Blaak, E., Auwerx, J., & Schrauwen, P. (2011). Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. *Cell Metabolism*, 14(5), 612–622. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.10.002>
- Unamuno, X., Frühbeck, G., & Catalán, V. (2019). *Adipose Tissue* (I. Huhtaniemi & L. B. T.-E. of E. D. (Second E. Martini (eds.); pp. 370–384). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.65163-2>
- Vega, C. C., Reyes-Castro, L. A., Rodríguez-González, G. L., Bautista, C. J., Vázquez-Martínez, M., Larrea, F., Chamorro-Cevallos, G. A., Nathanielsz, P. W., & Zambrano, E. (2016). Resveratrol partially prevents oxidative stress and metabolic dysfunction in pregnant rats fed a low protein diet and their offspring. *The Journal of Physiology*, 594(5), 1483–1499. <https://doi.org/10.1113/JP271543>
- Vega, Reyes-Castro, L. A., Bautista, C. J., Larrea, F., Nathanielsz, P. W., & Zambrano, E. (2015). Exercise in obese female rats has beneficial effects on maternal and male and female offspring metabolism. *International Journal of Obesity (2005)*, 39(4), 712–719. <https://doi.org/10.1038/ijo.2013.150>
- Villamor, E., & Cnattingius, S. (2006). Interpregnancy weight change and risk of adverse pregnancy outcomes: a population-based study. *Lancet (London, England)*, 368(9542), 1164–1170. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69473-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69473-7)
- Wang, H., Iakova, P., Wilde, M., Welm, A., Goode, T., Roesler, W. J., & Timchenko, N. A. (2001). C/EBPalpha arrests cell proliferation through direct inhibition of Cdk2 and Cdk4. *Molecular Cell*, 8(4), 817–828. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(01\)00366-5](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(01)00366-5)
- Weiskirchen, S., & Weiskirchen, R. (2016). Resveratrol: How Much Wine Do You Have to Drink to Stay Healthy? *Advances in Nutrition*, 7(4), 706–718. <https://doi.org/10.3945/an.115.011627>
- Welte, M. A. (2015). Expanding roles for lipid droplets. *Current Biology: CB*, 25(11), R470-81. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.04.004>
- Whitaker, R. C. (2004). Predicting preschooler obesity at birth: the role of maternal obesity in early pregnancy. *Pediatrics*, 114(1), e29-36. <https://doi.org/10.1542/peds.114.1.e29>
- White, C. L., Purpera, M. N., & Morrison, C. D. (2009). Maternal obesity is necessary for programming effect of high-fat diet on offspring. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 296(5), R1464–R1472. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.91015.2008>
- Yan, X., Zhu, M. J., Xu, W., Tong, J. F., Ford, S. P., Nathanielsz, P. W., & Du, M. (2010). Up-regulation of Toll-like receptor 4/nuclear factor-kappaB signaling is associated with enhanced adipogenesis and insulin resistance in fetal skeletal muscle of obese sheep at late gestation. *Endocrinology*, 151(1), 380–387. <https://doi.org/10.1210/en.2009-0849>
- Yang, Croniger, C. M., Lekstrom-Himes, J., Zhang, P., Fenyus, M., Tenen, D. G., Darlington, G. J., & Hanson, R. W. (2005). Metabolic response of mice to a postnatal ablation of CCAAT/enhancer-binding protein alpha. *The Journal of Biological Chemistry*, 280(46), 38689–38699. <https://doi.org/10.1074/jbc.M503486200>

- Yang, H. W., Chung, M., Kudo, T., & Meyer, T. (2017). Competing memories of mitogen and p53 signalling control cell-cycle entry. *Nature*, *549*(7672), 404–408. <https://doi.org/10.1038/nature23880>
- Zambrano, E., Ibáñez, C., Martínez-Samayoa, P. M., Lomas-Soria, C., Durand-Carbajal, M., & Rodríguez-González, G. L. (2016). Maternal Obesity: Lifelong Metabolic Outcomes for Offspring from Poor Developmental Trajectories During the Perinatal Period. *Archives of Medical Research*, *47*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2016.01.004>
- Zambrano, E., & Nathanielsz, P. W. (2013). Mechanisms by which maternal obesity programs offspring for obesity: evidence from animal studies. *Nutrition Reviews*, *71* Suppl 1, S42-54. <https://doi.org/10.1111/nure.12068>
- Zambrano, Martínez-Samayoa, P. M., Rodríguez-González, G. L., & Nathanielsz, P. W. (2010). Dietary intervention prior to pregnancy reverses metabolic programming in male offspring of obese rats. *The Journal of Physiology*, *588*(Pt 10), 1791–1799. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2010.190033>
- Zhao, Rabiee, A., Kovary, K. M., Bahrami-Nejad, Z., Taylor, B., & Teruel, M. N. (2020). Regulation of the time when cells commit to terminally differentiate controls the number of differentiated cells. *BioRxiv*, 632570. <https://doi.org/10.1101/632570>
- Zhao, Y., Chen, B., Shen, J., Wan, L., Zhu, Y., Yi, T., & Xiao, Z. (2017). The Beneficial Effects of Quercetin, Curcumin, and Resveratrol in Obesity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2017*, 1459497. <https://doi.org/10.1155/2017/1459497>
- Zheng, S., Feng, Q., Cheng, J., & Zheng, J. (2018). Maternal resveratrol consumption and its programming effects on metabolic health in offspring mechanisms and potential implications. *Bioscience Reports*, *38*(2), BSR20171741. <https://doi.org/10.1042/BSR20171741>
- Zhu, M. J., Han, B., Tong, J., Ma, C., Kimzey, J. M., Underwood, K. R., Xiao, Y., Hess, B. W., Ford, S. P., Nathanielsz, P. W., & Du, M. (2008). AMP-activated protein kinase signalling pathways are down regulated and skeletal muscle development impaired in fetuses of obese, over-nourished sheep. *The Journal of Physiology*, *586*(10), 2651–2664. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.149633>
- Zou, T., Chen, D., Yang, Q., Wang, B., Zhu, M.-J., Nathanielsz, P. W., & Du, M. (2017). Resveratrol supplementation of high-fat diet-fed pregnant mice promotes brown and beige adipocyte development and prevents obesity in male offspring. *The Journal of Physiology*, *595*(5), 1547–1562. <https://doi.org/10.1113/JP273478>