

Declaración de originalidad

La que suscribe, Gabriela Elizabeth Granados Higa, alumna del posgrado en Biología de la Reproducción Animal, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa y autor de la tesis o idónea comunicación de resultados titulada:

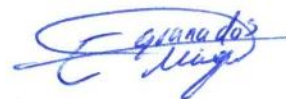
"Impacto de la programación por obesidad materna en crías hembra alimentadas con una dieta alta en grasa y/o en la vida postnatal de la rata Wistar sobre el desarrollo de Síndrome de Ovario Poliquístico"

Declaro que:

1. La tesis o idónea comunicación de resultados que presento ante el H. Jurado para lo obtención del grado de Maestra en Biología de la Reproducción Animal es de mi autoría y original creación, producto del resultado de mi trabajo de investigación personal e individual; el cual cuenta con las correspondientes citas textuales del material bibliográfico utilizado y con el debido otorgamiento de los créditos autorales.
2. En la tesis o idónea comunicación de resultados no he reproducido párrafos completos; ilustraciones, fotografías, diagramas, cuadros y tablas, sin otorgamiento del crédito autorial y fuente correspondiente.
3. En consecuencia, relevo de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que se considere con derecho sobre la tesis o idónea comunicación de resultados, respondiendo por la autoría y originalidad de la misma, asumiendo todas las consecuencias económicas y jurídicas si ésta no fuese de mi creación.

La presente declaración de originalidad se firma en la Ciudad de México el 27 de octubre del 2023.

Atentamente: Gabriela Elizabeth Granados Higa





Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Maestría en Biología de la Reproducción Animal

“Impacto de la programación por obesidad materna en crías hembra alimentadas con una dieta alta en grasa y/o en la vida postnatal de la rata Wistar sobre el desarrollo de Síndrome de Ovario Poliquístico”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

Maestra en Biología de la Reproducción Animal

QUE PRESENTA

Biol. Exp. Gabriela Elizabeth Granados Higa

COMITÉ ACADÉMICO

Co-directora interna: Dra. Edith Arenas Ríos.



Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

Co-directora externa: Dra. María del Consuelo Lomas Soria.

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”

Asesora: Dra. Herlinda Bonilla Jaime.

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

MÉXICO, CIUDAD DE MÉXICO, 27 DE OCTUBRE DEL 2023.

COMITÉ TUTOR

Dra. Edith Arenas Ríos

Adscripción: Profesor Titular C. Área de Reproducción Animal Asistida. Departamento de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

correo: editharenas2000@yahoo.com.mx

Dra. María del Consuelo Lomas Soria

Adscripción: Cátedras CONAHCyT, Investigador por México, Departamento de Biología de la Reproducción, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”.

correo: mconsuelo@conahcyt.mx

Dra. Herlinda Bonilla Jaime

Adscripción: Departamento de Biología de la Reproducción. Profesor Titular C. Área de Biología Conductual y Reproductiva. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

correo: lindabon35@gmail.com

JURADO

Dra. Herlinda Bonilla Jaime

Adscripción: Departamento de Biología de la Reproducción. Profesor Titular C. Área de Biología Conductual y Reproductiva. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

correo: lindabon35@gmail.com

Dra. María del Rosario Tarragó Castellanos

Adscripción: Departamento de Biología de la Reproducción. Profesor Titular C. Área de Neurociencias. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

Correo: mrtc@xanum.uam.mx

Dra. Miriam Fahiel Casillas Avalos

Adscripción: Departamento de Biología de la Reproducción. Profesor Titular A, Área de Biología Conductual y Reproductiva. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

Correo: fahiel@xanum.uam.mx

Dra. Angélica Trujillo Hernández

Adscripción: Investigador Titular C. Instituto de Ciencias. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

correo: angelica.trujillo@correo.buap.mx

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Metropolitana y al programa de Maestría en Biología de la Reproducción por la formación académica brindada, las oportunidades de superación y el aprendizaje dentro y fuera de las aulas.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por la beca 003797, otorgada para la realización de mis estudios de maestría.

A la Dra. María del Consuelo Lomas Soria, la Dra. Edith Arenas Ríos y a la Dra. Herlinda Bonilla Jaime por sus valiosas aportaciones a este trabajo.

Al Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” y al Departamento de Biología de la Reproducción de la Universidad Autónoma Metropolitana por permitirme realizar el presente trabajo en sus laboratorios.

MIEMBROS DEL JURADO

Los miembros del jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, abajo firmantes, aprobaron la tesis titulada "Impacto de la programación por obesidad materna en crías hembra alimentadas con una dieta alta en grasa y/o en la vida postnatal de la rata Wistar sobre el desarrollo de Síndrome de Ovario Poliquístico" con fecha 14 de noviembre del 2023.



Dra. Herlinda Bonilla Jaime
(Presidenta)



Dra. María del Rosario Tarragó
Castellanos
(Secretaria)



Dra. Miriam Fahiel Casillas Avalos
(Vocal)



Dra. Angélica Trujillo Hernández
(Vocal)

DEDICATORIA

A Franco, mi hijo, que sin saberlo me inspiras a ser mejor cada día. Agradezco al destino el tenerte en mi vida. Gracias por tu cariño, tus abrazos, tu amor incondicional y sobretodo, por permitirme ser tu mamá y por todo lo maravillosa que es mi vida desde que estás conmigo. No tienes idea de lo mucho que significas para mí y lo mucho que me has inspirado y motivado para seguir adelante. ¡Te amo hoy y siempre!

A mis papás, Héctor y Laura, por siempre apoyarme y alentarme sin importar qué. Gracias a su trabajo duro, su dedicación y sobre todo, su amor, que me ha impulsado a dar lo mejor de mí he podido culminar esta etapa de mis estudios y encaminarme a la persona que sé que puedo ser. Los amo con todo mi corazón.

A mi hermana Laura, que me has apoyado siempre, aunque sea a la distancia. Eres quien siempre ha creído y confiado en mí, incluso cuando ni siquiera yo lo hacía. Te estaré agradecida eternamente por todo el apoyo, la paciencia y el amor que me das. Eres la mejor hermana. ¡Te quie...tesito!

A mi hermano Christian y a su familia, que sin importar qué siempre me han apoyado y alentado. Gracias infinitas por todo.

A ti, Consuelo, que más que mi tutora te considero mi amiga. Gracias por todo el apoyo que me das no sólo en el laboratorio, sino en todos los aspectos; por esas pláticas en donde hemos reído y llorado. Gracias por siempre motivarme a ser mejor. Te estaré eternamente agradecida.

A la Dra. Edith, muchas gracias por confiar en mí y en este proyecto, por todos sus consejos, observaciones y motivación. Gracias por permitirme aprender de usted, lo recordaré siempre.

A la Dra. Herlinda, por su apoyo y paciencia, por todas sus observaciones y las enseñanzas dadas, las cuales sin lugar a dudas seguiré durante toda mi formación y mi vida. Gracias por siempre estar dispuesta a apoyarme, siempre lo tendré presente.

A ti, Zeltzin, por ser mi mejor amiga y siempre apoyarme y escucharme, por alegrarte de mis logros como si fueran tuyos, por esos momentos de desestrés que en muchas ocasiones necesité. ¡Te quiero infinitamente!

A todos los animales que con su vida pagan la salud del hombre, gracias infinitas.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 Obesidad	3
1.2 Programación del desarrollo (DOHaD)	5
1.3 Factores que intervienen en la programación del desarrollo	5
1.4 Características de la programación del desarrollo	7
1.5 Programación del desarrollo y obesidad materna.....	7
1.6 Modelos animales para estudio de enfermedades	10
1.7 Modelos animales inducidos a SOP	11
2. ANTECEDENTES	13
2.1 Síndrome de ovario poliquístico (SOP).....	13
2.2 Fisiopatología del SOP	13
2.3 Desarrollo folicular	15
2.4 Genes implicados en el Síndrome de Ovario Poliquístico	16
2.5 Función ovárica en descendientes de madres que consumieron dieta alta en grasa.....	18
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
4. JUSTIFICACIÓN	21
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	22
6. HIPOTESIS	22
7. OBJETIVOS	22
7.1 General:.....	22
7.2 Específicos:	22
8. METODOLOGÍA	23
8.1 Diseño Experimental.....	23
8.1.1 Dietas administradas	23
8.1.2 Administración de la dieta	24
8.1.3 Madres (F0).....	24
8.1.4 Crías (F1)	24

8.2 Eutanasia	26
8.2.1 Evaluación del Síndrome de Ovario Poliquístico	26
8.2.2 Sangre.....	26
8.2.2.1 Análisis bioquímicos en sangre.....	27
8.2.2.2 Análisis hormonal.....	27
8.2.3 Tejido adiposo.....	27
8.2.4 Ovarios.....	28
8.2.4.1 Análisis histológico.....	28
8.2.4.1.1 Tinción de Hematoxilina-Eosina	28
8.2.4.1.1.1 Conteo folicular.....	29
8.2.4.1.1.2 Inmunohistoquímica	31
8.2.4.2 Extracción de ARN.....	32
8.2.4.3 Síntesis de cDNA de ovario	33
8.2.4.4 PCR en tiempo real.....	34
8.3 Análisis estadístico	34
9. RESULTADOS.....	35
9.1 Peso corporal, tejido adiposo e índice de adiposidad.....	35
9.2 Distribución de grasa corporal.....	35
9.3 Peso ovárico promedio e índice gonadosomático	37
9.4 Análisis bioquímico.....	38
9.5 Análisis Histológico.....	40
9.5.1 Conteo folicular	41
9.5.2 Expresión de genes.....	44
9.5.2.1 Receptor para Hormona Luteinizante (lhcg)	44
9.5.2.2 Gen CYP19a1 codificante para enzima Aromatasa	45
10. DISCUSIÓN	47
10.1 Obesidad inducida por dietas altas en grasa.....	47
10.2 Obesidad en etapas críticas del desarrollo.....	49
10.3 Dietas altas en grasa y su efecto en la adiposidad.....	51
10.4 Efecto de las dietas altas en grasa en la reproducción femenina.....	52
10.5 Distribución de grasa corporal.....	53
10.6 Peso ovárico e índice gonadosomático (IGS).....	54

10.7	Parámetros metabólicos en obesidad y SOP	55
10.8	Análisis morfológico del ovario	57
10.9	Conteo folicular.....	58
10.10	Factores implicados en desarrollo folicular.....	60
10.11	Receptor para hormona Luteinizante.....	61
10.12	Expresión de CYP19a1 y presencia de aromatasa	61
11.	CONCLUSIÓN	64
12.	BIBLIOGRAFÍA	65

RESUMEN

El Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP) es el trastorno endócrino-metabólico más frecuente en mujeres en edad reproductiva, uno de los factores que predisponen a padecerlo es la obesidad, esto es importante ya que se sabe que México ocupa el segundo lugar a nivel mundial en padecer sobrepeso u obesidad, siendo el sector de mujeres en edad reproductiva el que lo presenta con mayor frecuencia. Además, se sabe que el consumo de dietas altas en grasa (AG) es un factor importante para el desarrollo de enfermedades metabólicas y trastornos reproductivos y más durante etapas críticas del desarrollo donde predispone a las hembras a presentar alteraciones como el SOP. Debido a esto es importante investigar el papel de las dietas AG durante diferentes períodos del desarrollo de las hembras y sus repercusiones en su salud reproductiva y en especial en el desarrollo de SOP. Hipotetizamos que las crías que consumen dieta AG durante toda su vida y que además provienen de madres obesas presentarán alteraciones en el índice de resistencia a la insulina (IRI) y en la morfología del ovario, todas estas características del SOP en comparación con las crías que consumen una dieta control. Para esto, ratas hembra de la cepa Wistar fueron alimentadas con dieta control (C) o con dieta alta en grasa (AG) desde el destete, durante la gestación y hasta el final de la lactancia. La mitad de las crías hembras de los grupos C y AG se destetaron ya sea con dieta C o AG. A los 460 días se colectó suero, tejido adiposo y ovarios para evaluar parámetros bioquímicos, peso e índice de adiposidad. Además, se realizó el análisis morfológico, histológico, inmunohistoquímico y expresión génica para determinar el desarrollo de SOP en las crías. Nuestros resultados muestran que las crías que provienen de madres control pero ellas consumieron dieta AG (CAG) y las crías que provenían de madres obesas y además consumieron dieta AG (MOAG) incrementaron el peso e índice de adiposidad vs C. Asimismo, las crías de los grupos CAG, MO (crías provenientes de madres obesas pero ellas consumieron dieta AG) y MOAG presentaron mayor concentración de leptina, adiponectina, triglicéridos y mayor IRI, además de presentar ovario con morfología poliquística (presencia de folículos císticos). Así mismo, los grupos CAG, MO y MOAG tuvieron mayor presencia de la proteína CYP19a1 vs C. Sin embargo, presentaron expresión similar del gen entre los grupos comparados con el grupo C. Por otro lado, no hubo cambios en la presencia del receptor para Hormona Luteinizante (LH) entre los grupos. El consumo de una dieta AG incrementa el IRI, la acumulación de grasa en el ovario, el cual secreta citosinas como la leptina la cual también tiene un papel en la esteroidogénesis ovárica, ovario con morfología poliquística y alteraciones en los receptores de LH y la enzima aromatasa que afectan la función del desarrollo folicular, que conlleva a desarrollar el SOP. Podemos concluir que la exposición a dietas AG en diferentes etapas del desarrollo conlleva a desarrollar características de SOP independientemente de la ventana de exposición.

ABSTRACT

Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) is the most common endocrine-metabolic disorder in women of reproductive age, one of the predisposing factors is obesity, which is important because it is known that Mexico ranks second worldwide on overweight or obesity, where women in reproductive age are the sector most affected. High fat diet (HFD) consumption is an important factor for the development of metabolic diseases and reproductive disorders, especially during critical stages of development, where HFD also prompts females to present alterations such as PCOS. Therefore, it is important to investigate the role of HFD during different periods of female development and its repercussions in their reproductive health and especially in the development of PCOS. We hypothesized that offspring that consume HFD throughout their lives and come from obesemothers will present alterations in insulin resistance index (HOMA) and ovarian morphology, all these characteristics of PCOS compared to offspring that consume a control diet. For this purpose, female Wistar rats fed either control (C) or high fat diet (HFD) from weaning, during gestation and until the end of lactation. Half of the female offspring in the C and HFD groups were weaned on either C or HFD. At 460 days, serum, adipose tissue and ovaries were collected to evaluate biochemical parameters, weight and adiposity index. In addition, morphological, histological, immunohistochemical and gene expression analysis was performed to determine the development of PCOS in the offspring. Our results show that the CAG and MOAG offspring increased weight and adiposity index vs C. Likewise, the offspring of the CAG, MO and MOAG groups presented higher concentrations of leptin, adiponectin, triglycerides and higher insulin resistance index, in addition to presenting ovary with polycystic morphology (presence of cystic follicles). Likewise, the CAG, MO and MOAG groups had a higher presence of CYP19a1 protein vs C. However, they presented similar gene expression between the groups compared to group C. On the other hand, there was no change in the presence of the Luteinizing Hormone (LH) receptor between the groups. The consumption of a HFD increases HOMA, accumulation of fat in the ovary, which secretes cytokines such as leptin which also plays a role in ovarian steroidogenesis, ovarian polycystic morphology and alterations in LH receptors and aromatase enzyme that affect the function of follicular development, which leads to the development of PCOS. We can conclude that exposure to HFD at different stages of development leads to the development of characteristics of PCOS regardless of the window of exposure.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Obesidad

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la obesidad como “una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud” y es un factor de riesgo para numerosas enfermedades crónico-degenerativas, entre las que se incluyen diabetes, enfermedades cardiovasculares y cáncer (OMS, 2019). El sobrepeso y la obesidad son un síndrome nutricional multifactorial complejo con causas genéticas, conductuales y ambientales, también son la forma más común de malnutrición en países desarrollados y en vías de desarrollo (Alcázar, 2013).

El sobrepeso y la obesidad son un problema prioritario de salud pública en México y en el mundo. La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), indicó en un estudio realizado en 2021 en población mayor a 15 años que México ocupó el primer lugar en cuanto a obesidad y sobrepeso con el 74.1%, justo por encima de Estados Unidos que tiene 73.1% esto explicaría por qué México tiene la prevalencia más alta de diabetes entre los países que conforman esta organización (OCDE, 2021).

A su vez, la “Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2018” muestra que la prevalencia de sobrepeso y obesidad combinadas de niños en edad escolar (5-11 años) fue de 35.6%, en adolescentes (12-19 años) fue de 38.4%, del cual el porcentaje de mujeres con sobrepeso/obesidad es del 41.1%. Mientras que la prevalencia de sobrepeso y obesidad en adultos (20 años en adelante) fue del 75.2%, del total de mujeres, el 76.8% presenta sobrepeso u obesidad y en los hombres se presenta en el 73% de la población encuestada.

En México, uno de los sectores de la población afectados por el sobrepeso y la obesidad, es el de las mujeres en edad reproductiva (grupo de adolescentes y adultos) representando un 83.5% de la población evaluada (Instituto Nacional de Salud Pública, 2016). Al respecto, el sobrepeso y obesidad en mujeres en edad reproductiva dificulta la posibilidad de concebir y durante el embarazo

aumenta el riesgo de padecer hipertensión, diabetes, entre otras complicaciones (Zain y Norman, 2008). Cabe mencionar que el sobrepeso y la obesidad no son iguales, ya que el sobrepeso se refiere a tener exceso de peso, debido a un exceso de músculo, de agua o de grasa, mientras que la obesidad se caracteriza por tener siempre un exceso de grasa (Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado, 2022). Para definir si una persona presenta sobrepeso u obesidad se utiliza el Índice de Masa Corporal (IMC), el cual consiste en dividir el peso corporal en kilogramos dividido entre el cuadrado de la talla en metros, para catalogar a una persona con sobrepeso el resultado de este cálculo debe encontrarse entre 25 y 29.9, mientras que para catalogarla en obesidad debe presentar un IMC de 30 o superior (Gobierno de México, 2021).

La prevalencia del sobrepeso y la obesidad en las mujeres en edad reproductiva ha aumentado en los últimos 30 años, con un 40.2% de mujeres mayores de 20 años clasificadas como obesas (ENSANUT, 2018). Además, también ha aumentado el consumo de dietas ricas en grasa y/o carbohidratos con alto contenido de calorías (es decir, dietas altas en grasas), que se relacionan con el síndrome metabólico y se asocian a comorbilidades, como la disfunción reproductiva y la infertilidad (Paula *et al.*, 2021).

El estado nutricional de la mujer durante la etapa reproductiva, en especial en la gestación y la lactancia, es importante, ya que el desarrollo durante el período fetal y los primeros años de vida se caracterizan por el crecimiento rápido y la maduración de órganos y sistemas del individuo. Los cambios tanto de la calidad como de la cantidad de los nutrientes que consumen la mujer embarazada y el neonato en este período influyen de forma permanente sobre esos órganos y tejidos en desarrollo, modificando su respuesta, remodelando su estructura y su función (OMS, 2019; Moreno, 2016). A estos cambios inducidos por factores ambientales se le denomina “Programación del desarrollo” o “Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD, por sus siglas en inglés)”.

1.2 Programación del desarrollo (DOHaD)

La programación del desarrollo o DOHaD es el proceso por el que la exposición a estímulos ambientales específicos durante ventanas críticas del desarrollo puede desencadenar adaptaciones que producen cambios permanentes en la fisiología del organismo, encaminadas inicialmente a garantizar su supervivencia, pero que dejan memoria permanente. Esta programación se debe a la plasticidad de las células y de los tejidos durante el desarrollo del feto, y es lo que permite al organismo responder a los cambios en el ambiente que lo rodea (Moreno, 2016; Zambrano *et al.*, 2010).

A los períodos donde las células y los tejidos presentan mayor plasticidad se les ha denominado “ventanas críticas del desarrollo” las cuales hacen referencia a las etapas de la vida donde es más probable que los organismos expresen modificaciones fenotípicas en respuesta a determinados factores ambientales (Burggren *et al.*, 2015), siendo las más importantes la etapa de embriogénesis, la vida fetal y neonatal (Rosenfeld, 2016) a las cuales se les denomina “los primeros 1000 días” (~280 días de embarazo más los primeros ~730 días después del nacimiento). Esto es importante debido a que en estas etapas tanto la división como la diferenciación celular se llevan a cabo de manera acelerada (Estrada y col, 2020). Además, se sabe que después de este periodo serán pocos los sistemas de órganos y tejidos que tengan la capacidad de adaptarse y responder a los desafíos fisiológicos (Oestreich y Moley, 2017).

1.3 Factores que intervienen en la programación del desarrollo

Los insultos en la madre pueden ser de diversa naturaleza, por ejemplo, tóxicos, infecciones, tabaquismo, alta o baja disponibilidad de nutrientes, estrés psicológico, entre otros, debido a que los organismos muestran una alta capacidad de respuesta a estos. Sin embargo, se refiere fundamentalmente al ambiente nutricional que rodea los primeros años de vida del hijo, por lo que se dice que la aparición de una enfermedad no transmisible es resultado de la

interacción de aspectos genéticos y estilo de vida a lo largo de su desarrollo, también denominado “programación metabólica” o “programación del desarrollo” (Moreno, 2016; Zambrano *et al.*, 2010).

Los principales mecanismos por los cuales se genera esta programación a largoplazo incluyen cambios en las funciones celulares y estructura de órganos y las alteración en la expresión génica dada por modificaciones epigenéticas (Estrada *et al.*, 2020).

Entre los principales factores que intervienen en la programación se encuentran: la deficiencia nutricional o sobrenutrición, la exposición a agentes químicos tóxicos, el estrés materno, infecciones y el desequilibrio hormonal (Estrada y col, 2020) de los cuales se ha planteado que su efecto en la salud del individuo se da a partir de su acción en la expresión génica de este (Figura 1).

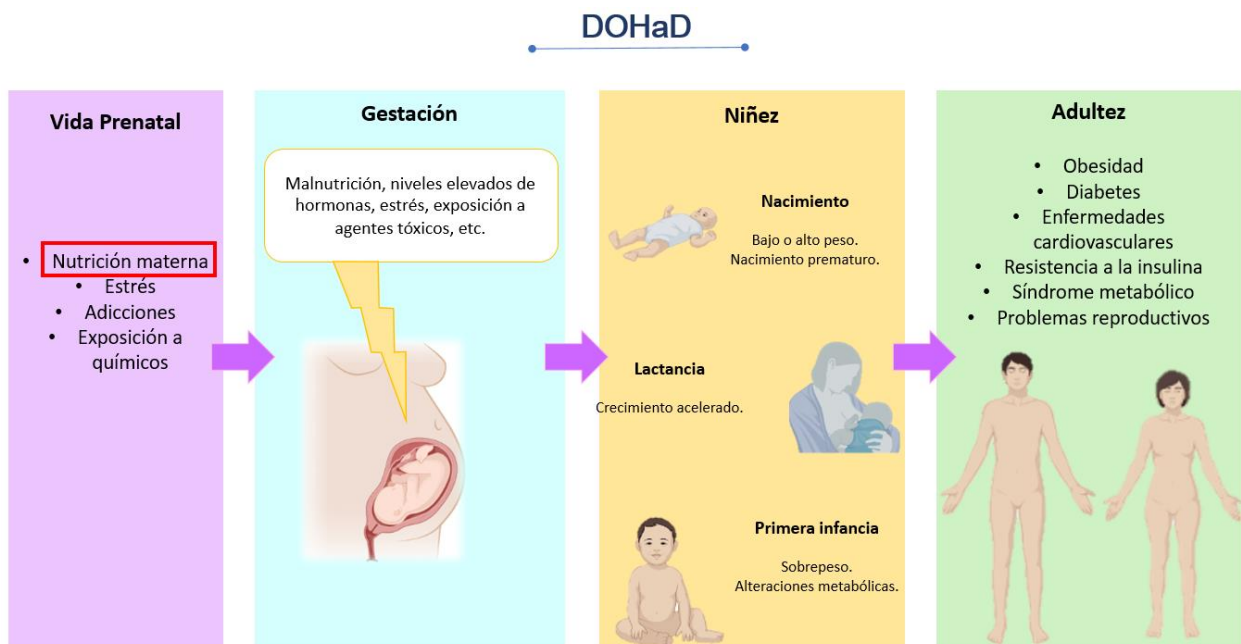


Figura1. Factores que intervienen en la programación del individuo en diferentes etapas de exposición. Imagen elaborada por el autor.

1.4 Características de la programación del desarrollo

El DOHaD, concibe que la respuesta de un organismo a un reto ambiental específico durante una ventana crítica del desarrollo será capaz de alterar la trayectoria del desarrollo de un organismo, por lo que resultará en efectos en la salud que persisten a lo largo de la vida del individuo (Zambrano y Nathanielsz, 2013).

Se ha descrito que, desde la formación de gametos, la fecundación, el desarrollo embrionario y fetal, así como durante las etapas correspondientes a la infancia y adolescencia, los organismos poseen una gran plasticidad fenotípica en comparación con etapas posteriores; es decir que muestran una mayor capacidad de respuesta a estímulos específicos (Bateson *et al.*, 2004).

Cabe mencionar que el desarrollo de los tejidos en diferentes organismos se lleva a cabo en diversos períodos. En el caso de los roedores, algunos órganos y sistemas se encuentran plenamente desarrollados antes del nacimiento, mientras que otros como el cerebro, el sistema inmunológico y los mecanismos de control metabólico se continuarán desarrollando durante la infancia (Heindel y Vandenberg, 2015).

1.5 Programación del desarrollo y obesidad materna

La alta o baja disponibilidad de nutrientes genera cambios en el desarrollo del individuo, ya que responderá a este estímulo para adaptarse y sobrevivir. Se ha demostrado que un ambiente intrauterino con una baja disponibilidad de nutrientes ocasionará una regulación negativa en la función endócrina y metabólica en el feto (Estrada *et al.*, 2020), mientras en el caso de la obesidad materna donde existe un ambiente con exceso en ciertos componentes alimenticios (grasas, carbohidratos, etc.) el feto presentará predisposición a desarrollar enfermedades pancreáticas (Zambrano *et al.*, 2016), conductuales (Rodríguez *et al.*, 2012), desarrollo de hígado graso (Lomas *et al.*, 2018), así como enfermedades reproductivas (Rodríguez-González *et al.*, 2015).

Como se ha mencionado, una de las etapas más importantes en el desarrollo del individuo es la embriogénesis debido a que en esta etapa la formación del organismo depende de la proliferación y maduración de células pluripotenciales, por lo que es necesario que este proceso tenga un control riguroso en la proliferación y maduración de las células embrionarias, el cual es ejercido por medio de hormonas (testosterona) y otras moléculas de señalización (Boklage, 2012).

En el caso de mujeres obesas, se sabe que estas presentan concentraciones circulantes más altas de citosinas inflamatorias, hormonas y metabolitos que se acumulan dentro del líquido folicular ovárico, siendo los principales componentes de este: insulina, lactato, triglicéridos, leptina y otros reguladores metabólicos, lo que puede afectar la maduración de los ovocitos y programarlos de manera adversa en aspectos como el reproductivo (Robker *et al.*, 2009).

El papel de la obesidad y el sobrepeso en el desarrollo de problemas reproductivos implica el hecho de que el conjunto del ambiente folicular en el que se desarrolló el ovocito y el tejido adiposo blanco, principalmente tejido adiposo periovárico, juegan un papel importante en la secreción y liberación de hormonas reproductivas y en la foliculogénesis (Yang *et al.*, 2018).

Los mecanismos por los cuales la obesidad materna afecta el desarrollo fetal y postnatal del individuo aún no están bien definidos, sin embargo, el estudio con modelos animales ha sido de mucha ayuda ya que replican condiciones similares a las encontradas en humanos y se han podido encontrar que ciertas modificaciones en el ambiente fetal programan el desarrollo de órganos, respuestas de señalización celular y modificaciones epigenéticas en las crías de madres obesas (Figura 2) (Zambrano, *et al.* 2016). Para la programación mediada por la obesidad y el sobrepeso se han propuesto principalmente dos vías mediante las cuales se dan estas modificaciones, estas implican la metilación del ADN y la herencia de mitocondrias con ADN disfuncional (Figura 2) (Oestreich y Moley, 2017), aunque aún hacen falta más investigaciones al respecto.

La composición de la dieta tiene un papel importante en el desarrollo y maduración de los folículos ováricos, por lo que una dieta inadecuada en el curso de la vida reproductiva se asocia con una programación deficiente de los folículos ováricos (Huijgen *et al.*, 2015).

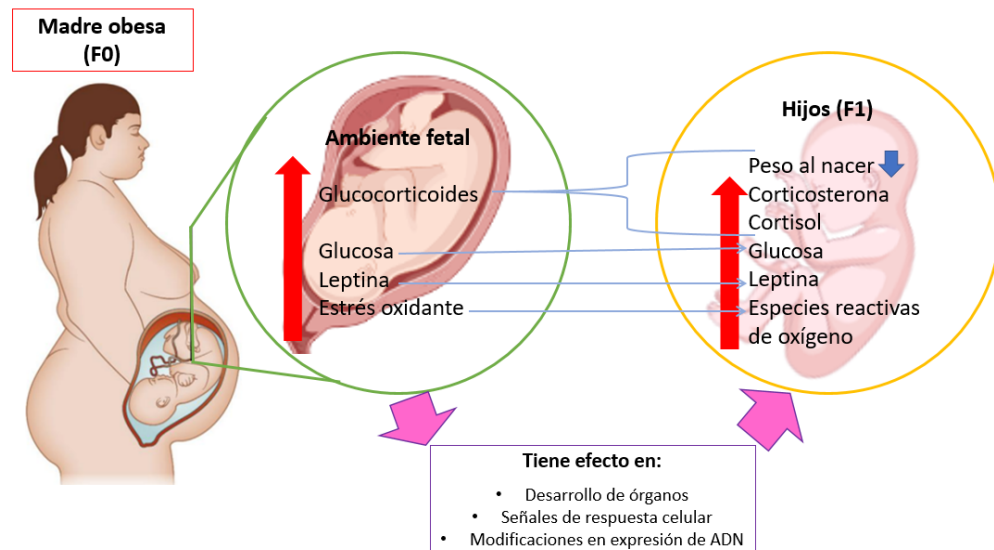


Figura 2. Posibles mecanismos de programación en la función reproductiva de los descendientes de madres obesas. *Modificada de Oestreich y Moley, 2017; Zambrano et al., 2016.*

Uno de los trastornos que se presentan con mayor frecuencia en mujeres obesas es el Síndrome de Ovario Poliquístico (SOP), un trastorno endocrino-metabólico, el cual se caracteriza por un exceso de andrógenos que provocan hirsutismo, alteraciones en el ciclo menstrual, síndrome metabólico y en algunos casos infertilidad; por lo que es necesario evaluar los hábitos alimenticios que propiciarían y/o predisponen a presentar dicha enfermedad, así como la genética que lo caracterizan (Instituto Mexicano del Seguro Social, 2010).

1.6 Modelos animales para estudio de enfermedades

El uso de animales de laboratorio es esencial para la comprensión de los mecanismos relacionados con las enfermedades, así como para el desarrollo de metodologías para su prevención, diagnóstico y tratamiento. Actualmente, la calidad estándar requerida para el cuidado de los animales es relevante para una investigación consistente. Los roedores presentan un proceso rápido desde el nacimiento hasta la muerte en comparación con otros mamíferos desarrollados. Además, los estudios con animales, más del 95% de los cuales se realizan en ratones, son esenciales para comprender mejor los complejos procesos de las enfermedades.

Debido a que el desarrollo ovárico en los roedores es similar al de los humanos, siendo el tiempo de desarrollo un factor determinante, son los más utilizados para estudios relacionados con reproducción. Al nacer, el ovario de la rata y del ratón está formado por cordones y oogonias. Los folículos primordiales se desarrollan y forman en los primeros 19 días de vida y el primer grupo de folículos se convierte en folículos antrales en las tres semanas siguientes. Los folículos secundarios completamente desarrollados se encuentran en el séptimo día de vida. La apoptosis mínima de las células ováricas, responsable de la selección de los folículos que sobrevivirán y se desarrollarán, puede encontrarse hasta el día 18 de vida, cuando los folículos antrales tempranos son 23 aparentes (Vargas *et al.*, 2018).

Huijgen *et al.*, (2015), realizaron un estudio exploratorio en pacientes de una clínica ambulatoria donde formaron dos grupos, unos de pacientes control y otro con pacientes que presentaban características de SOP, en ambos grupos se les realizaron cuestionarios sobre sus hábitos alimenticios, les realizaron mediciones antropométricas y tomaron muestras de sangre; encontrando que las mujeres con SOP informaron dietas inadecuadas (como dietas altas en grasa) siendo estas significativamente mayores en este grupo que en las pacientes del grupo control.

Rodríguez *et al.* (2014), realizaron una investigación en 100 mujeres con diagnóstico previo de SOP (según los criterios de Rotterdam) y con una edad de entre 18-45 años. El estudio fue realizado en un periodo de tiempo de octubre del 2010 a marzo de 2012, fueron tratadas en un centro endocrinológico especializado en hiperandrogenismo del Hospital Universitario de UFMG (Belo Horizonte, MG, Brazil), en donde les tomaron medidas antropométricas y un registro de la dieta consumida por cada mujer, los resultados obtenidos respaldan que la mala calidad de la dieta es un aspecto importante para desarrollar ovario poliquístico.

1.7 Modelos animales inducidos a SOP

En la literatura se han descrito modelos animales para la evaluación de SOP inducidos con agentes químicos, estos sirven como comparativos con condiciones normales en el desarrollo de este síndrome.

Anteriormente se mencionó que el ambiente fetal es de suma importancia para el correcto desarrollo del individuo. Un ejemplo es el estudio de Wang *et al.* (2012), a ratas gestantes con 16 semanas de edad y un peso aproximado de entre 180-200g, fueron divididas en 4 grupos experimentales, administradas con 60 mg/kg/dé dehidroepiandrosterona sulfoconjugada (DHEAS) en diferentes días de la gestación (Cuadro 1).

Cuadro 1. Días de gestación en los que se administró DHEAS. Muestra los días de gestación en los que se les administró DHEAS a ratas embarazadas.

Grupo	Días de gestación (administración de DHEAS)
Grupo A	1 al 20
Grupo B	1 al 10
Grupo C	11 al 20
Grupo D	Inyectadas solo con aceite

En el experimento, llevaron a cabo el análisis de la concentración de andrógenos y estrógenos en suero, así como las características morfológicas del ovario con microscopio de luz y electrónico en las crías de estas ratas (sacrificadas al finalizar la semana 10 lo que equivale a la adolescencia), demostraron que un nivel elevado de andrógenos durante toda la vida fetal (Grupo B y C) predispone a la descendencia a síntomas similares al síndrome de ovario poliquístico en etapas posteriores en modelos de ratas. Así mismo, en estudios realizados en monos hembras (Abbott *et al.*, 2009) los cuales fueron inducidos con un exceso de andrógenos en el periodo fetal y estudiados durante su infancia, adolescencia y adultez, mostraron un fenotipo de SOP en la vida adulta.

Por otro lado, Patel *et al.*, reportaron características tanto reproductivas como metabólicas del SOP en ratas hembra prepúberes (3-4 semanas de vida, peso de 45-55 g) divididas en dos grupos con dietas diferentes: Grupo 1 (n=9) con dieta control y Grupo 2 (n=15) con dieta alta en grasa, ambos grupos se alimentaron con la dieta respectiva hasta el día 105 de vida. Por otro lado, en

ratas tratadas con letrozol (n=21) (edad de 8-10 semanas y un peso de 200-250g) fueron divididas en dos grupos: Grupo 1 (n=9) control y grupo 2 (n=12) administradas con 1mg/kg de letrozol por 21 días. Se tomaron muestras de sangre para analizar el perfil lipídico y la concentración de insulina, concentración de hormonas (LH, FSH, Testosterona y Estrógenos) y se cuantificaron en tomas de sangre obtenidas en la etapa de diestro, la expresión de receptores de FSH y LH por PCR y además se pesaron y analizaron los ovarios mediante tinción con Hematoxilina-Eosina para determinar características de SOP. Los resultados obtenidos mostraron que tanto el grupo alimentado con dieta alta en grasa como el grupo al que se le administró letrozol presentaron un incremento en el número de folículos quísticos, concentraciones hormonales y ovario de apariencia poliquística similar a la reportada en pacientes con SOP.

2. ANTECEDENTES

2.1 Síndrome de ovario poliquístico (SOP)

En las mujeres que presentan obesidad, uno de los problemas reproductivos más frecuentes es el SOP (Ortíz *et al.*, 2018), un trastorno endocrino-metabólico cuya principal base fisiopatológica es un exceso de producción de andrógenos de origen ovárico (Ortíz *et al.*, 2018; Morán *et al.*, 2010).

2.2 Fisiopatología del SOP

Para consensuar una definición que abarque todos los criterios diagnósticos, en 2003 la Sociedad Europea de Reproducción Humana y la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva publicaron “Los criterios de Rotterdam”, los que mencionan que para diagnosticar a una mujer con SOP es necesario que presente dos de los siguientes criterios (Ortíz *et al.*, 2018):

- Al menos uno de los dos ovarios presente morfología poliquística, es

decir, que presente más de 12 folículos antrales detenidos en diferentes estados madurativos y que midan entre 2 y 9 mm de diámetro. También puede emplearse el criterio de volumen ovárico (≥ 10 ml en al menos uno de los ovarios) (Facio *et al.*, 2015; Ortíz *et al.*, 2018).

- Disfunción ovulatoria como la oligomenorrea que son ciclos menstruales de duración mayor a 35 días en al menos 6 ciclos al año o menos de 8 sangrados al año; o la amenorrea que es la ausencia de menstruación durante 90 o más días en ausencia de gestación (Facio *et al.*, 2015; Ortíz *et al.*, 2018).
- Hiperandrogenismo bioquímico y/o clínico (hirsutismo, persistencia de acné, alopecia) (Facio *et al.*, 2015).
- Alteraciones metabólicas como índice de resistencia a la insulina e hiperglucemia, lo cual inicialmente se puede detectar la presencia de acantosis nigricans que es un trastorno de la piel caracterizado por una coloración oscura en zonas como las axilas, la ingle y el cuello (Facio *et al.*, 2015; Ortíz *et al.*, 2018).

Gracias a estos criterios se han podido identificar 4 tipos clínicos de SOP (Cuadro 2):

Cuadro 2. Tipos de SOP dependiendo de los criterios del Consenso de Rotterdam presentes en ellos. El que se presenta con mayor frecuencia es el A, con un 44-65%. Seguidos del B con un 8-33%, el fenotipo C con un 3-29% y el D con un 0-23%.

Fenotipos	Sinonimia	Criterios diagnósticos
Fenotipo I	Fenotipo clásico	Hiperandrogenismo + Oligo-ovulación + MPO
Fenotipo II	Fenotipo clásico	Hiperandrogenismo + oligo- ovulación
Fenotipo III	Fenotipo ovulatorio	Hiperandrogenismo + MPO
Fenotipo IV	Fenotipo no hiperandrogénico	Oligo-ovulación + MPO

2.3 Desarrollo folicular

El ovario se encuentra dividido funcionalmente en dos compartimentos: el intersticial, conformado por células del estroma y de la teca externa, y el folicular, que contiene el ovocito, las células de la granulosa y las células de la teca interna, que interactúan entre sí durante las diferentes etapas de la maduración folicular.

De acuerdo a su organización estructural, pueden definirse cinco fases del desarrollo folicular: folículos primordiales, primarios, secundarios, terciarios y de Graaf o preovulatorios, si bien es común clasificar los folículos en preantrales (desde primordiales hasta secundarios) y antrales (desde terciarios hasta preovulatorios). Una vez llevada a cabo la ovulación, la estructura folicular evoluciona hacia la formación de un cuerpo lúteo, considerado como la fase final de maduración del folículo.

Normalmente el desarrollo folicular en el ovario se mantiene detenido en la fase de folículos primordiales hasta que se inicia la pubertad. De aquí en

adelante, y dependiendo de la especie estudiada, uno o más folículos considerados dominantes lograrán terminar su desarrollo y sus ovocitos se liberarán al término de los correspondientes ciclos estrales. Los folículos que no llegan a terminar su desarrollo degenerarán, convirtiéndose en atrésicos.

En el caso del ovario poliquístico los óvulos maduros no se liberan, en lugar de esto, permanecen en los ovarios circundados por una pequeña cantidad de líquido; este es el motivo de los cambios del ciclo menstrual/estral. Esto se ha podido establecer gracias a estudios ultrasonográficos y biopsia ováricas, donde se observa que las mujeres con SOP presentan un pool de folículos en crecimiento 2 a 3 veces superior que las mujeres sin SOP. Además, se encuentra caracterizado por un aumento de folículos pre-antrales y antrales pequeños y un mayor reclutamiento folicular, acompañado de una detención en el proceso de selección folicular, lo que explica que no exista ovulación. Por lo que se puede concluir que en el SOP hay mayor reclutamiento y menor selección, por lo que se encuentran un gran número de folículos en crecimiento productores de andrógenos (Sir *et al.*, 2013).

2.4 Genes implicados en el Síndrome de Ovario Poliquístico

Se sabe que los genes individuales, la interacción gen-gen o las interacciones gen-ambiente influyen en la predisposición al desarrollo de SOP. Este síndrome es poligénico, ya que muchos genes se encuentran implicados, tales como: CYP α , CYP21, CYP17 y CYP19 que están involucrados en la esteroidogénesis ovárica, siendo este último uno de los más importantes debido a que codifica a la enzima aromatasa encargada de la conversión de testosterona a estradiol. Además, genes involucrados en la acción de las gonadotropinas como el receptor de LH (gen LHCGR) y de FSH (FSHR), son vitales para el correcto funcionamiento del ciclo ovárico (Jaseem *et al.*, 2020).

Un proceso importante que se lleva a cabo en el ovario es la apoptosis, esto debido a la constante degradación y reabsorción de complejos celulares, sin

embargo, existen estudios en los cuales en los ovarios de mujeres con SOP se observa un desequilibrio entre los factores apoptóticos tales como caspasa 9 y BAD y anti- apoptóticos (Uyanikoglu *et al.*, 2017). Además de un desbalance entre la acción del estrés oxidante y los factores antioxidantes (SOD-1, catalasa) (Calzada, 2019).

Se sabe que algunas hormonas no sexuales también tienen acción sobre los folículos en el ovario, dos casos específicos son la leptina uniéndose a su receptor OBR y la insulina mediante una proteína asociada a su receptor (IRS-2), se piensa que la acción de ambas hormonas juegan un papel importante en la esteroidogénesis folicular (Kosovo *et al.*, 2012) (Figura 3).

Factores importantes en el funcionamiento celular y que se ha visto que tienen influencia en el ovario son TNF α e IL-6, que son factores proinflamatorios pero en el ovario tienden a inhibir la esteroidogénesis ovárica y bloquean el estímulo de FSH sobre las células de la granulosa, lo que disminuye los niveles de estradiol y por ende su acción biológica (Peng *et al.*, 2016; Calzada, 2019) (Figura 3).

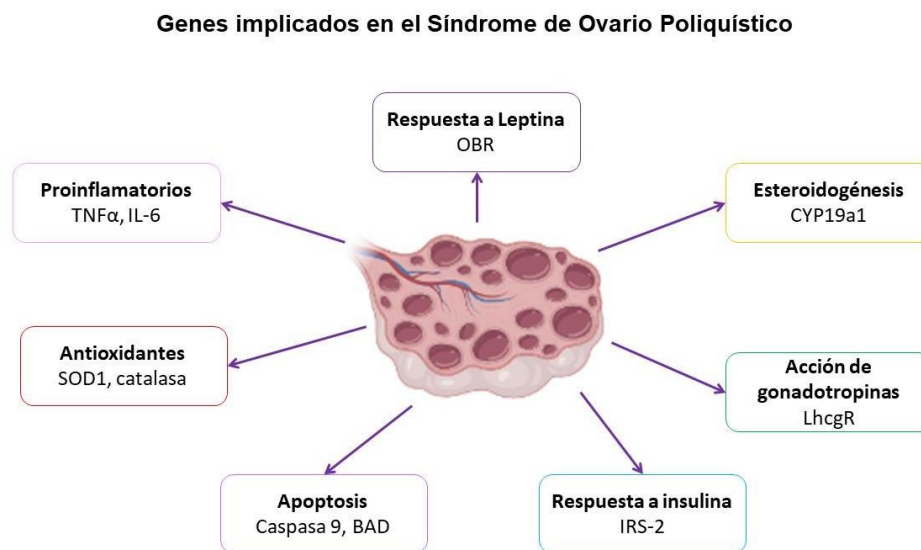


Figura 3. Genes implicados en el Síndrome de Ovario Poliquístico. Se muestran algunos genes que podrían estar implicados en la patología del SOP.

2.5 Función ovárica en descendientes de madres que consumieron dieta alta en grasa

Existen estudios que demuestran los efectos de la exposición a dietas altas en grasa en la función y estructura de los ovarios en roedores, pero aún no hay resultados contundentes de cómo esta dieta afecta el desarrollo y la supervivencia de los folículos ováricos y cómo se transmite el efecto entre generaciones (Paula *et al.*, 2021). Además, de si esta dieta predispone a su descendencia a padecer SOP.

Estudios realizados por Paula *et al.*, (2021) demostraron que la exposición a dieta alta en grasa en ratas hembra adultas causó una disminución en el número de folículos primordiales. Identificaron que los efectos negativos como resultado del sobrepeso y la obesidad, en los folículos primordiales puede ser mediada por el aumento local en la inflamación indicado por la infiltración de macrófagos en los ovarios, ya que se cree que estos regulan la apoptosis en el ovario, inflamación (marcadores inflamatorios TNF- α e IL-6) y esteroidogénesis a través de citosinas. Además, observaron que las ratas hembra alimentadas con dieta alta en grasa mostraron un aumento en la expresión de FOXO3 que se considera como un regulador clave del desarrollo de los folículos iniciales (primordiales y primarios) involucrados en la regulación positiva del gen que codifica para la proteína BCL2, aumentando la expresión de las proteínas proapoptóticas como BAX, Bim y Bad (Figura 4, tomada de Paula *et al.*, 2021).

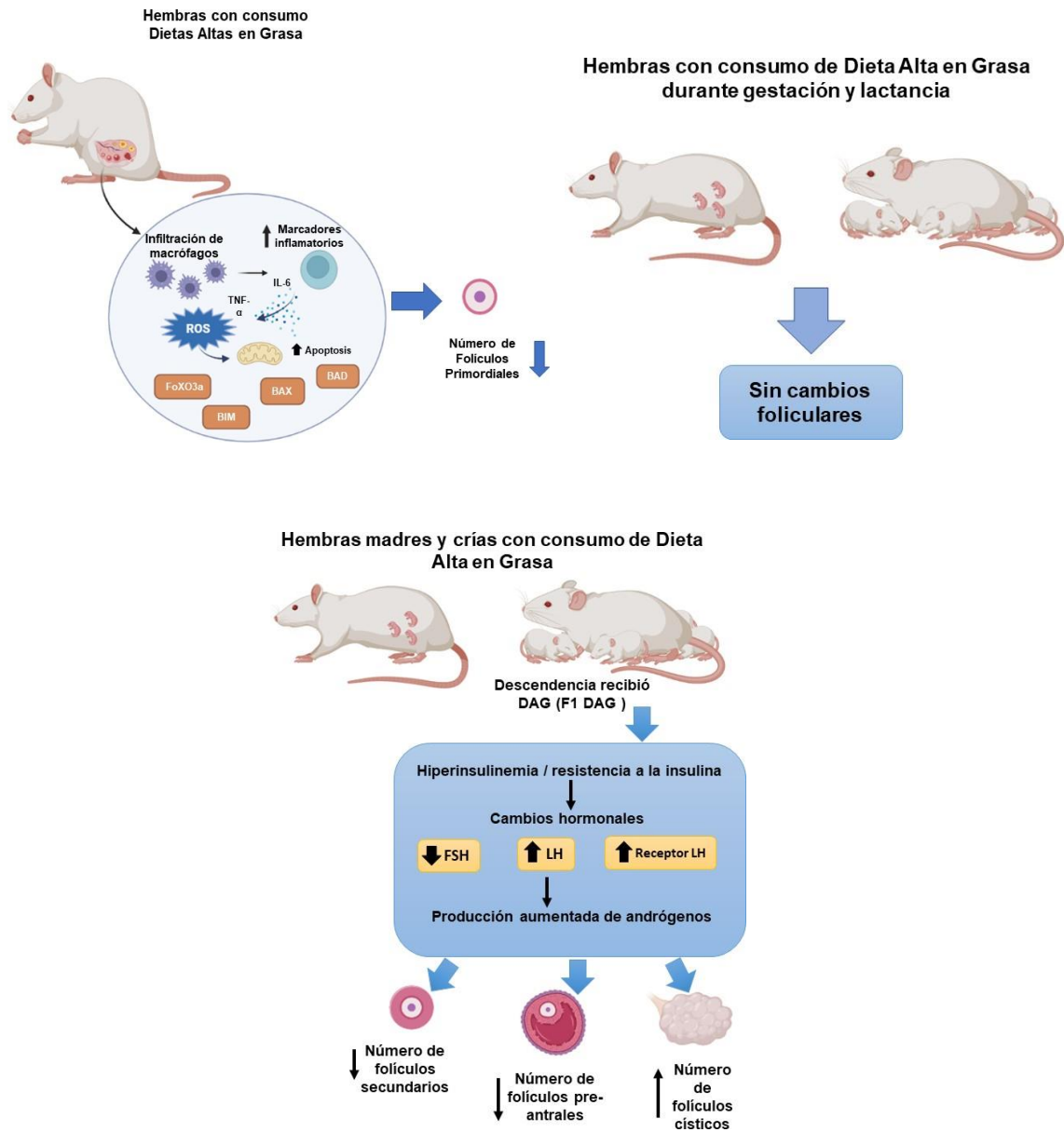


Figura 4. Mecanismos asociados con cambios foliculares causados por dieta alta en grasa como insulto. Abreviaciones: DAG= Dieta alta en grasa; FoxO3a= Forkhead box 03; BAX= proteína asociada a Bcl-2; BIM, subtipo activador de proteínas BH3; BAD= Bcl-2 antagonista de células muertas; IL-6= interleucina 6; TNF- α = factor de necrosis tumoral α ; LH= hormona luteinizante; FHS= Hormona foliculo estimulante; disminuye; ↓ aumenta ↑.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El SOP, representa la endocrinopatía metabólica más frecuente en mujeres en edad fértil con una prevalencia mundial de entre 6 y 15% (Ortíz *et al.*, 2018; Morán *et al.*, 2010).

En México se reporta una prevalencia de SOP de entre el 5 y 10% en mujeres en etapa reproductiva y se ha encontrado que alrededor del 70% de las mujeres que lo padecen presentan sobrepeso u obesidad de forma central (Instituto Mexicano del Seguro Social, 2010; Morán *et al.*, 2010).

Los hábitos alimenticios son heredados de padres a hijos, por lo que la alimentación que lleve a cabo un individuo a lo largo de su vida tendrá repercusiones en su descendencia debido a la programación de estos. Diversos estudios han demostrado que el proceso de salud y enfermedad en la edad adulta no sólo procede de los primeros acontecimientos de la vida fetal, sino también de todo el periodo de desarrollo, la infancia y la adolescencia. Por lo tanto, los insultos durante la vida perinatal pueden programar al individuo para cambios positivos o negativos en el patrón de salud en etapas posteriores de la vida.

Algunos estudios demuestran los efectos adversos de la exposición a una dieta alta en grasa en los ovarios de roedores, sin embargo, los resultados sobre cómo una dieta alta en grasa afecta el desarrollo y supervivencia de los folículos ováricos y el desarrollo de SOP, así de cómo estos efectos se transmiten a la siguiente generación están poco explorados.

Por lo que, es de suma importancia comprender cómo la obesidad y la exposición a una dieta alta en grasa repercuten en la función reproductiva de descendencia proveniente de madres obesas, sobre todo teniendo en cuenta la necesidad de adoptar medidas preventivas para minimizar los efectos adversos.

4. JUSTIFICACIÓN

El comportamiento alimenticio se adquiere durante la infancia y permanece estable a lo largo del tiempo, variando únicamente durante los episodios de enfermedad, dieta y aumento de las necesidades calóricas. Los hábitos dietéticos pueden transferirse sin saberlo, ya que las prácticas que adoptan las madres predicen la calidad de la dieta de los hijos (Huijgen *et al.*, 2015).

No sólo durante los primeros años de vida, sino también después del nacimiento a través de la pubertad y la adolescencia, la dieta puede afectar la expresión génica como segundo o tercer insulto que influye en la aparición y gravedad del SOP.

Dentro de las complicaciones asociadas al SOP, se relaciona con alteraciones metabólicas, cardíacas, psicológicas y mayor riesgo de cáncer de mama y endometrio. Además, implica un aumento de riesgo de infertilidad, sangrado disfuncional, obesidad, diabetes tipo 2, dislipidemias e hipertensión (Instituto Mexicano del Seguro Social, 2010).

La comprensión de factores implicados en el desarrollo de SOP proporcionará tanto a los investigadores como a los médicos y la sociedad el conocimiento para comprender la asociación entre los hábitos alimenticios y ese síndrome.

Si bien existen artículos respecto a cómo el consumo de dieta alta en grasa por la madre tiene implicaciones en la programación de la función ovárica de su descendencia, no existen evidencias directas de cómo el consumo de una dieta alta en grasa por parte de la madre y en su cría podría predisponer a la descendencia al desarrollo de SOP, por lo que es importante determinar cómo los patrones intergeneracionales podrían predisponer a la descendencia a padecer enfermedades como esta.

El hecho de considerar la exposición de las hembras adultas y de las madres y/o sus crías, permite analizar el efecto intergeneracional del consumo de dieta alta en grasa. Además, el creciente uso de este modelo para el

estudio del SOP proporciona información importante sobre los mecanismos de la enfermedad.

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son los efectos adversos del consumo de una dieta alta en grasa en la madre y/o en su cría en el desarrollo de SOP en crías a edad adulta?

6. HIPOTESIS

Las crías que consumen dieta alta en grasa durante toda su vida y que además provienen de madres obesas presentarán alteraciones en el índice de resistencia a la insulina y en la morfología del ovario, todas estas características del SOP en comparación con las crías que consumen una dieta control.

7. OBJETIVOS

7.1 General:

Determinar el efecto de la obesidad materna y/o el consumo de una dieta alta en grasa sobre el desarrollo de SOP en crías de rata Wistar.

7.2 Específicos:

- Evaluar a nivel bioquímico, histológico y hormonal, la programación de SOP en crías provenientes de madres obesas.
- Analizar potenciales marcadores de programación en las crías de SOP a través de la expresión de genes y proteínas (LHCGR, CYP19a1) implicadas en el funcionamiento ovárico.
- Determinar las diferencias del impacto de la programación por obesidad

materna en crías hembra alimentadas con una dieta alta en grasa y/o en la vida posnatal de la rata Wistar sobre el desarrollo de SOP.

8. METODOLOGÍA

8.1 Diseño Experimental

Todos los procedimientos fueron aprobados por el comité de ética del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ). Se utilizaron ratas hembras de la cepa Wistar recién destetadas (21 días), las cuales se mantuvieron en jaulas de policarbonato en el bioterio del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” en condiciones controladas de luz-obscuridad (de 7:00 a 19:00 h), humedad relativa (75-80%) y temperatura (22-23°C). Se mantuvieron con alimento y agua a libre consumo.

8.1.1 Dietas administradas

Se prepararon dos dietas distintas, control y dieta alta en grasa.

La dieta control está formulada para el mantenimiento, crecimiento, reproducción y lactancia de ratas y ratones convencionales conteniendo el 5% (p/p) de grasa y un contenido energético de 3.8 kcal/g. Mientras que la dieta alta en grasa es elaborada en la planta piloto del Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos (DCyTA) del INCMNSZ, cuyo contenido de grasa es del 25% (p/p) siendo el 20% grasa y el 5% aceite de soya el cual está adicionado como contenido energético (4.9 kcal/g), con una formulación diseñada con base a la recomendación AIN-93 del American Institute of Nutrition (Reeves *et al.*, 1993).

8.1.2 Administración de la dieta

Las dietas y el agua se colocaron en los comederos de cada caja y se dejó a libre consumo para las ratas. La cantidad de alimento proporcionado fue de 200 g y se repuso lo consumido de tal manera que la cantidad en el comedero no fuera menor a 50 g esto sin importar el día que se pesara el alimento.

8.1.3 Madres (F0)

Las madres se dividieron en dos grupos conformados por 8-10 ratas cada uno, un grupo fue alimentado con dieta control (C) y al otro con dieta alta en grasa (OM) desde el destete (día 21 de vida de la F0), durante la gestación y la lactancia. A la edad de 120 días, las F0 se aparearon con machos no experimentales alimentados con dieta control de la misma cepa.

Los grupos de madres quedaron conformados de la siguiente manera:

- **Grupo control (C):** Se le administró una dieta control a partir del destete, durante la gestación y hasta el final de la lactancia.
- **Grupo de madres con obesidad (MO):** Se le administró una dieta alta en grasa a partir del destete, durante la gestación y hasta el final de la lactancia.

8.1.4 Crías (F1)

Al destete (día 21 de vida) de las crías, la mitad de la camada de cada grupo de madres (C y MO) se dividió en dos grupos, al primer grupo se le administró dieta control y al segundo una dieta alta en grasa hasta el día 460 de vida. Al día 2 de nacimiento de las F1, se ajustó la camada, siempre que fue posible garantizar la homogeneidad de las crías por grupo

Los grupos de crías quedaron conformados de la siguiente manera:

- **Grupo C:** Crías (F1) consumieron dieta control, procedentes de madres que consumieron dieta control.
- **Grupo CAG:** Crías (F1) consumieron dietas altas en grasa, procedentes de madres que consumieron dieta control.
- **Grupo MO:** Crías (F1) consumieron dieta control, procedentes de madres que consumieron dieta alta en grasa.
- **Grupo MOAG:** Crías (F1) consumieron dieta alta en grasa, procedentes de madres que consumieron dieta alta en grasa.

*Primer letra indica la dieta de la madre (F0) y la segunda letra indica la dieta que consumió su cría (F1) después del destete (Figura 5).

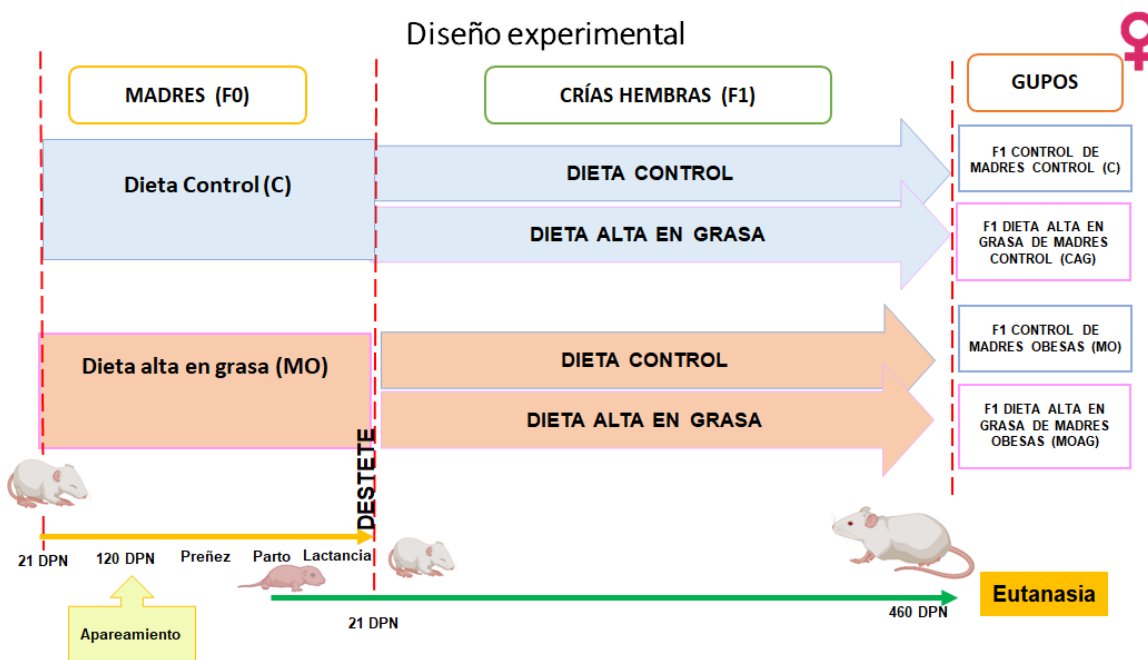


Figura 5. Diseño experimental. Inicialmente se hicieron dos grupos de hembras recién destetadas con 21 días de vida, estas formarán los grupos de madres (F0), al primer grupo se le administró dieta control y al segundo dieta alta en grasa durante toda su vida incluida la etapa de apareamiento, embarazo y lactancia. Las crías (F1) hembras de ambos grupos se subdividieron en dos grupos para cada grupo de madre, al primer subgrupo se le administró dieta control (C y MO) y al segundo dieta alta en grasa (CAG y MOAG). Al día 460 de vida se les realizó la eutanasia.

Cabe mencionar que las madres fueron necesarias para obtener a los grupos de crías y cumplir con el objetivo planteado para el proyecto. Por lo que los métodos que se describen a continuación se realizaron solamente en crías.

8.2 Eutanasia

El sacrificio de las crías se llevó a cabo al día 460 de vida, mediante perfusión cardiaca, por personal capacitado y con experiencia en el procedimiento. Entre las 12:00 y 14:00 h, después de 6 h de ayuno. Se sacrificaron bajo anestesia general con isoflurano.

Durante la eutanasia se recolectó sangre, tejido adiposo y ambos ovarios de cada rata.

8.2.1 Evaluación del Síndrome de Ovario Poliquístico

La determinación de si una rata presenta Síndrome de Ovario Poliquístico o no, se estableció mediante los tratados de Rotterdam (Ortíz *et al.*, 2018), los cuales indican que debe cumplir con al menos 2 de los siguientes criterios: Hiperandrogenismo, ovario con apariencia poliquística, mayor peso ovárico, resistencia a la insulina.

8.2.2 Sangre

Durante la eutanasia, la sangre se recolectó, mediante punción cardiaca, y se colocó en tubos de ensayo, los cuales se centrifugaron a 5,000 rpm x 10 minutos, para colectar el suero en tubos Eppendorf de 1 ml el cual se almacenó a una temperatura de -20°C para su posterior análisis bioquímico y hormonal.

8.2.2.1 Análisis bioquímicos en sangre

Las concentraciones en suero de glucosa, triglicéridos y colesterol, se analizaron mediante un método enzimático, empleando el analizador automático Synchron CX. La concentración de insulina se determinará mediante inmunoensayo.

Además, se calculará el índice de resistencia a la insulina, de la siguiente manera:

$$HOMA = \frac{(glucosa \frac{mmol}{L})(insulina \frac{\mu U}{mL})}{22.5}$$

8.2.2.2 Análisis hormonal

Las concentraciones de colesterol, triglicéridos y glucosa se determinaron enzimáticamente utilizando el autoanalizador Synchron CX (Beckman Coulter). Las concentraciones séricas de leptina e insulina se determinaron mediante ELISA utilizando los kits comerciales para ratas de Invitrogen (no. de cat.: KRC-2281, sensibilidad analítica <20 pg/mL) y Millipore (no. de cat.: EZRM1-13K, sensibilidad analítica 0.2 ng/mL) respectivamente, siguiendo las instrucciones del fabricante.

8.2.3 Tejido adiposo

Durante la eutanasia se extrajeron diferentes regiones de tejido adiposo para determinar el índice de adiposidad, el cual se calculó como la cantidad de tejido adiposo extraído al momento de la eutanasia, expresado como el porcentaje del peso corporal, utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de adiposidad Hembras} = \left(\frac{a + b + c + d}{e} \right) * 100$$

Dónde:

- a) Tejido adiposo retroperitoneal en g
- b) Tejido adiposo pancreático en g
- c) Tejido adiposo ovárico en g
- d) Tejido adiposo uterino en g
- e) Peso corporal en g

8.2.4 Ovarios

Se extrajeron ambos ovarios, el ovario izquierdo se fijó introduciéndolo en un frasco con paraformaldehído al 4% para su posterior análisis histológico, mientras el ovario derecho se congeló a -70°C para su posterior análisis molecular.

8.2.4.1 Análisis histológico

El ovario izquierdo fijado en paraformaldehído al 4% fue deshidratado en etanol a concentraciones crecientes (75, 85 y 95%), una vez deshidratado fue incluido en parafina histológica para formar los bloques, dejándose enfriar y posteriormente se conservaron a 4°C. Se formó un bloque de parafina con el tejido fijado y se realizaron cortes de 5 µm de grosor con uso de un micrótopo; los cortes se colocaron en portaobjetos y se analizarán con dos técnicas histológicas diferentes: tinción de Hematoxilina-Eosina, Inmunohistoquímica y tinción Tricrómico de Masson para ser observados bajo el microscopio.

8.2.4.1.1 Tinción de Hematoxilina-Eosina

El proceso comenzó desparafinando el tejido en el portaobjetos en un horno a 60°C durante 30 minutos, a continuación, se colocó en Xilol durante 5 minutos en 3 ocasiones. Posteriormente se realizó la rehidratación del tejido sumergiéndolo en etanol con una concentración de 100% durante 5 minutos dos


veces, en etanol al 95% durante 3 minutos dos veces, etanol al 70% durante 3 minutos una sola vez y por último en etanol al 50% durante 3 minutos una vez; para eliminar el exceso de alcohol se hizo un lavado con agua.

Posteriormente, se sumergieron las laminillas en Hematoxilina durante 10 minutos, para eliminar el exceso de esta se realizó un lavado con agua y se sumergieron en etanol al 100% y después se lavaron sumergiéndolas en agua. La tinción con Eosina se llevó a cabo colocando las laminillas en ella, para posteriormente deshidratar nuevamente las laminillas, esta vez, se colocaron en etanol al 95% durante 3 minutos una vez, en etanol al 100% por 3 minutos dos veces, Xilol 1 y 2 durante 5 minutos en cada uno y por último en Xilol 3 durante 10 minutos. Se sellaron las laminillas con entellan, el cual es un medio de montaje para muestras biológicas, para su posterior análisis bajo el microscopio.

8.2.4.1.1.1 **Conteo folicular**

Las laminillas teñidas con Hematoxilina-Eosina se observaron bajo el microscopio óptico y se realizó el conteo de cada uno de los folículos encontrados. La identificación de los folículos se llevó de la siguiente manera:

Cuadro 3. Estadios de desarrollo de folículos ováricos. Se muestran los diferentes estadios en los que pueden encontrarse los folículos ováricos y las características para su identificación.

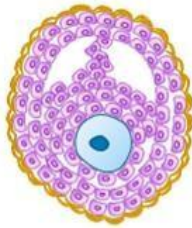
FOLÍCULO	CARACTERÍSTICAS
<p>Primordial</p> 	<p>Conformados por el ovocito y una capa de células aplanadas las cuales son precursoras de las células de la granulosa.</p>

Primario



Conformados por el ovocito y una capa de células cúbicas de la granulosa.

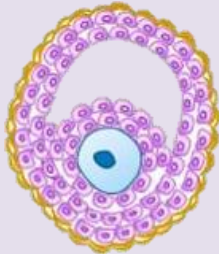
Secundario



Conformados por el ovocito y una capa multilaminar de células de la granulosa.

Se observan células de la teca rodeando el folículo y la formación de un antro folicular y la zona pelúcida.

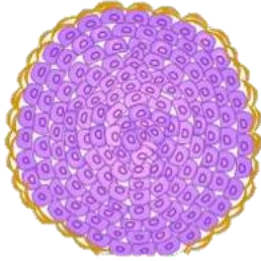
De Graaf



Muestra varias capas de células de la granulosa, un antro folicular de mayor tamaño y capas multilaminares de células de la teca.

Además, se observa al ovocito en el cúmulo oóforo y rodeado por la corona radiada

Cuerpo lúteo



Las capas de células de granulosa y teca no se distinguen.

Cístico



Se encuentra lleno de líquido folicular, las capas de la granulosa se encuentran disminuidas y las de la teca se encuentran aumentadas.

8.2.4.1.2 Inmunohistoquímica

El proceso comenzó con la desparafinación del tejido que se encuentra en los portaobjetos, mediante el uso de un horno a 60°C durante 30 minutos. Posteriormente se incluyó en Xilol durante 10 minutos en 3 ocasiones, se rehidrató el tejido sumergiéndolo en etanol al 100% durante 5 minutos en 2 ocasiones, etanol al 95% durante 3 minutos en 2 ocasiones, etanol al 70% durante 3 minutos y etanol al 50% durante 3 minutos.

Una vez rehidratado el tejido, se sumergió durante 2 minutos en agua y pasado este tiempo se realizó la recuperación antigénica, colocando las laminillas en buffer de citratos y se colocaron en una olla de presión durante 15 minutos. Una vez que estuvieron a temperatura ambiente, se lavaron con PBS

durante 5 minutos, posteriormente se realizó un bloqueo con peroxidasa durante 20 minutos, nuevamente se les colocó PBS. Después se agregó bloqueante universal por 10 minutos. Posteriormente se adicionó el anticuerpo primario (LH-R o CYP19a1), se dejó incubar toda la noche a 4°C. Al día siguiente se realizó un lavado y después se agregó el anticuerpo secundario por una hora, dependiendo del anticuerpo primario a evaluar. Se realizó un lavado con PBS, se detuvo la reacción con acetato de sodio, y finalmente se reveló la reacción con diaminobencinida (coloración café) y se contratiñó con Hematoxilina para posteriormente realizar la evaluación de la concentración de proteína.

8.2.4.2 Extracción de ARN

A partir de 150 mg de la muestra de ovario conservado a -70°C se extrajo el ARN total con estuche comercial (Zymo Directzol™ RNA MiniPrep, R2053) siguiendo las instrucciones del fabricante.

La extracción de ARN inició colocando el tejido en un tubo Eppendorf que contenía perlas para lisis, siempre se mantuvo en hielo, y se añadió 1 ml de Trizol y se centrifugó a 7,000 rpm durante 30 segundos. Para permitir la disociación completa se incubaron los tubos durante 5 minutos a temperatura ambiente, pasado este tiempo se añadieron 200 µl de cloroformo, se agitaron los tubos y se incubaron nuevamente a temperatura ambiente por 3 minutos para posteriormente ser centrifugados a 12,000 rpm por 30 minutos a 4°C.

Cuando terminó la centrifugación, se sacaron los tubos cuidadosamente parano mezclar las fases y se extrajo la fase acuosa (parte superior) donde se encuentra el ARN, se transfirió a un tubo nuevo y estéril y se le añadió 0.5 mL de isopropanol para precipitar el ARN. Las muestras se dejaron incubar durante toda la noche a -20°C. Al día siguiente los tubos con las muestras se centrifugaron a 12,000 rpm durante 30 minutos a 4°C, el ARN se precipitó formando un pellet de color blanco al fondo del tubo y se decantó el isopropanol para conservar solamente el pellet al cual se le agregó 1 mL de etanol al 75% mezclándolo con vortex y posteriormente se centrifugaron los tubos a 12,000

rpm durante 30 minutos a 4°C, nuevamente se decantó el etanol, los últimos 4 pasos se repitieron

3 veces y una vez finalizados estos pasos se resuspendió el ARN con agua DEPC.

La concentración, calidad y pureza del ARN obtenido se cuantificó espectrofotométricamente a 260/280 nm con NanoDrop ND-1000 Instrument (©Thermo-Fisher Scientific) y se conservó a -70°C.

8.2.4.3 Síntesis de cDNA de ovario

Usando 1.0 µg del ARN extraído de cada muestra, se sintetizó el DNA complementario (cDNA) correspondiente mediante retro-transcripción con estuche comercial (Lot. 00820375, Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR, Thermo scientific).

Las muestras de ARN que se conservaron a -70°C, los tubos de reacción enzimática 5x reaction mix y Maxima Enzyme Mix se colocaron en hielo para descongelarse. Una vez descongelados en un tubo Eppendorf estéril se preparó un “Master Mix” el cual contenía 104 µl de 5x reaction mix y 52 µl de Maxima Enzyme Mix.

Posteriormente, en un tubo Eppendorf estéril se agregó agua, el ARN y 6 mL de Master Mix, esto para cada muestra. Todos los procedimientos siempre se realizaron en hielo para impedir la degradación del ARN. Una vez realizado este procedimiento se colocaron los tubos que contenían las muestras en un termociclador (Applied Biosystems by Thermo Fisher Scientific) en el cual se incubaron inicialmente a 25°C durante 10 minutos, después a 50°C durante 30 minutos y finalmente a 85°C durante 5 minutos, terminado este último ciclo se almacenaron los tubos a -20°C para realizar posteriormente el PCR en tiempo real.

8.2.4.4 PCR en tiempo real

El cDNA almacenado a -20°C , la enzima (ARN retrotranscriptasa) los oligonucleótidos y la sonda específica para cada gen a analizar, se colocaron en hielo para su descongelación. Una vez descongelados se mezcló en una tubo eppendorf estéril 122.2 μl de enzima, 104 μl de agua, 2.6 μl de oligo L, 2.6 μl de oligo R y 2.6 μl de sonda, esto se realizó para cada gen a analizar.

Posteriormente, en una placa se agregaron 9 μl de la mezcla y 1 μl de cDNA, esto se realizó para cada muestra y se repitió para cada gen a analizar.

La expresión de los genes se determinó mediante PCR en tiempo real en sistema automatizado (LightCycler® 480 Real-Time PCR System Instrument II). 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 , 10s; 60°C , 30s; y 72°C , 1s) y 1 ciclo de enfriamiento (40°C por 30s).

*Nota: Las alícuotas de los oligonucleótidos deben estar en una concentración de 20 μM .

8.3 Análisis estadístico

Todos los datos se presentan como la media + EE. El tamaño de muestra fue de 6 ratas por grupo. Se consideró significativo un valor de $P < 0.05$. Se realizó la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) de una vía, seguida de prueba de Tukey para la comparación entre los grupos para el peso corporal, tejido adiposo, índice de adiposidad, tejido adiposo del esternón, mesentérico, ovárico, pancreático, retroperitoneal y uterino, peso ovárico, índice gonadosomático, insulina, glucosa, HOMA, triglicéridos, colesterol, adiponectina, leptina, expresión del gen que codifica al receptor de hormona luteinizante (LHCGR), presencia de receptor para LH, expresión del gen CYP19a1 y presencia de la aromatasa. Los resultados del conteo folicular se analizaron mediante Fisher LSD. Los análisis se realizaron con el programa Sigma Plot 3.5 (2005; Systat Software, Inc., San José, CA, USA).

9. RESULTADOS

9.1 Peso corporal, tejido adiposo e índice de adiposidad

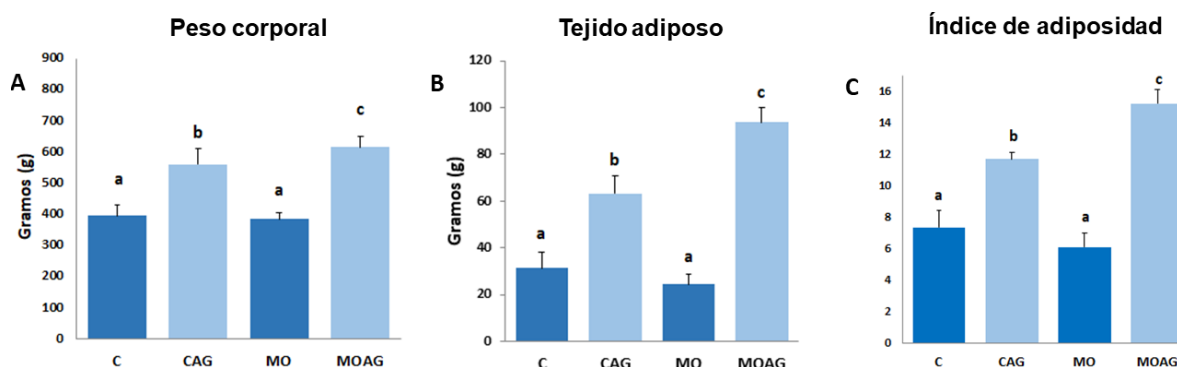


Figura 6. A) Peso corporal, B) tejido adiposo y C) índice de adiposidad de hembras. C= Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta control, CAG= Crías con dieta

En la Figura 6 se observan diferencias en el peso corporal promedio, tejido adiposo e índice de adiposidad en las ratas del grupo C, CAG, MO y MOAG. El peso corporal y el tejido adiposo promedio se incrementó en el grupo CAG y MOAG comparados contra C y MO, siendo el grupo MOAG el que muestra peso corporal promedio más elevado que el CAG (Panel A y B). De manera similar el índice de adiposidad se incrementa en los grupos CAG y MOAG, este último muestra mayor porcentaje comparado con el grupo C.

9.2 Distribución de grasa corporal

Los resultados de distribución de la grasa corporal (Figura 7), muestran que, la grasa localizada en las regiones: retroperitoneal, esternón, pancreática, mesentérica, ovárica y uterina, no presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos C y MO. Sin embargo, el peso de la grasa se incrementó en las diferentes regiones evaluadas en los grupos CAG y MOAG, comparado con C y MO, excepto en la región pancreática para el grupo MOAG.

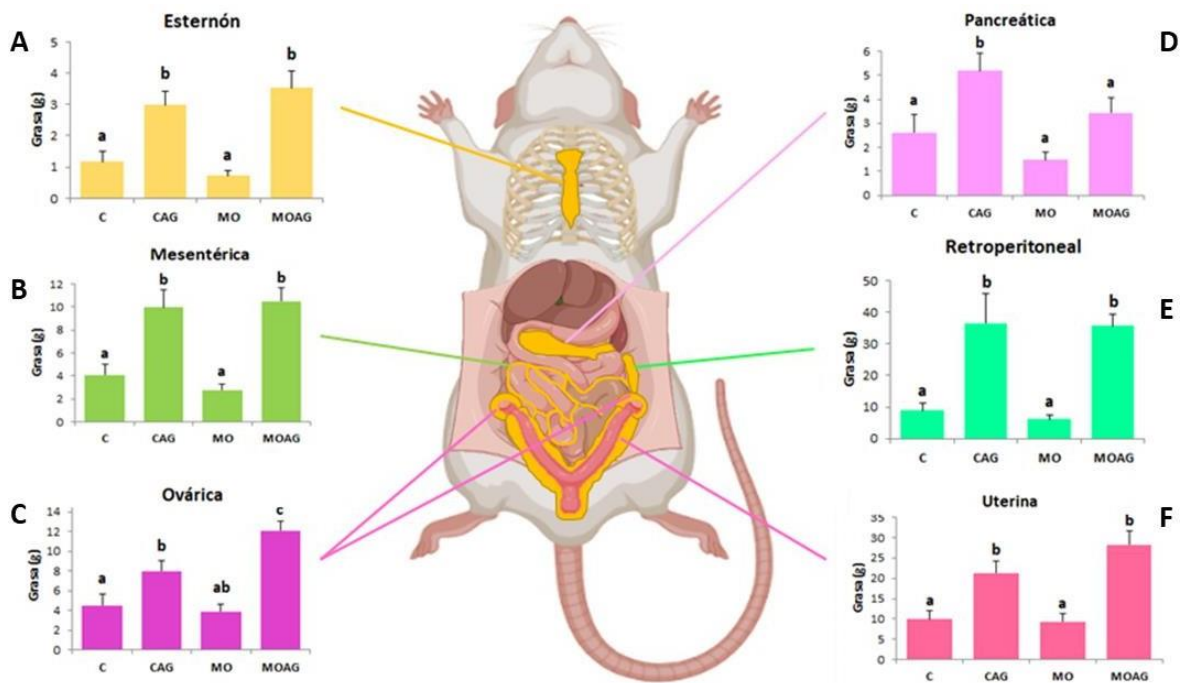


Figura 7. Imagen representativa y gráficas de la distribución de grasa corporal en ratas. Peso promedio de grasa: A) Esternón, B) Mesentérica, C) Ovárica, D) Pancreática, E) Retroperitoneal y F) Uterina. C= Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta control, CAG= Crías con dieta alta en grasa provenientes de madres que consumieron dieta control, MO= Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta alta en grasa, MOAG= Crías con dieta alta en grasa que provienen de madres que consumieron dieta alta en grasa. Todos los datos se muestran con media \pm EE., letras diferentes indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

Cabe resaltar que el peso de la grasa ovárica en ratas MO no presentó diferencias con el grupo C y CAG, a pesar de la condición de normo peso corporal de MO. Sin embargo, la distribución de grasa ovárica en MOAG es mayor incluso que el grupo CAG, que también aumentó.

9.3 Peso ovárico promedio e índice gonadosomático

El peso ovárico y el índice gonadosomático (IGS) se muestran en la figura 8, panel A y B respectivamente. No se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el peso promedio en el ovario izquierdo entre los grupos C, CAG y MO, no obstante, en el grupo MOAG se incrementó el peso del ovario izquierdo. A diferencia del ovario derecho, solo en el grupo MO se incrementó su tamaño comparado con el resto de los grupos (Panel A).

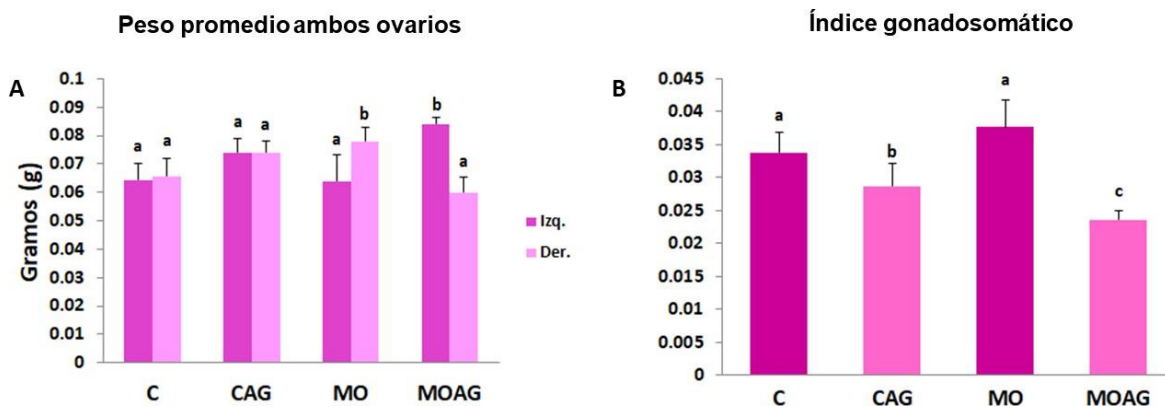


Figura 8. A) Peso promedio de ovario izquierdo y derecho; B) Índice gonadosomático.

C= Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta control, CAG= Crías con dieta alta en grasa provenientes de madres que consumieron dieta control, MO= Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta alta en grasa, MOAG= Crías con dieta alta en grasa que provienen de madres que consumieron dieta alta en grasa. Todos los datos se muestran con media \pm EE., letras diferentes indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

El IGS fue menor en ratas de madres controles con consumo de dieta alta en grasa postnatalmente (CAG) como en las ratas que estuvieron expuestas durante la gestación y postnatal a dietas altas en grasa (MOAG), este último grupo presentó el menor porcentaje de IGS.

9.4 Análisis bioquímico

Los resultados de los análisis bioquímicos, muestran las concentraciones en suero de insulina, glucosa, triglicéridos, colesterol, adiponectina y leptina, así como el HOMA-IR (Homeostatic Model Assessment-Insulin Resistance, por sus siglas en inglés), que se obtuvieron en el presente trabajo (figura 9), se puede observar que no hubo diferencias significativas entre los cuatro grupos en las concentraciones plasmáticas de insulina y colesterol. Sin embargo, las concentraciones de glucosa, triglicéridos, adiponectina y leptina, así como el índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR) presentan valores mayores en los grupos CAG, MO y MOAG, en comparación con el grupo C.

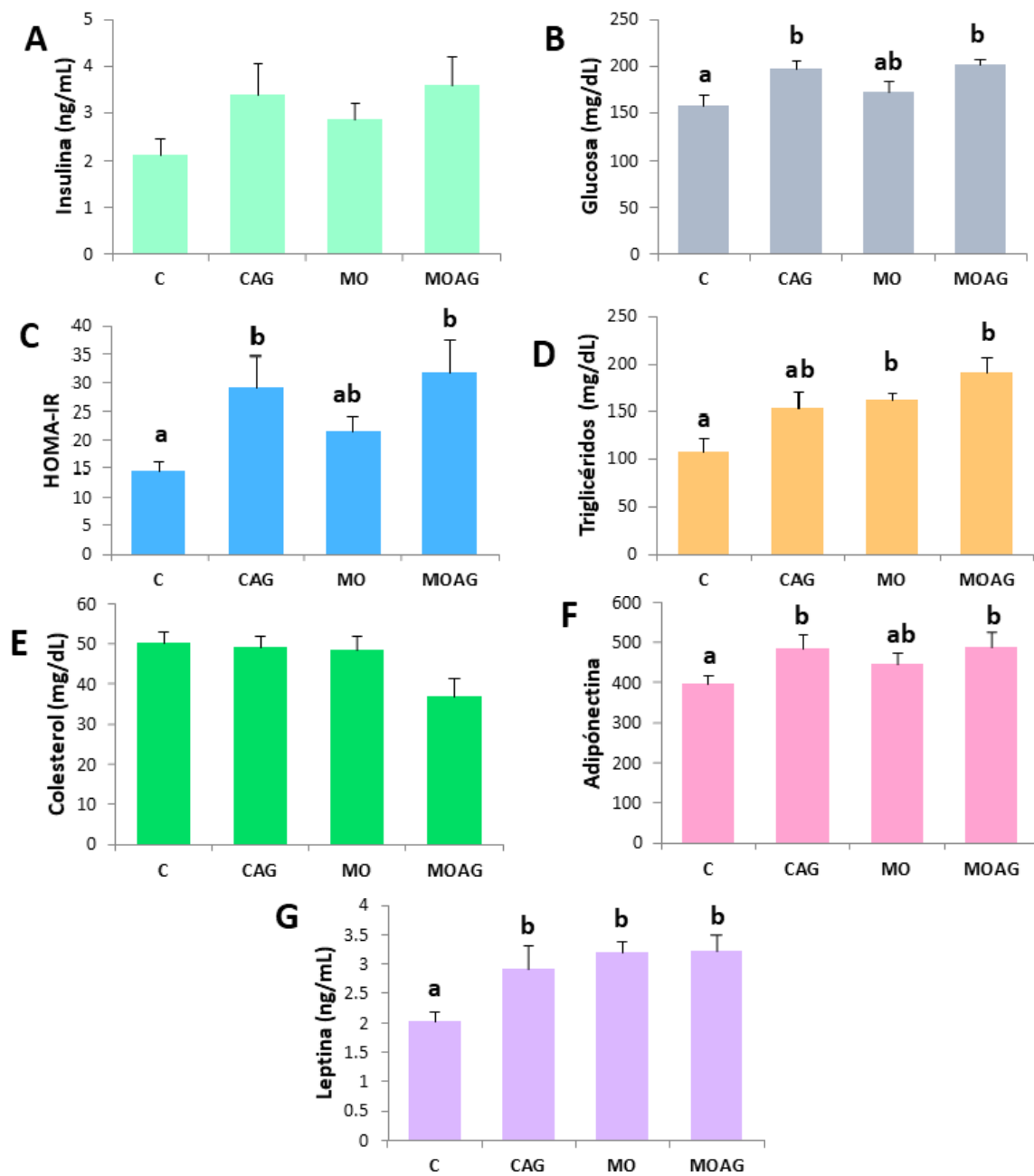


Figura 9. A) Insulina; B) Glucosa; C) HOMA-IR; D) Triglicéridos; E) Colesterol; F) Adiponectina; G) Leptina. C= Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta control, CAG= Crías con dieta alta en grasa provenientes de madres que consumieron dieta control, MO= Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta alta en grasa, MOAG= Crías con dieta alta en grasa que provienen de madres que consumieron dieta alta en grasa. Todos los datos se muestran con media \pm EE., letras diferentes indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

9.5 Análisis Histológico

En la Figura 10 se muestran fotografías representativas de cortes transversales de ovarios de los diferentes grupos C, CAG, MO y MOAG teñidos con Hematoxilina-Eosina. En las fotografías se identifican folículos en diferentes etapas de desarrollo. Presentando folículos císticos los grupos CAG, MO y MOAG.

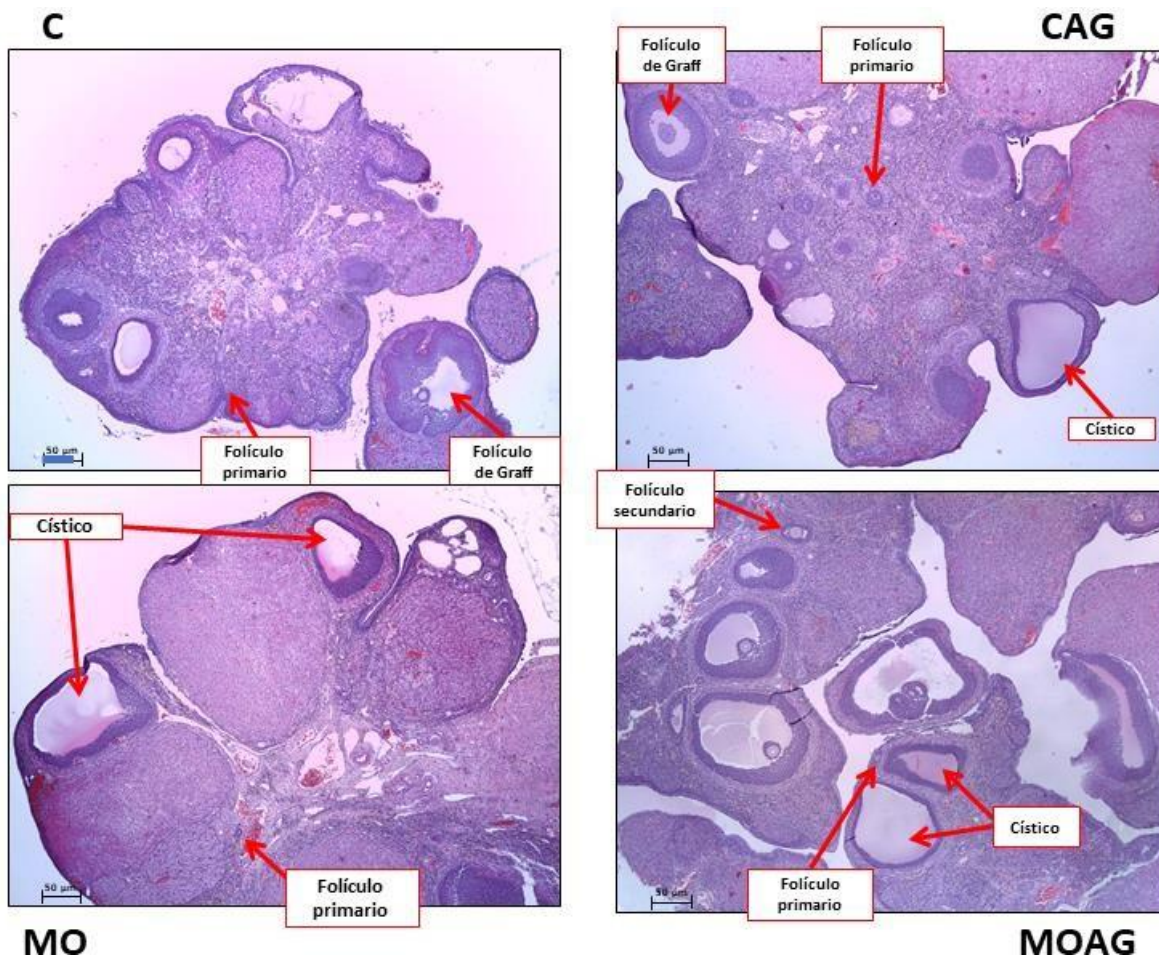


Figura 10. Fotografías representativas de corte de ovario teñidas con Hematoxilina y Eosina. C= Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta control, **CAG=** Crías con dieta alta en grasa provenientes de madres que consumieron dieta control, **MO=** Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta alta en grasa, **MOAG=** Crías con dieta alta en grasa que

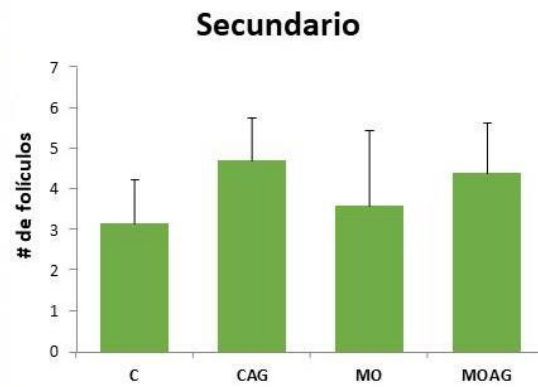
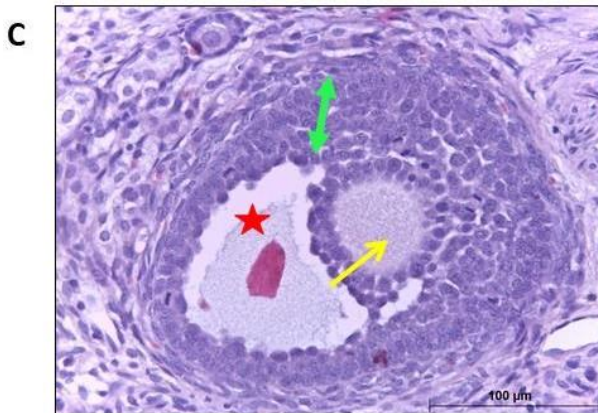
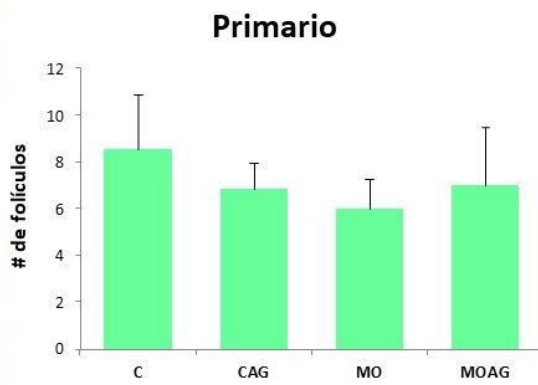
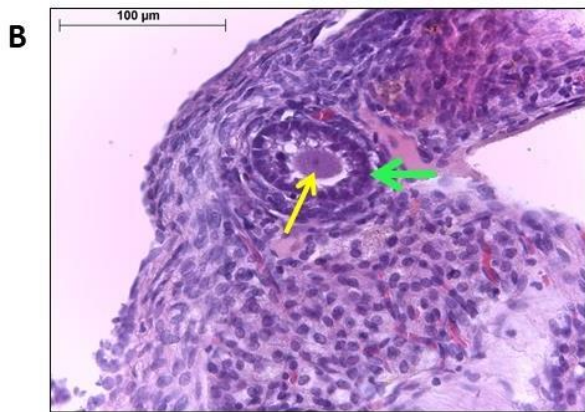
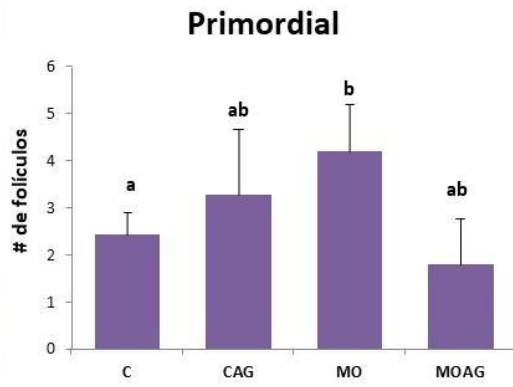
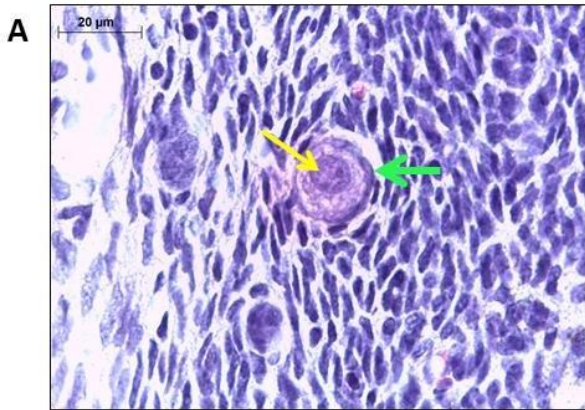
proviene de madres que consumieron dieta alta en grasa. Aumento 4x, Barra de escala= 50µm.

9.5.1 Conteo folicular

En la Figura 11 se presenta el conteo de folículos primordiales, primarios, secundarios, folículos de Graaf, císticos y cuerpos lúteos de los grupos C, CAG, MO y MOAG.

En el panel A, se observa que si bien los grupos CAG, MO y MOAG presentan mayor número de folículos primordiales con relación al control, es el grupo MO el que presentó más folículos primordiales de los cuatro grupos.

La dieta alta en grasa administrada en las ratas en diferentes periodos de tiempo (CAG, MO, MOAG) no modificó el número de folículos primarios, secundarios y cuerpos lúteos comparados con el grupo C (Panel B, C y F). Sin embargo, en los grupos CAG, MO y MOAG, el número de folículos de Graaf disminuyeron (Panel D), mientras que aumentaron el número de folículos císticos (Panel E) en comparación con el grupo C.



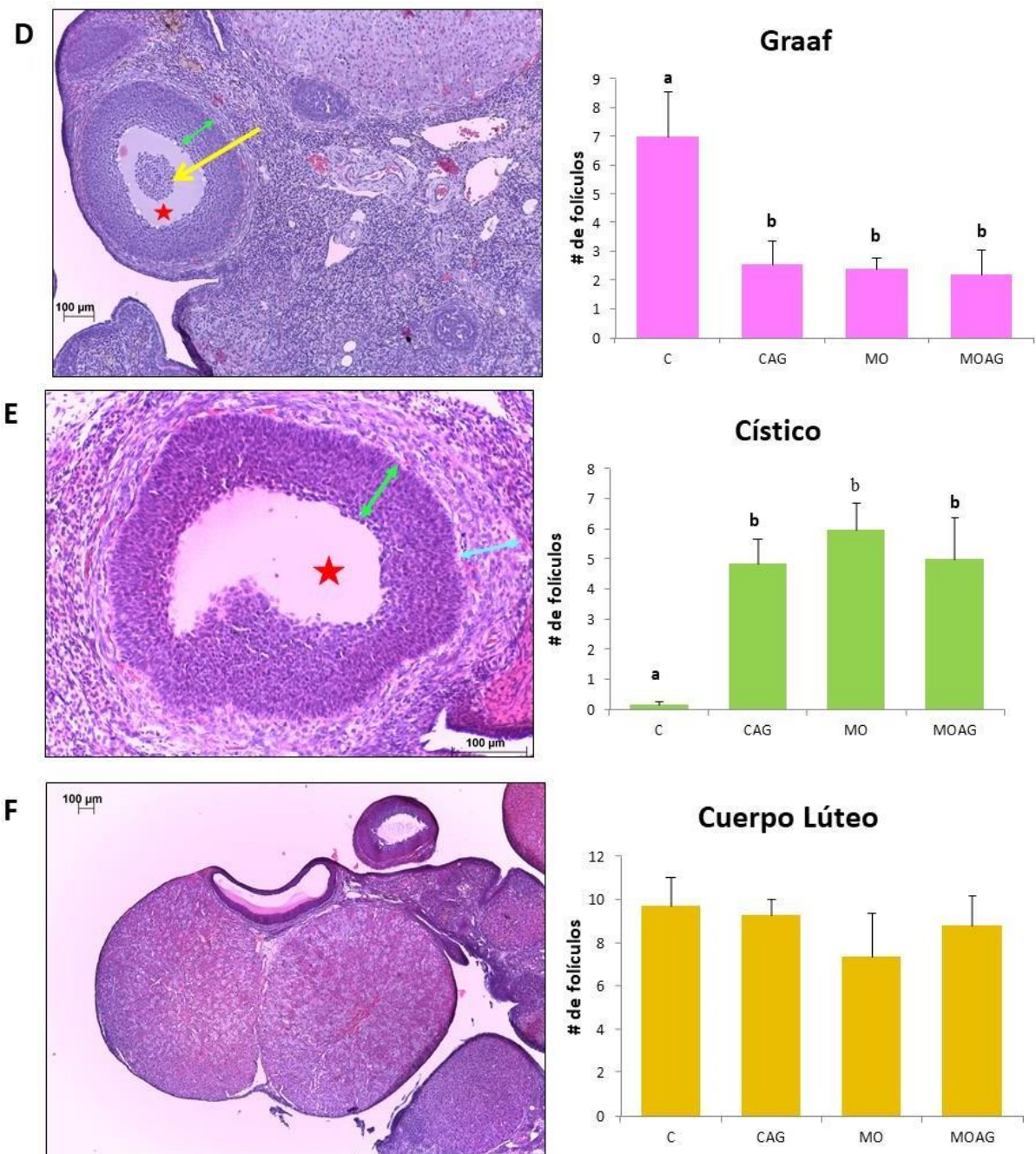


Figura 11. Fotografías representativas y gráficas con promedio de folículos ováricos. A) Primordiales. B) Primarios. C) Secundarios. D) De Graaf. E) Císticos. F) Cuerpos lúteos. C= Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta control, CAG= Crías con dieta alta en grasa provenientes de madres que consumieron dieta control, MO= Crías con dieta control provenientes de madres que

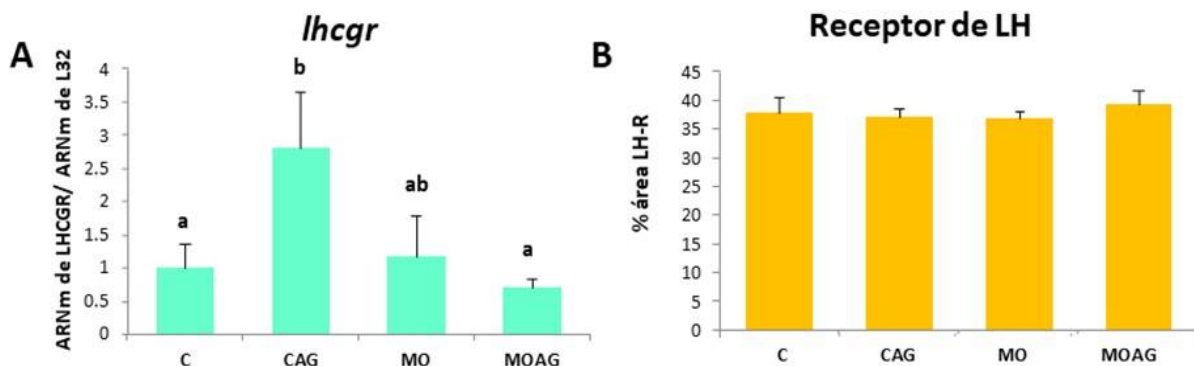
consumieron dieta alta en grasa, MOAG= Crías con dieta alta en grasa que provienen de madres que consumieron dieta alta en grasa. Todos los datos se muestran con media \pm EE., letras diferentes indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). El aumento y barra de escala se encuentra indicado en cada fotografía.

9.5.2 Expresión de genes

9.5.2.1 Receptor para Hormona Luteinizante (*lhcg*r)

La Figura 12, panel A, muestra la expresión del gen que codifica para el receptor de Hormona Luteinizante (LHCGR). El grupo CAG muestra una mayor expresión de este receptor. Además, el grupo MO presenta valores similares tanto con el grupo C como también con el grupo CAG.

En la Figura 12, panel B, se muestra el porcentaje de área promedio teñida para la proteína LH en cortes de ovario de los diferentes grupos experimentales realizado mediante inmunohistoquímica. Si bien en la expresión del gen que codifica a este receptor (Figura 12, panel A), se encuentra aumentada en el grupo CAG, en el caso de la proteína por inmunohistoquímica no se presenta diferencia significativa entre los grupos (Figura 12, panel B).



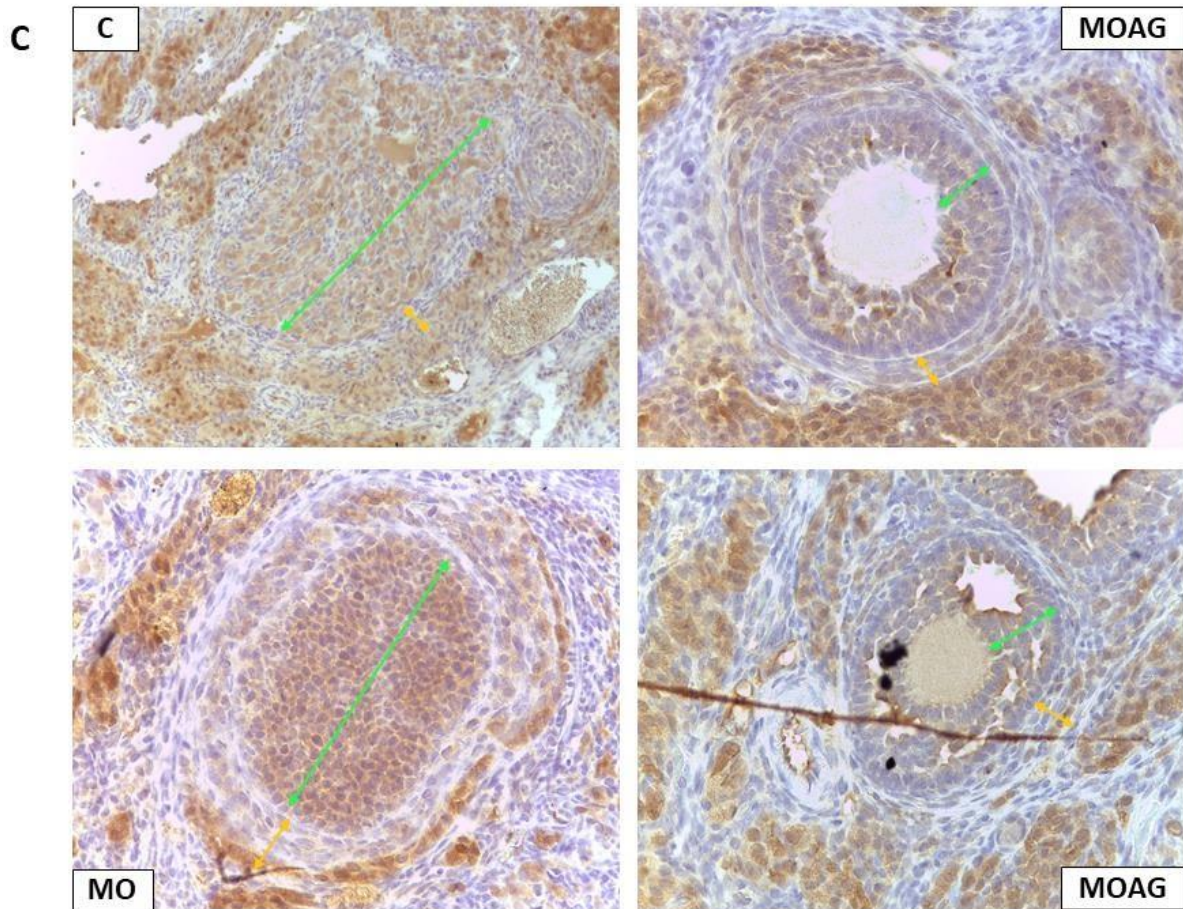


Figura 12. A) Expresión del Receptor para Hormona Luteinizante (LHCGR) en ovario de rata. A) Expresión promedio del gen que codifica para LHCGR en ovario de rata mediante PCR. B) Presencia promedio del receptor LH-R en cortes de ovario de ratas mediante inmunohistoquímica. C) Fotografías representativas del análisis de LH-R mediante inmunohistoquímica. C= Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta control, CAG= Crías con dieta alta en grasa provenientes de madres que consumieron dieta control, MO= Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta alta en grasa, MOAG= Crías con dieta alta en grasa que provienen de madres que consumieron dieta alta en grasa. Todos los datos se muestran con media \pm EE., letras diferentes indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

9.5.2.2 Gen CYP19a1 codificante para enzima Aromatasa

La expresión del gen que codifica para CYP19a1 (Figura 13, Panel A) no presenta diferencias entre los cuatro grupos. Sin embargo, la presencia de la enzima aromatasa (Figura 13, Panel B) es mayor en CAG en comparación con el grupo C, pero los grupos MO y MOAG presentan similitud estadística con los

grupos CAG y C.

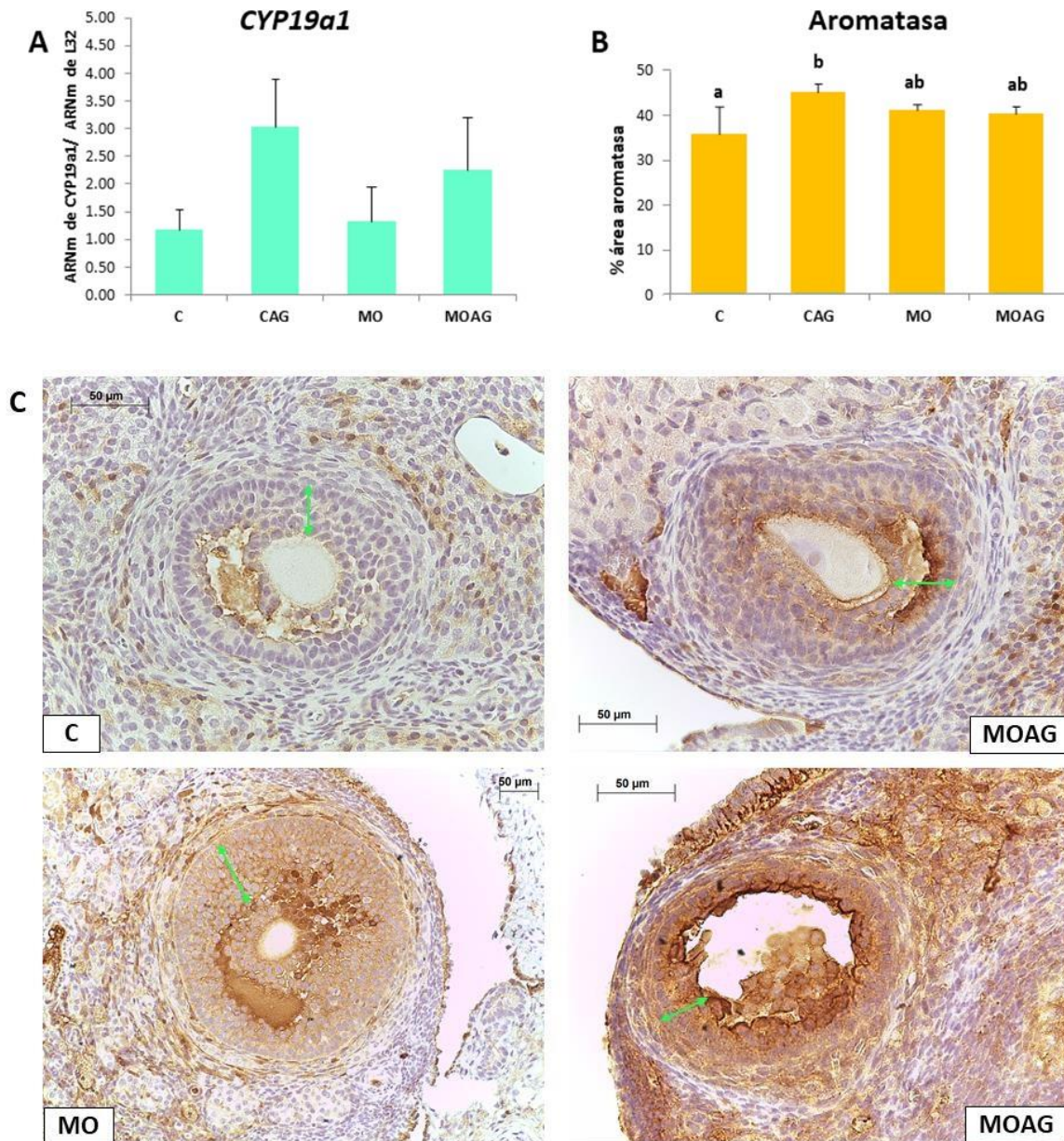


Figura 13. Expresión de CYP19 en ovario de rata. A) Expresión promedio del gen que codifica para CYP19 (CYP19a1) en ovario de rata mediante PCR. B) proteína de CYP 19 en cortes de ovario de ratas mediante inmunohistoquímica. C) Fotografías representativas del análisis de CYP19 mediante inmunohistoquímica. C= Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta control, CAG= Crías con dieta alta en grasa provenientes de madres que consumieron dieta control, MO= Crías con dieta control provenientes de madres que consumieron dieta alta en grasa, MOAG= Crías con dieta alta en grasa que provienen de madres que consumieron dieta alta en

grasa. Todos los datos se muestran con media \pm EE., letras diferentes indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

10. DISCUSIÓN

10.1 Obesidad inducida por dietas altas en grasa

Existen muchos estudios en los cuales se utilizan modelos de obesidad inducidos por dietas altas en grasa (AG) (Gawlinska *et al.* 2020; Gomes *et al.*, 2018; Tamashiro *et al.*, 2009); sin embargo, existen diferencias entre los porcentajes de grasa tanto en la dieta control (C) como en la AG, el tipo de grasa utilizada, los tiempos de exposición y los parámetros analizados, por lo que no hay un consenso en cuanto a los efectos de este tipo de dieta sobre los diferentes parámetros de obesidad. Si bien, los contenidos energéticos difieren entre dietas, la mayoría se encuentra con una composición de entre el 21% y el 60% de contenido de grasa (vegetal o animal), 20% al 50% para el contenido de carbohidratos y el 15% al 27% de proteína (Gawlinska *et al.* 2020). Incluir alto contenido de carbohidratos en la dieta también induce sobrepeso u obesidad. Estudios en ratas hembra de 8 semanas de edad con dieta alta en carbohidratos refinados (74.2% carbohidratos de los cuales el 30% son azúcares refinados como la sacarosa, 5.8% grasa y 20% proteína), comparado con ratas alimentadas con dieta Chow (65.8% carbohidratos, 3.1% grasa y 31.1% proteína) por 15 días, mostraron que el grupo que consumió dieta alta en carbohidratos aumentó el peso corporal, induciendo obesidad (Barros *et al.* 2021). En un estudio realizado por Paradis *et al.*, (2017), observaron que las crías alimentadas con dieta C que provenían de madres que consumieron dieta AG y carbohidratos (21% grasa y 30% sacarosa) durante la gestación presentaban un incremento mayor al 21% de peso corporal durante toda su vida en comparación con el grupo control. Sin embargo, la mayoría de los estudios utilizan un alto contenido de grasa en la dieta debido a que es el tipo de dieta más frecuente entre la población mundial.

En los resultados obtenidos en el presente estudio, el incremento del peso corporal promedio en el grupo CAG se debió al consumo de dieta AG como primer

insulto, ya que, como se ha mencionado, se sabe de la asociación entre el consumo de este tipo de dieta y el aumento de peso. Mientras que el aumento en el peso del grupo MOAG, el cual fue el mayor de los cuatro grupos (Figura 6, panel A), se debe a un segundo insulto después de la lactancia, donde las crías fueron alimentadas con dieta AG.

El consumo de grasa en cualquier periodo del desarrollo del individuo conduce a la obesidad; sin embargo, existe una mayor predisposición a ganar peso cuando los sujetos son expuestos a una dieta AG durante la gestación y la lactancia, condicionando al individuo a una mayor ganancia de peso (Gawlinska *et al.* 2020), cuando el tipo de dieta que consume a lo largo de su vida es alta en grasa y/o carbohidratos, esto se debe no sólo al efecto de la dieta *per se*, sino al efecto de la programación materna, ya que se sabe que las crías que provienen de madres obesas tienen mayor predisposición, no sólo a desarrollar obesidad, sino a tener aún mayor peso (Zambrano & Nathanielsz, 2013; Desai *et al.*, 2014). Estudios demuestran que el peso al nacer de crías de madres que consumen una dieta AG no muestra diferencias en comparación con el peso al nacer de las crías de ratas C, sin embargo sí presentan una mayor ganancia de peso en la vida postnatal cuando las crías continúan con el consumo de un alto contenido de grasa en su dieta (Desai *et al.* 2014; Purcell *etal.* 2011).

Si bien no se conocen con exactitud los mecanismos por los cuales se da esta programación, se ha sugerido que puede deberse a la exposición a altas concentraciones de glucosa y lípidos circulantes en la vida fetal lo que interviene en la regulación de la expresión de genes relacionados con la actividad metabólica y la exposición a niveles elevados de leptina, lo que puede llevar a que la cría presente resistencia a la leptina promoviendo hiperfagia en las crías (Freeman, 2009; Kirk *et al.* 2009).

10.2 Obesidad en etapas críticas del desarrollo

La alimentación de mujeres que planean embarazarse, embarazadas o amamantando, es fundamental, ya que se sabe que el cuerpo de la madre adaptará su propio metabolismo para poder llevar a cabo la gestación y la producción de leche (Herrera, 2000), por lo que el consumo de una dieta balanceada será benéfico para ella y su bebé. Sin embargo, cuando la dieta consumida por la madre predispone a la obesidad, esta puede presentar riesgos perinatales adversos para ella y el bebé, como lo son el riesgo de aborto espontáneo, hipertensión arterial, diabetes gestacional, entre otros, siendo los relacionados con el mantenimiento del embarazo los más comunes (Hohos & Skaznik, 2017). Además, se sabe que la obesidad materna y la exposición a dietas AG durante etapas cruciales del desarrollo de un individuo como antes de la gestación, durante la gestación y lactancia y también la primera infancia, tiene un impacto irreversible en la estructura, función y desarrollo de órganos y tejidos, predisponiendo a sus hijos a desarrollar enfermedades crónicas en su vida (Baker *et al.* 1993; Gawlinska *et al.* 2020).

La principal fuente de energía utilizada por el individuo en desarrollo es la glucosa, esta se sintetiza a partir del glicerol mediante la gluconeogénesis hepática, este glicerol se obtiene a partir de la lipólisis del tejido adiposo acumulado en la primer etapa metabólica materna, además, los ácidos grasos libres liberados mediante la lipólisis en conjunto con el glicerol pueden sintetizar triglicéridos que también son utilizados por el bebé (Zambrano *et al.*, 2016). Sin embargo, en el caso de las madres que consumen dietas AG y/o presentan obesidad, las tasas metabólicas se encuentran elevadas, exponiendo al feto a niveles demasiado altos de glucosa y lípidos, en conjunto con niveles circulantes elevados de hormonas (progesterona y cortisol), metabolitos (leptina, adipocinas) y citosinas inflamatorias (IL-6, PCR, TNF α), los cuales son perjudiciales para el desarrollo de los órganos, además de aumentar el almacenamiento de grasa y los riesgos de enfermedad posnatal del bebé (Challier *et al.*, 2008; Zambrano *et al.*, 2016).

Los efectos de la programación dada por la exposición a estos factores durante etapas críticas del desarrollo del individuo, pueden ser transmisibles de una

generación a otra, debido a que se heredan de padres a hijos mediante mecanismos epigenéticos, aunque aún no se saben los mecanismos específicos, podría ocurrir porque una o más vías metabólicas se encuentran alteradas (Zambrano *et al.*, 2016).

Si bien se han estudiado los efectos del ambiente fetal en el desarrollo del individuo, también se sabe de los efectos que puede tener la composición de la leche en este, ya que en la vida postnatal temprana la nutrición será a través de la leche materna debido a que ésta contiene los requerimientos nutricionales necesarios para el correcto crecimiento y maduración del neonato, la cantidad y calidad de los diferentes componentes de la leche (Proteína, grasa, carbohidratos, vitaminas, minerales, enzimas y hormonas) están determinados por diversos factores como: etapa de lactancia, estado de salud del bebé, edad materna, factores ambientales y la alimentación materna, los cuales son importantes para cumplir con los requerimientos nutricionales necesarios del recién nacido (Rodríguez-González *et al.*, 2020).

En los resultados del presente estudio, observamos que los grupos que estuvieron expuestos a dietas AG mediante la leche materna en el periodo de lactancia, grupos CAG y MOAG, presentaron sobrepeso, mayor adiposidad y resistencia a la insulina, siendo el grupo MOAG el que presenta los valores más elevados (Figura 6, pale A, B y C). Esto es consistente con estudios donde se ha analizado el efecto de la programación de síndrome metabólico y la presencia de obesidad en la etapa adulta debido a la obesidad materna durante la lactancia, tal es el caso del estudio realizado por Gomes *et al.* (2018), quienes alimentaron a un grupo de ratas hembras con dieta C (4.1% grasa) desde el destete (día 21 postnatal), durante toda su vida y durante la gestación, al momento del parto este grupo se dividió en dos, uno se alimentó durante el periodo de lactancia con dieta C y al otro con dieta AG (4.9% grasa). Al momento del destete (día postnatal 21), las crías de ambos grupos fueron alimentadas con dieta C hasta el día 91 de vida donde se llevó a cabo la eutanasia. Los resultados mostraron que las madres que consumieron dieta AG presentaron un incremento en la grasa corporal y resistencia a la insulina, por lo que su leche contenía mayor concentración de glucosa, proteína, colesterol y

triglicéridos, además, las crías de estas madres también presentaban sobrepeso, hiperfagia, mayor adiposidad, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina, hipertrofia de islotes pancreáticos y aumento y proliferación de células β -pancreáticas.

Estas investigaciones nos muestran lo importante que es la alimentación en periodos críticos del desarrollo y los posibles padecimientos que puede presentar el individuo debido a la programación recibida en estas, tales como hipertensión (Baker *et al.*, 1993), dislipidemias, enfermedades cardiovasculares, problemas de aprendizaje (Rincel *et al.*, 2018), conductuales (Rodríguez *et al.*, 2012), obesidad, depresión y ansiedad (Giriko *et al.*, 2013), enfermedades pancreáticas (Zambrano *et al.*, 2016), desarrollo de hígado graso (Lomas *et al.*, 2018), así como disfunciones reproductivas (Rodríguez-González *et al.*, 2015).

10.3 Dietas altas en grasa y su efecto en la adiposidad

Se ha estudiado el efecto de las dietas AG en la cantidad de tejido adiposo e índice de adiposidad que presenta el individuo que las consume; en nuestro estudio podemos observar que los grupos que expuestos a este tipo de dieta durante la gestación y/o la lactancia (CAG y MOAG), presentaron porcentajes significativamente mayores de tejido adiposo e índice de adiposidad comparados con los grupos C y MO (Figura 6, panel B y C), siendo el grupos MOAG el que presenta los valores más altos, esto puede deberse a que el consumo de dietas AG aumenta la deposición de lípidos en los tejidos adiposos y no adiposos (Hohos & Skaznik, 2017).

Nuestros resultados coinciden con lo reportado por Desai *et al.* (2014), en su experimento desarrollaron un modelo de obesidad materna mediante dieta AG consumida durante el embarazo y la lactancia, para esto formaron dos grupos de ratas hembras, al primero le dieron dieta C (10% grasa) y a otro dieta AG (60% grasa) esto durante toda su vida incluyendo la gestación y la lactancia, además se les realizó una revisión con rayos X de energía dual (DEXA) para evaluar el porcentaje de grasa corporal y la masa corporal magra. Las crías recién nacidas

se dividieron en dos subgrupos y un subgrupo de cada madre fue cambiado para ser amamantado por madres que consumieron dietas diferentes, por lo que dos grupos se expusieron durante gestación y lactancia a dieta C o AG y otros dos grupos se expusieron a dieta C o AG sólo durante gestación o lactancia; de igual forma se les realizó una revisión mediante DEXA para analizar la masa magra y porcentaje de grasa corporal de las crías. Los resultados obtenidos por Desai *et al.* (2014), mostraron que las madres que consumieron dieta alta en grasa presentaron un mayor porcentaje de grasa corporal y menos masa magra, mientras que las crías expuestas durante la gestación y la lactancia a dieta alta en grasa y las crías expuestas solo durante la lactancia a este tipo de dieta, presentaron porcentajes significativamente mayores de grasa corporal.

De igual forma, Tamashiro *et al.* (2009), en su estudio formaron dos grupos de ratas preñadas de los cuales, a uno se le dio dieta estándar (17% grasa) y a otro dieta AG (60% grasa), posteriormente sus crías fueron divididas en dos subgrupos y se alimentó a uno con dieta estándar y a otro con AAG, las crías fueron pesadas desde el día 1, 7, 14 y 21 postnatales, observando que tanto las madres como las crías que consumieron dietas AG presentan mayor peso corporal que el grupo que consumieron dieta estándar, además de determinar mediante las concentraciones de leptina que estos grupos presentan una mayor adiposidad, esto es consistente con lo reportado en nuestra investigación, en donde el grupo MOAG presenta tanto mayor peso corporal como índice de adiposidad (figura 6, panel A y C).

10.4 Efecto de las dietas altas en grasa en la reproducción femenina

Si bien la obesidad afecta la salud en general de los individuos, tiene un papel particularmente negativo en la función reproductiva alterando el eje hipotálamo-hipófisis-gónada (Flores *et al.*, 2009), propiciando alteraciones como el SOP. Sin embargo, no sólo afecta a la fertilidad de la hembra, sino que propicia un desequilibrio en todo el sistema del individuo.

10.5 Distribución de grasa corporal

Uno de los efectos más marcados de la obesidad se da mediante la adiposidad y su distribución corporal, en muchas especies (humanos, ratones, ratas) se presenta un dimorfismo sexual, ya que en machos regularmente se encuentra mayor proporción de grasa en el área abdominal (distribución androide) y en las hembras se encuentra en mayor proporción en zonas como la cadera, muslos y glúteos (distribución ginecoide) (Rosales, 2012). Sin embargo, se ha observado que el consumo de dietas altas en grasa por las madres y/o por la descendencia altera estos patrones de distribución (Ornellas *et al.*, 2013).

En nuestro estudio no sólo observamos que la adiposidad en los grupos CAG y MOAG se encuentra incrementada en comparación con los grupos C y MO (Figura 6, panel B), sino que la distribución de este tejido también varía en comparación con estos grupos, ya que CAG y MOAG tienen mayor presencia de tejido adiposo en la zona visceral (mesentérica, ovárica, pancreática, retroperitoneal y uterina) (Figura 7, panel B, C, D, E y F). Esto es consistente con estudios como el realizado por Ornellas *et al.* (2013), en el cual formaron dos grupos de ratones hembra, al primero se les administró dieta C (64% carbohidratos, 19% proteínas y 17% grasa) y al otro dieta AG (32% carbohidratos, 19% proteínas y 49% grasa), esto después del destete y durante la gestación y la lactancia, sus crías fueron separadas en hembras y machos a su nacimiento y a partir del destete y durante 12 semanas consumieron la misma dieta que consumía su madre (C o AG), edad a la que fueron sacrificadas. Analizaron la grasa retroperitoneal y la grasa abdominal, las cuales se presentaron en mayor proporción en los grupos de machos y hembras provenientes de madres que consumieron dieta AG, además las hembras provenientes de madres con dieta AG presentaron mayor porcentaje de grasa abdominal incluso que en los machos de madres con dieta C. No sólo la proporción de grasa fue mayor en los descendientes de madres de dietas AG, sino que también la cantidad y el tamaño de los adipocitos de esta descendencia son mayores, lo que hace notar el efecto de la dieta en la distribución de la grasa corporal.

Estudios de la distribución de la grasa corporal en pacientes que presentan SOP, muestran que su distribución se encuentra mayormente en la región visceral (Barrea *et al.*, 2021), ya que dicha distribución se encuentra alterada, lo que influye negativamente en el metabolismo y la reproducción (Yildiz *et al.*, 2010; Zhu *et al.*, 2021). Esta distribución de grasa, característica del SOP, la podemos observar en nuestros grupos CAG y MOAG (Figura 7), esto podría deberse a no sólo la mayor deposición de lípidos en órganos no adiposos, sino también a la hipertrofia de los adipocitos que lo conforman, lo cual posiblemente se encuentren exacerbado en MOAG.

En el caso específico del tejido adiposo periovárico, observamos que en los grupos que consumieron dietas AG en la gestación y/o en la vida posnatal se encuentran en mayor proporción, siendo en el grupo MOAG donde se suma el insulto de la programación y el efecto mismo de la dieta AG. Esto es importante, ya que el tejido adiposo funciona como un órgano endócrino y parácrino, el cual produce una gran variedad de adipocinas con efectos biológicos, algunos de los cuales podrían ser reproductivos (Gambineri *et al.*, 2002), en este caso, las adipocinas secretadas por el tejido adiposo periovárico, tienen efecto sobre el proceso de ovulación y la esteroidogénesis, como la leptina, de la cual existen receptores en las células de la teca en donde al unirse la leptina a su receptor, aumenta la síntesis de andrógenos (Mitchell *et al.*, 2005).

10.6 Peso ovárico e índice gonadosomático (IGS)

Se sabe que el aumento en el peso del ovario se debe a que los ovocitos no son liberados mediante la ruptura del folículo, sino que permanecen dentro del ovario incrementando su tamaño y peso (Ortíz *et al.*, 2018). Los resultados de nuestra investigación muestran que los grupos expuesto durante la gestación a dietas AG, (MO y MOAG), presentan un mayor peso de los ovarios (Figura 8, panel A), esto podría deberse a la obesidad materna, ya que se sabe que esta tiene influencia en el peso del ovario y la formación de folículos císticos, tal como lo demostraron Garza y Delgadillo (2020) y Cekic (2022), quienes determinaron que la dieta materna AG

genera un estado de inflamación en el cual los macrófagos residentes del ovario secretan citosinas proinflamatorias como TNF- α e IL-6, las cuales promueven la proliferación celular de las membranas foliculares y la síntesis de andrógenos originando la formación de estos folículos císticos.

Además, en nuestros resultados podemos observar que el IGS es menor en los grupos CAG y MOAG (Figura 8, panel B), siendo el grupo MOAG el que presenta el menor valor de todos los grupos, dado que el IGS nos permite determinar la proporción que ocupa el peso del ovario en todo el peso corporal, al presentar el mayor peso corporal de todos los grupos (Figura 6, panel A) su IGS es el menor.

10.7 Parámetros metabólicos en obesidad y SOP

Se sabe que las personas que padecen obesidad presentan parámetros metabólicos alterados, como lo son mayores concentraciones de leptina, glucosa y triglicéridos, entre otros (Flores *et al.*, 2011). En nuestros grupos experimentales que estuvieron expuestos a dietas AG en la etapa pre y/o postnatal (CAG, MO y MOAG), hayan presentado obesidad o no, pudimos observar alteraciones en las concentraciones de algunos parámetros metabólicos característicos de la obesidad como lo son concentraciones elevadas de triglicéridos, glucosa y leptina, así como en el índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR, por sus siglas en inglés) (Figura 9, panel B, C, D y G), esto es debido a que se sabe que en el caso de las mujeres gestantes o lactando que presentan obesidad, estos parámetros alterados no sólo tienen efecto en ella sino que predisponen a sus crías a presentar estas mismas alteraciones, esto podemos corroborarlo con estudios como el realizado por Tamashiro *et al.* (2009), antes mencionado, en el cual, además de medir el peso corporal determinaron las concentraciones de leptina tanto en madres como en crías y observaron que esta hormona se encuentra en mayor concentración en el grupo de madres obesas y sus crías, en comparación con los grupos de dieta control.

Se cree que ciertas hormonas (leptina, adiponectina) y citosinas (TNF- α , IL-6) secretadas por este tejido tienen efecto directo en la regulación y buen

funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis- ovario y a su vez, las hormonas secretadas por el ovario parecen tener un impacto en la función y distribución de este tejido en el área abdominal, característica de las pacientes con SOP (Blouin *et al.*, 2009).

Las pacientes con SOP regularmente presentan obesidad, resistencia a la insulina, niveles elevados de glucosa en sangre, dislipidemias e hiperleptinemia (Broughton y Moley, 2017).

Las concentraciones de leptina obtenida en nuestros grupos CAG, MO y MOAG, fue elevada en comparación con el grupo C (Figura 9, panel G), lo que puede deberse a la cantidad de tejido adiposo que presentaba cada grupo. Esto es importante ya que se sabe que la leptina es una hormona peptídica, que si bien se relaciona principalmente con “la señal de saciedad” a nivel hipotalámico, existen estudios donde se ha demostrado que también existen receptores a esta hormona en las células de la teca actuando sinérgicamente con la LH para la síntesis de andrógenos, lo que podría contribuir al hiperandrogenismo en las pacientes con SOP, en las cuales se sabe que los niveles de leptina se encuentran aumentados, esto debido también a la cantidad exacerbada de tejido adiposo en estos pacientes (Barrea *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2014).

En el caso de las concentraciones de adiponectina analizada en el presente estudio (Figura 9, panel F), determinamos que los grupos que estuvieron expuestos a dietas altas en grasa presentan mayor concentración de esta hormona que el grupo C, lo cual difiere con lo reportado en la literatura en donde se tienen datos de que la adiponectina se encuentra regulada negativamente en las personas obesas y en pacientes obesas con SOP, lo cual podría estar relacionado con la resistencia a la insulina la cual se encuentra incrementada en los pacientes con SOP (Barrea *et al.*, 2021; Chang y Cook-Andersen, 2013).

Una de las hormonas que más se han estudiado es la insulina, debido a que esta juega un papel muy importante no sólo en la captación de glucosa por las células de diferentes tejidos, sino que también promueve la lipogénesis en tejido adiposo y en el caso específico de la reproducción en hembras actúa a nivel hipotalámico en el

núcleo arcuato, hipofisiario estimulando la síntesis de LH y a nivel ovárico en donde promueve de manera sinérgica la esteroidogénesis con la LH en las células tecales (Franks *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2014). Además, reduce la síntesis de la globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG), lo que resulta en niveles elevados de andrógenos disponibles, la que es una característica de las pacientes con SOP; si bien no encontramos diferencias significativas entre nuestros grupos experimentales, sí podemos observar una mayor resistencia a la insulina en el caso de los grupos CAG, MO y MOAG (figura 9, panel C) lo que es consistente con estudios que muestran que las mujeres que presentan SOP sin importar si son obesas o no presentan una mayor resistencia a la acción de la insulina (Ablan 2016; Brothers *et al.*, 2010; Di Vall *et al.*, 2015).

El metabolismo de lípidos en las pacientes con SOP se encuentra alterado, esto debido al hiperandrogenismo y la resistencia a la insulina, ya que por un lado los andrógenos promueven la lipólisis en el tejido adiposo visceral y por otro lado, como se mencionó, la insulina promueve la lipogénesis en el tejido adiposo, sin embargo, al existir una resistencia a esta hormona, aumenta la movilización de los ácidos grasos, por lo que las pacientes presentan un aumento de los triglicéridos (Diamanti *et al.*, 2007); esta característica podemos observarla en nuestros grupos CAG, MO y MOAG (figura 9, panel D) los cuales desarrollaron SOP.

10.8 Análisis morfológico del ovario

El ovario es un órgano con funciones endócrinas, teniendo un papel vital en la reproducción femenina (Botella, 1995; Ortíz *et al.*, 2018), en el caso de las pacientes con SOP presenta características particulares tales como: incremento en el tamaño y peso, presencia de folículos císticos debido a la detención en el desarrollo folicular y mayor producción de andrógenos (Orias, 2021). Además, es una de las características necesarias para determinar la presencia de este síndrome (Facio *et al.*, 2015).

En nuestros resultados observamos que los grupos que estuvieron expuestos a dietas AG pre y/o postnatalmente (CAG, MO y MOAG), presentaron ovario con

morfología poliquística (Figura 10), el cual se encuentra caracterizado por la presencia de numerosos folículos císticos. Estudios donde se han administrado dietas AG, ya sea de primer insulto como en los experimentos realizados por Patel *et al.* en 2018, en el cual a ratas de entre 3-4 semanas de vida se les alimentó con dietas AG (36% carbohidratos, 20% proteína, 40% grasa y 4% otros: 530 kcal) durante 105 días y después fueron sacrificadas y analizadas; o de segundo insulto como los experimentos realizados por Cekic *et al.* en 2022, donde tanto a las madres como a las crías se les alimentó con dietas AG (30% grasa, 36.9% proteína, 3.9% vitaminas y minerales), en ambos casos las ratas presentaron ovarios con morfología poliquística. En nuestros experimentos podemos observar ambos efectos de la dieta sobre el desarrollo de ovario poliquístico, en el caso del grupo CAG (Figura 10) podemos observar el efecto de la dieta como primer insulto, mientras que en el grupo MOAG (Figura 10) se observa el efecto de la dieta como segundo insulto, ya que ambos presentan ovario poliquístico. Además, el grupo MO también presenta un ovario con estas características, por lo que podemos pensar que la programación para que las crías lo presenten, existe independientemente del tipo de dieta que consuman estas durante su vida.

10.9 Conteo folicular

La determinación de si un ovario presenta morfología poliquística se da mediante el conteo folicular, específicamente de los folículos císticos presentes, debido a que el estudio del número y tipo de folículos aporta información importante respecto a la función y respuesta ovárica, en especial la relación que existe entre la foliculogénesis y los factores que regulan este proceso (Myers *et al.*, 2004; Lonegro *et al.*, 2016). Además, se sabe que existen diversos factores que pueden alterar el correcto desarrollo de los folículos comprometiendo así la fertilidad de la hembra, entre estos factores se encuentra el ambiente hormonal, como en el caso del SOP (Chang y Cook, 2013).

Los resultados de nuestra investigación muestran el conteo total de los folículos ováricos en diferentes etapas de su desarrollo (primordial, primario, secundario, De Graaf, cístico y cuerpo lúteo) (Figura 11); donde podemos

observar que, en cuanto a la presencia de folículos primordiales, los grupos que expuestos a dietas AG (CAG, MO y MOAG), tuvieron mayor presencia de estos en comparación con el grupo C (Figura 11, panel A), si bien no se sabe exactamente por qué sucede esto, sí se han realizado estudios donde se ha observado el mismo resultado, tal es el caso del estudio realizado o por Tsoulis *et al.* (2016) en el cual, un grupo de ratas hembra fueron alimentadas con dieta C (14% grasa) y otro grupo con dieta AG (45% grasa) durante toda su vida incluida la gestación y la lactancia, al destete, las crías hembras se dividieron en dos subgrupos, a un subgrupo se le alimentó con dieta C y a otro con dieta AG. Se obtuvieron y analizaron los ovarios de las crías en el día embrionario 20, día postnatal 4, 27 y 120. En el conteo folicular realizado en ovarios de crías de 120 días de edad observaron que presentaban un mayor número de folículos primordiales aquellas crías que procedían de madres que consumieron dietas AG. Además, las crías que consumieron dieta AG después del destete también presento un número mayor de folículos primordiales en comparación con el grupo control, lo cual es consistente con los resultados obtenidos en el grupo CAG del presente estudio (Figura 11, panel A).

En cuanto a los folículos primarios y secundarios no hubo diferencias entre los cuatro grupos (Figura 11, panel B y C), esto podría deberse a que el desarrollo de los folículos tal cual no se ve alterado en este punto, sino que es hasta la fase de folículo de Graaf donde se comienzan a desarrollar los folículos císticos (Ambrosetti *et al.*, 2016); Sin embargo, esta idea se contrapone con lo encontrado en nuestros resultados en cuanto a los cuerpos lúteos, ya que no se encontró diferencias entre los cuatro grupos estudiados (Figura 11, panel F), ya que si no existe la ovulación normal en las hembras con ovario con morfología poliquística, entonces no debería haber presencia de cuerpos lúteos, aunque existen estudios realizados en ratas que consumieron dietas AG, donde presentan un número menor o igual que el control de folículos primordiales, mientras que no presentan diferencias significativas en los folículos primarios, secundarios y cuerpos lúteos (Ambrosetti *et al.*, 2016; Cheong *et al.*, 2014).

El conteo de folículos císticos a nuestros grupos experimentales, mostró que todos los grupos expuestos a dietas AG pre y/o postnatalmente (CAG, MO y MOAG), tuvieron un mayor número en comparación de folículos císticos con el grupo C (Figura 11, panel E). Estudios donde se analizó el efecto intergeneracional a la exposición a dietas AG, siendo la gestación la etapa de exposición (Paula *et al.*, 2021), mostraron que las crías expuestas, de manera gestacional, desarrollaron folículos císticos en el ovario, lo que corresponde con los resultados encontrados en nuestro estudio para los grupos MO y MOAG. Además, estudios realizados por Patel *et al.*, (2018) demostraron que una dieta AG consumida durante la pre-pubertad predispone a la hembra a presentar mayor número de folículos císticos, lo que es consistente con nuestro grupo CAG (Figura 11, panel E). Determinando así que nuestros grupos CAG, MO y MOAG, presentaron ovario con morfología poliquística.

10.10 Factores implicados en desarrollo folicular

El SOP es muy complejo, ya que se encuentra influenciado por factores ambientales y genéticos (Kosova y Urbanek, 2012). La sub o sobre expresión de ciertos genes son considerados como importantes para el desarrollo o la permanencia de este síndrome en las pacientes (Kosova y Urbanek, 2012). Se han analizado muchos genes que podrían estar implicados en el desarrollo de esta patología, tales como los relacionados con la función de las hormonas hipofisarias(LH y FSH) en el ovario y los folículos, como las relacionadas con la esteroidogénesis folicular (CYP17a1, CYP19a1, entre otros) (Mira, 2005).

El desarrollo folicular depende del equilibrio entre hormonas y enzimas presentes en las células foliculares, entre los procesos más importantes se encuentra la esteroidogénesis, en la cual diversas enzimas son las encargadas de transformar colesterol en andrógenos y a su vez estos en estrógenos, entre las cuales se encuentran la CYP11A la cual transforma el colesterol en pregnenolona, la CYP17 que transforma pregnenolona en progesterona, ambas presentes en las células de la teca; así como en las células de la granulosa se

encuentra CYP19 la cual se encarga de transformar los andrógenos en estrógenos (Balen *et al.*,2005).

10.11 Receptor para hormona Luteinizante

La hormona luteinizante (LH) tiene acción directa sobre las células de la teca y su actividad esteroidogénica, gracias a la unión de LH con su receptor membranal. Además, este receptor también se presenta en las células de la granulosa, donde ayudará a la ovulación al unirse la LH en el folículo preovulatorio dado que este podrá responder al pico de la hormona (McAllister *et al.*, 2015). En el SOP la concentración de hormona luteinizante se encuentra aumentada, por ende, la respuesta folicular a esta hormona también, esto incrementa la producción de andrógenos y la probabilidad de ciclos anovulatorios (Norman *et al.*, 2007).

Estudios realizados en mujeres con SOP, demuestran que existe una mayor expresión del gen que codifica para el receptor de LH (LHCGR) en las células de la teca y la granulosa (Liu *et al.*, 2012). Además, un estudio realizado por Patel (2018), en donde alimentó a ratas con dietas altas en grasa desde la prepubertad y durante toda su vida mostró que existe un aumento en la expresión de este gen, tal como nuestro grupo CAG (Figura 12, panel A), teniendo efecto en la expresión de este receptor.

10.12 Expresión de CYP19a1 y presencia de aromatasa

La esteroidogénesis es un proceso fundamental para el correcto funcionamiento del eje reproductor, esto debido a las hormonas resultantes de dicho proceso, por lo que una desregulación de este causará efectos adversos en la reproducción de las hembras, entre los cuales podemos observar el SOP.

Una de las enzimas más importantes en este proceso de esteroidogénesis es la aromatasa, la cual se encarga de transformar en la testosterona (T)

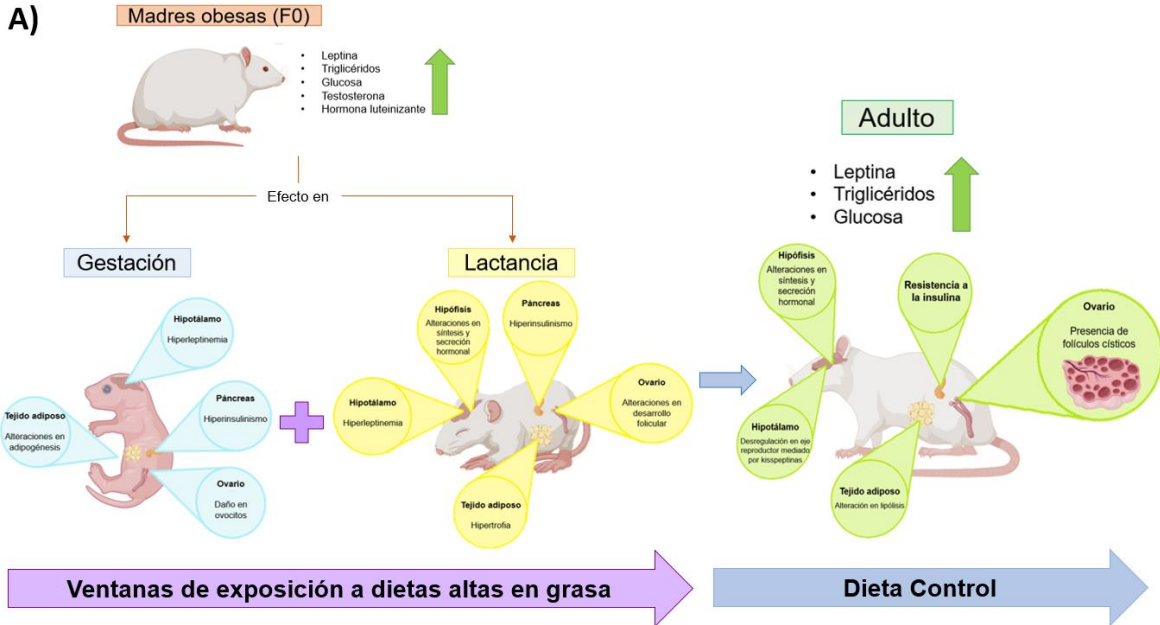
proveniente de las células de la teca en estradiol (E2) en las células de la granulosa (Heidarzadehpilehrood *et al.*,2021) , por lo que era necesario analizar su presencia y al gen que la codifica (CYP19a1).

En el presente trabajo, encontramos que los grupos CAG, MO y MOAG, tuvieron una mayor presencia de aromatasa en comparación con el grupo C (Figura 13, panel B), esto es consistente con estudios realizados por Lombardi *et al.* (2014) en los cuales compararon la presencia de esta enzima, entre un grupo de ratas C contra un grupo de ratas con ovario poliquístico, donde observaron que los folículos de las ratas con el síndrome tenían mayor presencia de esta enzima.

Si bien, en condiciones normales la enzima aromatasa propicia una aromatización de la mayoría de los andrógenos sintetizados por las células tecales, en el SOP se puede observar un desequilibrio entre la producción de andrógenos y estrógenos, por lo que uno de los criterios para su diagnóstico es la presencia de hiperandrogenismo clínico o bioquímico (Ventura y Hernández, 2019; Sir *et al.*, 2013).

De acuerdo con todos los resultados obtenidos en el presente trabajo, podemos observar que la exposición a dietas AG durante etapas críticas del desarrollo como son antes, durante la gestación y la lactancia; así como el consumo prolongado de este tipo de dieta durante toda la vida de las crías hembras, programa a estas a desarrollar obesidad, altera los patrones de distribución de grasa corporal característicos de las hembras promoviendo una mayor acumulación a nivel central y también con lleva a alteraciones en hormonas relacionadas con la ingesta de alimentos y la reproducción como lo son la leptina e insulina, promoviendo un desarrollo folicular anormal lo cual promueve la formación del ovario con morfología poliquística (Figura 14).

Grupo MO



Grupo MOAG

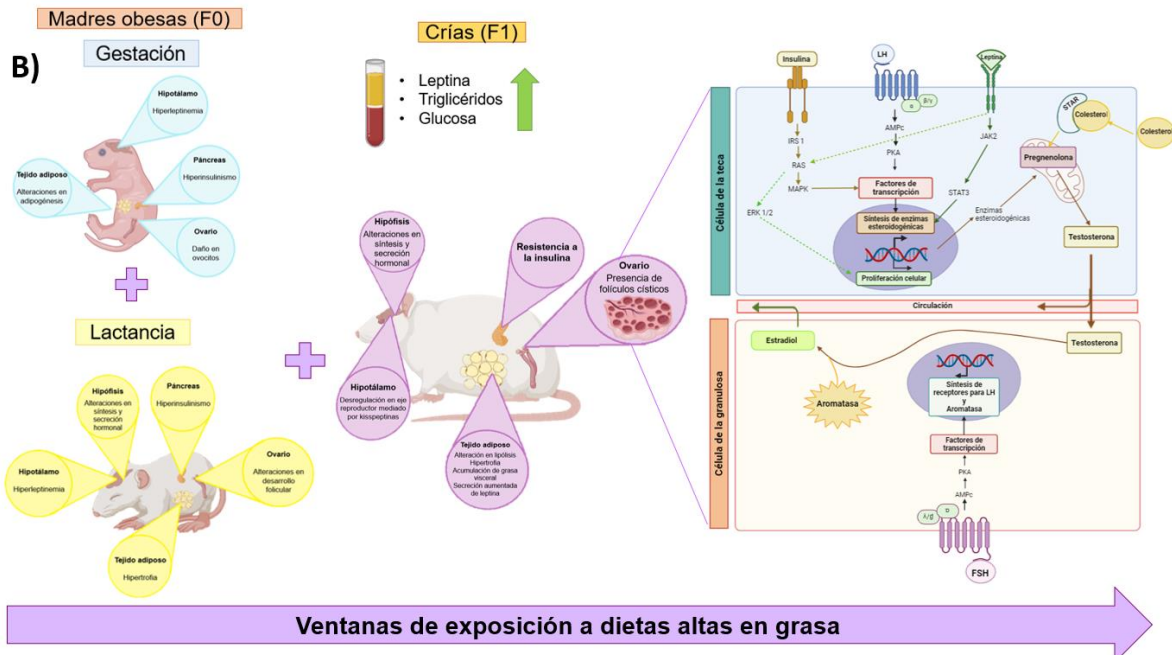


Figura 14. Resumen de resultados. A) Efecto de la exposición a dietas altas en grasa durante las etapas de gestación y lactancia (grupo MO), B) Efecto de la exposición a dietas altas en grasa durante la vida pre y postnatal de la cría (grupo MOAG) y posible mecanismo de acción que se presenta en las células de la granulosa y la teca.

11. CONCLUSIÓN

El presente estudio nos ayudó a establecer el efecto que tiene la exposición a dieta AG en el desarrollo de SOP, dado que al exponer a este tipo de dieta a nuestras crías en etapas críticas del desarrollo como son la gestación, lactancia y/o vida postnatal, estas presentaron características tales como ovario con morfología poloquística y presencia de resistencia a la insulina, los cuales tomamos como criterios según lo establecido por los tratados de Rotterdam para diagnosticarlas con este síndrome.

Si bien la exposición a dieta AG en las etapas de gestación y lactancia o en la vida postnatal (grupos MO y CAG), mostró predisponer a las crías al desarrollo de SOP, también determinamos que la exposición a una dieta AG durante la gestación, lactancia y vida postnatal (grupo MOAG) tuvo el mayor impacto sobre las crías, no sólo en la predisposición a presentar SOP, sino que la suma de la programación más el insulto de la exposición a dieta AG exacerbó parámetros como el peso, la cantidad de tejidos adiposo y la presencia de este en la periferia del ovario.

Por lo que podemos concluir que independientemente del periodo de exposición a dietas AG, las ratas presentan características de SOP, mayormente cuando las ratas son expuestas en ambos periodos, durante su desarrollo pre y postnatal. Lo que la exposición a dietas AG en periodos críticos del desarrollo predispone al desarrollo de SOP y los parámetros morfológicos y metabólicos característicos de este síndrome.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Abbot, D. Tarantal, A. Dumesic, D. (2009). *Fetal, infant, adolescent and adult phenotypes of polycystic ovary syndrome in prenatally androgenized female rhesus monkeys*. American Journal of Primatology. Núm. 71. P.p 776-784.
- Ambrosetti, V. Guerra, M. Ramirez, L. Reyes, A. Álvarez, D. Olgún, S. González, D. Fernandois, D. Sotomayor, R. Cruz, G. (2016). *Increase in endogenous estradiol in the progeny of obese rats is associated with precocious puberty and altered follicular development in adulthood*. Endocrine. Vol. 53. Núm. 1. P.p 258-270.
- Baker, D. Gluckman, P. Godfrey, K. Harding, J. Owens, A. Robinson, S. (1993). *Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life*. Lancet. Vol. 341. P.p 938-941.
- Balen, A. Conway, G. Homburg, R. Legro, R. (2005). *Polycystic ovary syndrome. A guide to clinical management*. Taylor & Francis Group. P.p 33-36.
- Ballard, O. Morrow, A. (2013). *Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors*. National Institute of health. Vol. 60. Núm. 1. P.p 49-74.
- Bariani, M. Correa, F. Domínguez, A. Marvaldi, C. Schander, J. Beltrame, J. Franchi, A. (2020). *Maternal obesogenic diet combined with postnatal exposure to high-fat diet induces metabolic alterations in offspring*. Journal of Cellular Physiology. P.p 1-10.
- Barrea, L. Frias, E. Verde, L. Ceriani, F. Cucalón, G. Garcia, E. Moretti, D. Savastano, S. Colao, A. Muscogiuri, G. (2021). *PCOS and nutritional approaches: Differences between lean and obese phenotype*. Metabolism Open. P.p 1-8.
- Barros, G. Furtado, J. Lima, T. Alves, R. Castro, C. De Andrade, A. Simoes, R. (2021). *Early Exposure to High-Sucrose Diet Leads to Deteriorated Ovarian Health*. Frontiers in Endocrinology. Vol. 12. P.p 1- 12.

- Bertoldo, M. Uddin, G. Youngson, N. Agapiou, D. Walters, K. Sinclair, D. Morris, M. Gilchrist. (2018). *Multigenerational obesity induced perturbations in oocyte-secreted factor signaling can be ameliorated by exercise and nicotinamide mononucleotide*.
- Botella, J. (1995). *El ovario: Fisiología y patología*. Editorial Díaz de Santos S.A. P.p 1-2.
- Broughton, D. Moley, K. (2017). *Obesity and female fertility: potential mediators of obesity's impact*. Fertility and Sterility. Vol. 107. Núm. 4. P.p 840-847.
- Calzada, M. (2019). *Estrés oxidativo en Pacientes con Síndrome de Ovario Poliquístico*. Tesis de doctorado.
- Cekic, N. Grgic, A. Kokot, A. Mujkic, R. Snajder, D. Bijelic, N. Sablic, M. (2022). *Influence of Maternal Diet and Intergenerational Change in Diet Type on Ovarian and Adipose Tissue Morphology in Female Rat Offspring*. Medicina. Vol. 58. Núm. 854.
- Challier, J. Basu, S. Bintein, T. Hotmire, K. Minium, J. Catalano, P. Hauguel-de Mounzon, S. (2008). *Obesity in pregnancy stimulates macrophage accumulation and inflammation in the placenta*. National Institute of Health. Vol. 29. Núm. 3. P.p 274-281.
- Chang, R. Cook-Andersen, H. (2013). *Disordered follicle development*. Molecular Cellular Endocrinology. Vol. 373. P.p 51-60.
- Desai, M. Jellyman, J. Han, G. Beall, M. Lane, R. Ross, M. (2014). *Rat maternal obesity and high-fat diet program offspring metabolic syndrome*. American Journal of Obstetrics & Gynecology. Vol. 211. Núm. 3. P.p 1.e1-1.e13.
- Estrada, G. Zambrano, E. Polo, E. Cardona, A. Vadillo, F. (2020). *Intervention during the first 1000 days in México*. Nutrition Reviews. Vol. 78. P.p 80-90.
- Facio, A. Pérez, M. Molina, J. Martínez, L. (2015). *Síndrome de Ovario Poliquístico y complicaciones metabólicas: más allá de los excesos de*

- andrógenos*. Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología. Vol. 0. Núm. 6. P.p 515-519.
- Flores, G. Almanza, J. López, R. Alarcón, F. García, R. Cruza, M. (2009). *La obesidad como un proceso inflamatorio*. Bol Med Hospital Infantil de México. Vol. 67. P.p 88-97.
 - Freeman, D. (2010). *Effects of maternal obesity on fetal growth and body composition: implications for programming and future health*. Seminars in Fetal & Neonatal Medicine. Vol. 15. P.p 113-118.
 - Garza, M. Delgadillo, D. (2020). *Implicaciones del factor de necrosis tumoral alfa en el síndrome de ovario poliquístico*. Ginecología y Obstetricia de México. Vol. 88. Núm. 6. P.p 385-393.
 - Gawlinska, K. Gawlinski, D. Filip, M. Przegalinski. (2020). *Relationship of maternal high-fat diet during pregnancy and lactation to offspring health*. Nutrition Reviews. Vol. 79. Núm. 6. P.p 709-725.
 - Gobierno de México. (2021). *Sobrepeso y obesidad*. Tomado el 10 de octubre del 2023 de: <https://www.gob.mx/promosalud/acciones-y-programas/sobrepeso-y-obesidad-284507>
 - Gomes, R. Giacomini, F. Rodrigues, C. Palazzo, J. De Oliveira, J. Andrade, F. Mota, V. Ferreira, M. Rodrigues, G. De Freitas, P. Aparecida, R. Franzói, S. Marcal, M. (2018). *Maternal diet-induced obesity during suckling period programs offspring obese phenotype and hypothalamic leptin/insulin resistance*. The Journal of Nutritional Biochemistry. P.p 1-28.
 - Goodman, N. Cobin, R. Futterweit, W. Glueck, J. Legro, R. Carmina, E. (2015). *American Association of Clinical Endocrinologists, American College of Endocrinology, and Androgen Excess and PCOS Society Disease state clinical review: Guide to the best practices in the evaluation and treatment of Polycystic Ovary Syndrome (Part 1)*. Endocrine Practice. Vol.21 Núm. 11. P.p 1291-1300.
 - Guzmán, C. Forman, K. Sánchez, R. (2020). *Effects of a High Fat Diet on Dietary Parameters and Visceral White Adipose Tissue of Sprague Dawley Rats*. International Journal of Morphology. Vol. 34. Núm. 3. P.p 611-615.

- Herrera, E. (2000). *Metabolic adaptations in pregnancy and their implications for the availability of substrates to the fetus*. European Journal of Clinical Nutrition. Vol. 54. Núm. 1. P.p S47-S51.
- Hohos, N. Skaznik, M. (2017). *High-Fat Diet and Female Fertility*. Endocrine Society. Vol. 158. Núm. 8. P.p 2407-2419.
- Huijgen, N. Laven, J. Labeer, C. Louwers, Y. Willemsen, S. Steegers, R. (2015). *Are Dieting and Dietary Inadequacy a Second Hit in the Association with Polycystic Ovary Syndrome Severity?* PLoS ONE. Núm. 10, Vol. 11. P.p 1-14.
- Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado. 2022. *¿Sobrepeso y obesidad? Combátelos con el PPRESyO*. Tomado el 10 de octubre del 2023 de: <https://www.gob.mx/issste/articulos/sobrepeso-y-obesidad-combatelos-con-ppresyo-alimentacion-adecuada-y-actividad-fisica>
- Instituto Mexicano del Seguro Social. (2010). *Guía de práctica clínica GPC. Síndrome de Ovario Poliquístico: Evidencias y recomendaciones*. Instituto Mexicano del Seguro Social. Dirección de prestaciones médicas de alta especialidad. División de excelencia clínica. P.p 8-11, 27-29.
- Instituto Nacional de Salud Pública. (2018). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2018 (ENSANUT-MC-2018)*. P.p 12, 37-41.
- Jaseem, M. Ullah, A. Basit, S. (2020). *Genetic Basis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): Current Perspectives*. The Application of Clinical Genetics. Núm 12. P.p 249-260.
- Kirk, S. Samuelsson, A. Argenton, M. Dhonye, H. Kalamatianos, T. Poston, L. Taylor, P. Coen, C. (2009). *Maternal Obesity Induced by Diet in Rats Permanently Influences Central Processes Regulating Food Intake in Offspring*. PLoS ONE. Vol. 4. Núm. 6. P.p 1-13.
- Kosova, G. Urbanek, M. (2012). *Genetics of the polycystic ovary syndrome*. Molecular and Cellular Endocrinology. P.p 1-10.
- Leopoldo, AS. Lima-Leopoldo, AP. Nascimento, AF. Luvizotto, RA.

- Sugizaki, MM. Campos, DH. Da Silva, DC. Padovani, CR. Cicogna, AC. *Classification of different degrees of adiposity in sedentary rats*. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. Vol 49. Núm. 4. P.p 1-9.
- Liu, N. Ma, Y. Wang, S. Zhang, X. Zhang, Q. Zhang, X. Fu, L. Qiao, J. (2012). *Association of the genetic variants of luteinizing hormone, luteinizing hormone receptor and polycystic ovary syndrome*. Reproductive Biology and Endocrinology. Vol. 10. Núm. 36. P.p 1-7.
 - Lomas, C. Reyes, L. Rodríguez, G. Ibáñez, C. Bautista, C. Cox, L. Nathanielsz, P. 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. P.p 4611-4628.
 - Lombardi, L. Santos, R. Maganhin, C. Pinheiro, M. Silva, G. Florencio, R. Soares, J. Chada, E. (2014). *Immunohistochemical evaluation of proliferation, apoptosis and steroidogenic enzymes in the ovary of rats with polycystic ovary*. Revista Asociación Médica de Brasil. Vol. 60. Núm. 4. 349-356.
 - McAllister, J. Legro, R. Modi, B. Strauss, J. (2015). *Functional Genomics of PCOS: From GWAS to Molecular Mechanisms*. Trends Endocrinology Metabolism. Vol. 26. Núm 3. P.p 118-124.
 - Mira, R. (2005). *Síndrome de Ovario Poliquístico: Teorías de su fisiopatología*. Bioquímica y Patología Clínica. Vol. 69. Núm. 2. P.p 12-33.
 - Mitchell, M. Armstrong, D. Robker, R. Norman, R. (2005). *Adipokines: Implications for female fertility and obesity*. Society for Reproduction and Fertility. Vol. 130. P.p 583-597.
 - Morán, C. Tena, G. Morán, S. Ruíz, P. Reyna, R. Duque, X. (2010). *Prevalence of Polycystic Ovary Syndrome and Related Disorders in Mexican Women*. Gynecologic and Obstetric Investigation. Núm. 69. P.p 274-280.
 - Moreno, J. (2016). *Los mil primeros días de vida y la prevención de la*

enfermedad en el adulto. Nutrition in early life and the programming of adult disease: the first 1000 days. Nutrición Hospitalaria. Vol. 33. Supl. 4. P.p 8-11.

- Myers, M. Britt, K. Wreford, N. Ebling, F. Kerr, J. (2004). *Methods for quantifying follicular numbers within the mouse ovary.* Sociedad para la Reproducción y la Fertilidad. Vol. 127. Núm. 5. P.p 569-580.
- Navarrete, M. (2014). *Modificaciones de las funciones ováricas en el animal con síndrome de ovario poliquístico, inducido por la administración de valerato de estradiol o la exposición a estrés por frío* (Tesis de licenciatura no publicada). Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.
- Niño, O. Da Cosat, C. Torres, K. Zanol, J. Freitas, L. Miranda, L. Graceli, J. (2020). *High-refined carbohydrate diet leads to polycystic ovary syndrome-like features and reduced ovarian reserve in female rats.* Toxicology Letters. P.p 42-55.
- Norman, R. Dewailly, D. Legro, R. Hickey, T. (2007). *Polycystic Ovary Syndrome.* Lancet. Vol. 370. P.p 685-697.
- Nteeba, J. Ortinau, L. Perfield, J. Keating, A. (2013). *Diet-Induced Obesity Alters Immune Cell Infiltration and Expression of Inflammatory Cytokine Genes in Mouse Ovarian and Peri-ovarian Adipose Depot Tissues.* Molecular, Reproduction & Development. Vol. 80. P.p 948-958.
- Oestreich, A. Moley, K. (2017). *Developmental and Transmittable Origins of Obesity-Associated Health Disorders.* Trends in Genetics. P.p 1-9.
- Organization for Economic Co-operation and Development. (2021). *Overweight or obese population (indicator).* Recuperado el 16 de agosto del 2022 de <https://data.oecd.org/healthrisk/overweight-or-obese-population.htm>
- Orias, M. (2021). *Actualización del Síndrome de Ovario Poliquístico.* Revista Médica Sinergia. Vol. 6. Núm. 2. P.p 2-11.
- Ornellas, F. Souza, V. Mandarim, C. Aguila, M. (2013). *Sex dimorphism in*

- fat distribution and metabolic profile in mice offspring from diet-induced obese mothers.* Life sciences. Vol. 93. P.p 454-463.
- Ortíz, A. Luque, M. Escobar, H. (2018). *Síndrome de ovario poliquístico en la mujer adulta.* Medicina Clínica Elsevier 4720. P.p 1-8.
 - Paradis, J. Boureau, P. Moyon, T. Nicklaus, S. Parnet, P. Paillé, V. (2017). *Perinatal Western Diet Consumption Leads to Profound Plasticity and GABergic Phenotype Changes within Hypothalamus and Reward Pathway from Birth to Sexual Maturity in Rat.* Frontiers in Endocrinology. Vol. 8. P.p 1-15.
 - Patel, R. Shah, G. (2018). *High-fat diet exposure from pre-puberal age induces polycystic ovary syndrome (PCOS) in rats.* Reproduction Research. Núm. 155. P.p 139-149.
 - Paula, V. Vesentini, G. Sinzato, Y. Souza, R. Volpato, G. Damasceno, D. (2021). *Integrational high-fat diet impairs ovarian follicular development in rodents: A systematic review and meta-analysis.* Nutrition Reviews. P.p 1-25.
 - Peng, Z. Sun, Y. Lv, X. Zhang, H. Liu, C. Dai, S. (2016) *Interleukin-6 Levels in Women with Polycystic Ovary Syndrome: A Systematic Review and Meta-Analysis.* PLoS ONE. Vol. 11. No. 2. P.p 1-14.
 - Peralta, I. Nicolás, P. (2013). *Foliculogénesis: Camino hacia la sobrevivencia o la muerte celular.* Vol. 32. Núm. 4. P.p 128-136.
 - Purcell, R. Sun, B. Pass, L. Power, M. Moran, T. Tamashiro, K. (2011). *Maternal stress and high-fat diet effect on maternal behavior, milk composition, and pup ingestive behavior.* National Institute of Health. Vol.104. Núm. 3. P.p 474-479.
 - Rasmussen, K. Wallace, M. Gournis, E. (2001). *A low-fat diet but not food restriction improves lactational performance in obese rats.* Advances in Experimental Medicine and Biology. Vol. 501. P.p 101-106.
 - Reeves, P. Nielsen, F. Fahey, G. (1993). *AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet.* United States

Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Grand Forks Human Nutrition Research Center, Grand Forks, and Department of Animal Sciences, University of Illinois. P.p 1939-1950.

- Roche. (2013). *Inmunohistoquímica*. Recuperado el 21 de marzo del2023.
De Roche:
https://www.roche.com.ar/es/productos/diagnostica/diagnostico_de_laboratorio/laboratorio_de_anatomia_patologica/inmunohistoquimica.html
- Robker, R. Akison, L. Bennett, B. Thrupp, P. Chura, L. Russell, D. Lane, M. Norman, R. (2009). *Obese women exhibit difference in ovarian metabolites, hormones, and gene expression compared with moderate- weight women*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. Vol. 94. Núm. 5. P.p 1533-1540.
- Rodrigues, A. Martins, L. Franklin, A. Candido, A. dos Santos, L. Ferreira, A. (2014). *Poor quality diet is associated with overweight status and obesity in patients with polycystic ovary syndrome*. Journal of Human Nutrition and Dietetics.
- Rodrigues, F. Cremonesi, C. Troncon, F. De Arruda, I. Wanda, R. Garcia, P. (2009). *Metabolic and Nutritional Interfaces in Polycystic Ovary Syndrome: Considerations regarding obesity and dietary macronutrients*. Revista Chilena de Nutrición. Vol. 36. Núm. 3. P.p 278-284.
- Rodríguez-González, G. Bautista, C. Rojas-Torres, K. Nathanielsz, P. Zambrano, E. (2020). *Importance of the lactation period in developmental programming in rodents*. Nutrition Reviews. Vol. 78. P.p 32-47.
- Rodríguez-González, G. Vega, C. Boeck, L. Vázquez, M. Bautista, C. Reyes-Castro, L. Saldaña, O. Lovera, D. Nathanielsz, P. Zambrano, E. (2015). *Maternal obesity and overnutrition increase oxidative stress in male rat offspring reproductive system and decrease fertility*. International Journal of Obesity 39. P.p 549-556.
- Rodríguez, J. Rodríguez-González, G. Reyes-Castro, L. (2012). *Maternal obesity in the rat programs male offspring exploratory, learning and motivation behavior: prevention by dietary intervention pre-gestation or in*

- gestation*. International Journal of Development Neuroscience. Vol. 30. Núm. 2. P.p 75-81.
- Rosales, R. (2012). *Anthropometry in the diagnosis of obese patients: a review*. Nutrición Hospitalaria. Vol. 27. Núm. 6. P.p 1803-1809.
 - Sir, Teresa. Preisler, J. Magendzon, A. (2013). *Síndrome de Ovario Poliquístico. Diagnóstico y manejo*. Revista Médica Clínica CONDES. P.p 818-826.
 - Tamashiro, K. Terrillion, C. Hyun, J. Koenig, J. Moran, T. (2009). *Prenatal Stress or High-Fat Diet Increases Susceptibility to Diet-Induced Obesity in Rat Offspring*. Diabetes. Vol. 58. P.p 1116-1125.
 - Uyanikoglu, H. Sabuncu, T. Dursun, H. Sezen, H. Aksoy, N. (2017). *Circulating levels of apoptotic markers and oxidative stress parameters in women with polycystic ovary syndrome: a case-controlled descriptive study*. BIOMAKERS. Vol 22. No. 7. P.p 643-647.
 - Vantman, D. Vega, M. (2010). *Fisiología reproductiva y cambios evolutivos con la edad de la mujer*. Revista Médica Clínica Las Condes. Vol. 21. Núm. 3. P.p 348-362
 - Vargas, B. Ambriz, D. Navarro, M. Trejo, A. Rodríguez, G. González, M. (2018). *Manejo de animales de Bioterio de la UAM-I*. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. P.p 34-42.
 - Vargas, J. (2020). *Parámetros fisiológicos y metabólicos de la rata de laboratorio (Ratus Norvegicus)*. Revista Médica Basadrina. Vol. 14. Núm. 2. P.p 64-68.
 - Ventura, E.Hernández, M. (2019). *La esteroidogénesis en el Síndrome de Ovario Poliquístico*. Gaceta Médica de México. Vol. 155. Núm. 2. P.p 184-190.
 - Wang, F. Yu, B. Yang, W. Liu, J. Lu, J. Xia, X. (2012). *Polycystic ovary syndrome resembling histopathological alterations in ovaries from prenatal androgenized female rats*. Journal of ovarian research. Núm. 5. Vol. 15. P.p 1-7.
 - World Health Organization. (2019). *Obesidad*. Recuperado el 08 de

septiembre del 2021 de https://www.who.int/es/health-topics/obesity#tab=tab_1

- Yang, L. Chen, L. Lu, X. (2018). *Peri-ovarian adipose tissue contributes to intraovarian control during folliculogenesis in mice*. *Reproduction*. Núm. 156. Vol. 2. P.p 133-144.
- Yildiz, B. Azziz, R. (2010). *Ovarian and adipose tissue dysfunction in polycystic ovary syndrome: Report of the 4th special scientific meetig of the Androgen Excess and PCOS Society*. National Institutes of Health. Vol. 92. Núm. 2. P.p 690-693.
- Zain, M. Norman, R. (2008). *Impact of obesity on female fertility and fertility treatment*. P.p 183-194.
- Zambrano, E. Ibáñez, C. Martínez, P. Lomas, C. Durand, M. Rodríguez, G. (2016). *Maternal Obesity: Lifelong Metabolic Outcomes for Offspring from Poor Developmental Trajectories During the Perinatal Period*. ELSEVIER Archives of Medical Research. P.p. 1-12.
- Zambrano, E. Martínez, P. Rodríguez, G. Nathanielsz, P. (2010). *Dietary intervention prior to pregnancy reverses metabolic programming in male offspring of obese rats*. *The Journal of Physiology* 588. P.p 1791-1799.
- Zambrano, E. Nathanielsz, P. (2013). *Mechanisms by wich maternal obesity programs offspring for obesity: evidence from animal studies*. *Nutrition Reviews*. Vol. 71. S42-S54.
- Zambrano, E. Sosas, T. Calzada, L. Ibáñez, C. Mendoza-Rodríguez, C. Morimoto, S. (2016). *Decreased basal insulin secretion from pancreatic islets of pups in a rat model of maternal obesity*. *Journal of Endocrinology* 231. P.p 49-57.
- Zhu, S. Li, Z. Hu, C. Sun, F. Wang, C. Yuan, H. Li, Y. (2021). *Imaging-Based Body Fat Distribution in Polycystic Ovary Syndrome: A Sstematic Review and Meta-Analysis*. *Frontiers in Endocrinology*. Vol. 12. P.p 1-16.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00119

Matrícula: 2212801406

Impacto de la programación por obesidad materna en crías hembra alimentadas con una dieta alta en grasa y/o en la vida postnatal de la rata Wistar sobre el desarrollo de Síndrome de Ovario Poliquístico.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 13:30 horas del día 14 del mes de noviembre del año 2023 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DRA. HERLINDA BONILLA JAIME
- DRA. MIRIAM FAHIEL CASILLAS AVALOS
- DRA. ANGELICA TRUJILLO HERNANDEZ
- DRA. MARIA DEL ROSARIO TARRAGO CASTELLANOS

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN ANIMAL

DE: GABRIELA ELIZABETH GRANADOS HIGA



GABRIELA ELIZABETH GRANADOS HIGA

ALUMNA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

REVISÓ

MTRA. ROSALÍA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTA

DRA. HERLINDA BONILLA JAIME

VOCAL

DRA. MIRIAM FAHIEL CASILLAS AVALOS

VOCAL

DRA. ANGELICA TRUJILLO HERNANDEZ

SECRETARIA

DRA. MARIA DEL ROSARIO TARRAGO CASTELLANOS