



Universidad Autónoma de Tlaxcala

**Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Posgrado en Ciencias Biológicas**

**Restricción Proteínica en la Rata gestante: Consecuencias en la
Histología del Músculo Pubococcígeo de la Progenie que en la
Etapa Adulta Consume Agua Azucarada**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a
Irving Xicohténcatl Rugerio

Director de tesis
Dr. Jorge Rodríguez Antolín

Tlaxcala, Tlaxcala

Agosto, 2012



Universidad Autónoma de Tlaxcala

**Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Posgrado en Ciencias Biológicas**

**Restricción Proteínica en la Rata Gestante: Consecuencias en la
Histología del Músculo Pubococcígeo de la Progenie que en la
Etapa Adulta Consume Agua Azucarada**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a
Irving Xicohténcatl Rugerio

Comité Tutorial

Dr. Jorge Rodríguez Antolín
Dr. Francisco Castelán
Dr. René Zempoalteca Ramírez
Dr. Ismael Jiménez Estrada
M en C Margarita Cervantes Rodríguez

Tlaxcala, Tlaxcala

Agosto, 2012



Universidad Autónoma de Tlaxcala
Posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta

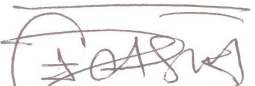


COORDINACIÓN DE LA MAESTRÍA
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que **Irving Xicohténcatl Rugerio** realiza para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“Restricción proteínica en la rata gestante: consecuencias en la histología del músculo pubococcígeo de la progenie que en etapa adulta consume agua azucarada”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., JULIO 23 DE 2012

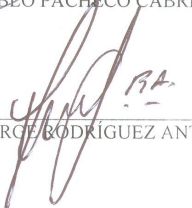

DR. FRANCISCO CASTELÁN


DR. RENÉ ZEMPOALTECA RAMÍREZ


DR. ISMAEL JIMÉNEZ ESTRADA


DR. PABLO PACHECO CABRERA


M. EN C. MARGARITA CERVANTES RODRÍGUEZ


DR. JORGE RODRÍGUEZ ANTOLÍN



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado Bajo la Norma:
ISO 9001:2000-NMX-CC-9001-IMNC-2000



Km. 1.5 Carretera Tlaxcala-Puebla CP 90070 Tel/Fax: 01(246)462-15-57 e-mail: posgradoctbcuat@gmail.com
Tlaxcala, Tlax.

Agradecimientos

Esta investigación fue realizada bajo la dirección del Dr. Jorge Rodríguez Antolín en el Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al apoyo recibido de los proyectos del PAPIIT1N228110-MMG; CONACYT 102882-MMG y a la beca del CONACyT a 56146-IXR para la realización del proyecto de tesis.

Se conto con la tutoría de los Francisco Castelán, René Zempoalteca Ramírez, Ismael Jiménez Estrada y la M en C Margarita Cervantes Rodríguez. También se conto con la asesoría de la Dra. Estela Cuevas Romero.

Un reconocimiento especial a la Dr. Elena Zambrano González y al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán por su apoyo en la obtención de la dieta para el tratamiento de las ratas.

Agradezco extensamente

A la Doctora Margarita Martínez Gómez, ya que gracias a ella tuve la oportunidad de conocer el CTBC. Quien diría que esa pequeña oportunidad me brindaría oportunidades únicas en la vida ya que desde entonces el CTBC ha desempeñado el papel de mi segundo hogar, conocer a mi Director de tesis de Licenciatura y Maestría el Doctor Jorge Rodríguez Antolín y a un sin fin de Doctores que me han brindado enseñanzas tanto personales como profesionales, por mencionar a los Dres. Amando Bautista Margarita Cervantes, Francisco Castelán, Estela Cuevas, Leticia Nicolás Toledo, Elena Zambrano, etc.

Al Doctor Jorge Rodríguez Antolín, quien cumplió como mi director de tesis para obtener el grado de Licenciado en Biología, actualmente como mi director de tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencia Biológicas y en un futuro no muy lejano espero poder colaborar profesionalmente con el y su grupo de investigación.

A los amigos y compañeros de la maestría.

Dedicatoria

En primer lugar a mis padres Florentino Xicohtécatl Torres y María Dionisia de Lourdes Rugerio Rosas por el apoyo incondicional que me han brindado, ya que en muchas ocasiones me han dado más de lo que merezco, pero gracias a ello he podido cumplir varias metas en esta vida, una de ellas el día de hoy se cumple: obtener el grado de Maestro en Ciencias Biológicas.

A mis amigos que nunca me han dejado caer y siempre estuvieron ahí para apoyarme en las buenas y en las malas: Clarel Hernández, Liliana Chena González, Jaime Romero Sierra.

Finalmente a mi Gato Wonka por acompañarme durante la realización de esta tesis, a diferencia de otros, tú permaneciste a mi lado.

ÍNDICE

I. RESUMEN.....	1
II. Introducción	3
• Tejido muscular	3
• Miogénesis	6
• Musculatura estriada del piso pélvico.....	7
• Nutrición	8
III. Antecedentes.....	11
• Factores de riesgo durante la gestación que conducen a un bajo peso al nacer.....	11
• La nutrición durante la gestación.....	12
• Restricción proteínica gestacional	13
• Dietas ricas en sacarosa en la vida adulta	16
• Efectos de la restricción gestacional en el músculo estriado	17
• Efectos de dietas ricas en sacarosa en la vida adulta en el músculo estriado	18
• Epigenética y nutrición	18
• Músculos estriados del área pélvica	20
• Músculo Pubococcígeo	21
• La rata como modelo de estudio	22
IV. Justificación.....	23
V. Hipótesis	25
VI. Objetivo General	25
VII. Objetivos específicos	25
VIII. Metodología.....	26
• Grupos experimentales de las madres.....	26
• Grupos experimentales de las crías.....	26
• Obtención del músculo pubococcígeo y análisis anatómico	27
• Obtención de muestras sanguíneas y determinaciones bioquímicas	28
• Diseño experimental	30
• Análisis estadístico	31
IX. Resultados	32
• Medidas morfométricas de la progenie.....	32

•	Peso al nacer y ganancia de peso postnatal	33
	Hembras.....	33
	Machos.....	34
•	Parámetros bioquímicos al sacrificio.....	36
	Hembras.....	36
	Machos.....	38
•	Evaluación del mPc	41
	Hembras.....	41
	Machos.....	45
X.	Discusión	50
XI.	Conclusión.....	58
XII.	Perspectivas.....	59
XIII.	Referencias	60

I. RESUMEN

Estudios realizados en diferentes etapas del desarrollo biológico demuestran que la malnutrición se ha correlacionado con diversas alteraciones metabólicas y anatómicas, por ejemplo, con la restricción proteínica gestacional se ha mostrado en la progenie disminución en el peso corporal al nacimiento y alteraciones anatómicas en órganos como el hígado y la musculatura estriada. Funcionalmente, para el músculo estriado todo ello es importante, ya que la musculatura estriada es después del hígado donde se realiza la mayor oxidación de la glucosa y de la grasa corporal. El ambiente nutricional tanto por exceso como por déficit durante la gestación y/o la vida posnatal se asocia con problemas de obesidad, alteraciones anatómicas, funcionales, conductuales y reproductivas. La mayoría de los estudios que han abordado el problema de la malnutrición se han centrado en caracterizar sus efectos en diferentes órganos y tejidos, particularmente con respecto a la musculatura estriada se han enfocado en los músculos estriados de las extremidades superiores e inferiores. Otro importante grupo de músculos estriados por su dinámica funcional, podrían ser los que se alojan en la región pélvica, como el músculo pubococcígeo, el cual se ha propuesto juega un papel fundamental en la continencia y expulsión urinaria, también se ha propuesto que participa en algunos procesos reproductivos como es el caso de la expulsión seminal en la rata macho. El objetivo de este trabajo fue comprobar si la combinación de restricción proteínica gestacional materna y el consumo de agua azucarada en la vida adulta de la progenie provoca cambios en las concentraciones de glucosa, triglicéridos, colesterol, colesterol-HDL y alteraciones histológicas en el músculo pubococcígeo. Las ratas fueron alimentadas con dieta control (20% de proteína) ó dieta restringida (10% de proteína) durante la gestación, posteriormente la progenie de tres meses de edad formaron cuatro subgrupos: progenie de ratas con dieta control (C), progenie de ratas con dieta restringida (R), progenie de ratas con dieta control más agua azucarada al 5 % (C/A) y progenie de ratas con dieta restringida más agua azucarada al 5 % (R/A). En los parámetros bioquímicos, la concentración de glucosa en las hembras se reduce para el grupo R vs C y en el grupo R/A vs C/A y aumentan en el grupo R/A vs R y en machos se reducen para el grupo C/A vs C y para el C/A vs C, los triglicéridos se vieron elevados por efecto del consumo de agua azucarada para ambos sexos en el grupo C/A vs C y el grupo R/A vs R, el colesterol sólo se elevó en

machos del grupo R/A vs R y en el caso del colesterol-HDL en las ratas se incrementó por efecto de la restricción de la dieta en hembras para el grupo R/A vs C/A y en machos se redujeron para el grupo C/A vs C y para el grupo R/A vs R, también se observó un aumento en la concentración de C-HDL por efecto del consumo de agua azucarada en hembras para el grupo C/A vs C y para el grupo R/A vs R. Con respecto al músculo pubococcígeo se encontró que tanto la restricción de proteínas como el consumo de agua con azúcar tuvieron efectos en ambos sexos, en el caso de las hembras; se observa que el peso del mPc se incrementa en el grupo R/A vs C/A y en R/A vs R, el largo del mPc no presenta diferencias, el ancho del mPc se incrementa en el grupo R/A vs C/A, el área del corte transversal del mPc no presenta diferencias, el área de fibras del mPc se reduce en el grupo R/A vs R y en el caso de la distribución del área de fibras del mPc respecto a su tamaño no hubo diferencias significativas. En machos; se observa que el peso del mPc se ve reducido en el grupo R/A vs C/A y en el grupo R/a vs R, el largo del mPc se ve reducido en el grupo R/A vs C/A y en el grupo R/A vs R, el ancho del mPc se incrementa el diametro en el grupo C/A vs C y en el grupo R vs C, el área del corte transversal del mPc se reduce en los grupos C/A vs C y en el grupo R vs C y aumenta en el grupo R/A vs C/A, el área de fibras del mPc no presenta diferencia y en el caso de la distribución del área de fibras del mPc respecto a su tamaño se modificó ya que el grupo R presentó mayor número de fibras de $700 \mu\text{m}^2$ vs C a la vez que presentan menos fibras de $1300 \mu\text{m}^2$ y el grupo RA presenta mayor número de fibras de $1300 \mu\text{m}^2$ vs R.

Los resultados obtenidos sugieren que una dieta con restricción proteínica gestacional y el posterior consumo de una dieta rica en carbohidratos simples en la progenie adulta, provoca alteraciones en parámetros metabólicos y en la distribución de frecuencias del área de fibras del mPc en el caso de los machos, pudiendo ocasionar alteraciones durante las actividades que desarrolla el músculo pubococcígeo como es el caso de la continencia y expulsión urinaria.

II. Introducción

- **Tejido muscular**

El tejido muscular se caracteriza por su capacidad de contraerse y relajarse, por lo general en respuesta a un estímulo. La unidad básica de todo músculo es la miofibrilla, estructura filiforme muy pequeña formada por proteínas. Existen tres tipos de musculatura y estas se han distinguido de acuerdo a su forma y sus características en músculo liso, estriado y cardiaco (**Figura 1; Tabla 1**).

La musculatura lisa es aquella cuyo control es involuntario debido a que está regulada por el sistema nervioso autónomo (Higashida 2008). Está constituido por células fusiformes lisas, es decir que no presentan estriaciones en su citoplasma y el núcleo se localiza centralmente. Tal musculatura se encuentra en los vasos sanguíneos, los bronquios, el estómago, los intestinos, los uréteres, la vejiga, entre otros (Higashida 2008).

La musculatura estriada es aquella cuyo control es voluntario debido a que está regulada por el sistema nervioso somático. Se observa al microscopio pequeñas estriaciones a lo largo del músculo, sus fibras están constituidas por células multinucleadas, en el citoplasma presenta bandas claras y oscuras transversales al eje longitudinal, también se le denomina músculo esquelético debido a que generalmente tienen su origen y/o inserción en algún hueso. Tal musculatura se encuentra en los músculos de las extremidades superiores e inferiores, entre otros (Higashida 2008).

El músculo cardíaco, es una variante de los dos tipos de músculos anteriores; tiene fibras estriadas pero con forma rectangular que se bifurca, este músculo es involuntario con uno o varios núcleos centrales, la distribución de estas fibras es entrelazada en forma de sincicio o red y se localiza únicamente en el corazón (Higashida 2008).

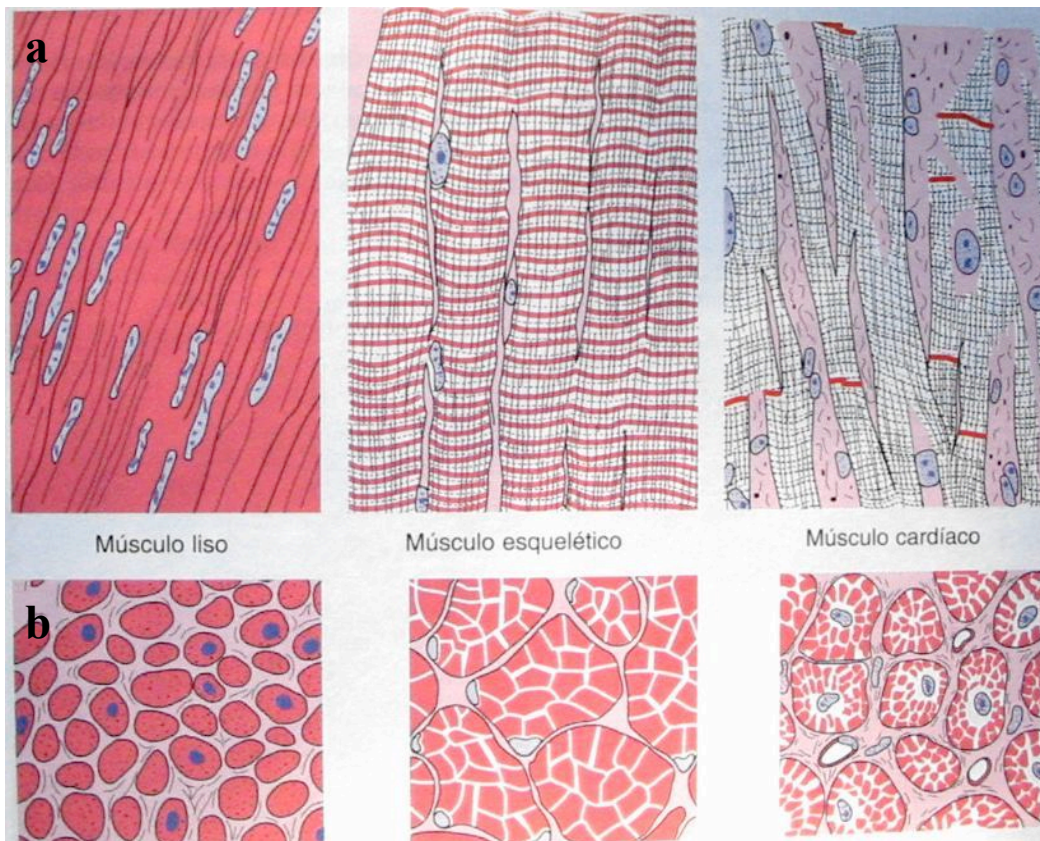


Figura 1.- Tipos de tejido muscular. a) vista de las fibras en un corte longitudinal. b) vista de las fibras en un corte transversal (Higashida 2008).

Características	Estriado	Liso	Cardíaco
Diámetro	10 a 100 nm	2 a 5 nm	0.2 a 2 nm
Longitud	Hasta 100 cm de longitud	20 a 500 nm	80 a 100nm
Forma	Cilíndrica	Alargada, en huso	Ramificada
Núcleo	Multinuclear	Uninuclear	Uninuclear
Filamentos de Actina y Miosina	Abundantes, ocupan casi todo el volumen intracelular	Menos fibras	Abundantes
Anclaje de actina	Discos Z	Cuerpos densos	Discos Z
Reticulo sarcoplásmico	Altamente desarrollado	Menos desarrollado	Moderado
Túbulos T	Presente	Ausentes	Presentes, con canales de calcio
Fuente de calcio	Reticulo sarcoplásmico	Fluido extracelular	Fluido extracelular
Requisitos energéticos	Mucho ATP	Poco ATP	Mucho ATP
Control	Voluntario	Involuntario	Involuntario
Efecto hormonal sobre la contracción	Ninguno	Sí	Sí
Tipo de contracción	Rápida/lenta	Lenta	Lenta

Tabla 1.- Cuadro comparativo de las características de los diferentes tipos de músculos.

El tejido muscular se caracteriza por estar constituido por células diferenciadas, capaces de contraerse bajo la influencia del sistema nervioso. Las propiedades fisiológicas del protoplasma, tales como excitabilidad, conductibilidad y contractilidad, se encuentran muy desarrolladas en las células musculares (Clapes 1994). Dicha masa muscular está formada por proteínas, manteniéndose un equilibrio entre la degradación propia y la síntesis obtenida del pool de aminoácidos que proceden básicamente de la alimentación (Clapes 1994).

El músculo estriado o esquelético es después del hígado, el órgano de mayor oxidación de la glucosa y de la grasa (Waters 2000). Estudios realizados en animales que son sometidos a restricción proteínica calórica demuestran que éstos presentan una progresiva disminución en el peso corporal y en la masa muscular estriada, y que las alteraciones en el músculo esquelético periférico corren paralelas a la disminución de la masa muscular del diafragma (Lanz y cols. 1992). Arora y Rochester en 1982 detectaron en 14 autopsias de pacientes malnutridos, que habían perdido el 29% de su peso habitual y un 43% menos de masa muscular del diafragma en comparación con individuos normales (Arora y Rochester 1982).

De estos tres tipos de musculatura, el músculo estriado, es el tejido simple que se encuentra en mayor cantidad en el cuerpo, entre el 40-45% del peso corporal total, su composición química es 75% de agua, 20% de proteínas y 5% de materia inorgánica, orgánicas y otros (carbohidratos y glucógeno) (Muñoz 2002). Está constituido por dos tipos de fibras que se pueden dividir de acuerdo a su tipo de contracción en: a) Fibras de contracción lenta o fibras rojas, adaptadas a contracciones de baja intensidad y larga duración. Poseen gran cantidad de mitocondrias y mioglobina que las hacen más eficientes al metabolismo de tipo aeróbico (en presencia de oxígeno) (Muñoz 2002) y b) Fibras de contracción rápida o fibras blancas, donde las reservas elevadas de ATP y fosfatos de creatina (sustratos energéticos), las hacen especialmente aptas para aquellas contracciones de corta duración y alta intensidad, estando más adaptadas al metabolismo anaeróbico (sin presencia de oxígeno). Las fibras blancas presentan una gran velocidad de contracción y son poco resistentes a la fatiga. Este tipo de fibras es el que más interviene en el trabajo de fuerza (Muñoz 2002).

- **Miogénesis**

La miogénesis comprende al proceso de determinación y formación de las células del tejido muscular (Cossu y Borello 1999). Este proceso sucede originalmente en el embrión debido a que los músculos esqueléticos derivan del mesodermo paraxial, que incluye: a) somitas, que crean los músculos del esqueleto axial, la pared corporal y las extremidades y b) somitómeras, que originan los músculos de la cabeza. Los músculos lisos, lo mismo que las fibras de músculo cardíaco, derivan de la hoja esplácnica del mesodermo. En el embrión, la miogénesis se puede considerar subdividida en varias etapas. La primera de ellas es la inducción de las células del dermomiótomo, un somita dorsal que se encuentra debajo del ectodermo (Cossu y Borello 1999). Las células del dermomiótomo estimuladas a ser mioblastos son inducidas por señales químicas de los tejidos vecinos. Los que serán mioblastos epiaxiales, son estimulados por moléculas Wnt (Wnt1) y Shh que culminarán en la expresión del gen Myf5, en tanto que los hipoaxiales lo serán por la combinación espaciotemporal de otra Wnt (Wnt7a), BMP4 y Noggin y culminarán expresando el gen MyoD (Cossu y Borello 1999).

En la segunda etapa, los mioblastos proliferan y migran pero no se diferencian aún en miocitos pese a la presencia de los productos de los genes Myf5 y MyoD (Zhang y cols. 1999). La migración se da a través de la disminución de las β -Integrinas al parecer por la unión a ellas de una proteína denominada MIBP en el citosol, así como por la formación de contactos focales (Li y cols. 1999). MIBP podría también interactuar con la Quinasa de Adhesión Focal (FAK) y con la Paxilina, promoviendo la formación de contactos focales para el movimiento de migración.

En una tercera etapa, los mioblastos se agregan y diferencian en miocitos maduros, sin embargo, algunos quedan en estado quiescente y son los que formarán en el músculo estriado maduro las células satelitales (Alberts y cols. 2002). En esta etapa, las N-Cadherinas (Redfield y cols. 1997), así como las Integrinas α 7A, α 7B y β 1D se ven aumentadas (Musaró y Rosenthal 1999), la maquinaria del ciclo celular se ve detenida por activación de la fosfatasa MKP1 y se activa el programa miogénico mediante la activación de la MAP-Quinasa p38 (Naya y Olson 1999).

La cuarta etapa, es la de la determinación del tipo de miocito (fibra muscular), que según un modelo propuesto por Esser tendría a las fibras tipo II como estado predeterminado y las tipo I como variación de las primeras (Esser y cols. 1999). En el caso

de un daño, la respuesta es inicialmente de proliferación y posterior fusión, en respuesta a IGFs producidos en el músculo (Engert y cols. 1996; Musaró y Rosenthal 1999).

Una vez formado el sistema muscular podemos hacer una clasificación a groso modo de acuerdo al área o región en que se encuentren dichos músculos, por ejemplo; los músculos de la cabeza, del cuello, de las extremidades superiores, de las extremidades inferiores, los de la cavidad torácica, abdominal y los del área o región pélvica.

- **Musculatura estriada del piso pélvico**

Dentro de los músculos que se engloban en la musculatura estriada se encuentran los músculos del piso pélvico como el pubococcígeo (mPc), iliococcígeo (mIc) y coccígeo (mCc) y perineales como el músculo bulboesponjoso (mBe) e isquiocavernoso (mIs). La musculatura estriada pélvica (Pe) y perineal (Pr) son las encargadas de proporcionar el soporte a la mayoría de los órganos pélvicos (Cruz y cols. 2002; Martínez y cols. 1997).

La musculatura estriada pélvica y perineal es necesaria para un funcionamiento adecuado del aparato urogenital en el ser humano y varias especies de mamíferos debido a que provee soporte a los órganos alojados en la cavidad pélvica (Raizada y Mittal 2008).

Los nervios espinales que inervan los músculos pélvicos y perineales provienen de la vértebra lumbar 7 (L7) y las vértebras sacras 1, 2 y 3 (S1, S2, S3). El músculo pubococcígeo parece ser inervado por una rama del nervio espinal sacro tres (S3) después de la conexión anastomótica con el sacro dos (S2) (Martínez y cols. 1997).

El piso pélvico está formado por músculos, ligamentos y fascias que conforman un soporte de varias capas o estratos ubicado en la pelvis inferior. Se ha denominado también diafragma urogenital, diafragma pélvico y su mayor constituyente es el complejo muscular del elevador del ano (*levator ani*), el cual forma un "soporte" que va desde la superficie interna de la región anterior del pubis, hasta la parte posterior de las espinas isquiáticas.

En la mayoría de los mamíferos, la musculatura estriada pélvica (también llamada caudopélvica en los mamíferos cuadrúpedos) puede ser dividida en pubo, ilio y coccígea, cuya principal característica es que sus fibras se unen a la pelvis (Wilson 1973a). Dicha musculatura también se asocia a las vertebrales caudales contribuyendo al movimiento rítmico y vigoroso de la cola (Wilson 1973b). Esta musculatura está presente en mamíferos con tendencia a la ambulación bípeda como los primates superiores (monos y humanos), su función principal es la de sostener y mantener en una posición "anatómicamente correcta" a las viseras pélvicas (Wilson 1973 a y b; Dubrovsky y Filipini 1990). En la mujer, el

complejo muscular del elevador del ano lo integran los músculos: pubococcígeo, ileococcígeo y coccígeo (Martínez y cols. 1992; Bremer y cols. 2003). Mientras que en la rata hembra, estos músculos pubococcígeo, ileococcígeo y coccígeo se ubican independientes de otra entidad muscular conocida como *levator ani* (Martínez y cols. 1992).

Diversos factores como los hormonales y la denervación son los que afectan la estructura de los músculos involucrados en este tipo de musculatura, sin embargo hasta la fecha ningún trabajo ha contemplado el estado nutricional del individuo en diferentes etapas del desarrollo como posible factor que altere la histología, desarrollo o crecimiento de dichos músculos, el cual como ya se ha mencionado, participa evitando la eversión de las vísceras pélvicas, contribuyendo a la continencia (urinaria y fecal) y controlando actividades expulsivas (como el parto). Afecciones en estos músculos se relacionan con serios problemas de incontinencia urinaria, una afección con alta prevalencia en mujeres multíparas, diabética y posmenopáusicas.

- **Nutrición**

El término nutrición se refiere al conjunto complejo de fenómenos que determinan que sustancias medioambientales serán usadas por el organismo, desde la adquisición hasta el mantenimiento de la estructura y función que los seres vivos requieren. La incorporación al organismo, previa transformación de los nutrientes de los alimentos, aportan básicamente la energía requerida para las funciones orgánicas y los materiales plásticos como proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales para un óptimo desarrollo biológico. Por lo tanto, la nutrición es determinante para el buen estado del organismo, resultado del balance entre los macronutrientes (proteínas, carbohidratos, y lípidos), los minerales y vitaminas contenidas en la dieta y la energía invertida en el desarrollo de sus actividades (Mataix 2009).

Considerando el estado de nutrición de un individuo se pueden identificar situaciones de nutrición adecuada (eunutrición) o bien desviaciones patológicas de la misma, es decir: malnutrición. El término malnutrición engloba cualquier alteración nutricional, tanto por exceso (sobrealimentación) como por déficit (hipodesnutrición, o subnutrición) o por desequilibrio (Mataix 2009).

Actualmente, los problemas de malnutrición son considerados de interés público, ya que en el mundo según la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el 2030, serán las

causas de mayor mortalidad (www.who.org). Según la OMS, cada año mueren 8 millones de niños menores de 5 años, la mayoría de estas muertes están relacionadas a la desnutrición gestacional e infantil.

La alimentación postnatal representa otro factor importante para el desarrollo de diferentes patologías. En el mundo se estima que más de un billón de personas presenta trastornos metabólicos, 300 millones de los cuales se consideran clínicamente obesos (OMS 2000). En México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006 reportó que el sobrepeso y la obesidad son problemas que afectan a más del 70% de la población mayor de 20 años (ENSANUT 2006). Los determinantes ambientales causantes del desequilibrio de energía, incluyen factores que incrementan el consumo calórico como el aumento en el tamaño de las raciones, el consumo de bebidas azucaradas, hidratos de carbono refinados, sedentarismo, y consumo de grasas saturadas (ENSANUT 2006).

Debido a lo anterior podemos decir que una adecuada nutrición es uno de los pilares de la salud y el desarrollo. En personas de todas las edades una adecuada nutrición permite reforzar el sistema inmunitario, contraer menos enfermedades y gozar de un mejor estado de salud (www.who.org). De no ser así, se pueden afectar a diferentes órganos o sistemas como es el caso del músculo estriado. Uno de los factores de riesgos más relevante en cuanto a la pérdida de la masa muscular es la sarcopenia, la cual ocurre con el envejecimiento (Roubenoff 2000). Dicha pérdida de masa muscular y fuerza lleva consigo una serie de cambios estructurales y funcionales a nivel muscular como es el caso de la infiltración de grasa, denominando a la sarcopenia, como mioesteatosis del envejecimiento, donde encontramos mantención de masa, pero no de fuerza. Por lo tanto, el primer concepto a considerar es que la sarcopenia no solo puede alterar la masa muscular, sino también la fuerza de contracción. La prevalencia de sarcopenia es alrededor de 25% en individuos de 70 años y 40% en aquellos de 80 o más años (Baumgartner y cols. 1998).

En particular, la deficiencia de nutrientes en la dieta de ratas gestante provoca que las crías en la etapa adulta desarrollen patologías como hiperglucemia, aumento de la presión arterial, reducción en el peso de algunos órganos como el hígado, el vaso, el páncreas, cerebro, disminución de la masa muscular, retraso de la pubertad e hiperfagia (Fetoui y cols. 2007; Wu y cols. 2004; Alves y cols. 2008).

Se ha reportado que la deficiencia proteínica altera el desarrollo y diferenciación de las fibras musculares estriadas lo que se refleja en una reducción de su actividad contráctil

(Alves y cols. 2008). Se ha propuesto que la malnutrición puede alterar la función muscular por un doble mecanismo: disminuyendo el aporte de los sustratos energéticos necesarios para su adecuado funcionamiento y produciendo modificaciones en la estructura de la fibra muscular, tales cambios se traducen como alteraciones funcionales (Rochester 1986) (**Tabla 2**).

Cambios en las fibras musculares
Disminución del número de fibras
Cambios en el tipo de fibras (predominio de contracción lenta)
Cambios bioquímicos (minerales e iones)
Alteraciones neurofisiológicas
Disminución de fuerza a altas frecuencias de estímulo
Cambios clínicos y funcionales
Disminución de fuerza y resistencia
Disminución de la tolerancia esfuerzo
Disnea, ortopnea

Tabla 2.- Efectos de la desnutrición sobre el músculo estriado.

El sustrato energético principal para el funcionamiento de los músculos es su propio glucógeno, aunque también pueden utilizar los ácidos grasos. La carencia en el aporte de nutrientes ocasiona una disminución en la capacidad funcional de la célula muscular, cuando los sujetos presentan una ingesta proteicoenergética inadecuada, se activan diversos mecanismos, como el catabolismo proteico y la neoglucogénesis, destinados a proporcionar energía. Este efecto catabólico tiene una repercusión negativa en los depósitos de proteínas disponibles, entre los que se encuentran tanto los músculos respiratorios como los restantes músculos esqueléticos (Dureuil y Matuszczak 1998).

La reducción de la masa muscular parece ser debida más a una reducción en el diámetro de las fibras musculares que a una pérdida de las mismas. Se produce, al menos inicialmente, una afección predominante de las fibras de contracción rápida (contienen cadenas de miosina de los tipos MHCIx, MHCIb y MHCIIa), caracterizadas por presentar una baja capacidad oxidativa y una elevada glucólisis, así como una mayor sensibilidad a la fatiga. Este hecho provoca que una gran parte del área muscular se encuentre constituida por fibras de contracción lenta (contienen cadenas de miosina MHC-beta-lenta), más

resistentes a la fatiga. De este modo, la tensión generada por los músculos durante las actividades no suele alterarse; en cambio, tiene lugar una afección progresiva de su rendimiento máximo (De Lucas y cols. 1996).

III. Antecedentes

- **Factores de riesgo durante la gestación que conducen a un bajo peso al nacer**

El recién nacido de bajo peso (RNBP) es uno de los grandes problemas de salud pública, puesto que es un predictor de morbi-mortalidad y representa la segunda causa de mortalidad perinatal. Diversos estudios han observado que la incidencia mundial de bajo peso al nacer es del 17%, algunas estimaciones muestran una proporción en países subdesarrollados que ascendía al 19%, frente a cifras muy inferiores en países desarrollados: en Estados Unidos se sitúa alrededor del 7%, en el Reino Unido 6 % y en España en torno al 5% (Soriano y cols. 2003).

Se considera de bajo peso al nacer (BPN) al neonato cuyo peso es menor de 2.500g, independientemente de la edad gestacional y cualquiera que sea la causa. Con todo, el bajo peso al nacer suele asociarse con situaciones que interfieren en la circulación placentaria por alteración del intercambio madre-placenta-feto y como consecuencia de una malnutrición intrauterina (Soriano y cols. 2003). Habitualmente los factores de riesgo revisados pueden agruparse en cinco grupos (Soriano y cols. 2003):

1. Socio demográficos: La edad materna parece aumentar el riesgo en los periodos menores de 20 años y en el comprendido entre los 35 y 40 años o más. Los BPN provienen con mayor frecuencia de madres solteras, madres de raza negra y cuando las condiciones económicas son desfavorables.
2. Riesgos médicos anteriores al embarazo: Entre ellos la hipertensión arterial crónica, enfermedades renales, tiroideas, cardiorrespiratorias y autoinmunes. La existencia de antecedentes de BPN, ya sea en la madre o en partos previos, se asocian con un aumento del riesgo. Así mismo, también se ha descrito un aumento de riesgo con la primiparidad, antecedentes de abortos y antecedentes de BPN en partos previos.
3. Riesgos médicos del embarazo actual: Como un intervalo intergenésico menor de 1 año, sangrado vaginal, causas placentarias como abruptio placentae y diabetes gestacional.

4. Cuidados prenatales inadecuados: Bien por iniciarlos de forma tardía, tras la semana 13 de gestación o por un número insuficiente de visitas (menos de seis).
5. Riesgos ambientales y de conducta: El trabajo materno excesivo o inadecuado aumenta el gasto energético e incide desfavorablemente en la nutrición fetal; asimismo el estrés puede aumentar la descarga de adrenalina y agravar la perfusión placentaria. El consumo de tabaco, alcohol, café y drogas también se asocia de forma importante con un aumento de la incidencia del BPN. El estado nutricional durante la gestación también juega un papel importante debido a que sumado al bajo peso al nacer se relaciona con una predisposición a padecer enfermedades metabólicas en la vida adulta.

- **La nutrición durante la gestación**

Una forma de evaluar el desarrollo del individuo durante la gestación, es considerar la nutrición materna durante el embarazo y el peso al nacimiento del individuo. Si bien es cierto, que el desarrollo del feto tiene determinantes genéticos, el crecimiento fetal muestra fuerte relación con una amplia variedad de factores epigenéticos dependientes del estado nutricional. Una pobre dieta materna, escasas reservas nutricionales en la madre, un inadecuado flujo sanguíneo uterino (incluye defectos en la permeabilidad de nutrientes a través de la placenta) y la influencia hormonal materna repercuten negativamente en la talla y el peso al nacimiento y en una mayor probabilidad de enfermedades en la vida adulta (Godfrey y Barker 2000, Moreno y Dalmau 2001).

En humanos una disminución de la ingestión materna o de la capacidad de absorción puede causar un crecimiento fetal menor (Ceesay y cols. 1997). Por ejemplo, los hijos nacidos de madres holandesas sometidas a una ingestión muy reducida (400-800 kcal/día) durante el tercer trimestre de embarazo durante la Segunda Guerra Mundial presentaban bajo peso al nacimiento. Esos niños tenían en la edad adulta una menor tolerancia a la glucosa y una mayor resistencia insulínica (Ravelli y cols. 1998).

La malnutrición durante la gestación puede producir defectos persistentes, como la reducción del número de células de los tejidos, la modificación estructural de los órganos, la selección de ciertos clones de células y la modificación en el ajuste de ejes hormonales clave. El impacto a largo plazo dependerá del estadio en el que se produzca la malnutrición, de su duración e intensidad. Cada órgano y tejido tiene un periodo crítico o

sensible, de mayor replicación celular, durante el cual se verás más afectados (Becerra 1999).

La falta o el inadecuado desarrollo del lecho vascular de la placenta produce una merma en la circulación placentaria que, a su vez, origina fenómenos de trombosis e infartos que condicionan una reducción en la masa de tejido placentario funcionando, como consecuencia final se tiene un aporte disminuido de oxígeno y nutrientes al feto y un retraso del crecimiento intrauterino (Kingdom y Kaufmann 1997). Sin embargo, otros autores señalan que en situaciones de déficit de aporte nutritivo a la madre se encuentran placentas incrementadas de tamaño: madres anémicas durante el embarazo (Godfrey y cols. 1991), aumento de ejercicio o en las que viven en grandes altitudes (Mayhew y cols. 1990).

- **Restricción proteínica gestacional**

La desnutrición fetal desencadena adaptaciones endócrinas que cambian permanentemente la morfología, fisiología y el metabolismo. Esta programación fetal se lleva a cabo durante un periodo sensible o crítico de su desarrollo y tiene un efecto a largo plazo. Las adaptaciones que permiten la supervivencia ante una dieta deficiente, resultan perjudiciales cuando el individuo adulto lleva una dieta rica en nutrientes, principalmente carbohidratos y grasas, predisponiéndolo a enfermedades cardiovasculares, metabólicas y endocrinas (Parra y cols. 2003).

Se ha demostrado que el peso al nacimiento depende de la gravedad de la restricción (Zambrano y cols. 2005b; Miñana y Escobar 2007). Por ejemplo en un estudio con dieta del 6% de proteína se generan crías de bajo peso al nacer debido a una menor masa placentaria, lo cual está relacionado con un menor aporte de nutrientes al crío. Aunque estas crías con una dieta posterior normal, presentan un aumento en la ganancia de peso postdestete, porque la velocidad en el crecimiento de peso se duplica. Además cuando son adultas muestran evidencia de resistencia a la insulina y una respuesta alterada a estímulos como el ayuno de 48 h (Miñana y Escobar 2007). Con 8% de proteínas no se afecta el peso al nacimiento, pero hay alteraciones en la tasa de proliferación y apoptosis de las células β (Petrik y cols. 1999). Con dietas con 9 % de proteínas existen datos controversiales sobre la presencia o no de hipertensión arterial en la etapa adulta. Pero es evidente que las modificaciones vasculares podrían predisponer a esta, como cambios morfológicos, reducción en la capacidad de respuesta del endotelio a la acetilcolina

acompañada de un reordenamiento vascular y una reducción en el contenido de músculo liso (Brawley y cols. 2003; Rodford y cols. 2008; Kagota y cols. 2009). A mayor edad los daños son evidentes, como el depósito anormal de grasa en el hígado (Erhuma y cols. 2007). Con el 10% de proteína en la dieta, el peso al nacimiento no se ve alterado, pero existe alteración en la curva de leptina (Zambrano y cols. 2006) y alteraciones en el desarrollo sexual, reproductivo y endócrino (Zambrano y cols. 2005b).

Con el modelo de restricción proteínica gestacional se ha inducido hipertensión arterial en ratas adultas (Langley-Evans y cols. 1994). En forma similar, se ha observado reducción en la masa de células β y en la vascularización de los islotes de Langerhans (Snoek y cols. 1990; Petrik y cols. 1999). También, se ha asociado con una reducción permanente en la secreción de hormona de crecimiento (Stephan y cols. 1971; Harel y cols. 1995), al igual que del factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF 1), regulado tanto por factores nutricionales como por la hormona de crecimiento (Owens 1991).

El estado nutricional deficiente durante la etapa fetal y el primer año de la vida parecen jugar un papel importante para el desarrollo de alteraciones a largo plazo como la diabetes, debido a que el feto y el lactante mal nutridos deben desarrollar una serie de estrategias metabólicas, cuya característica en común es la presencia de hiperinsulinemia y resistencia a la insulina en los tejidos periféricos, con la finalidad de aumentar sus oportunidades de sobrevivir. En la vida intrauterina se produce la primera modificación funcional, que afecta en mayor medida a órganos como hígado, páncreas y músculo estriado mientras uno de los menos afectados es el cerebro (Desai y cols. 1996). A partir del nacimiento se observa un segundo cambio, al desarrollar un fenotipo que requiere menor cantidad de nutrientes y calorías, además presenta niveles plasmáticos elevados de insulina, cortisol y catecolaminas, lo que le permite asegurar la sobrevivencia, si la nutrición postnatal es deficiente. Sin embargo, cuando estos niños son sometidos a una sobre alimentación crónica y aumentan de peso corporal, estas modificaciones tienen un efecto perjudicial para la salud, a este concepto se le llamaba la hipótesis del fenotipo ahorrador (Hales y Barker 2001), el cual está íntimamente relacionado con la hipótesis de los orígenes en el desarrollo de la salud y la enfermedad, la cual menciona el impacto de las condiciones de vida intrauterina sobre la aparición de algunas enfermedades en la vida adulta ligadas a alteraciones metabólicas (Harrap 1994; Langley-Evans 2006).

Esta hipótesis se divide en tres etapas, siendo la primera una malnutrición fetal donde se desencadenan cambios estructurales y funcionales en diferentes órganos y sistemas, en la segunda se encuentran cambios bioquímicos y clínicos, que constituyen variables intermedias en la aparición de enfermedades metabólicas y cardiovasculares y en la tercera la presencia de dichas enfermedades (**Figura 2**). Además hay que resaltar dos momentos del proceso: programación y amplificación. El concepto de programación se ha definido como la respuesta permanente de un organismo a un estímulo o agresión en un período crítico del desarrollo que tiene significado a largo plazo (Langley-Evans 2004). En relación con la amplificación, algunas de las variables como por ejemplo la presión arterial, donde las diferencias observadas durante la infancia son menores que las de la edad adulta, lo anterior condujo a postular que los procesos iniciados durante la gestación se amplifican a lo largo de la vida (Langley-Evans 2004).

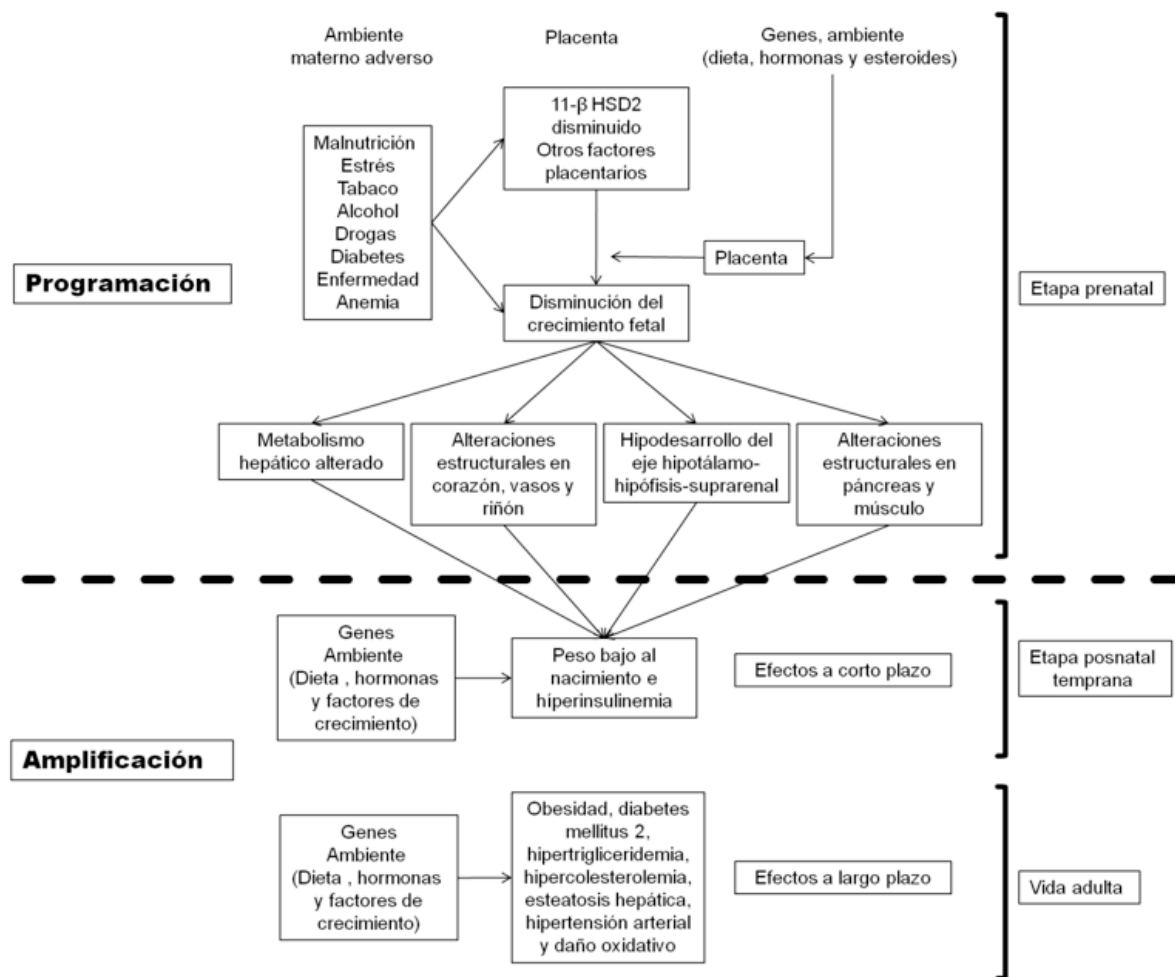


Figura 2.- Esquema que muestra las posibles interacciones entre factores maternos y genéticos que actuarían sobre el crecimiento fetal y modificarían la respuesta de la descendencia en la vida adulta (modificado de Seckl 1998).

- **Dietas ricas en sacarosa en la vida adulta**

Por otra parte se ha investigado que la dieta en etapas posteriores al nacimiento forma parte de los factores ambientales para el desarrollo de alteraciones metabólicas, principalmente debido a la mala disponibilidad de nutrientes. Estudios realizados en ratas macho recién destetados, con una ingesta de agua azucarada (30%) por 18 y 21 semanas induce alteraciones como: sobrepeso, adiposidad central, hipertensión, intolerancia a la glucosa y dislipidemias (El Hafidi y cols. 2001; Alexander y cols. 2004). Ratas machos adultos alimentadas con dieta alta en fructosa (60%) durante siete semanas, presentan: hiperinsulinemia, hipertriglicéridemia, hipercolesterolemia, hipertensión, y resistencia a la insulina (Herman y cols. 2008). Aunque ha sido observado que ratas alimentadas con una dieta alta en fructuosa (60%) después del nacimiento presentan una reducción en el peso corporal independientemente de la dieta adoptada en el periodo prenatal y disminución del tejido adiposo en la región retroperitoneal y subcutánea, con un aumento en las concentraciones de triglicéridos en suero y colesterol total (Cambri y cols. 2010) de los que se demuestran evidencias tanto en humanos como en animales de laboratorio de que se induce una respuesta al estrés en el hígado y en otros tejidos comprometiendo el metabolismo de glucosa y lípidos (Kelley y cols. 2004).

En un estudio citado por Basciano y colaboradores en el que durante 28 días se brindó alimentación con fructosa, no se encontraron cambios en la concentración del receptor de insulina, pero sí se observó una disminución del 72% en la autofosforilación del receptor la insulina, tanto en el hígado como en el músculo (Basciano y cols. 2005).

En ratas, las dietas ricas en carbohidratos (por ejemplo sacarosa o fructosa) inducen dislipidemias (aumento del triglicérido del plasma y de los niveles de ácidos grasos libres), el adiposito visceral, y la insensibilidad de la insulina en varios tejidos incluyendo el músculo esquelético (D' Alessandro y cols. 2000). Resulta interesante saber que en humanos, el consumo de azúcares refinados como la sacarosa y fructosa se incrementa a través de las décadas pasadas, especialmente en niños parece desempeñar un papel importante en el desarrollo de la obesidad (Bray y cols. 2004). El ambiente metabólicos que acompaña a la dislipidemias que se desarrolla en las ratas normales alimentadas con

una dieta rica en sacarosa (SRD) depende de la cantidad de carbohidrato y de la duración en la que se administra la dieta (Gutmann y cols. 1987).

- **Efectos de la restricción gestacional en el músculo estriado**

El concepto de programación fetal se origina de los datos epidemiológicos en humanos que relacionan un estado nutricional deficiente durante la gestación, el bajo peso al nacimiento y a una incidencia a padecer alteraciones metabólicas, sobrepeso y enfermedades cardiorrespiratorias en la vida adulta, (Barker y cols. 2002). La programación fetal, es la respuesta a un desafío específico del organismo mamífero durante una ventana de desarrollo crítica del tiempo que altera la trayectoria del desarrollo cualitativo cuantitativo (Nathanielsz y cols. 2007). La miogénesis que ocurre durante la etapa fetal es crucial para el desarrollo del músculo esquelético, debido a que en el postparto no hay un aumento neto en cuanto al número de fibras que componen al músculo. Por lo tanto, una disminución del número de fibras de músculo debido a la programación fetal reduce de forma permanente la masa del músculo y afecta negativamente al funcionamiento del organismo que posee menor número de fibras.

En el cerdo de guinea la restricción de la alimentación materna durante la primera mitad de la gestación induce que haya una reducción del 25 % de las fibras de la musculatura estriada en la prole (Bayol y cols. 2004). El músculo produce el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) que durante la restricción de alimento disminuye su concentración, este es un regulador del crecimiento del músculo por la vía de acción paracrina y autocrina, en la rata la desnutrición materna durante la gestación tiene el mismo efecto en las fibras musculares de la prole (Bayol y cols. 2004), otra consecuencia de la restricción del alimento es que en la rata la proliferación de los miotubos ocurre del día 17 de la gestación hasta la segunda semana después del nacimiento. Pero con la restricción de proteínas durante la gestación se ha observado que aun hay un gran número de miotubos después del nacimiento, por lo que la restricción de proteínas durante el embarazo altera la maduración de las fibras musculares, la diferenciación del tipo y número de fibras musculares (Alves y cols. 2008). Como consecuencia de una depleción nutricional prolongada se produce una disminución proporcional de la masa y de la contractilidad muscular (Dureuil y Matuszczak 1998). Habitualmente, se genera una pérdida de peso corporal si se presenta en edades adultas o un retardo en el crecimiento con ganancia de peso limitada y bajo crecimiento lineal

cuando se presenta la desnutrición en etapas de crecimiento como en los lactantes, infantes y adolescentes (Mataix 2009).

- **Efectos de dietas ricas en sacarosa en la vida adulta en el músculo estriado**

La regulación del metabolismo de la glucosa en el músculo esquelético implica una interacción compleja con otros combustibles, especialmente FFA (Ácidos Grasos Libres). Se cree que la resistencia de insulina está asociada a una superabundancia de lípidos. Vrana demostró que la utilización de glucosa se reduce, pero los ácidos palmíticos incrementan, del diafragma de ratas alimentadas con una dieta alta en fructosa por un período corto de tiempo (3 - 4 semanas) (Vrana y cols. 1987). Por otra parte una dieta alta en sacarosa ocasiona hipertriglicéridemia que es acompañado por un aumento substancial de los almacenes de triglicéridos en el músculo gastronemio (D'Alessandro y cols. 2000).

Hasta el momento no se cuenta con trabajos que aborden cambios histológicos en la musculatura estriada del piso pélvico ocasionados por la combinación de dos factores de malnutrición en diferentes etapas de la vida de un individuo.

- **Epigenética y nutrición**

Diversos estudios epidemiológicos (Lumey 1992; Barker 1992) y estudios in vivo en animales muestran cómo la malnutrición materna durante la gestación desencadena una serie de adaptaciones metabólicas fetales (“fenotipo ahorrador”) (Hales y Barker 2001) que en la edad adulta aumentan el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (Barker 1992), hipertensión arterial (Leon y cols. 1996), obesidad (Rabelli 1976), hiperinsulinemia e hiperleptinemia (Gluckman y Hanson 2004) y resistencia a la insulina y DM2 (Phillips y cols. 1994), especialmente en condiciones de sobreaporte energético (Vickers y cols. 2000). Aunque los mecanismos no están claros, las modificaciones epigenéticas de la expresión génica parecen desempeñar un papel importante. Hipotéticamente, el entorno nutricional fetal adapta al feto para sobrevivir a largo plazo en un entorno postnatal de similares características. Cuando este entorno difiere del de la vida adulta (predicción errónea), las adaptaciones fetales resultan inapropiadas y como consecuencia se desarrolla la enfermedad (Predictive Adaptive Response Hypothesis) (Gluckman y cols. 2005). Así, un feto que se desarrolla en un entorno nutricional adverso se adapta metabólicamente (programación o imprinting metabólico) de tal modo que en el futuro, en condiciones de sobreaporte energético, emergen la obesidad y el síndrome

metabólico como consecuencia de una inadecuación con el entorno nutricional existente (Rickard y Lummaa 2007).

Estas respuestas adaptativas ocurren en períodos críticos del desarrollo, distintos en los diferentes órganos durante el periodo fetal y postnatal. Por tanto, es posible que existan ciertas ventanas temporales en las que modificaciones nutricionales originen cambios permanentes (programación o *imprinting* nutricional). Por ejemplo, la leptina, una adipocina implicada en la regulación central del apetito y el balance energético al actuar como una señal de los depósitos grasos del organismo, posee también efectos tróficos sobre ciertas neuronas hipotalámicas involucradas en la respuesta a nutrientes y contribuye a su plasticidad en el periodo neonatal precoz (Bouret y cols. 2004). La leptina pudiera también regular durante este periodo la proliferación de células beta pancreáticas (Islam y cols. 2000). Más aún, la administración subcutánea de leptina recombinante en el periodo neonatal precoz a las crías de ratas malnutridas durante la gestación es capaz de revertir la programación metabólica fetal a un fenotipo normal en la edad adulta (Vickers y cols. 2005). En humanos, se ha encontrado asimismo una correlación negativa entre el IMC a los 2 años de edad y la concentración de leptina en leche materna de madres no obesas, a su vez dependiente del grado de adiposidad materna (Miralles y cols. 2006). Otros estudios no han encontrado esta relación (Uysal y cols. 2002).

La inducción de cambios epigenéticos por la alimentación es también posible en otras etapas del desarrollo. Se ha encontrado mayor supervivencia y menor riesgo de DM en los nietos de aquellos abuelos paternos que sufrieron escasez de alimentos en el periodo de crecimiento lento previo a la pubertad (Kaati y cols. 2001). En este periodo emerge el primer pool viable de espermatozoides y comienza la reprogramación del *imprinting* en ciertos genes. Curiosamente el gen del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 2 (IGF-2) se expresa únicamente en el alelo paterno en la mayoría de tejidos durante el desarrollo fetal y tras el nacimiento (Constancia y cols. 2002). Al igual que IGF-2, involucrado en el desarrollo placentario y el control del aporte de nutrientes al feto, otros genes sellados o *imprinted genes*, se expresan en placenta y regulan la demanda fetal de nutrientes y también se expresan en áreas del cerebro, como el hipotálamo, involucradas en el control del apetito y la homeostasis energética. Las variaciones epigenéticas en respuesta a nutrientes en estos genes es probable que hayan desempeñado un papel importante en la evolución. Más aún, ciertos síndromes asociados a alteraciones en el *imprinting*, como el

síndrome de Prader-Willi, asocian característicamente obesidad y DM2 (Constancia y cols. 2002).

Sin embargo se sabe poco sobre los cambios epigenéticos que la restricción proteínica gestacional pudiera desencadenar sobre la musculatura estriada. En algunos trabajos previos como es el caso del de Raychaudhuri y cols. 2008 se ha observado que una base central de la resistencia a la insulina en los hijos con Reducción del Crecimiento Intra-Uterino (RCIU) se debe a cambios fundamentales en el GLUT4 del músculo esquelético. Estos cambios incluyen: 1) disminución de GLUT4, RNA-m y concentración de proteínas en el músculo esquelético, lo que sugiere aberraciones en el control transcripcional, y 2) resistencia a la insulina de post-traducciona l y translocación de GLUT4 a partir de vesículas intracelulares a la membrana plasmática (Raychaudhuri y cols. 2008). Aunque se conoce poco sobre estos procesos epigenéticos, no se sabe nada sobre los mecanismos moleculares responsables.

- **Músculos estriados del área pélvica**

Los trabajos que se han realizado en torno a este grupo de músculos, incluyen la respuesta de estos a diversos factores, como hormonales, denervación, edad y multiparidad, con el fin de entender su participación en mecanismos como la continencia y la reproducción.

Se ha observado que la musculatura estriada es un órgano diana de las hormonas gonadales. Dentro de los esteroides sexuales, se ha encontrado que los estrógenos afectan la actividad enzimática incidiendo sobre la activación y proliferación de células satélite en ratas ovariectomizadas (Enns y Tiidus 2008). Debido a que la concentración de estrógenos afecta el tamaño del músculo y como consecuencia la generación de fuerza por parte de estos (Moran y cols. 2007). La fluctuación en los niveles séricos de estrógenos y progesterona son también responsables de los cambios en la prevalencia de síntomas urinarios y han sido el resultado de diversas investigaciones urodinámicas (Zhu y cols. 2004). Existe evidencia epidemiológica que implican la menopausia y la subsecuente deficiencia de estrógenos en patogénesis de un importante número de quejas incluyendo la incontinencia, la incontinencia urinaria por estrés (IUS) y las recurrentes infecciones urinarias. Estudios recientes proponen que los cambios hormonales tienen un efecto sobre la capacidad del músculo esquelético para regular su plasticidad y su masa (McClung y cols. 2006). Es posible suponer entonces, que el factor hormonal es importante para el

mantenimiento de la histología y fisiología de los órganos reproductivos y la musculatura adyacente.

Debido a la existencia de una relación entre problemas de continencia urinaria y alteraciones en los músculos mencionados anteriormente, de manera general, conocemos que la prevalencia de IU durante la etapa adulta joven es del 20 al 30%, en la edad media del 30 a 40% y posteriormente se presenta un aumento sostenido en la población anciana que comienza a partir de un 30 al 50% (Hunskaar y cols. 2003).

La labor de parto promueve modificaciones anatómicas y funcionales en vejiga, uretra y músculos del piso pélvico, que en la mujer se asocian con el desarrollo de incontinencia urinaria (Rogers y Leeman 2007). Debido a consideraciones de carácter ético, el uso de modelos animales ofrece una alternativa adecuada para estudiar con detalle los efectos de la reproducción sobre las modificaciones morfológicas y funcionales de órganos y tejidos, que como los músculos pélvicos, participan en la continencia de la orina (Hijaz y cols. 2008). Datos obtenidos por nuestro grupo de investigación han demostrado que la multiparidad (cuatro partos) en la coneja doméstica: a) modifica la histología del aparato urogenital inferior (Rodríguez y cols. 2008), el cual es el sustrato anatómico que subyace a la cópula, la micción y el parto; b) disminuye la contractilidad de las fibras que componen a los músculos bulbo esponjoso y pubococcígeo, ambos involucrados en la continencia urinaria de la coneja, al modificar la proporción de fibras rápidas y lentas (Fajardo y cols. 2008) y c) afecta la actividad de estos músculos durante la micción.

- **Músculo Pubococcígeo**

Shafik y colaboradores han mostrado que el músculo pubococcígeo no es homólogo en las fibras musculares que lo componen, en su región lateral (izquierda o derecha) el músculo está compuesto de fibras de musculatura estriada de diámetro pequeño; conforme se avanza a la línea media hay presencia de musculatura lisa, en la parte media el músculo pubococcígeo se divide en dos capas: la pélvica (profunda y compuesta por musculatura lisa) y la perineal (compuesta de musculatura estriada), en ambas capas hay arreglos entrelazados de músculo liso y estriado. Esto explicaría por qué este músculo, a diferencia de otros músculos estriados, presenta actividad electromiografía basal (Shafik y cols. 2002a; Shafik y cols. 2002b).

El músculo pubococcígeo (mPc) en la rata, participa en los procesos de micción y mantenimiento de la cola en la línea media (Manzo y cols. 1997, 2002). El pubococcígeo

tiene su origen en la cara interna del hueso pélvico, insertándose en las vertebrae caudales 3 y 4, (Brink y Pfaff 1980) y es inervado por un nervio que previamente ha recibido el nombre de rama motora del nervio pélvico (Pacheco y cols. 1989; Lucio y cols. 1994). La rama motora lleva axones aferentes y eferentes a los mPc e iliococcígeo (Pacheco y cols. 1989), las motoneuronas que inervan al mPc se encuentran localizadas en el núcleo ventral de la lámina IX en la zona de transición lumbo sacra de la médula espinal (observaciones no publicadas). En humanos ha sido reportado que la denervación del Pb, está implicada en la incontinencia urinaria por estrés, además que los ejercicios del piso pélvico son una terapia que ayuda en los problemas de incontinencia urinaria, y que la actividad de los músculos del piso pélvico parecen ser cruciales para la continencia fecal (Manzo y cols. 1997).

- **La rata como modelo de estudio**

A nivel de investigación, los estudios realizados en humanos sólo permiten realizar correlación de variables y muy pocos abordan el análisis de los mecanismos fisiológicos e histológicos involucrados en algún padecimiento. Por ello, se ha recurrido al uso de animales de laboratorio para investigar mecanismo de acción de alguna sustancia, efectos tóxicos, benéficos de medicamentos, observar síntomas y signos producidos por alguna enfermedad, alteraciones histológicas de órganos o tejidos producidas por algún padecimiento, etc.

De manera que en los animales de laboratorio (considerados modelos animales para estudiar “algo”) es posible inducir alguna patología mediante tratamiento farmacológico, o de manera natural si una enfermedad aparece de manera fortuita en un animal, es exacerbada mediante manipulación genética o cruzamiento entre miembros enfermos (National Research 2004).

IV. Justificación

El desarrollo de un individuo depende de manera importante de las condiciones nutricionales durante la gestación, ya que en este periodo se forman los tejidos fetales y se incrementan las reservas maternas para la lactancia; por lo que aumentan los requerimientos de energía y proteínas, entre otros (Serralda y cols. 2003), cuando no se cubren tales requerimientos se promueve la desnutrición y/o malnutrición (Shetty 2006).

En seres humanos, estudios epidemiológicos de desnutrición materna por una deficiencia de todos los nutrientes (energético-proteínica), reportan en el feto limitaciones en el desarrollo físico, cognitivo, reproductivo, metabólico y patologías conocidas como Kwashiorkor y Marasmo (Grantham-Mc Gregor 1995). Algunos estudios epidemiológicos muestran que hay una relación entre el tipo de ambiente intrauterino y los riesgos para desarrollar alteraciones del metabolismo (Smith y Ozanne 2006).

En animales de experimentación, un modelo utilizado para valorar trastornos metabólicos en la vida adulta es la aplicación de dietas restringidas en proteínas a las madres gestantes, lo cual muestra alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, lípidos, insulina y leptina (Smith y Ozanne 2006; Zambrano y cols. 2006), en hígado y en arterias causa alteraciones y cambios fisiológicos (Rodford y cols. 2008), también se observan alteraciones en la función del eje Hipotálamo-Pituitaria-Adrenal (HPA) en la edad adulta, lo cual sugiere que la programación del eje (HPA) puede ser una respuesta a las alteraciones del entorno intrauterino (Langley-Evans 2005). También se tienen efectos sobre el cerebro, hígado, tejido endotelial y musculatura estriada de las extremidades superiores e inferiores (como el músculo tibial). Ningún estudio se ha enfocado a los músculos del piso pélvico (pubococcígeo, iliococcígeo y coccígeo), cuya musculatura es importante en la dinámica funcional de la micción.

Por otra parte, la dieta postnatal rica en carbohidratos también tiene efectos deletéreos en el metabolismo como por ejemplo: intolerancia a la glucosa, aumento de colesterol, triglicéridos, e insulina, disminución de C-HDL (colesterol en lipoproteínas de alta densidad) (El Hafidi y cols. 2001; Alexander y cols. 2004; Herman y cols. 2008). Sin embargo, aún se desconoce si las crías de ratas, provenientes de madres que durante la gestación fueron sometidas a restricción proteínica, son más vulnerables a alteraciones

histológicas del músculo pubococcígeo cuando son sometidas en la vida adulta al consumo elevado de carbohidratos.

A diferencia de otros, los músculos pélvicos contribuyen a la continencia (urinaria y fecal) y controlando actividades expulsivas (como el parto). Afecciones en estos músculos se relacionan con serios problemas de incontinencia urinaria, una afección con alta prevalencia en mujeres multíparas y postmenopáusicas. Por otro lado, se ha propuesto que una malnutrición proteínica podría ser una causa importante de sarcopenia, patología definida como la reducción cuantitativa de la masa muscular estriada, lo que conlleva a una disminución de la fuerza. En general, el ambiente nutricional tanto en exceso como por déficit se asocia con sarcopenia y éste a su vez se ha asociado con problemas de obesidad y alteraciones anatómicas y funcionales de la musculatura estriada (Fuenmayor y cols. 2007).

Los resultados del presente trabajo forman parte de un proyecto de investigación integral que aborda un relevante y complejo modelo de malnutrición muy similar al que presentan diferentes culturas en el mundo, la misma cultura mexicana podría estar incluida.

V. Hipótesis

La restricción proteínica gestacional y el consumo de agua azucarada en la vida adulta de la progenie provoca cambios en las concentraciones de glucosa, triglicéridos, colesterol, colesterol-HD y alteraciones histológicas en el músculo pubococcígeo de la rata.

VI. Objetivo General

Determinar si la restricción proteínica gestacional y el consumo de agua azucarada en la vida adulta de la progenie provoca cambios en las concentraciones séricas de glucosa, triglicéridos, colesterol, colesterol-HDL y alteraciones histológicas en el músculo pubococcígeo.

VII. Objetivos específicos

En la madre

- Administrar una dieta restringida en proteínas al 50% durante la gestación.

En el crío

- Evaluar medidas morfométricas al nacer.
- Evaluar glucosa, triglicéridos, colesterol y colesterol-HDL en sangre.
- Evaluar las medidas morfométricas del mPc.
- Determinar el área de las fibras del mPc.
- Determinar la frecuencia del área de fibras del mPc.

VIII. Metodología

Se utilizaron 20 ratas hembras vírgenes de la cepa Wistar de tres meses de edad que fueron manejadas en condiciones de bioterio a una temperatura de 20 ± 2 °C, con ciclo de luz-oscuridad invertido de 12/12hrs.

- **Grupos experimentales de las madres**

El día del apareamiento es considerado el día 0 de gestación. A partir del día uno de gestación, se midió el consumo de alimento diario y el peso corporal. Las ratas fueron divididas en dos grupos:

Control, ratas alimentadas con una dieta Chow 5001 de Purina (20% de proteína) y agua simple de manera ad libitum.

Restricción proteínica gestacional, ratas adultas alimentadas durante los 21 días de gestación de manera ad libitum con una dieta isocalórica reducida en proteínas (10% de proteína) (**Tabla 3**).

- **Grupos experimentales de las crías**

Después del parto, las camadas fueron ajustadas a 10 críos para estandarizar la demanda durante la lactancia. La proporción de machos y hembras fue 1:1 como fue posible. Las crías al nacimiento fueron pesadas en una balanza Ohaus de 0-500 g y la talla, circunferencia cefálica, abdominal y la distancia ano-genital se tomaron con un Vernier digital Mitutoyo 700-113-10.

A las ratas lactantes se les proporcionó alimento ad libitum Rodent Lab Chow* 5001 de Purina que es una dieta que está formulada para todo el ciclo de vida de ratas. Al destete, las crías fueron separadas por sexo y se mantuvieron con el mismo alimento, a la edad de 12 semanas, las crías de ambos grupos fueron divididas en dos subgrupos: a uno se le proporcionó agua simple para beber y al otro agua azucarada al 5%, ver diseño experimental.

Ingredientes	Dieta normal en proteína (%)	Dieta reducida en proteína (%)
Caseína	20	10
Cisteína	0.3	0.15
Colina	0.165	0.165
Mezcla de vitaminas	1	1
Mezcla de minerales	5	5
Celulosa	5	5
Aceite de maíz	5	5
Carbohidratos		
Almidón de maíz	31.76	37.34
Dextrosa	31.76	37.34
Kcal/g de dieta	4	4

Tabla 3.- Composición de las dos dietas isocalóricas con las que se alimentaron a las ratas durante la gestación.

- **Obtención del músculo pubococcígeo y análisis anatómico**

Se realizó una incisión longitudinal sobre la línea media de la piel abdominal para remover el músculo obturador externo, la sínfisis púbica y el músculo obturador interno, inmediatamente se removió el recto y ano para diseccionar el músculo pubococcígeo. Una vez removido el músculo fue pesado y medido (longitud y ancho). Inmediatamente después fue sumergido en formaldehído al 4% (fijador) por 24 h. Posteriormente, el tejido fue deshidratado con alcohol etílico en concentraciones ascendentes (70, 80, 96 y 100%), aclarado en xileno e incluido en paraplast X-tra para obtener cortes transversales (7 μ m) en un micrótopo. Los cortes fueron recolectados en portaobjetos formando series paralelas. De las series paralelas de cortes histológicos que se formaron, una serie fue teñida con H-E, para determinar la proporción de fibras de musculatura estriada y de colágeno (tejido conectivo), así como el diámetro y número de núcleos celulares de cada fibra muscular. Las demás series fueron guardadas para estudios posteriores. Los cortes fueron sometidos al tren de tinción que implicó eliminar el paraplast X-tra con xileno, hidratarlos con alcoholes de concentraciones descendentes (100-60%), lavarlos en agua destilada, teñirlos con hematoxilina de Weigert, lavar el exceso de colorante, sumergirlos en alcohol ácido, lavarlos en agua destilada, teñir con eosina, deshidratarlos en alcoholes de concentraciones ascendentes (60-100%) y xileno para montarlos con cytooseal TM 60. Del músculo se

realizó un barrido histológico, para determinar el número de cortes a analizar. El análisis se realizó con la ayuda de un analizador de Imágenes AxioVision REL 4.6 (Zeiss Inc 2007) en fotografías tomadas con una cámara OLYMPUS de 5.1 mega píxeles montada en un microscopio óptico Zeiss Imager A.1 (a 100, 200 y 400 aumentos totales).

- **Obtención de muestras sanguíneas y determinaciones bioquímicas**

Previo al sacrificio, y habiendo cumplido un ayuno de cuatro horas, a cada rata se le midió la glucosa sérica con un analizador Accutrend GCT, Roche Diagnostics. Inmediatamente después los animales fueron decapitados y se colectaron dos tubos con sangre total, misma que fue centrifugada para recolectar el suero sanguíneo en el cual se determinaron las concentraciones de triglicéridos, colesterol y colesterol de lipoproteínas de alta densidad (C-HDL).

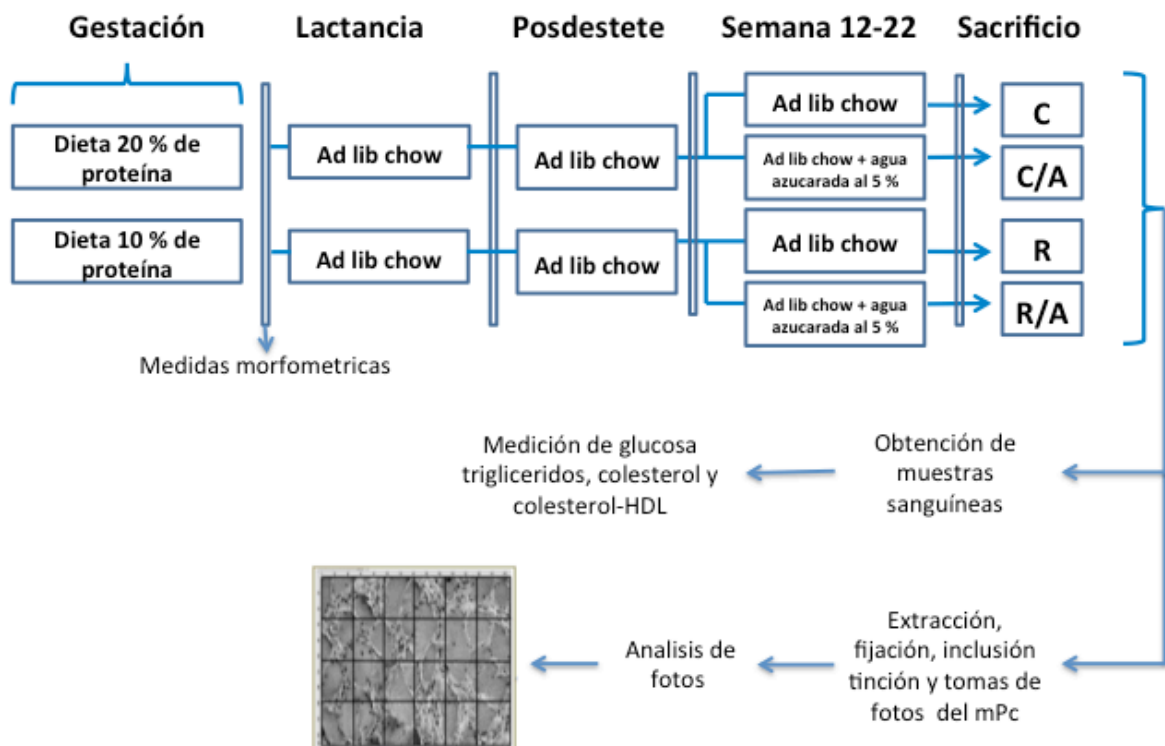
Para la determinación de triglicéridos se utilizó un método colorimétrico enzimático (glicerolfostato oxidasa). Según el procedimiento No. 2100 de Stanbio Triglicéridos liquicolor (LICON Laboratorios). Se preparó previamente el reactivo (cat No. 2101), por cada 50 ml de este, se adicionaron 50 µl de activador (cat No. 2102), se mezcló y se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de utilizarlo. Se pipetearon en tubos eppendorf 5 µl de muestra y 500 µl de reactivo. Se agitaron en un vortex y se dejaron reposar por 10 minutos a temperatura ambiente. Se realizó la lectura en un espectrofotómetro a 500 nm.

Para la determinación de colesterol se utilizó el método enzimático combinado de colesterol oxidasa y colesterol esterasa. Según el procedimiento No. 1010 de Stanbio Colesterol liquicolor (LICON Laboratorios). En tubos eppendorf se pipetearon cinco µl de la muestra con 500 µl de reactivo enzimático líquido (cat No. 1011). Se agitaron en un vortex y se dejaron reposar por 10 minutos a temperatura ambiente. Se realizó la lectura en un fotómetro a 492 nm.

Para la determinación de C-HDL, primero se precipitaron las lipoproteínas de baja y muy baja densidad (LDL, VLDL respectivamente) por medio del reactivo de cloruro de magnesio/dextran sulfato. Para esto se pipetearon 125 µl de muestra y 12.5 µl de reactivo precipitante. Se agitó con vortex y se dejó estabilizar a temperatura ambiente por cinco minutos. Posteriormente se centrifugaron a 1000 rpm por 10 minutos. Luego se pipetearon 2.5 µl del sobrenadante y 500 µl del mismo reactivo que se utilizó para determinación de

colesterol total. Se agitaron en un vortex y se dejaron reposar por 10 minutos a temperatura ambiente. Se realizó la lectura en un fotómetro a 492 nm.

- **Diseño experimental**



- **Análisis estadístico**

El diseño experimental es un modelo bifactorial separado por sexos, donde la primera variable es la dieta materna como un factor aleatorizado y la segunda variable es el consumo de agua azucarada como un factor de medidas repetidas. Se utilizaron dos animales de cada camada y de cada sexo, por lo que fueron promediados para considerar la media como dato de la camada. Cabe mencionar que el número de individuos fue estandarizado a 10 miembros por camada para evitar que esto fuera un factor que interfiriera en análisis posteriores.

Se utilizó el paquete estadístico del programa GraphPad Prism para Windows versión cinco para el análisis descriptivo que proporcionó la media y el error estándar de ambos grupos. Para analizar las diferencias existentes desde el nacimiento hasta antes de iniciar el consumo de agua azucarada entre los grupos C vs R, se realizó una prueba de t de Student, posterior al consumo de agua azucarada se formaron los grupos C, C/A, R y R/A, los cuales se analizaron mediante una ANOVA de dos vías, se consideró un valor de $p < 0.05$ como diferencia significativa.

IX. Resultados

La n que se utilizó para el presente proyecto fue de 6 ratas para el grupo control y 7 ratas para el grupo restringido, teniendo a dos ratas hermanas por grupo en la mayoría de los casos (el dato utilizado fue el promedio de los datos).

El peso corporal de las ratas control al inicio (día 1 de gestación) fue de 217.1 ± 5.2 g y para las restringidas de 223.2 ± 4.8 g. En el día 21 de gestación, la media del peso corporal fue de 334.1 ± 10.7 g para el grupo control y de 334.2 ± 9.9 g para el grupo restringido, sin presentar diferencias significativas ($p > 0.05$). La ganancia de peso por la gestación fue para el control de 117.01 ± 6.4 g (58 %) y el restringido aumentó 111.05 ± 5.9 g (49%), sin diferencia significativa. El consumo diario de alimento y de energía a lo largo de la gestación (días 1, 7, 14 y 21) no tuvo diferencias significativas entre ambos grupos ($p > 0.05$), ni al calcularlo por 100 g de peso corporal. El consumo de proteínas siempre fue menor en el grupo restringido vs control ($p < 0.05$) (**Tabla 4**).

Variable	Condición	DÍA 1	DÍA 7	DÍA 14	DÍA 21
Peso corporal (g)	C	217.1 ± 5.2	231.4 ± 6.9	257.9 ± 6.9	334.1 ± 10.7
	R	223.2 ± 4.8	238.4 ± 6.4	256.7 ± 6.9	334.2 ± 9.9
Alimento total (g/día)	C	28.3 ± 4.1	23.9 ± 1.7	27.5 ± 2.5	18.1 ± 2.5
	R	29.9 ± 3.8	23.1 ± 1.6	26.8 ± 2.3	23.4 ± 2.3
Consumo de alimento (g/100g de peso corporal)	C	13.1 ± 1.7	10.3 ± 0.6	10.7 ± 0.9	5.4 ± 0.7
	R	13.2 ± 1.6	9.7 ± 0.5	10.1 ± 0.8	7.1 ± 0.7
Consumo de energía (kcal/día)	C	113.3 ± 16.4	95.5 ± 6.8	110.2 ± 10.1	72.1 ± 10.0
	R	119.5 ± 15.2	92.4 ± 6.3	107.1 ± 9.3	93.8 ± 9.3
Consumo de proteína (g/día)	C	5.6 ± 0.5	4.8 ± 0.2	5.5 ± 0.3	3.6 ± 0.3
	R	$2.9 \pm 0.48^*$	$2.3 \pm 0.2^*$	$2.7 \pm 0.3^*$	2.3 ± 0.3^a

Tabla 4.- Consumo de alimento, energía y proteína de las ratas gestantes al día 1, 7, 14 y 21 de gestación. Se muestran los ^a $p < 0.05$ comparados con el control en el mismo día. C=control; R=restringida.

- **Medidas morfométricas de la progeñie**

Las medidas morfométricas obtenidas un día después del nacimiento fueron: talla, diámetro cefálico, diámetro abdominal, distancia ano-genital y peso corporal (**Tabla 5**).

		Control	Restringidas	
Peso corporal (g)	Hembras	5.6 ± 0.16	5.8 ± 0.16	
	Machos	6.0 ± 0.15	6.1 ± 0.15	
Longitud (mm)	Hembras	48.1 ± 0.76	45.8 ± 0.89	
	Machos	49.4 ± 0.81	47 ± 0.95	
Diámetro cefálico (mm)	Hembras	11.1 ± 0.12	10.7 ± 0.18	
	Machos	11.2 ± 0.19	10.8 ± 0.23	
Diámetro abdominal (mm)	Hembras	13.8 ± 0.46	13.1 ± 0.54	
	Machos	14.1 ± 0.41	13.4 ± 0.49	
Relación cefálico- abdominal	Hembras	0.81 ± 0.03	0.83 ± 0.04	
	Machos	0.80 ± 0.03	0.82 ± 0.04	
Distancia ano-genital (mm)	Hembras	2.3 ± 0.05	2.6 ± 0.06	*
	Machos	4.4 ± 0.06	4.8 ± 0.07	
Distancia ano-genital (mm g-1)	Hembras	0.42 ± 0.02	0.46 ± 0.02	
	Machos	0.74 ± 0.02	0.75 ± 0.02	

Tabla 5.- Medidas morfométricas de las ratas crías después del nacimiento. Se muestra media±e.e. No se encontraron diferencias, $p > 0.05$ t Student (n= C= 6, R= 7).

- **Peso al nacer y ganancia de peso postnatal**

Hembras

El peso al nacer del grupo C fue de 5.2 ± 0.2 g y en el R de 5.9 ± 0.3 g y $p = 0.18$ (**Tabla 6**). A la semana tres de edad (término de la lactancia) se calculó la ganancia de peso, mediante la diferencia del peso a la semana 3 menos el peso al nacer, siendo en el grupo C de 24.4 ± 0.8 g y en el R de 34.4 ± 2.5 g $p = 0.007$ (**Tabla 6**) donde se observa que a partir del día 13 de lactancia inicia diferencia significativa entre los 2 grupos y se mantiene hasta el final de la lactancia (**Gráfica 1**). La ganancia de peso de la semana 3 (destete) a la semana 12 de edad se calculó mediante la diferencia del peso a la semana 12 menos el peso a la semana 3, siendo en el grupo C de 29.0 ± 31.3 g y en el R de 31.3 ± 3.8 g $p = 0.83$ (**Tabla 6**). La ganancia de peso de la semana 12 a la 22 de edad se calculó mediante la diferencia del peso de la semana 22 menos el peso a la semana 12, siendo en el grupo C de 186.12 ± 7.3 g y en el R de 178.6 ± 5.3 g $p = 0.48$ (**Tabla 6**).

Grupo	Nacimiento	Lactancia	Destete	Sacrificio
Control	5.2 ± 0.2	24.4 ± 0.8	29.0 ± 3.8	186.12 ± 7.3
Restringido	5.9 ± 0.3	34.4 ± 2.5 *	31.3 ± 3.8	178.6 ± 5.3

Tabla 6.- Peso al nacer y ganancia de peso corporal en hembras. Se muestra media±e.e. Se encontró diferencia significativa para la lactancia, $p=0.007$ t de Student ($n= C= 6$ y $R= 7$).

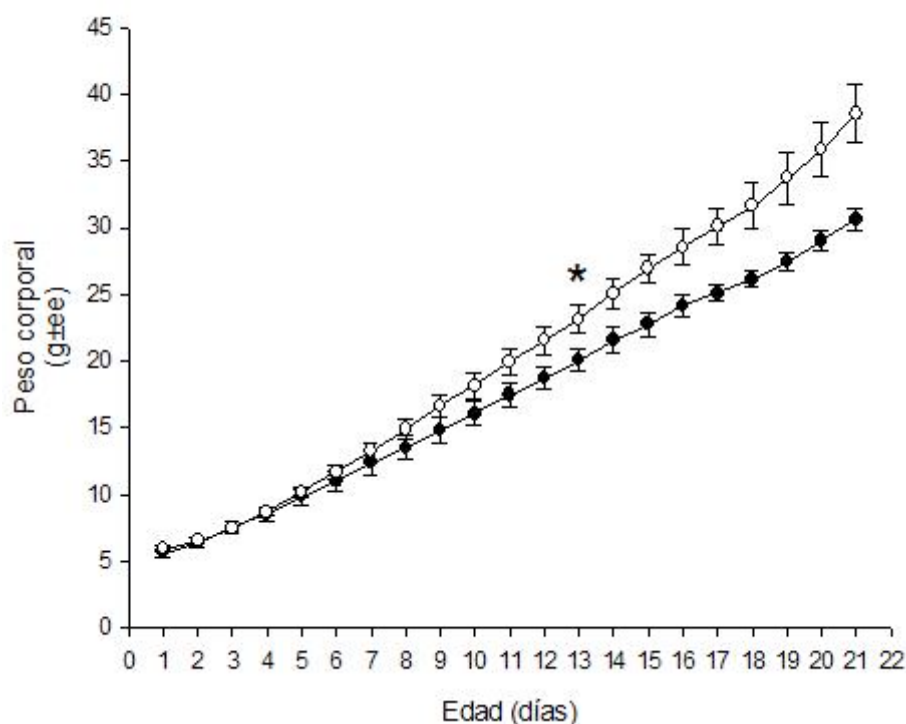


Gráfico 1.- Peso corporal durante la lactancia entre las ratas hembras controles ● y restringidas ○ que sufrieron restricción proteínica durante su etapa intrauterina.* $p < 0.05$ vs control.

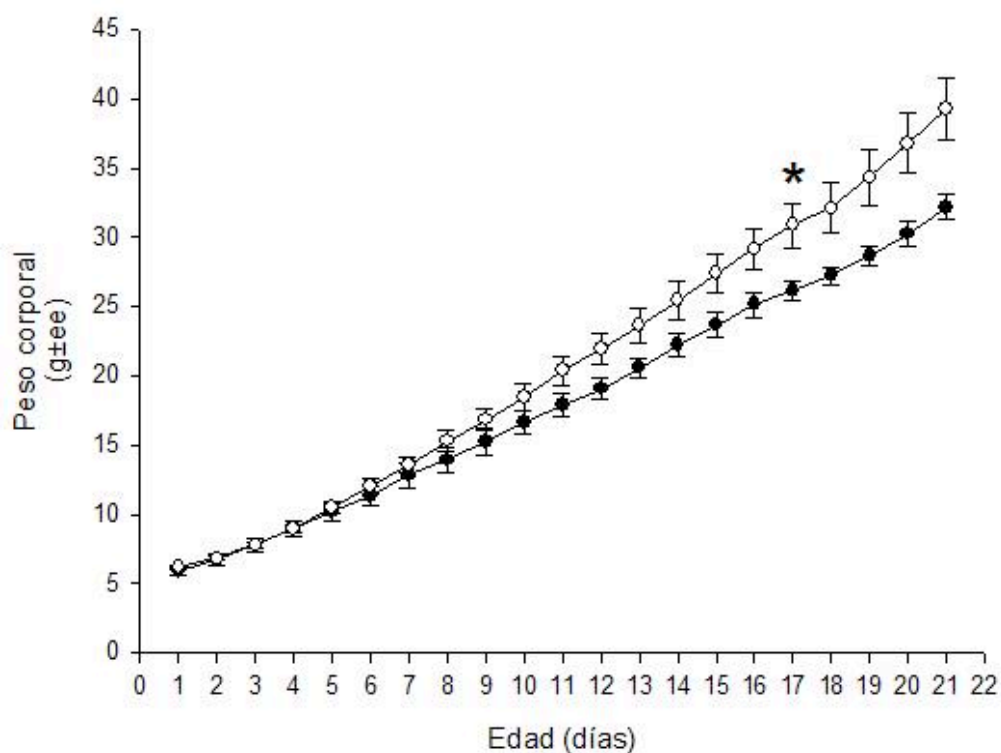
Machos

El peso al nacer en el grupo C fue de 5.9 ± 0.2 g y en el R de 6.05 ± 0.2 g (**Tabla 7**). A la semana tres de edad (término de la lactancia) se calculó la ganancia de peso, mediante la diferencia del peso a la semana 3 menos el peso al nacer, siendo en el grupo C de 27 ± 2.1 g y en el R de 33.2 ± 2.9 g (**Tabla 7**) donde se observa que a partir del día 17 de lactancia inicia diferencia significativa entre los 2 grupos y se mantiene hasta el final de la lactancia (**Gráfico 2**). La ganancia de peso de la semana 3 (destete) a la semana 12 de edad se calculó mediante la diferencia del peso a la semana 12 menos el peso a la semana 3,

siendo en el grupo C de 76.9 ± 4.9 g y en el R de 77.9 ± 9.8 g (**Tabla 7**). La ganancia de peso de la semana 12 a la 22 de edad se calculo mediante la diferencia del peso de la semana 22 menos el peso a la semana 12, siendo en el grupo C de 283.9 ± 10.5 g y en el R de 281.8 ± 6.9 g (**Tabla 7**).

Grupo	Nacimiento	Lactancia	Destete	Sacrificio
Control	5.9 ± 0.2	26 ± 1.1	76.9 ± 4.9	283.9 ± 10.5
Restringido	6.05 ± 0.2	30.2 ± 1.9	77.9 ± 9.8	281.8 ± 6.9

Tabla 7.- Peso y ganancia de peso en machos. Se muestra media \pm e.e. Se encontró diferencia significativa para la lactancia, $p=0.007$ t de Student (n= C= 6 y R= 7).



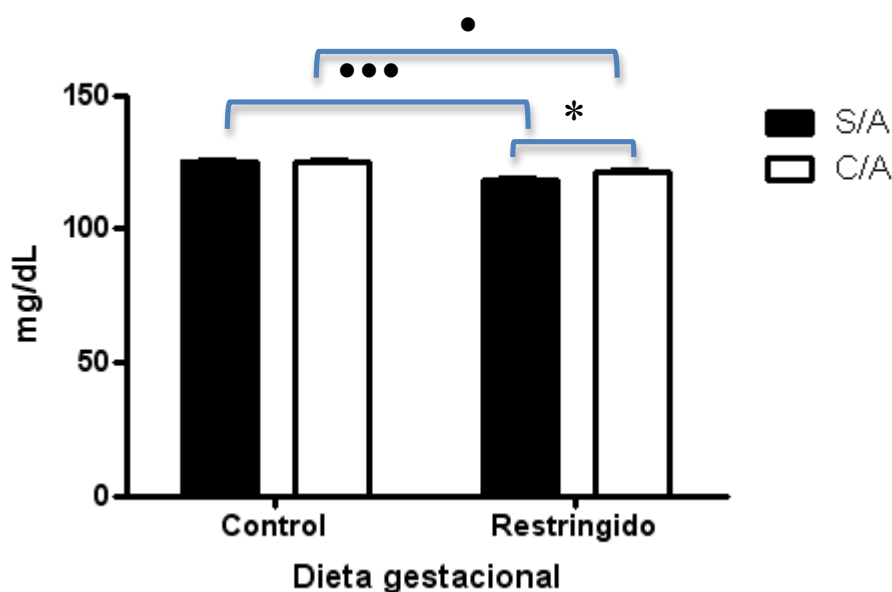
Gráfica 2.- Peso corporal durante la lactancia entre las ratas machos controles ● y restringidas ○ que sufrieron restricción proteínica durante su etapa intrauterina.* $p < 0.05$ vs control.

- **Parámetros bioquímicos al sacrificio**

Hembras

Glucosa

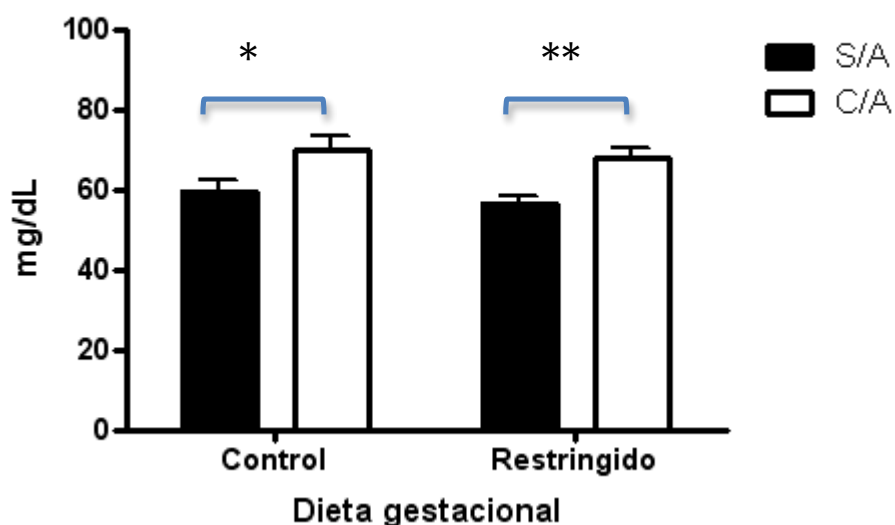
La concentración de glucosa en el grupo C fue de 125.250 ± 2.091 mg/dL, del grupo C/A fue de 124.750 ± 2.063 mg/dL, del grupo R fue de 118.000 ± 2.547 mg/dL y del grupo R/A fue de 121.500 ± 2.100 mg/dL (**Gráfica 3**), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.0001$, para el agua azucarada de $p=0.100$ y para la interacción fue de $p=0.032$.



Gráfica 3.- Glucosa en hembras. Se muestra media \pm e.e. Se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.0001$, el consumo de agua azucarada $p=0.100$ y la interacción D*A $p=0.032$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, ••• $p=0.0001$ C vs R, • $p=0.05$ C/A vs R/A * $p=0.05$ R vs R/A.

Triglicéridos

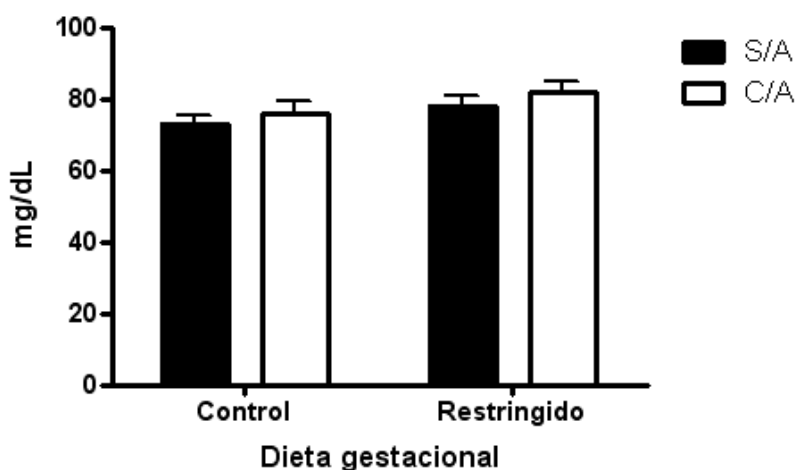
La concentración de triglicéridos en el grupo C fue de 59.500 ± 7.372 mg/dL, del grupo C/A fue de 69.7500 ± 9.204 mg/dL, del grupo R fue de 56.500 ± 4.225 mg/dL y del grupo R/A fue de 68.000 ± 6.218 mg/dL. La concentración de triglicéridos en sangre aumenta por efecto del consumo elevado de carbohidratos $P<0.05$ (**Gráfica 4**), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.388$, para el agua azucarada de $p=0.006$ y para la interacción fue de $p=0.818$.



Gráfica 4.- Triglicéridos en hembras. Se muestra media \pm e.e. Se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.388$, el consumo de agua azucarada $p=0.006$ y la interacción D*A $p=0.818$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, * $p=0.05$ C vs C/A, ** $p=0.05$ R vs R/A.

Colesterol

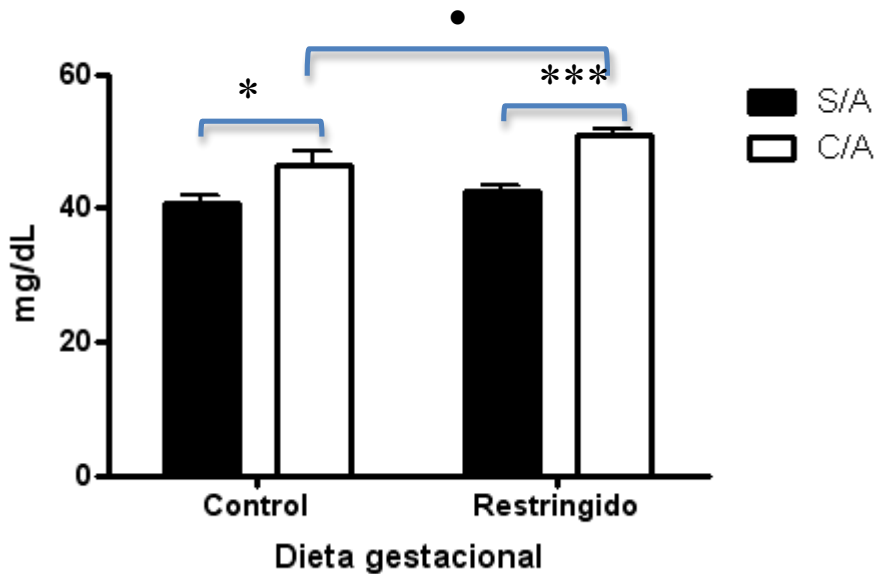
La concentración de colesterol en el grupo C fue de 73.000 ± 5.534 mg/dL, del grupo C/A 75.750 ± 9.150 mg/dL, del grupo R fue de 78.000 ± 7.205 mg/dL y del grupo R/A fue de 82.000 ± 7.434 mg/dL. No se encontraron diferencias significativas entre grupos (Gráfica 5), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.067$, para el agua azucarada de $p=0.260$ y para la interacción fue de $p=0.832$.



Gráfica 5.- Colesterol en hembras. Se muestra media \pm e.e. No se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.067$, el consumo de agua azucarada $p=0.260$ y la interacción D*A $p=0.832$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni.

Colesterol-HDL

La concentración de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) en el grupo C fue de 40.750 ± 2.816 mg/dL, del grupo C/A fue de 46.500 ± 5.158 mg/dL, del grupo R fue de 42.500 ± 2.282 mg/dL y del grupo R/A fue de 51.000 ± 2.343 mg/dL. (Gráfica 6), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.024$, para el agua azucarada de $p=0.001$ y para la interacción fue de $p=0.298$.

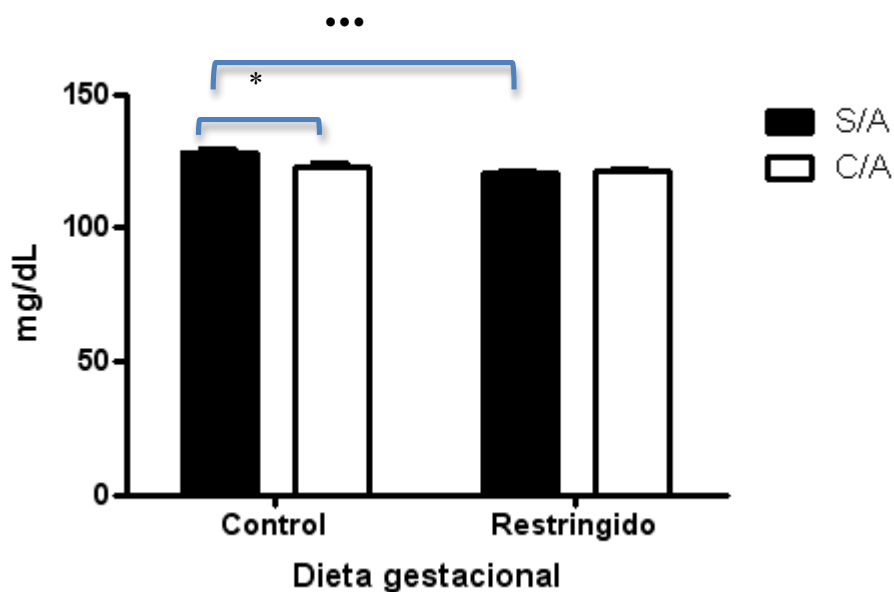


Gráfica 6.- Colesterol-HDL de hembras. Se muestra media \pm e.e. Se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.024$, el consumo de agua azucarada $p=0.001$ y la interacción D*A $p=0.298$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, • $p=0.05$ C/A vs R/A, * $p=0.0001$ C vs C/A *** $p=0.0001$ R vs R/A.

Machos

Glucosa

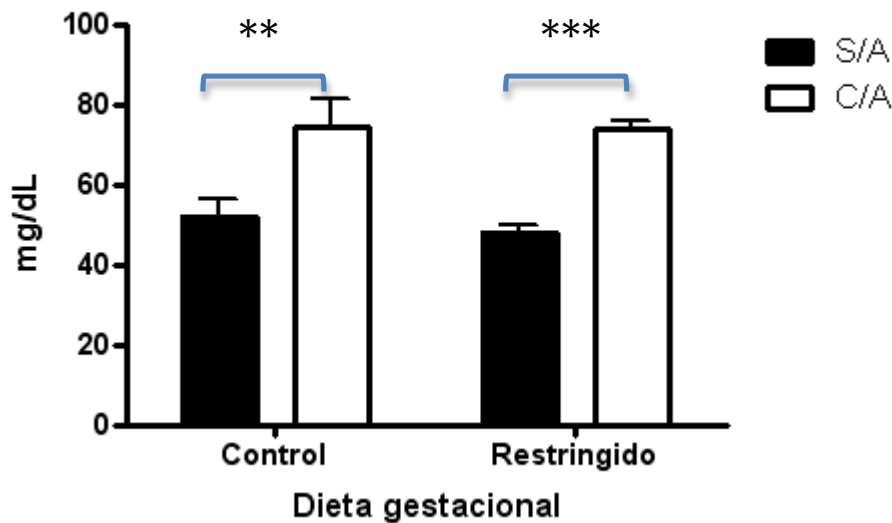
La concentración de glucosa en el grupo C fue de 128.250 ± 2.959 mg/dL, del grupo C/A fue de 123.000 ± 3.883 mg/dL, del grupo R fue de 120.500 ± 1.577 mg/dL y del grupo R/A fue de 121.000 ± 3.053 mg/dL. (Gráfica 7), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.0004$, para el agua azucarada de $p=0.052$ y para la interacción fue de $p=0.021$.



Gráfica 7.- Glucosa en machos. Se muestra media \pm e.e. Se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.0004$, el consumo de agua azucarada $p=0.052$ y la interacción D*A $p=0.021$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, *** $p=0.0001$ C vs R * $p=0.05$ C vs C/A

Triglicéridos

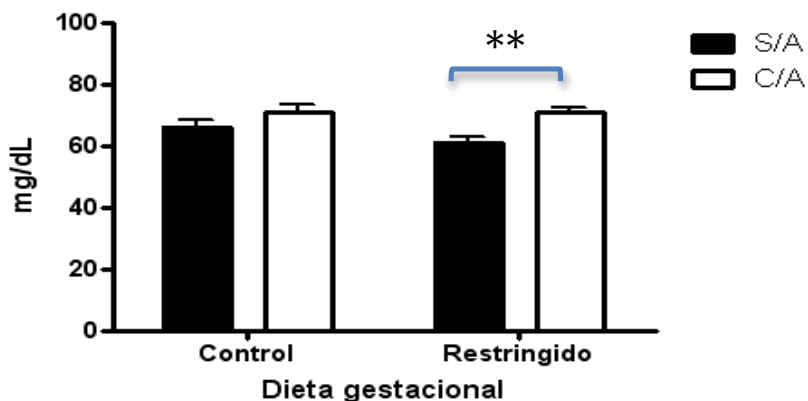
La concentración de triglicéridos en el grupo C fue de 52.000 ± 10.471 mg/dL, del grupo C/A fue de 74.500 ± 16.243 mg/dL, del grupo R fue de 48.000 ± 5.064 mg/dL y del grupo R/A fue de 74.000 ± 5.464 mg/dL. La concentración de triglicéridos en sangre aumenta por efecto del consumo elevado de carbohidratos $P<0.05$ (**Gráfica 8**), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.573$, para el agua azucarada de $p=0.0001$ y para la interacción fue de $p=0.660$.



Gráfica 8.- Triglicéridos en machos. Se muestra media±e.e. Se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.573$, el consumo de agua azucarada $p=0.0001$ y la interacción D*A $p=0.660$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, ** $p=0.005$ C vs C/A, *** $p=0.0001$ R vs R/A.

Colesterol

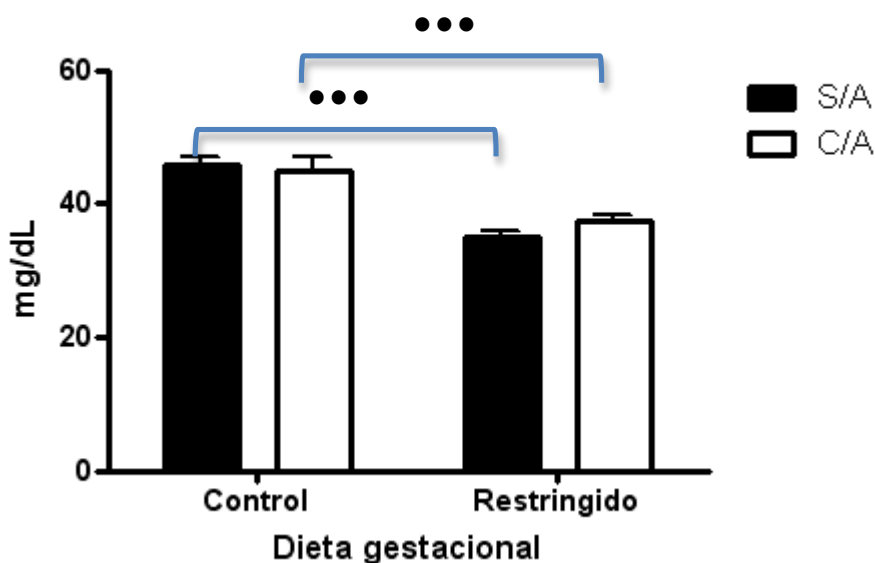
La concentración de colesterol en el grupo C fue de 66.000 ± 6.070 mg/dL, del grupo C/A 70.750 ± 6.122 mg/dL, del grupo R fue de 61.000 ± 5.436 mg/dL y del grupo R/A fue de 71.000 ± 3.779 mg/dL. No se encontraron diferencias significativas entre grupos (**Gráfica 9**), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.273$, para el agua azucarada de $p=0.002$ y para la interacción fue de $p=0.227$.



Gráfica 9.- Colesterol en machos. Se muestra media±e.e. Se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.273$, el consumo de agua azucarada $p=0.002$ y la interacción D*A $p=0.227$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, ** $p=0.005$ R vs R/A.

Colesterol-HDL

La concentración de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (C-HDL) en el grupo C fue de 45.750 ± 3.409 mg/dL, del grupo C/A fue de 45.000 ± 4.577 mg/dL, del grupo R fue de 35.000 ± 2.350 mg/dL y del grupo R/A fue de 37.500 ± 2.329 mg/dL. (Gráfica 10), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.001$, para el agua azucarada de $p=0.497$ y para la interacción fue de $p=0.213$.



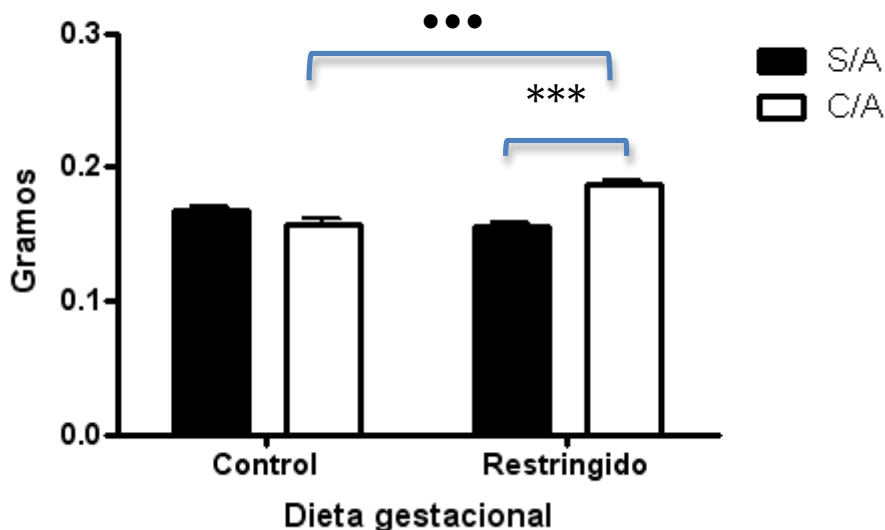
Gráfica 10.- Colesterol-HDL de machos. Se muestra media \pm e.e. Se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.0001$, el consumo de agua azucarada $p=0.497$ y la interacción D*A $p=0.213$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, ••• $p=0.0001$ C vs C/A •• $p=0.0001$ R vs R/A.

- **Evaluación del mPc**

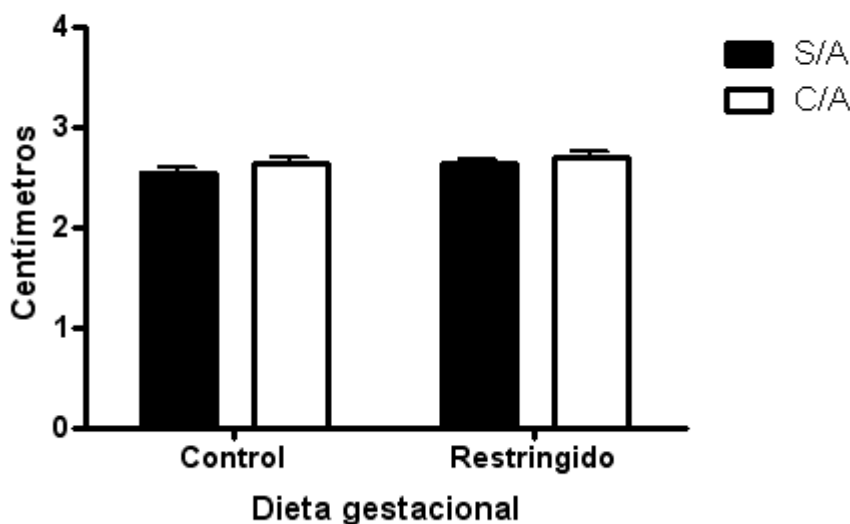
Hembras

El peso del músculo pubococcígeo se obtuvo en gramos y corresponde en el grupo C a 0.16 ± 0.0005 , en el grupo C/A a 0.24 ± 0.01 , en el grupo R 0.15 ± 0.01 y en el grupo R/A a 0.29 ± 0.04 (Gráfica 11), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.031$, para el agua azucarada de $p=0.020$ y para la interacción fue de $p=0.0001$. El largo del músculo pubococcígeo se obtuvo en cm. Y corresponde en el grupo C a 2.54 ± 0.16 y en el grupo C/A a 3.83 ± 0.28 , en el grupo R a 2.70 ± 0.12 y en el grupo R/A a 4.05 ± 0.36 (Gráfica 12), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.181$, para el agua azucarada de $p=0.108$ y para la interacción fue de $p=0.829$. El ancho del músculo

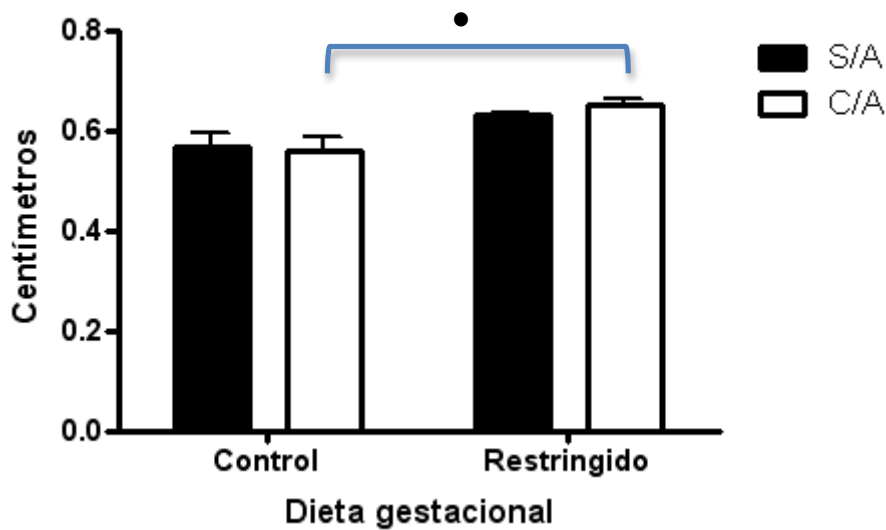
pubococcígeo se obtuvo en mm. Y corresponde en el grupo C a 0.57 ± 0.06 , en el grupo C/A a 0.55 ± 0.06 , en el grupo R a 0.61 ± 0.01 y en el grupo R/A a 0.64 ± 0.02 (**Gráfica 13**), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.001$, para el agua azucarada de $p=0.719$ y para la interacción fue de $p=0.550$.



Gráfica 11.- Peso del mPc de hembras. Se muestra media \pm e.e. Se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.031$, el consumo de agua azucarada $p=0.020$ y la interacción D*A $p=0.0001$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, ••• $p=0.0001$ C/A vs R/A *** $p=0.0001$ R vs R/A.

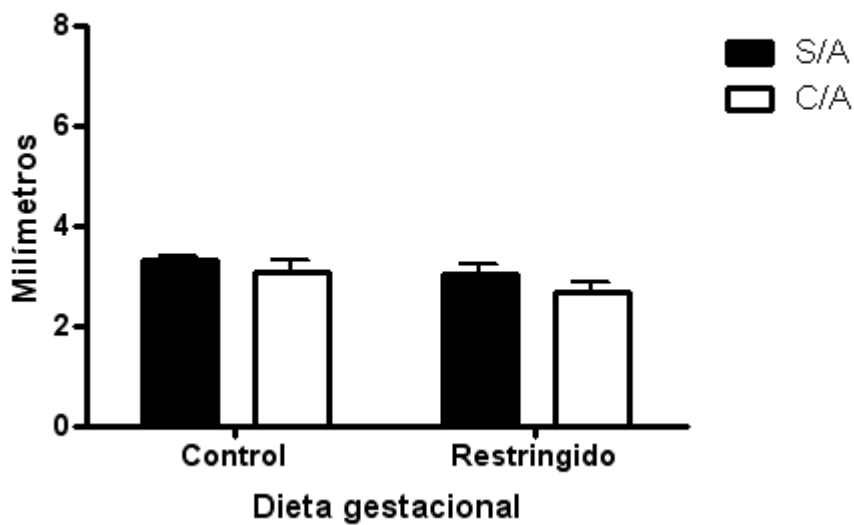


Gráfica 12.- Longitud del mPc de hembras. Se muestra media \pm e.e. No se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.181$, el consumo de agua azucarada $p=0.108$ y la interacción D*A $p=0.829$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni.

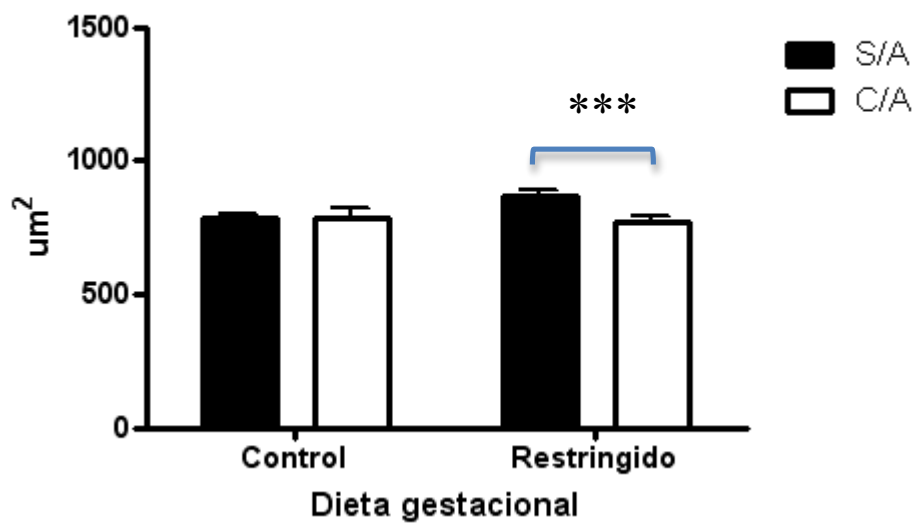


Gráfica 13.- Ancho del mPc de hembras. Se muestra media±e.e. Se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.001$, el consumo de agua azucarada $p=0.719$ y la interacción D*A $p=0.550$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, • $p=0.05$ C/A vs R/A

El área del corte transversal del músculo pubococcígeo se obtuvo en milímetros y corresponde en el grupo C a 3.306 ± 0.162 , en el grupo C/A a 3.051 ± 0.610 , en el grupo R 3.031 ± 0.557 y en el grupo R/A a 2.674 ± 0.492 (**Gráfica 14**), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.105$, para el agua azucarada de $p=0.127$ y para la interacción fue de $p=0.794$. El área de las fibras del corte transversal del músculo pubococcígeo se obtuvo en milímetros. Y corresponde en el grupo C a 782.388 ± 43.185 y en el grupo C/A a 784.372 ± 96.253 , en el grupo R a 866.306 ± 64.716 y en el grupo R/A a 476.666 ± 66.059 (**Gráfica 15**), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.240$, para el agua azucarada de $p=0.088$ y para la interacción fue de $p=0.077$.

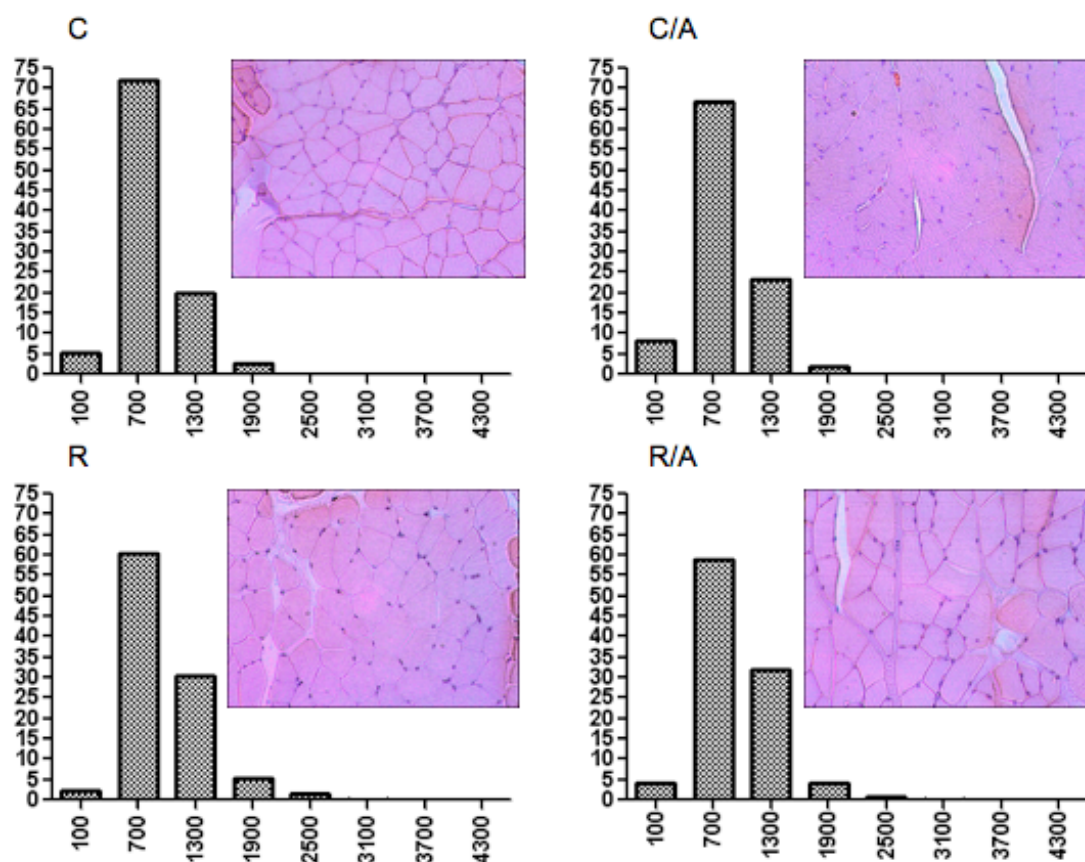


Gráfica 14.- Área del mPc de hembras. Se muestra media±e.e. No se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.105$, el consumo de agua azucarada $p=0.127$ y la interacción D*A $p= 0.794$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni.



Gráfica 15.- Área de fibras del mPc de hembras. Se muestra media±e.e. Se encontró diferencia significativas mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.240$, el consumo de agua azucarada $p=0.088$ y la interacción D*A $p= 0.077$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, *** $p=0.0001$ R vs R/A.

Los histogramas de frecuencia que se obtuvieron para la distribución de tamaños de las fibras del músculo pubococcígeo para el grupo C (**Gráfica 16A**), para el grupo C/A (**Gráfica 16B**), para el grupo R (**Gráfica 16C**) y para el grupo R/A (**Gráfica 16D**)

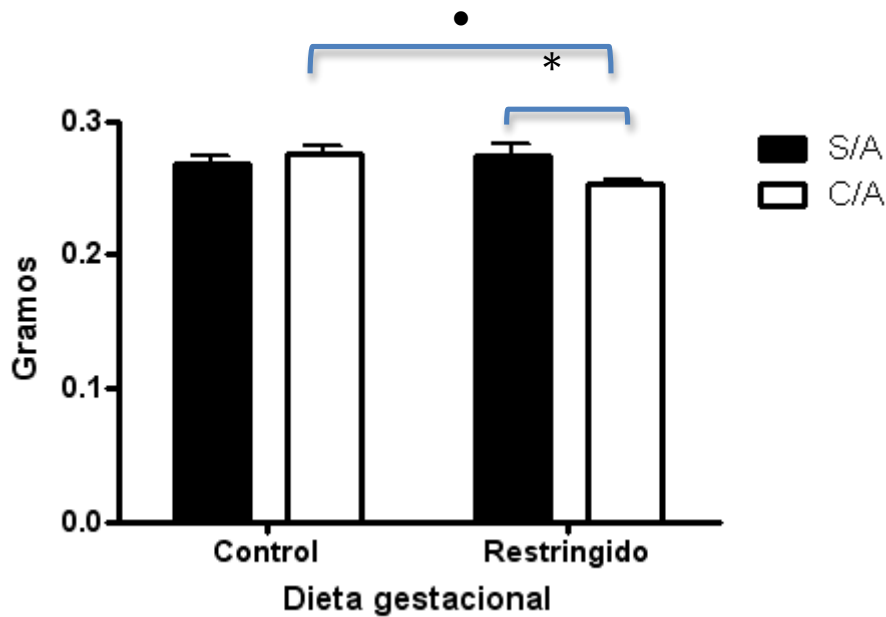


Gráfica 16.- Histogramas de frecuencia que muestran la distribución de tamaños de las fibras del músculo pubococcígeo en hembras. No se encontraron diferencias significativas, $p > 0.05$ prueba de Fisher ($n = C = 6$, $C/A = 6$, $R = 7$ y $R/A = 7$).

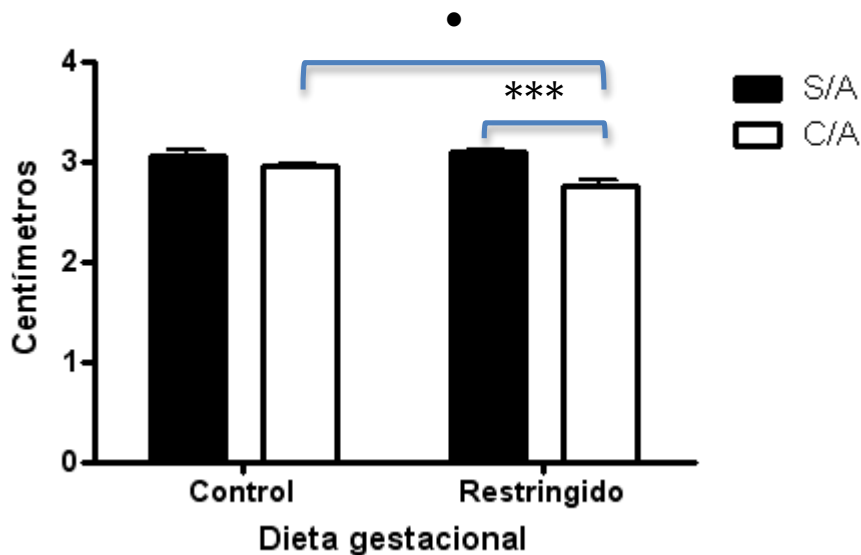
Machos

El peso del músculo pubococcígeo se obtuvo en gramos y corresponde en el grupo C a 0.268 ± 0.015 , en el grupo C/A a 0.275 ± 0.015 , en el grupo R 0.274 ± 0.021 y en el grupo R/A a 0.253 ± 0.009 (**Gráfica 17**), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p = 0.200$, para el agua azucarada de $p = 0.278$ y para la interacción fue de $p = 0.034$. El largo del músculo pubococcígeo se obtuvo en cm. Y corresponde en el grupo C a 3.047 ± 0.145 , en el grupo C/A a 2.945 ± 0.090 , en el grupo R a 3.100 ± 0.047 y en el grupo R/A a 2.760 ± 0.154 (**Gráfica 18**), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p = 0.164$, para el agua azucarada de $p = 0.0001$ y para la interacción fue de $p = 0.017$. El ancho del músculo pubococcígeo se obtuvo en mm y corresponde en el grupo C a 0.627 ± 0.033 , en el grupo C/A a 0.680 ± 0.033 , en el grupo R a 0.680 ± 0.024 y en el grupo R/A a 0.675 ± 0.019

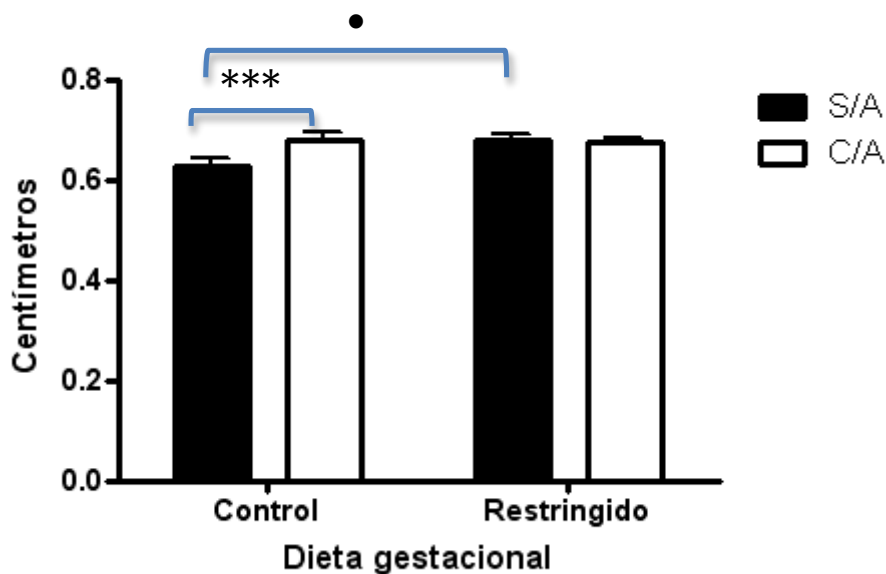
(Gráfica 19), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.041$, para el agua azucarada de $p=0.041$ y para la interacción fue de $p=0.015$.



Gráfica 17.- Peso del mPc de machos. Se muestra media \pm e.e. Se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.200$, el consumo de agua azucarada $p=0.278$ y la interacción D*A $p=0.034$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, • $p=0.05$ C/A vs R/A * $p=0.05$ R vs R/A

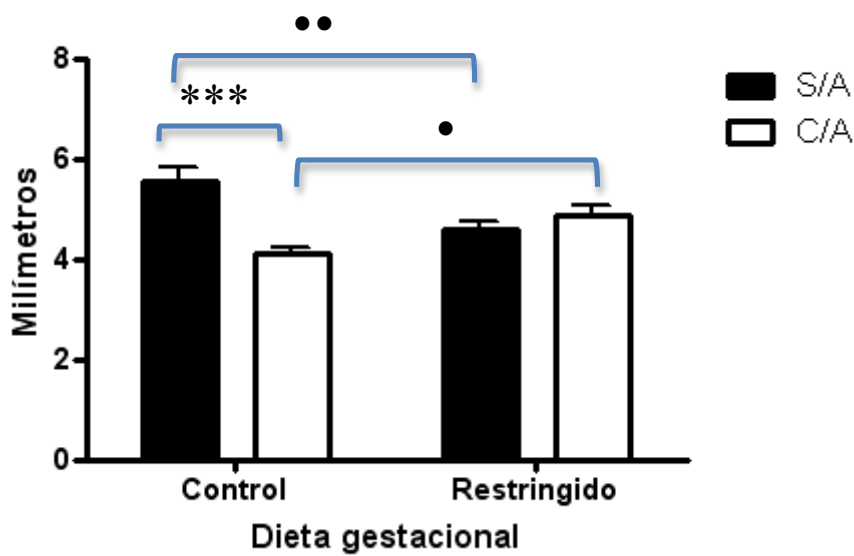


Gráfica 18.- Largo del mPc de machos. Se muestra media \pm e.e. Se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.164$ el consumo de agua azucarada $p=0.0001$ y la interacción D*A $p=0.017$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, • $p=0.05$ C/A vs R/A *** $p=0.0001$ R vs R/.

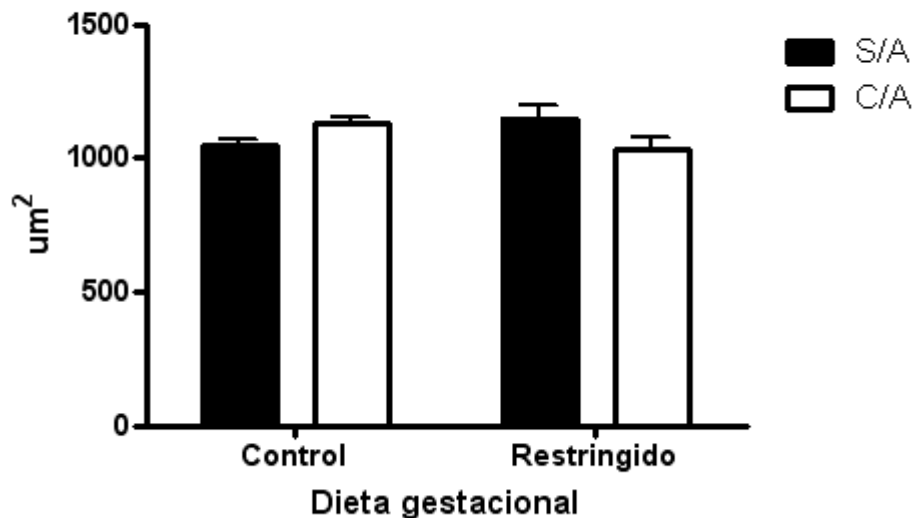


Gráfica 19.- Ancho del mPc de machos. Se muestra media \pm e.e. Se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.200$, el consumo de agua azucarada $p=0.278$ y la interacción D*A $p=0.034$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, • $p=0.05$ C vs R *** $p=0.0001$ C vs C/

El área del corte transversal del músculo pubococcígeo se obtuvo en micras y corresponde en el grupo C a 5.552 ± 0.637 , en el grupo C/A a 4.111 ± 0.323 , en el grupo R 4.581 ± 0.434 y en el grupo R/A a 4.865 ± 0.488 (**Gráfica 20**), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.572$, para el agua azucarada de $p=0.005$ y para la interacción fue de $p=0.0002$. El área de las fibras del corte transversal del músculo pubococcígeo se obtuvo en milímetros. Y corresponde en el grupo C a 1047.597 ± 56.640 y en el grupo C/A a 1130.372 ± 52.929 , en el grupo R a 1148.107 ± 135.237 y en el grupo R/A a 103.4503 ± 123.081 (**Gráfica 21**), la p obtenida para el efecto de la dieta fue de $p=0.959$, para el agua azucarada de $p=0.709$ y para la interacción fue de $p=0.023$.



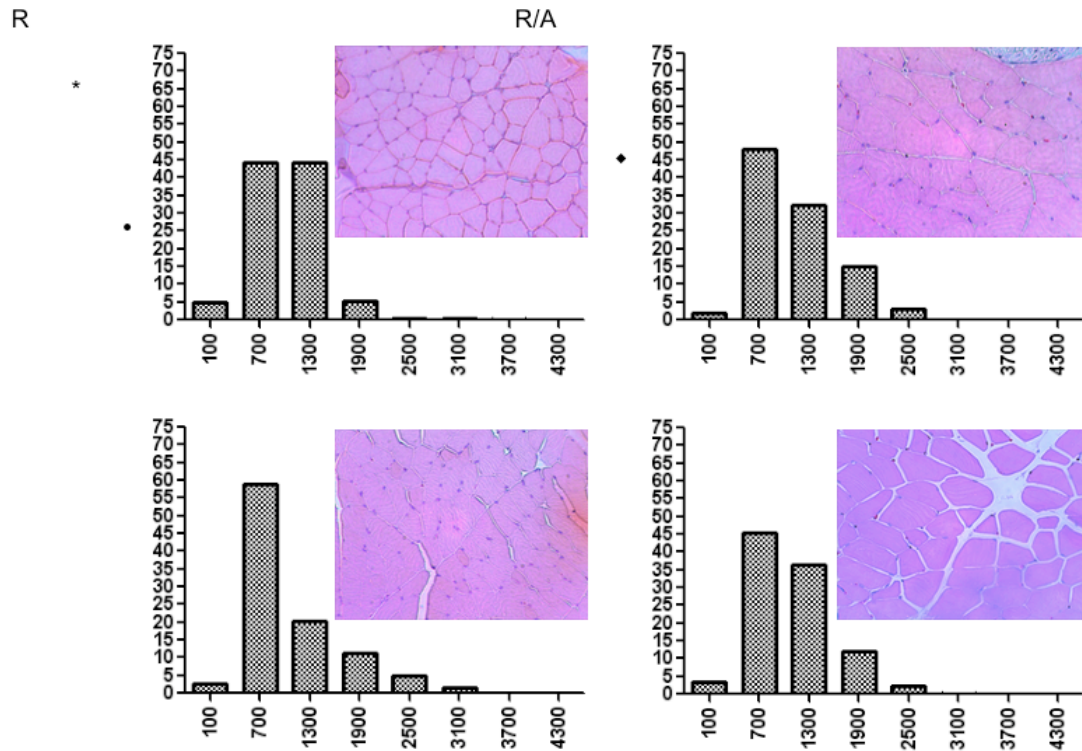
Gráfica 20.- Área del mPc de machos. Se muestra media±e.e. Se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.572$, el consumo de agua azucarada $p=0.005$ y la interacción D*A $p=0.0002$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni, • $p=0.05$ C/A vs R/A, •• $p=0.005$ C vs R *** $p=0.0001$ C vs C/A



Gráfica 21.- Área de fibras del mPc de machos. Se muestra media±e.e. No se encontró diferencia significativa mediante la ANOVA de dos vías, por la dieta $p=0.959$, el consumo de agua azucarada $p=0.709$ y la interacción D*A $p=0.023$. • efecto de la dieta. * efecto del consumo de agua azucarada. ♦ efecto de la interacción D*A. Pos hoc de Bonferroni.

Los histogramas de frecuencia que se obtuvieron para la distribución de tamaños de las fibras del músculo pubococcígeo para el grupo C (**Gráfica 22 C**), para el grupo C/A (**Gráfica 22 C/A**), para el grupo R (**Gráfica 22 R**) y para el grupo R/A (**Gráfica 22 R/A**). La distribución del área de fibras respecto a su tamaño se modificó ya que en los machos,

el grupo R vs C presento mayor porcentaje de áreas de 700 a 1299 μm^2 (* $p= 0.047$), el grupo R vs C presentó menor porcentaje de fibras de 1300-1899 μm^2 ($\bullet p= 0.047$) y el grupo RA vs R presentó mayor porcentaje de fibras de 1300-1899 μm^2 ($\blacklozenge p= 0.047$).



Gráfica 22.- Histogramas de frecuencia que muestran la distribución de tamaños de las fibras del músculo pubococcígeo de machos. El grupo R vs C presento mayor porcentaje de áreas de 700 a 1299 μm^2 (* $p= 0.047$), el grupo R vs C presentó menor porcentaje de fibras de 1300-1899 μm^2 ($\bullet p= 0.047$) y el grupo RA vs R presentó mayor porcentaje de fibras de 1300-1899 μm^2 ($\blacklozenge p= 0.047$)

X. Discusión

En el presente estudio se han correlacionado los probables efectos que pudiera padecer una misma progenie a partir de dos manipulaciones, la primera en la madre, esto es a través de una malnutrición gestacional materna, y posteriormente el consumo de agua azucarada en la vida adulta de la progenie, particularmente se estudio la histología del músculo pubococcígeo de la rata. Paralelamente, se estudiaron otros indicadores anatómicos y bioquímicos.

El contenido de proteína normal en la dieta de la rata representa aproximadamente el 20 % de toda la composición, en el presente trabajo se realizó una restricción de proteína del 50 % total en la dieta durante la etapa de la gestación, con lo cual observamos que la ganancia de peso y el consumo de alimento tanto en el grupo C y R no presentan cambios significativos, lo cual concuerda con los trabajos previos realizados por Torres y cols. 2010 y Zambrano y cols. 2005b, donde no hubo diferencias en peso ni ingesta entre los grupos experimentales y las ratas preñadas ganaron el mismo peso durante todo el embarazo. El consumo de proteína (g/día) que la rata madre gestante tuvo durante el periodo de gestación fue inferior en el grupo R vs C, lo cual confirma que los críos del grupo R sufrieron una restricción de proteínas durante la gestación, lo que pudiera comprometer al crío a padecer alteraciones en parámetros bioquímicos en sangre y a cambios histológicos en el mPc (Alves y cols. 2008; Arora y Rochester 1982; Barker y cols. 2007).

Primeramente, se evaluaron los indicadores de crecimiento fetal de la rata al momento del nacimiento (medidas morfométricas). En la comparación de estos indicadores no encontramos diferencias significativas del grupo restringido comparado contra el control, por lo que no hay evidencia de la restricción del crecimiento fetal. Dichos indicadores son: peso corporal, talla, diámetro cefálico y diámetro abdominal, por lo anterior nuestros resultados difieren de otros trabajos donde disminuye el peso corporal al momento del nacimiento con restricción de proteínas del 50 % (Guzmán y cols. 2006), 55% (Langley-Evans 2000) y 60 % (Qasem y cols. 2010). Sin embargo también existe evidencia en estudios experimentales donde no se ha encontrado diferencia en el peso corporal de las ratas sometidas a restricción de proteína (Brawley y cols. 2003; Harrison y Langley-Evans 2009), lo cual sugieren una asociación directa entre la restricción de proteínas durante la gestación y las enfermedades en la vida adulta y que no siempre

depende del peso al momento del nacimiento (Langley-Evans 2006). Lo anterior nos sugiere que pese a no encontrar un bajo peso o talla al nacer podríamos encontrar alteraciones en la vida adulta de críos que durante la gestación tuvieron una restricción proteínica gestacional.

Durante la lactancia, se observa que en los grupos restringidos tanto de machos como hembras presentan un aumento de peso, el cual permanece hasta el final de la lactancia, este aumento de peso postnatal se ha relacionado con alteraciones en la vida adulta. En estudios en humanos se ha visto que personas que nacen con menor talla y peso respecto a su edad gestacional y que posteriormente son alimentadas abundantemente con respecto a su peso y talla, presentan crecimiento acelerado en la vida postnatal (Raveli y cols. 1998; Strauss 1997). Sin embargo hasta la fecha se desconoce en que forma este incremento de peso durante la lactancia pudiera afectar a la musculatura estriada.

En cuanto a la evaluación de los parámetros bioquímicos encontramos alteraciones debido a que la energía necesaria para la contracción es proporcionada por la hidrólisis del ATP, la obtención de ATP se logra mediante dos mecanismos: A) La glucólisis aerobia de la glucosa y de las grasas en las mitocondrias.- Es la principal fuente de ATP y alcanza un alto nivel en las fibras rojas resistentes a la fatiga (poseen numerosas mitocondrias). Estas pueden utilizar el oxígeno cedido por la mioglobina, lo que les permite soportar numerosas contracciones. B) La glucólisis anaerobia a partir de la glucosa que se convierte en ácido láctico.- Este mecanismo tiene un papel importante en las fibras blancas de contracción rápida, que actúan durante poco tiempo y se fatigan rápidamente (en fibras resistentes cuando se agota el oxígeno). La concentración de glucosa en las hembras disminuye por efecto de la restricción de la dieta en hembras para el grupo R vs C y en el grupo R/A vs C/A y en machos se reducen para los grupos C/A vs C, también se indica un aumento en la concentración de glucosa por efecto del consumo de agua azucarada en hembras para el grupo R/A vs R y en los machos un decremento para el grupo C vs C/A. Lo cual concuerda con algunos trabajos realizados en ratas que provienen de madres sometidas a restricción de proteínas durante la gestación, donde se muestra una alteración del metabolismo de carbohidratos a los nueve meses de edad (Langley y cols. 1994). Sin embargo las alteraciones del metabolismo de carbohidratos son más evidentes cuando las ratas que provienen de madres con restricción de proteína son valoradas en la vejez (Petry y cols. 2001). La glucosa estimula la secreción de insulina por el páncreas y en consecuencia se

mantienen las concentraciones de glucosa normales. En otros trabajos el peso del páncreas y el contenido total de insulina en el mismo disminuye por la restricción proteínica, lo cual nos indica que para la evolución de las alteraciones en el metabolismo de carbohidratos es necesario indagar en la histología pancreática, realizar pruebas de tolerancia a la glucosa e insulina y no solo evaluar la concentración basal de la glucosa (Latorraca y cols. 1998). Se ha mostrado que en ratas que provienen de madres sometidas a restricción de proteína más severa durante la gestación, disminuye la concentración de glucosa. Lo anterior sugiere que en el grupo restringido hay una mayor sensibilidad a la insulina (Latorraca y cols. 1998), lo cual puede explicar el porqué no se modifica la concentración de glucosa en nuestros grupos.

En ratas adultas, con un consumo elevado de carbohidratos, aumenta la concentración de glucosa, insulina (Alexander y cols. 2004, Herman y cols. 2008) e índice de resistencia a la insulina (Jong-Yeon y cols. 1999). Sin embargo para este trabajo no se realizó una medición de insulina. Nuestro modelo tiene diferencias en comparación con otros trabajos realizados como por ejemplo el tiempo de exposición a la dieta alta en carbohidratos, existen reportes de que el tratamiento inicia en el destete y terminan a las 21 semanas de edad y a una concentración de sacarosa en el agua del 30 %. En nuestro modelo la exposición a la dieta alta en carbohidratos es de sólo 10 semanas e inicia en la vida adulta de las ratas (3 meses de edad) y la concentración de sacarosa en el agua es del 5%. Una de las razones del por qué no aumentamos la concentración de sacarosa en el agua es porque en nuestro laboratorio probamos diferentes concentraciones de sacarosa en el agua (5, 15 y 30 %) y observamos que entre mayor es la concentración de sacarosa menor es el consumo de alimento (datos no mostrados), lo cual causaría una confusión en los resultados obtenidos por que al disminuir el consumo del alimento disminuye el consumo de lípidos y proteínas por lo que los datos obtenidos serían una combinación de la restricción de proteína materna, disminución del consumo de macronutrientes y el consumo elevado de carbohidratos. Lo anterior puede ser una explicación del por qué el consumo elevado de carbohidratos en la vida adulta no alteró la concentración de glucosa sérica.

Para mantener al sistema muscular en óptimas condiciones, se debe tener presente una dieta equilibrada con dosis justas de glucosa que es la principal fuente energética de nuestros músculos. Evitar el exceso en el consumo de grasas, ya que no se metabolizan

completamente, produciendo sobrepeso. La regulación del metabolismo de la glucosa en el músculo esquelético implica una interacción compleja con otros combustibles, especialmente FFA (Ácidos Grasos Libres). Se cree que la resistencia de insulina está asociada a una superabundancia de lípidos. Vrana demostró que la utilización de glucosa se reduce, pero los ácidos palmíticos incrementan del diafragma de ratas alimentadas con una dieta alta en fructosa por un período corto de tiempo (3 - 4 semanas) (Vrana y cols. 1987).

Se conoce que el aumento de triglicéridos en sangre está relacionado con la falta de respuesta a la acción de la insulina y la hiperinsulinemia, incluso en ausencia de diabetes, una disminución de los niveles. La concentración de triglicéridos en las ratas no se ve modificada por efecto de la dieta en ambos sexos, sin embargo; los resultados obtenidos indican un aumento en la concentración de triglicéridos por efecto del consumo de agua azucarada para ambos sexos en el grupo C/A vs C y el grupo R/A vs R. Lo cual no concuerda con Erhuma y cols. 2007 quienes observan un aumento de triglicéridos en el plasma y en el hígado por efecto de la restricción de proteína durante el periodo de gestación en animales de 18 meses de edad y por otra parte concordamos con D'Alessandro y cols. 2000 ya que una dieta alta en sacarosa ocasiona hipertriglicéridemia que es acompañado por un aumento substancial de los almacenes de triglicérido en el músculo gastronemio.

Los hallazgos de este trabajo en la concentración de triglicéridos concuerdan con trabajos realizados en ratas con elevado consumo de carbohidratos (El Hafidi y cols. 2000, Alexander y cols. 2004), donde las concentraciones de triglicéridos en sangre se encuentran elevadas debido a las dietas ricas en carbohidratos. Lo anterior se puede explicar por el consumo excesivo de carbohidratos, el exceso de este micronutriente es sintetizado en el hígado a triglicéridos para ser almacenado en el tejido adiposo como una reserva energética. En ratas, las dietas ricas en carbohidrato (por ejemplo sacarosa o fructosa) inducen dislipidemias (aumento del triglicérido del plasma y de los niveles de ácidos grasos libres), el adiposito visceral, y la insensibilidad de la insulina en varios tejidos incluyendo el músculo esquelético (D' Alessandro y cols. 2000).

La concentración de colesterol en las ratas no se ve modificada por efecto de la restricción de proteína que tuvieron las madres durante el periodo de gestación, solo en machos por efecto el consumo de agua azucarada. Esto puede deberse a que el aumento del colesterol en sangre está condicionado por la ingesta de este en la dieta y por la fuente

endógena, esta última tiene lugar en el citoplasma de los hepatocitos, a partir de mevalonato que se forma por tres unidades de acetil coenzima A (acetil-CoA). La fuente principal de la acetil-CoA son las vías de la glicolisis a partir del piruvato y la beta oxidación (Schumm 1989).

Las HDL son las lipoproteínas más pequeñas y más densas y están compuestas de una alta proporción de proteínas. El hígado sintetiza estas lipoproteínas como proteínas vacías y tras recoger el colesterol incrementan su tamaño al circular a través del torrente sanguíneo. Los hombres suelen tener un nivel notablemente inferior de HDL que las mujeres (por lo que tienen un riesgo superior de enfermedades del corazón). La concentración de Colesterol-HDL en las ratas se incrementa por efecto de la restricción de la dieta en hembras para el grupo R/A vs C/A y en machos se reducen para el grupos C/A vs C y para el grupo R/A vs R, también se indican un aumento en la concentración de C-HDL por efecto del consumo de agua azucarada en hembras para el grupo C/A vs C y para el grupo R/A vs R. Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos por un consumo elevado de carbohidratos ya que disminuye la concentración de C-HDL (Alexander y cols. 2004). Sin embargo la disminución en la concentración de Colesterol-HDL, sugiere que hay riesgo aterosclerótico, ya que en humanos se ha reportado que la disminución de Colesterol-HDL es un marcador de riesgo para enfermedades cardiovasculares (Barter y cols. 2007).

Finalmente en cuanto a las observaciones y resultados obtenidos en el mPc conjuntamente con los referencias encontradas en la literatura apreciamos que la deficiencia nutricional prenatal culminan con la restricción del crecimiento intrauterino y postnatal, lo cual se ha visto que lleva a la resistencia a la insulina (Raychaudhuri y cols. 2008). El mecanismo predominante de adaptación que subyace a esta alteración fenotípica en adultos, consiste en el transporte de glucosa anormal de los tejidos sensibles a la insulina. El transporte de glucosa, se produce por difusión facilitada y esta a cargo de los transportadores de glucosa (GLUT). El GLUT4 es la principal isoforma sensible a la insulina que se expresa en los tejidos como el músculo esquelético, tejido adiposo y el músculo cardíaco (Raychaudhuri y cols. 2008). Además, GLUT4 se expresa en líneas celulares del músculo esquelético durante la diferenciación de mioblastos a miotubos sensibles a la insulina (Richardson y Pessin 1993), la interrupción selectiva de GLUT4 en el músculo esquelético resulta en resistencia a la insulina y la intolerancia a la glucosa,

confirmando el papel fundamental de esta isoforma en la mediación de sensibilidad a la insulina (Zisman y cols. 2000).

En algunos trabajos previos como es el caso del realizado por Raychaudhuri y cols. 2008 se ha observado que una base central de la resistencia a la insulina en los hijos con Reducción del Crecimiento Intra-Uterino (RCIU) se debe a cambios fundamentales en el GLUT4 del músculo esquelético. Estos cambios incluyen: 1) disminución de GLUT4, RNA-m y concentración de proteínas en el músculo esquelético, lo que sugiere aberraciones en el control transcripcional, y 2) resistencia a la insulina de post-traducciona l y translocación de GLUT4 a partir de vesículas intracelulares a la membrana plasmática (Raychaudhuri y cols. 2008). Aunque se conoce poco sobre estos procesos epigenéticos, no se sabe nada sobre los mecanismos moleculares responsables. En un trabajo previo, se demuestra que el fenotipo de resistencia a la insulina en la descendencia femenina RCIU adulta se transmite transgeneracionalmente (Zambrano y cols. 2005a). Estas observaciones confirman una base epigenética para la propagación de resistencia a la insulina (Raychaudhuri y cols. 2008).

En un trabajo realizado por Raychaudhuri y cols. 2008 se examinó los mecanismos de transcripción y epigenéticos que participan en la disminución de ARN-m de GLUT4 en el músculo estriado durante el crecimiento intrauterino restringido (CIR) de ratas hembra. Un aumento en MEF2D (inhibidor) con una disminución en MEF2A (activador) y MyoD (coactivador) vinculado al promotor de GLUT4 en RCIU vs el grupo control, se observó que el papel funcional de los sitios MEF2/MyoD-binding y CpG involucrados en la transcripción de genes GLUT4 se confirmó en C2C12 células musculares. No hubo metilación diferencial de estos grupos del CpG en el promotor de GLUT4, sin embargo se ocasionó una disminución de la asociación entre MyoD y MEF2A. Llegando a la conclusión de que los mecanismos epigenéticos consisten en modificaciones que reprimen el código de histonas del GLUT4 en el músculo esquelético, la transcripción en el período postnatal y que persisten en la descendencia RCIU de hembras adultas.

Tanto la restricción de proteínas como el consumo de agua con azúcar tuvieron efectos sobre el mPc tanto en hembras como en machos, en el caso de las hembras; se observa que el peso del mPc se incrementa en el grupo R/A vs C/A y en R/A vs R, el largo del mPc no presentó diferencias, el ancho del mPc se incrementó en el grupo R/A vs C/A, el área del corte transversal del mPc no presenta diferencias, el área de fibras del mPc se

reduce en el grupo R/A vs R y en el caso de la distribución del área de fibras del mPc respecto a su tamaño no hubo diferencias significativas. En machos; se observa que el peso del mPc se ve reducido en el grupo R/A vs C/A y en el grupo R/a vs R, el largo del mPc se ve reducido en el grupo R/A vs C/A y en el grupo R/A vs R, el ancho del mPc se incrementa en el grupo C/A vs C y en el prupo R vs C, el área del corte transversal del mPc se reduce en los grupos C/A vs C y en el grupo R vs C y aumenta en el grupo R/A vs C/A, el área de fibras del mPc no presenta diferencia y en el caso de la distribución del área de fibras del mPc respecto a su tamaño se modifico ya que el grupo R presentó mayor número de fibras de $700 \mu\text{m}^2$ vs C a la vez que presentan menos fibras de $1300 \mu\text{m}^2$ y el grupo RA presenta mayor número de fibras de $1300 \mu\text{m}^2$ vs R. Los cambios encontrados en los histogramas nos indican un aumento de frecuencia del promedio de áreas de fibras pequeñas, lo anterior concuerda con algunos trabajos que reportan alteraciones histológicas y morfológicas sobre la musculatura estriada en otros musculos como lo es el caso del de Alves y cols. 2008 donde se analiza el efecto de la restricción de proteínas al 8% VS el grupo control con 22% de proteínas durante la gestación y lactancia a los días 7, 14 y 28, donde se observa que el peso corporal del músculo tibial fue inferior en el grupo restringido, durante los días 7 14 y 28, se observan fibras con un menor diámetro, mayor polimorfismo y un aumento de tejido conjuntivo. También se ha reportado el incremento de fibras pequeñas por efecto de la castración de machos a las 6 semanas ya que se reduce significativamente el área de las fibras después de 2 y 6 semanas (Alvarado y cols. 2008).

Los resultados en el mPc indican un incremento en el tejido conectivo del grupo R en machos y hembras, este se vio aumentado en el grupo R concordando con trabajos previos en los cuales se ha reportado un incremento de tejido conectivo, disminución de fibras musculares y disminución del área de fibras debido a la restricción gestacional (Alves y cols. 2008; Montgomery 1962), sin embargo, hasta la fecha no se ha evaluado la implicación que tenga este aumento de tejido conectivo respecto a su funcionalidad. Consideramos necesario la evaluación de este incremento de tejido conectivo debido a que este pudiera tener una implicación fisiológica en el organismo. Este incremento de tejido conectivo puede estar ejerciendo una alteración en el papel funcional que este músculo puede estar ejerciendo en sus funciones reproductivas (como el parto y la expulsión seminal) y no reproductivas (como la continencia urinaria y fecal). Finalmente, en experimentos que se realizan en nuestro grupo se ha observado que en la coneja, el tipo y

metabolismo de fibras que componen predominantemente al mPc son del tipo rápidas. En estudios posteriores habrá que estudiar la fisiología muscular del mPc y su relación con la restricción proteínica gestacional y el consumo de agua azucarada en la vida adulta de la progenie con respecto a probables cambios en el tipo y metabolismo de las fibras que lo componen.

El hallazgo más importante en este trabajo es la alteración morfológica y fisiológica que sufre el mPc tanto en machos como hembras. Lo anterior nos lleva a suponer que estas alteraciones pueden estar participando en el desarrollo de diversas patologías como es el caso de la continencia urinaria, ya que es de origen multivariable, sin embargo; hasta la fecha no se ha reportado que la nutrición juegue un papel importante para el desarrollo a padecer dicha patología.

XI. Conclusión

Los resultados obtenidos sugieren que una dieta con restricción proteínica gestacional y el posterior consumo de una dieta alta en carbohidratos simples en la progenie adulta, provoca alteraciones en los parámetros metabólicos y en la distribución de frecuencia del área de fibras del mPc en el caso de los machos, pudiendo ocasionar alteraciones durante las actividades que desarrolla el músculo pubococcígeo como es el caso de la continencia urinaria y la expulsión seminal.

XII. Perspectivas

Con base a los resultados obtenidos en el presente trabajo proponemos realizar más estudios entorno a la restricción proteínica gestacional aunado a un reto en la vida adulta de la descendencia debido a que tanto la restricción proteínica gestacional y el consumo de agua azucarada en la vida adulta de la progenie no fueron tan drásticos como en otros protocolos, por ello esperamos que en próximas investigaciones se analice la restricción de proteínas durante la gestación con el consumo de agua azucarada a concentraciones más elevadas como es el caso de 30% de agua azucarada.

Pese a la información que se conoce sobre la restricción gestacional consideramos que se debería realizar una evaluación del estado de la madre posterior a la restricción gestacional al igual que el análisis de las carcasas.

Con base a las observaciones del comportamiento que tuvieron las ratas cuando se crearon los grupos C/A y R/A, creemos necesario realizar pruebas de conducta, ya que dichos grupos eran más hiperactivos, constantemente se encontraban bebiendo agua azucarada y hacían cúmulos con el aserrín.

Respecto al análisis del mPc creemos necesario realizar la estimación del número de fibras por tratamiento, aun cuando la literatura reporta que la restricción de proteínas disminuye el número de fibras al igual que el diámetro de estas, realizar en cortes del mPc tinción con ATP-asa para caracterizar el tipo de fibras que constituyen a dicho músculo (fibras lentas, intermedias y rápidas) a la par de NADH-TR para conocer el tipo de metabolismo que poseen dichas fibras (Oxidativo o glucolítico). Lo anterior para ver si nuestro protocolo de malnutrición ocasiona alteraciones en el metabolismo de las fibras musculares del mPc.

Aun falta evaluar el papel del tejido conectivo y sus implicaciones en la función del mPc debido a que solo observamos un ligero aumento de este tejido pero no fue cuantificado ni evaluado.

Finalmente creemos que es importante evaluar físicamente al mPc mediante electromiografía o alguna otra prueba que nos pueda indicar que estas alteraciones encontradas pueden estar interfiriendo de forma directa al desempeño de dicho músculo en actividades como son la copula, micción y expulsión espermática.

XIII. Referencias

- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K y Watson J. 2002. *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition. New York: Garland Publishing Inc 1525-1530.
- Alexander A, Hernández G, Lara M, Angulo O y Oliart T. 2004. Effects of fish oil on hypertension, plasma lipids and tumor necrosis factor α in rats with sucrose-induced metabolic syndrome, *J Nutr Biochem* 15: 350-357.
- Alvarado M, Cuevas E, Lara-García M, Camacho M, Carrillo P, Hudson R y Pacheco P. 2008. Effect of gonadal hormones on the cross-sectional area of pubococcygeus muscle fibers in male rat. *Anat Rec* 291: 586-92.
- Alves P, Damaso R y Pai D. 2008. The effects of prenatal and postnatal malnutrition on the morphology, differentiation, and metabolism of skeletal striated muscle tissue in rats, *J Pediatr* 84: 264-271.
- Arora N y Rochester D. 1982. Effect of body weight and muscularity on human diaphragm muscle mass, thickness, and area. *J Appl Physiol* 52: 64-70.
- Barker J. 1992. Fetal growth and adult disease. *Br J Obstet Gynaecol* 99: 275-276.
- Barker J, Eriksson J, Forsen T y Osmond C. 2002. Fetal origins of adult disease: Strength of effects and biological basis. *Int. J Epidemiol* 31: 1235-1239.
- Barter P, Gotto A, La Rosa C, Maroni J, Szarek M, Grudy M, Kastelein J, Bittner V y Jean-Charles F. 2007. HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol, and cardiovascular events. *J Med* 357: 1301-1310.
- Basciano H, Federico L y Adeli K. 2002. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutrition and metabolism* 2: 1-14
- Baumgartner N, Koeler M, Gallagher D, Romero L, Heymsfield B y Ross R. 2008. Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol* 147: 755-763.
- Bayol A, Simbi H y Stickland C. 2005. A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. *J Physiol* 567: 951-961.
- Becerra A. 1999. Malnutrición fetal y enfermedad metabólica en la vida adulta. *Nutr y Ob* 5: 243-251.
- Bouret G, Draper J y Simerly B. 2004. Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding. *Science* 304: 108-110.
- Brawley L, Itoh S, Torrens C, Barker A, Bertram C, Poston L y Hanson M. 2003. Dietary protein restriction in pregnancy induces hypertension and vascular defects in rat male offspring. *Pediatric Res* 54: 83-90.
- Bray A, Nielsen J y Popkin M. 2004. Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr* 4: 537-543.
- Bremer E, Barber M, Coates W, Dolber P y Thor B. 2003. Innervation of the levator ani and coccygeus muscles of the female rat. Part A: discoveries in molecular cellular and evolutionary biology. *Anat Rec* 275: 103-104.

- Brink E y Pfaff W. 1980. Vertebral muscles of the back and tail of the albino rat (*Ratus norvegicus albinos*). *Brain Behav* 17: 1-47.
- Cambri L, Ghezzi A, Ribeiro C, Dalia R y Rostom de Mello M. 2010. Recovery of rat growth and lipid profiles in adult rats subjected to fetal protein malnutrition with a fructose-rich diet. *Nutr Res* 30: 156-162.
- Ceesay S, Prentice A, Cole T, Foord F, Weaver L, Postkitt E y Whitehead G. 1997. Effects on birth weight and perinatal mortality of maternal dietary supplements in rural Gambia: 5 year randomized controlled trial. *BMJ* 315: 786-790.
- Clapes E. 1994. Nutricion en la enfermedad respiratoria cronica. *Arch Bronconeumol* 30: 70-73.
- Constancia M, Hemberger M y Hughes J. 2002. Placental-specific IGF-II is a major modulator of placental and fetal growth. *Nature* 417: 945-8.
- Cossu G y Borello Y. 1999. Wnt signaling and the activation of myogenesis in mammals. *EMBO* 18: 6867-6872.
- Cruz Y, Hudson R, Pacheco P, Lucio R y Martínez M. 2002. Anatomical and psysiological characteristics of perineal muscles in the female rabbit. *Physiol Beha* 75: 33-40.
- D'Alessandro M, Chicco A, Karabatas L y Lombardo Y. 2000. Role of skeletal muscle on impaired insulin sensitivity in rats fed a sucrose rich diet: effect of moderate levels of dietary fish oil. *J Nutr Bio* 11: 273-280.
- De Lucas P, Rodríguez M y Calle M. 1996. Fatiga muscular. *Prous Science* 101: 97-122.
- Desai M, Crowther N, Lucas A y Hales N. 1996. Organ selective growyh in the offspring of protein restricted mothers. *BJN* 76: 591-603.
- Du F, Higginbotham D y White D. 1999. Food intake energy balance and serum leptin concentration in rats fed low-protein diets. *Bio and Mol* 13: 225-229.
- Dubrovsky B y Filipini D. 1990. Neurobiological aspects of the pelvic floor muscles involved in defecation. *Neurosci Biobehav Rev* 14: 157-168.
- Dureuil B y Matuszczak Y. 1998. Alteration in nutritional status and diaphragm muscle function. *Reprod Nutr Develop* 38: 175-180.
- El Hafidi M, Cuellar A, Ramírez J y Baños G. 2001. Effect of sucrose addition to drinking water, that induces hypertension in the rats, on liver microsomal $\Delta 9$ and $\Delta 5$ -desaturase activities, *J Nutr Biochem* 12: 396-403.
- Engert J, Berlund E y Rosenthal N. 1996. Proliferation precedes differentiation in IGF-1-stimulated Myogenesis. *J Cell Biol* 135: 431-440.
- Enns L y Tiidus M. 2008. Estrogen influences satellite cell activation and proliferation following downhill running in rats. *J Appl Physiol* 104: 347-353.
- Erhuma A, Salter M, Sculley V, Langley-Evans C y Bennett A. 2007. Prenatal exposure to a low protein diet programmes disordered regulation of lipid metabolism in the ageing rat. *Am J Physiol Endo Metab* 292: 1702-1714.

- Fajardo V, Pacheco P, Hudson R, Jiménez I y Martínez M. 2008. Differences in morphology and contractility of the bulbospongiosus and pubococcygeus muscles in nulliparous and multiparous rabbit. *Uro J* 19: 843-849.
- Fetoui H, Mahjoubi-Samet A, Jamoussi K, Ayadi F, Ellouze F y Zeghal N. 2007. Food restriction in pregnant and lactating rats induces anemia and increases plasma lipid peroxidation in their progeny. *Nutr Res* 27: 788-793.
- Fuenmayor R, Villabón G y Saba T. 2007. Sarcopenia visión clínica de una entidad poco conocida y mucho menos buscada. *Rev Venez Endocrinol Metab* 5: 3-7.
- Gluckman D y Hanson A. 2004. Living with the past: evolution, development and patterns of disease. *Science* 305: 1773-1776.
- Gluckman D, Hanson A y Spencer G. 2005. Predictive adaptive responses and human evolution. *Trends Ecol Evol* 20: 527-33.
- Godfrey K y Barker D. 2000. Fetal nutrition and adult disease. *Am J Clin Nutr* 71: 1344-1352.
- Godfrey M, Redman G, Barker J, Osmond C. 1991. The effect of maternal anemia and iron deficiency on the ratio of fetal weight: placental weight. *Br J Obstet Gynecol* 98: 886-891.
- Grantham-Mc Gregor S. 1995. A Review of studies of the effect of severe malnutrition on mental development. *J Nutr* 125: 2233-2238.
- Gutmann A, Basilio Z, Bernal A, Chicco A y Lombardo B. 1987. Long-term hypertriglyceridemia and glucose intolerance in rats fed chronically an isocaloric sucrose-rich diet. *Metab* 36: 1013-1020.
- Guzmán C, Cabrera R, Cárdenas M, Larrea F, Nathanielsz W y Zambrano E. 2006. Protein restriction during fetal and neonatal development in the rat alters reproductive function and accelerates reproductive ageing in female progeny. *J Physiol* 572: 97-108.
- Hales C y Barker D. 1992. Type 2 diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabet* 35: 595-601.
- Hales C y Barker D. 2001. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull* 60: 5-20.
- Harel Z y Tannembaum S. 1995. Longterm alterations in growth hormone and insulin secretion after temporary protein restriction early life in the rat. *Pediatr Res* 38: 747-753.
- Harrap S. 1994. Public health, cardiovascular disease and molecular biology. *Kidney Int* 46: 1546-1549.
- Harrison M y Langley-Evans. 2009. Intergenerational programming of impaired nephrogenesis and hypertension in rats following maternal protein restriction during pregnancy. *Brit J Nut* 101 :1020-1030.
- Herman M, Kamari Y, Grossman E, Yeger G, Peleg E, Shabtay Z, Shamiss A, Sharabi Y. 2008. Metabolic syndrome: comparison of the two commonly used animal models, *Am J Hypert* 21: 1018-1022.
- Higashida B. 2008. *Ciencias De La Salud*. 1th edición, México: Mc Graw Hill 350-360.
- Hijaz A, Daneshgari F, Sievert D y Damaser S. 2008. Animal models of female stress urinary incontinence. *J Urol* 179: 2103-2110.
- Islam M, Sjöholm A y Emilsson V. 2000. Fetal pancreatic islets express functional leptin receptors and leptin stimulates proliferation of fetal islet cells. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24: 1246-1253.
- Jong-Yeon K, Nolte L, Hansen P, Dong-Ho H, Kaeana K y Holloszy J. 1999. Insulin resistance of muscle glucose transport in male and female rats fed a high-sucrose diet. *Am J Physiol* 276: 665-672.

- Kaati G, Bygren O y Edvinssons S. 2002. Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents and grandparents slow growth period. *Eur J Hum Genet* 10: 682-688.
- Kagota S, Tada Y, Nejime N, Nakamura K, Kunitomo M y Shinozuka K. 2009. Chronic production of peroxynitrite in the vascular wall impairs vasorelaxation function in SHR/NDmcr-cp rats, an animal model of metabolic syndrome. *J Pharmacol Sci* 109: 556-564.
- Kelley G, Allan G y Azhar S. 2004. High dietary fructose induces a hepatic stress response resulting in cholesterol and lipid. *Endocrinol* 145: 548-555
- Kingdom C y Kaufmann P. 1997. Oxygen and placental villous development: origins of fetal hypoxia. *Placenta* 18: 613-621.
- Langley-Evans C. 2004. Fetal programming of adult disease: an overview. Fetal nutrition and adult disease programming of chronic disease thought fetal exposure to undernutrition. *CABI* 65: 2-10.
- Langley-Evans C. 2006. Developmental programming of health and disease. *Proc Nutr Soc* 65: 97-105.
- Langley-Evans C, Bellinger L y McMullen S. 2005. Animal models of programming: early life influences on appetite and feeding behaviour. *Matern Child Nutr* 1: 142-148.
- Langley-Evans C, Richard F, Browne y Alan J. 1994. Altered glucose tolerance in rats exposed to maternal low protein diets in utero. *Bio Physiol* 109: 223-229.
- Langley-Evans C. 2000. Critical differences between two low protein diet protocols in the programming of hypertension in the rat. *Int J Food Sci Nutr* 51:11-17.
- Langley-Evans C. 2006. Developmental programming of health and disease. *Nut Soc* 65: 97-105.
- Lanz J, Donahoe M, Rogers R y Ontell M. 1992. Effects of growth hormone on respiratory muscle recovery from malnutrition. *J Appl Physiol* 73: 801-805.
- Latorraca M, Carneiro E, Boschero A y Mello M. 1998. Protein deficiency during pregnancy and lactation impairs glucose-induced insulin secretion but increases the sensitivity to insulin in weaned rats. *BJN* 80: 291-297.
- Leon DA, Koupilova I y Lithell O, 1996. Failure to realise growth potential in utero and adult obesity in relation to blood pressure in 50 year old Swedish men. *BMJ* 312: 401-406.
- Li J, Mayner R, y Wu C. 1999. A novel muscle-specific 1-Integrin Binding Protein (MIBP) that modulates myogenic differentiation. *J Cell Biol* 147: 1391-1398.
- Lucio R, Manzo, J Martínez M, Sach B y Pacheco P. 1994. Participation of pelvic nerve branches in male rat copulatory behavior. *Physiol. Behav* 55: 241-245.
- Lumey H. 1992. Decreased birthweights in infants after maternal in utero exposure to the Dutch famine of 1944-1945. *Paediatr Perinat Epidemiol* 6: 240-53.
- Manzo J, Esquivel A, Hernandez M, Carrillo P, Martínez M y Pacheco P. 1997. The role of pubococcygeus muscle in urinary continence in the male rat. *J Urol* 157: 2402-2406.
- Manzo J, Garcia I, Hernandez E, Carrillo P y Pacheco P. 2002. Neuroendocrine control of urine-marking behavior in male rats. *Physiol Behav* 75: 25-32.
- Martínez M, Chirino R, Beyer C, Komisaruk R y Pacheco P. 1992. Visceral and postural reflexes evoked by genital stimulation in urethane-anesthetized female rats. *Brain Res* 575: 279-284.

- Martínez M, Lucio R, Carro M, Pacheco P y Hudson R. 1997. Striated muscles and scent glands associated with the vaginal tract of the rabbit. *Anat Rec* 247: 486-495.
- Mataix J. 2009. Tratado de nutrición y alimentación. 1th edición. Océano. Barcelona España, 982-985
- Mayhew M, Jackson R y Haas D 1990. Oxygen diffusive conductances of human placentae from term pregnancies at low and high altitudes. *Placenta* 11: 493-503.
- McClung J, Davis J, Wilson M, Goldsmith y Carson J. 2006. Estrogen status and skeletal muscle recovery from disuse atrophy. *Appl Physiol* 100: 2012-2023.
- Miñana M y Escobar C. 2007. Increased Susceptibility to Metabolic Alterations in Young Adult Females Exposed to Early Malnutrition. *Int Biol Sci* 3: 12-19.
- Miralles O, Sánchez J, Palou A y Picó C. 2006. A Physiological Role of Breast Milk Leptin in Body Weight Control in Developing Infants. *Obesity* 14: 1371-1377.
- Moran A, Nelson S, Landisch R, Warren G y Lowe D. 2007. Estradiol replacement reverses ovariectomy-induced muscle contractile and myosin dysfunction in mature female mice. *J Appl Physiol* 102: 1387-1393.
- Moreno J y Dalmau J. 2001. Alteraciones en la nutrición fetal y efectos a largo plazo: ¿algo más que una hipótesis? *APE* 1: 59-61.
- Muñoz S. 2002. Lesiones musculares deportivas: Diagnóstico por imágenes. *Rev Chil Radiol* 8: 127-132.
- Musaró A, Rosenthal N. 1999. Maturation of the Myogenic Program is Induced by Postmitotic Expression of Insulin-Like Growth Factor I. *Mol. Cell Biol* 19: 3115-3124.
- Nathanielsz, P. Poston P y Taylor D. 2007. In utero exposure to maternal obesity and diabetes: Animal models that identify and characterize implications for future health. *Clin Perinatol* 34 :515-526.
- Naya F y Olson E. 1999. MEF2: a Transcriptional Target for Signaling Pathways controlling Skeletal Muscle Growth and Differentiation. *Curr Opin Cell Biol* 11: 683-688.
- Owens A. 1991. Endocrine and substrate control of fetal growth: placental and maternal influences and insulin-like growth factors. *Reprod Fertil Dev* 3: 501-517.
- Ozanne E y Hales N. 2004. Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice. *Nature* 427: 411-412.
- Pacheco P, Martínez M, Whiple B, Beyer C y Komisaruk B. 1989. Somatomor components of the pelvic and pudendal nerves of the female rat. *Brain Res* 490: 85-94.
- Parra L, Tellez R, Escobar C 2003. La desnutrición y sus consecuencias sobre el metabolismo intermedio. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM* 46: 32-36.
- Petrik J, Reusens B, Arany E, Remacle C, Coelho C, Hoet J y Hill J. 1999. A low protein diet alters the balance of islet cell replication and apoptosis in the fetal and neonatal rat and is associated with a reduced pancreatic expression. *Endo* 140: 4861-4873.
- Petry C, Dorling W, Pawlak D, Ozanne E y Hales C. 2001. Diabetes in old male offspring of rat dams fed a reduced protein diet. *Int J Exp Diabetes Res* 2: 139-143.
- Pietilainen K, Rissanen A y Laamanen M. 2005. Growth Patterns in Young Adult Monozygotic Twin Pairs Discordant and Concordant for Obesity. *Twin Res* 7: 421-429.

- Qasem J, Cherala G y D'mello P. 2010. Maternal protein restriction during pregnancy and lactation in rats imprints long-term reduction in hepatic lipid content selectively in the male offspring. *Nut Res* 30: 410-417.
- Raizada V y Mittal R. 2008. Pelvic floor anatomy and applied physiology. *Gastroenterol Clin North Am* 37: 493-497.
- Ravelli A, Van der Meulen J, Michels R, Osmond C, Barker D, Hales C y Bleker O. 1998. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 352: 173-177.
- Ravelli P, Stein A y Susser W. 1976. Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *N Engl J Med* 295: 349-353.
- Raychaudhuri N, Raychaudhuri S, Thamocharan M y Devaskar U. 2008. Histone code modifications repress glucose transporter 4 expression in the intrauterine growthrestricted offspring. *J Biol Chem* 283: 13611-13626.
- Redfield A, Nieman M y Knudsen K. 1997. Cadherins Promote Skeletal Muscle Differentiation in Three-Dimensional Cultures. *J. Cell Biol* 138: 1323-1331.
- Richardson M y Pessin E. 1993. Identification of a skeletal muscle-specific regulatory domain in the rat GLUT4/muscle-fat gene. *J Biol Chem* 268: 21021-21027
- Rickard J y Lummaa V. 2007. The Predictive Adaptive Response and metabolic syndrome: Challenges for the hypothesis. *Trends Endocrinol Metab* 18: 94-99.
- Rodford J, Torrens C, Siow C, Mann G, Hanson M y Clough G. 2008. Endothelial dysfunction and reduced antioxidant protection in an animal model of the developmental origins of cardiovascular disease. *J Physiol* 586: 4709-4720.
- Rochester D. 1986 Malnutrition and the respiratory muscles. *Clin Chest Med* 7: 91-100.
- Rodríguez-Antolín J, Xelhuantzi N, García M, Cuevas E, Hudson R y Martínez M. 2008. General tissue characteristics of the lower urethral and vaginal walls in the domestic rabbit. *IUJ* 20: 53-60.
- Rogers G y Leeman L. 2007. Postpartum genitourinary changes. *Urol Clin N Am* 34: 13-21.
- Roubenoff R y Hughes V. 2000. Sarcopenia: current concepts. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 55: 716-724.
- Schumm E. 1989. Degradación de lípidos: Vías centrales. En: principios de bioquímica. Editorial. El Manual Moderno. México DF. pp. 260-309.
- Seckl J. 1998. Physiologic programming of the fetus. *Clinical Perinatology*. 25: 939-962.
- Serralda Z, Meléndez M y Pasquetti C. 2003. Requerimientos y recomendaciones proteicas, referencias internacionales y mexicanas. *Rev Endo Nut* 1: 73-79.
- Shafik A, El-Sibai O y Shafik A. 2002a. Electrophysiologic identification of the location of the colonic pacemakers. A human study. *Front Biosci* 7: 1-5.
- Shafik A, Mostafa M, Ahmed I y El Sibai O. 2002b. Role of the rectosigmoid pacemaker and electric activity in rectal motility: mechanism and clinical significance. *Electromyogr. Clin Neurophysiol* 42: 377-383
- Shetty P. 2006. Malnutrition and undernutrition. *Undernutrition* 1: 524-529.
- Smith N, Ozanne S. 2006. Intrauterine origins of metabolic disease. *Rev Gynaecol and Perinatal Practice* 6: 211-217.

- Snoeck A, Remacle C, Reusens B y Hoet J. 1990. Effect of a low protein diet during pregnancy on the fetal rat endocrine pancreas. *Biol Neonate* 57: 107-118.
- Soriano L, Juarranz J, Valerode D, Martínez M, Calle V y Domínguez R. 2003. Principales factores de riesgo del bajo peso al nacer. Análisis multivariante. *SEMG* 53: 263-270
- Stephan K, Chow B, Frohman A y Chow F. 1971. Relationship of growth hormone to the growth retardation associated with maternal dietary restriction. *J Nutr* 101: 1453-1458.
- Strauss R. 1997. Effects of the intrauterine environment on childhood growth. *Br Med Bull* 53: 81-95.
- Torres N, Bautista C, Tovar R, Ordaz G, Rodriguez-Cruz M, Ortiz V, Granados O, Nathanielsz W, Larrea F y Zambrano E. 2010. Protein restriction during pregnancy affects maternal liver lipid metabolism and fetal brain lipid composition in the rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 298: 270-277.
- Uysal K, Onal E y Aral Z. 2002. Breast milk leptin: its relationship to maternal and infant adiposity. *Clin Nutr* 21: 157-160.
- Vickers H, Breier H y Cutfield S. 2000. Fetal origins of hyperphagia, obesity and hypertension and its postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *Am J Physiol* 279: 83-87.
- Vickers H, Gluckman D y Coveny H. 2005. Neonatal Leptin Treatment Reverses Developmental Programming. *Endo* 146: 4211-4216.
- Vrana A, Poledne R, Fábry P, y Kazdová L. 1978. Palmitate and glucose oxidation by diaphragm of rats with fructose-induced hypertriglyceridemia. *Metabolism* 27: 885-888.
- Waters L, Baumgartner R y Garry J. 2000. Sarcopenia: current perspectives. *J Nutr Health Aging* 4: 133-139.
- Wilson P. 1973a. Understanding the pelvic floor. *S Afr Med J* 47: 1149-1167.
- Wilson P. 1973b. Some observation on pelvic floor evolution in primates. *S Afr Med J* 47: 1203-1209.
- Wu G, Bazer W, Cudd A, Meininger J y Spencer T. 2004. Maternal nutrition and fetal development. *J Nut* 134: 2169-2172.
- Zambrano E, Bautista J, Deas M, Martínez P, González M, Ledesma H, Morales J, Larrea F y Nathanielsz P. 2006. A Low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex and window of exposure specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin in the rat. *J Physiol* 15: 221-230.
- Zambrano E, Martínez-Samayoá P, Bautista C, Deás M, Guillén L, Rodríguez-González G, Guzmán C, Larrea F, y Nathanielsz P. 2005. Sex differences in transgenerational alterations of growth and metabolism in progeny (F2) of female offspring (F1) of rats fed a low protein diet during pregnancy and lactation. *J. Physiol* 566: 225-236.
- Zambrano E, Rodríguez G, Guzmán C, García-Becerra R, Boeck L, Díaz L, Menjivar M, Larrea F, Nathanielsz P. 2005. A maternal low protein diet during pregnancy and lactation in the rat impairs male reproductive development. *J Physiol* 571: 275-284.
- Zhang M, Wei Q, Zhao X y Paterson B. 1999. Coupling the Cell Cycle and Myogenesis through the Cyclin D1-dependent Interaction of MyoD with Cdk4. *EMBO* 18: 926-933.
- Zhu L, Lang J, Feng R, Chen J y Wong F. 2004. Estrogen receptor in pelvic floor tissues in patients with stress urinary incontinence. *Int Urogynecol J* 15: 340-343.

Zisman A, Peroni D, Abel D, Michael D y Mauvais-Jarvis F. 2000. Targeted disruption of the glucose transporter 4 selectively in muscle causes insulin resistance and glucose intolerance. Nat Med 6: 924-928.