



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta

Posgrado en Ciencias Biológicas

Relación entre el consumo prenatal y posnatal de agua
azucarada con la morfometría y expresión de acuaporina 2 en el riñón
de ratas adultas

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Verónica Velázquez Orozco

Director

Dr. Jorge Rodríguez Antolín

Tlaxcala, Tlax.

Enero, 2016



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta

Posgrado en Ciencias Biológicas

Relación entre el consumo prenatal y posnatal de agua
azucarada con la morfometría y expresión de acuaporina 2 en el riñón
de ratas adultas

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a
Verónica Velázquez Orozco

Comité Tutorial
Dr. Jorge Rodríguez Antolín
Dr. Francisco Castelán
Dra. Ida Soto Rodríguez

Tlaxcala, Tlax.

Enero, 2016



Universidad Autónoma de Tlaxcala
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado



COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
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 Verónica Velázquez Orozco realiza para la obtención del grado de Maestra 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: **“Relación entre el consumo prenatal y posnatal de agua azucarada con la morfometría y expresión de acuaporina 2 en el riñón de ratas adultas”**.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., JULIO 17 DE 2015


DR. JORGE RODRÍGUEZ ANTOLÍN


DR. IDA SOTO RODRÍGUEZ


DR. FRANCISCO CASTELÁN


DR. LETICIA NICOLÁS TOLEDO



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: posgradocbtbcuat@gmail.com
Tlaxcala, Tlax.

Agradecimientos

Este trabajo de investigación fue realizado bajo la dirección del Dr. Jorge Rodríguez Antolín, en las instalaciones del 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.

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento proporcionado para la realización de éste proyecto (CONACYT, 295860-VVO).

Se contó con la tutoría de los Drs. Francisco Castelán, Ida Soto Rodríguez, Leticia Nicolás y Arturo Ortega.

Agradecimientos personales

A Dios, al creador de todo, por darme siempre las oportunidades en el momento adecuado y por brindarme lo necesario para culminar mis planes. Bendito seas.

A mis padres, por enseñarme que la constancia y dedicación es la clave del éxito, por siempre creer en mi a pesar de lo extraño que suenen mis planes. Gracias a los dos por darme la vida, por apoyarme en todas las desiciones que he tomado día a día, por enseñarme que cuando se ama lo que se hace, simplemente no hay obstáculos para lograr lo que uno se propone. Definitivamente la persona que soy no lo habría logrado sin ustedes, los amo con todo mi corazón. Son los mejores padres del mundo.

A ti mi compañera de vida, el recorrido ha sido largo, con altas y bajas, pero nunca has claudicado. Gracias por apoyar mis planes locos, por enseñarme que los sueños se pueden hacer realidad y que no hay imposibles, gracias por darme alas para volar junto a ti y ahora con dos seres más junto a nosotras, a los tres les dedico éste trabajo que es también de ustedes porque refleja que no he estado sola.

A mis hermanos, por estar siempre presentes, acompañandame en cada paso que doy y escuchando mis planes y locuras.

A mis sobrinos, a Vale y Andy porque me han enseñado a no olvidar lo que es ser niño otra vez y dar valor a las cosas por sencillas que parezcan. A Marquiño por confiar en mi y sin saberlo ser también mi confidente, los amo a los tres.

Al doctor Jorge, gracias por creer en mi sin conocerme y apostarle al proyecto aunque algo en el fondo le dijera que no, gracias por su apoyo en mis problemas personales, admiro que a pesar de todo el trabajo que tiene tenga tiempo de escuchar a sus alumnos, para mi su tiempo es invaluable.

A mi comité tutorial, Dr. Francisco Castelán, Dra. Ida Soto y a la Dra. Leticia Nicolás por sus valiosas aportaciones a éste proyecto, su tiempo y consejos oportunos para culminarlo.

Finalmente quiero agradecer a mis compañeros de laboratorio que siempre me supieron guiar y esclarecer mis dudas, gracias porque nunca recibí un no como respuesta, siempre tenían tiempo de explicarme una nueva técnica, a utilizar algún equipo, a corregir mis exposiciones y hasta escuchar mis problemas. Gracias Irving y Vero les debo muchas.

Resumen

En México y diferentes partes del mundo el consumo de bebidas azucaradas se ha relacionado con la predisposición a padecer enfermedades metabólicas como sobrepeso, obesidad, hipertensión arterial y diabetes mellitus. Ésta última a su vez se ha asociado con daño renal.

En nuestro grupo de investigación hemos mostrado que el consumo de una dieta gestacional baja en proteínas condiciona a la descendencia a padecer trastornos metabólicos en la vida adulta; y que dichos trastornos metabólicos se potencian si en la vida posnatal los individuos consumen agua azucarada. Pocos estudios han administrado durante la gestación y lactancia únicamente agua azucarada y ello a su vez relacionarlo con trastornos metabólicos en la edad adulta de la progenie. El objetivo de la presente tesis fue determinar la relación entre el consumo prenatal y posnatal de agua azucarada con la morfometría y la expresión de acuaporina 2 en el riñón de ratas macho adultas. Para ello, se formaron dos grupos de madres gestantes: grupo control (MS), al que se le proporcionó agua simple. Y el grupo experimental, que consumió agua azucarada al 5% (MA); ambos grupos consumieron alimento estándar y agua ad libitum. Posterior al destete, se formaron dos subgrupos con las crías macho, uno que consumió agua simple (MS-CS) y otro agua azucarada al 5% (MA-CA). Las crías fueron sacrificadas a los cuatro meses de edad. Los datos fueron analizados aplicando la prueba estadística de ANOVA de dos vías. Desde el nacimiento y hasta el sacrificio los pesos de las crías no mostraron diferencias significativas ($P > 0.05$). En lo que respecta al consumo de agua y alimento, el grupo MA-CA mostró aumento en el consumo de agua pero una disminución en la ingesta de alimento. Morfométricamente los animales que durante toda su vida estuvieron expuestos al consumo de agua azucarada, así como los que sólo consumieron durante la vida gestacional y que después del destete consumieron agua simple, mostraron un aumento en el área de la luz del túbulo colector ($P < 0.05$). Con respecto a la expresión de acuaporina 2, fue mayor en los animales cuyas madres consumieron agua azucarada durante la gestación ($P < 0.05$). Adicionalmente, otros datos que consideramos importantes fueron la grasa retroperitoneal y la concentración sérica de nitrógeno ureico, mostrando un aumento en ambos parámetros en el grupo que consumió agua azucarada durante toda su vida ($P < 0.05$). Los hallazgos del presente estudio sugieren que el consumo prenatal y posnatal de agua azucarada, provocan en la vida

adulta, una alteración en la reabsorción de agua a nivel tubular específicamente en el túbulo colector, debido a que está directamente relacionada con la función de AQP2. De esta manera, se pudiera estar modificando la manera de concentrar o diluir la orina y con ello alterar el equilibrio osmótico a nivel renal.

ÍNDICE

1. Introducción.....	3
1.1. Nutrición y malnutrición	3
1.2. Obesidad y sobrepeso.....	3
1.3. Aparato urinario	4
1.4. Nefrogénesis.....	5
1.5. Anatomía funcional del riñón.....	6
1.6. Histología de la nefrona	9
1.7. Acuaporinas.....	11
1.7.1. Acuaporina 2	11
2. Antecedentes.....	13
2.1. Hipótesis de los orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad	13
2.2. Efecto de la malnutrición gestacional en la descendencia	14
2.3. Efectos de la malnutrición gestacional en el riñón de la descendencia en su vida posnatal	15
2.4. Efectos del consumo de agua azucarada durante la gestación en las crías adultas	16
2.5. Alteraciones renales	16
2.6. Trastornos metabólicos y su efecto en el riñón	17
2.7. Expresión de acuaporina 2 en síndrome nefrótico	18
3. Justificación	19
4. Hipótesis	20
5. Objetivo general	20
6. Objetivos específicos.....	20
7. Metodología.....	21
7.1. Grupos experimentales.....	21
7.1.1. Grupos experimentales de las madres	21
7.1.2. Grupos experimentales de las crías	21
7.2. Diseño experimental.....	22
7.3. Obtención de muestras sanguíneas y riñón	23
7.4. Determinación de urea y creatinina.....	23
7.5. Histología renal	24

7.6. Inmunohistoquímica para acuaporina 2	25
7.7. Análisis estadístico	28
8. Resultados	29
8.1. Ratas gestantes	29
8.1.1. Ganancia de peso	29
8.1.2. Consumo de alimento y agua	29
8.2. Crías	31
8.2.1. Parámetros al nacimiento	31
8.2.2. Ganancia de peso	32
8.2.3. Consumo de alimento y agua	33
8.2.4. Peso al día del sacrificio.....	34
8.2.5. Creatinina y nitrógeno ureico en suero	35
8.2.6. Tamaño de riñones	37
8.2.7. Peso de riñones.....	38
8.2.8. Grasa retroperitoneal.....	39
8.2.9. Número de glomérulos.....	41
8.2.10. Área glomerular y de la luz del túbulo colector.....	42
8.2.11. Expresión de acuaporina 2	44
9. Discusión	46
10. Conclusiones.....	51
11. Perspectivas	52
12. Referencias	53
13. Anexos	60
Anexo 1. Deshidratación e inclusión del riñón.	60
Anexo 2. Tinción de Hematoxilina-eosina.....	61
14. Publicaciones	63

1. Introducción

1.1. Nutrición y malnutrición

La nutrición es el equilibrio entre el consumo de alimento y el gasto energético que un organismo requiere para realizar sus funciones vitales. Un adecuado balance alimenticio es determinante para su óptimo desarrollo, incorporación y transformación de los alimentos en nutrientes (proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales) que aportan energía al organismo (Mataix 2009).

El estado nutricional de un individuo sirve para identificar si su nutrición es adecuada (eunutrición) o muestra alteraciones que provocan desviaciones patológicas (malnutrición). Ésta engloba cualquier desviación, ya sea por exceso (sobrealimentación) o por déficit (hiponutrición, o subnutrición) (Mataix 2009).

La malnutrición sucede en las distintas etapas de la vida, sin embargo, en la mujer la etapa más drástica es durante la gestación, debido a que en este periodo no sólo se ve afectada ella, sino que se predispone a la descendencia a padecer ciertas enfermedades durante la vida adulta (Ramírez-Vélez 2012). Lo anterior se sustenta en la hipótesis de Barker también conocida como hipótesis de los orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad. La cual menciona que el impacto de las condiciones de vida intrauterina tiene influencia sobre la aparición de algunas enfermedades en la vida adulta, ligadas a alteraciones metabólicas: obesidad, sobrepeso, diabetes mellitus, hipertensión arterial, entre otras (Langley-Evans 2006).

1.2. Obesidad y sobrepeso

La obesidad y sobrepeso son una acumulación anormal o excesiva de grasa que es perjudicial para la salud. Estas condiciones se evalúan con el índice de masa corporal (IMC), que proporciona la medida más útil para la población, puesto que es la misma para ambos sexos y para adultos. Un IMC igual o superior a 25 determina sobrepeso, si es igual o superior a 30 determina obesidad. Éste se calcula dividiendo el peso corporal de una persona en kilogramos entre el cuadrado de su talla en metros (Kg/m^2) (OMS 2012).

Existen diversas causas para presentar estos trastornos, los motivos principales son: factores genéticos, aumento en la ingesta de alimentos ricos en calorías, consumo de bebidas azucaradas, descenso en la actividad física. Lo que provoca un desequilibrio energético entre las calorías consumidas y gastadas. Con ello se predispone al individuo a padecer diabetes mellitus, hipertensión, daño renal, entre otros (Ramírez-Vélez 2012).

Se ha reportado que la obesidad es un factor de riesgo para desarrollar daño renal, debido a que existen cambios hemodinámicos y depósitos de lípidos en el riñón. Asimismo, el sistema renina-angiotensina-aldosterona está marcadamente activado en pacientes con obesidad (Praga 2011). Éste sistema está implicado en el control de la función cardiovascular y del equilibrio hidroelectrico, gran parte de ello es regulado por el riñón.

1.3. Aparato urinario

El aparato urinario de las ratas, al igual que el de los humanos, está formado por dos riñones, dos uréteres (aparato urinario superior), vejiga urinaria y la uretra (aparato urinario inferior) (Figura 1). Los riñones son órganos que filtran los desechos del metabolismo, agua y sales de la sangre, producen orina que es transportada por los uréteres a la vejiga urinaria y expulsada al exterior por la uretra. Además, se encargan también de la regulación de la presión arterial, regulación de la eritropoyesis, de la vitamina D y de mantener el equilibrio hidroelectrico (Guyton 2009).

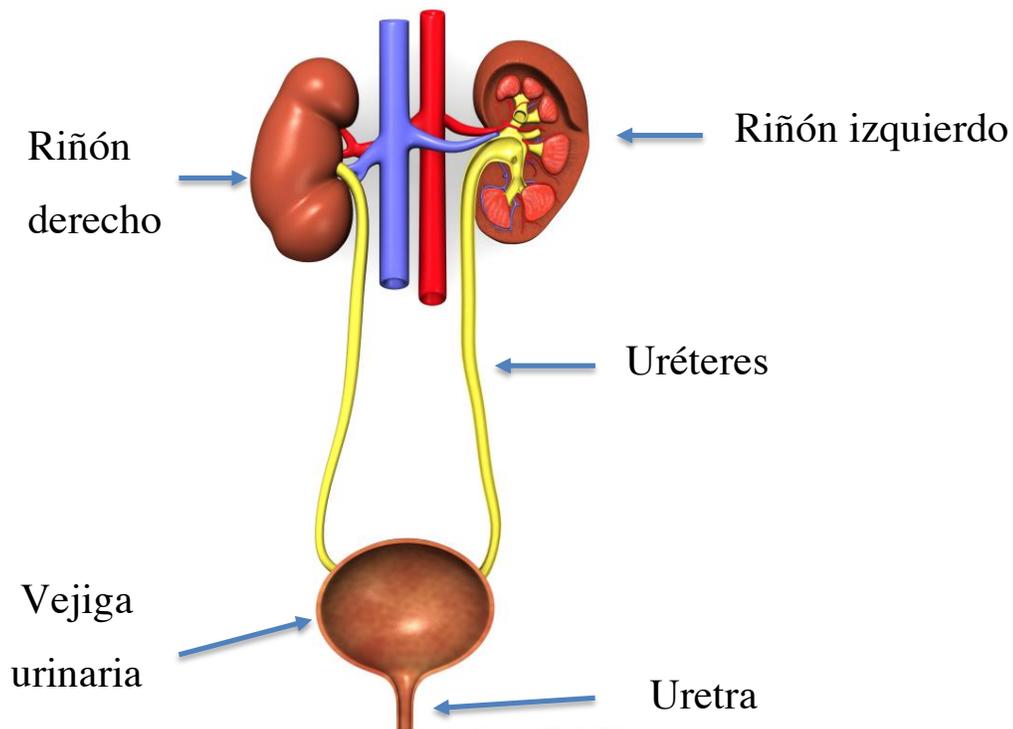


Figura 1. Aparato urinario. Formado por dos riñones, dos uréteres, vejiga urinaria y uretra. (http://www.photaki.es/foto-sistema-urinario_150725.htm. Modificado).

1.4. Nefrogénesis

Se sabe que en humanos el aparato urinario comienza a desarrollarse a principios de la cuarta semana de gestación. La formación del riñón o nefrogénesis durante la vida gestacional, se lleva a cabo a partir del ectodermo el cual indica la formación del mesodermo intermedio, se compacta y da lugar al conducto de Wolf y nefronas primitivas. Posteriormente se forma el “pronefros” y es considerado como un riñón para el feto, éste último no tiene función conocida en el humano, sin embargo, es funcional en vertebrados menores. Después se lleva a cabo la formación del “mesonefros” que será el riñón funcional durante la embriogénesis.

El mesonefros se degenera para dar lugar a algunas estructuras del aparato reproductor. Éste mismo desarrolla el mesénquima metanéfrico y para la quinta semana se forma el “metanefros” el cuál será el riñón definitivo de los mamíferos. El desarrollo renal y del sistema excretor en humanos continúa hasta la semana 32 a la 36 de gestación, su proceso de maduración termina unos meses después del nacimiento. En ratas y ratones, continúa hasta los diez días de vida posnatal (Cherñawsky y cols. 2002).

1.5. Anatomía funcional del riñón

Los riñones están situados retroperitonealmente y localizados en la pared abdominal posterior, a ambos lados de la columna vertebral. Cada riñón tiene dos polos (superior e inferior) y dos caras (anterior y posterior). Un borde lateral y uno medial. El borde interno presenta una hendidura longitudinal (hilio renal), que lleva a una cavidad en cuyo interior se encuentran los vasos renales y la pelvis renal (Ganong 2002).

El riñón en su superficie externa está rodeado por una capa fibrosa (cápsula renal). Si se realiza un corte sagital se distinguen macroscópicamente dos zonas: a) corteza, es una zona superficial rojiza ya que acumula gran parte de la sangre del riñón y b) médula, es una zona pálida, está formada por unas estructuras cónicas conocidas como pirámides de Malpighi, con sus bases dirigidas hacia la corteza y sus vértices o papilas hacia el hilio (Figura 2).

La corteza no forma una capa longitudinalmente separada de la médula, sino que se introduce en los espacios situados entre las pirámides en unas prolongaciones denominadas columnas de Bertín. Asimismo, en la zona cortical, situada entre la cápsula y las bases de las pirámides, se observan unas estrías longitudinales conocidas como pirámides de Ferrein (Guyton 2009).

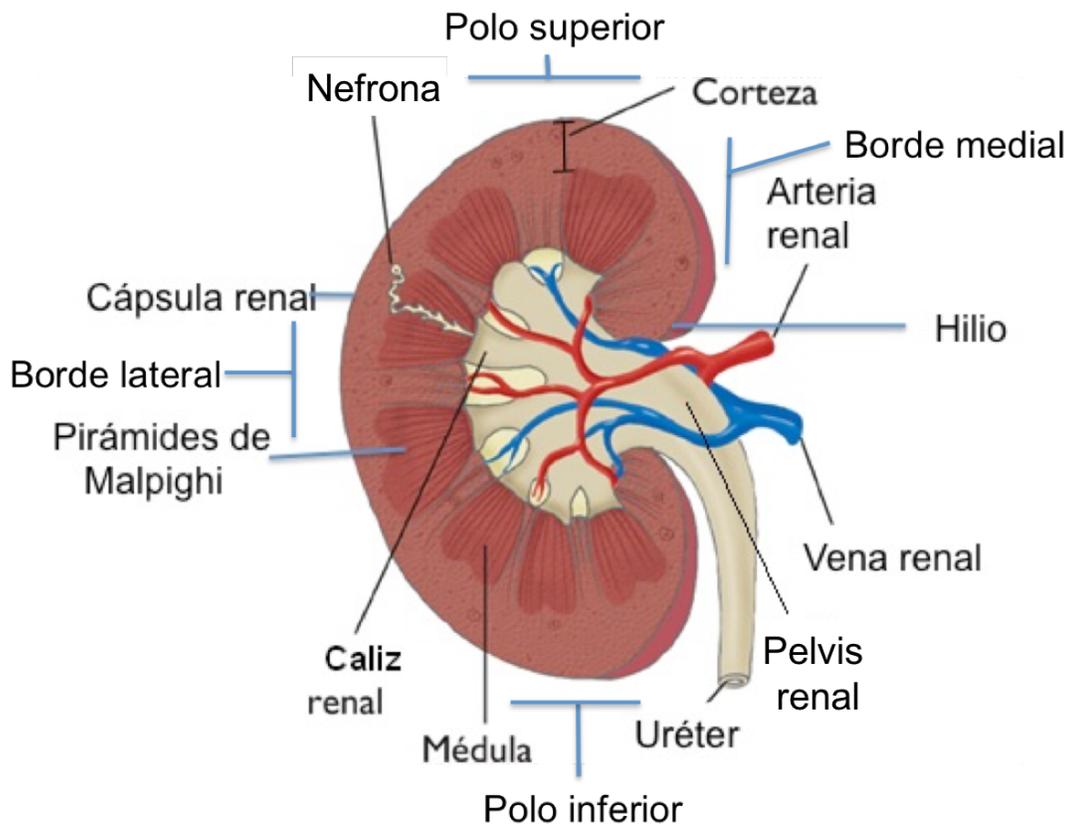


Figura 2. Esquema de un corte sagital de riñón donde se ilustran las partes principales tanto de la corteza como de la médula. (<http://thegoldengoose.co.uk/ft-human-kidney-anatomy.html>. Modificado).

La médula renal está compuesta de 8 a 12 pirámides de Malpighi, cuyos vértices presentan unos orificios que conectan con los llamados conductos excretores de Bellini. Dichos vértices papilares conectan a su vez con el sistema excretor externo, formado por los cálices menores que convergen a su vez con los cálices mayores y por último en la pelvis renal (Guyton 2009).

La unidad funcional del riñón es la nefrona. Su función es limpiar el plasma sanguíneo o aclararlo de aquellas sustancias que no se precisa mantener, como la urea, la creatinina, iones (sodio, potasio, cloruro) que son desechos del metabolismo. Existen de 1 a 2 millones de nefronas en humanos por cada riñón y en ratas alrededor de 30 000 nefronas (Hill y cols. 2006).

Desde un punto de vista morfológico, la nefrona se divide en un extremo proximal, compuesto por el corpúsculo renal, formado por redes de capilares o glomérulo y la cápsula de Bowman. Dicha cápsula constituye la parte inicial del sistema tubular de la nefrona y recibe el filtrado glomerular. A continuación del corpúsculo renal se extiende la porción tubular, que se divide en: túbulo contorneado proximal, asa de Henle, túbulo contorneado distal y túbulos colectores (Figura 3).

Desde un punto de vista funcional, la nefrona se puede dividir en nefrona proximal, formada por el túbulo contorneado proximal y segmento descendente del asa de Henle; y nefrona distal, formada por el segmento ascendente del asa de Henle, túbulo distal y túbulo colector.

Se conocen dos tipos de nefronas: las corticales, con asas de Henle cortas que profundizan poco en la corteza y en general no alcanzan la médula y las yuxtaglomerulares, con asas de Henle largas, que se internan en la médula y pueden llegar hasta la papila.

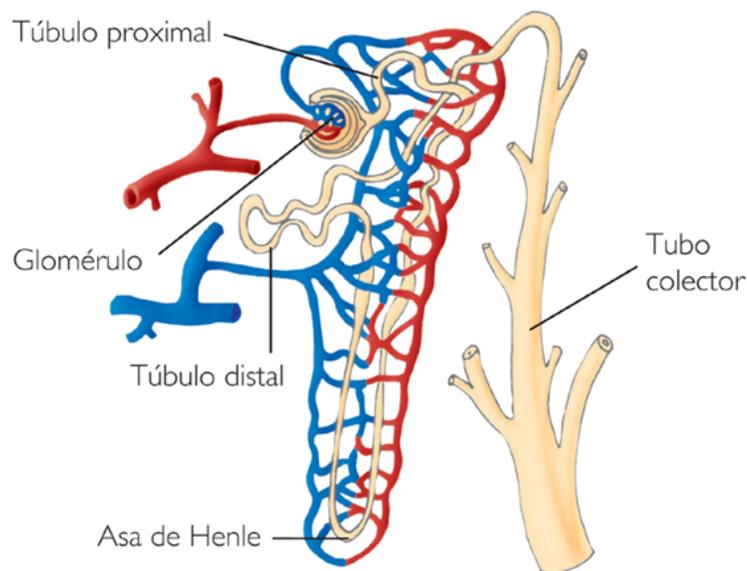


Figura 3. Se muestra la nefrona con cada una de sus partes.
(<http://transporteatravesdelrinon.blogspot.mx/2011/10/recuento-anatomico-y-la-nefrona.html>).

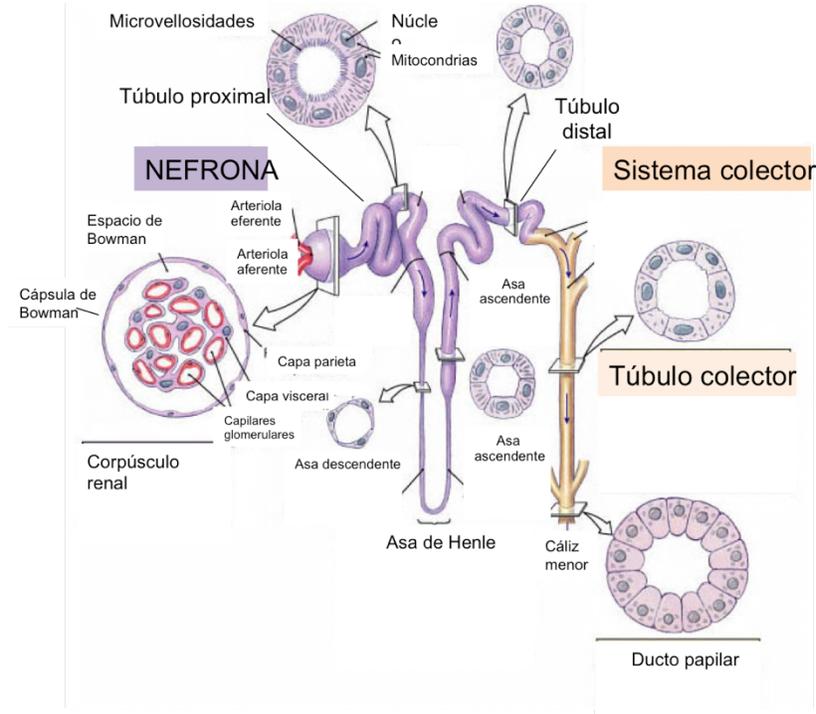
1.6. Histología de la nefrona

La nefrona considerada como la unidad estructural y funcional del riñón (Figura 4), posee dos componentes: corpúsculo renal y sistema tubular.

1. El corpúsculo renal es la parte de la nefrona responsable de la filtración del plasma, compuesto por la cápsula de Bowman y el glomérulo.
 - Cápsula de Bowman. Formada por un epitelio plano, descansa sobre una membrana basal. Tiene forma de copa de doble pared y constituye la terminación ciega del túbulo epitelial renal.
 - Glomérulo. Corresponde a una red de capilares anastomosados, revestidos por células epiteliales planas, llamadas podocitos y células mesangiales, que se localizan en la capa visceral y parietal de la cápsula de Bowman. La arteriola aferente del glomérulo es de mayor grosor que la eferente, por lo tanto, la presión mayor dentro del glomérulo favorece la filtración de pequeñas moléculas y agua del plasma sanguíneo hacia el espacio de Bowman. Las arteriolas eferentes originan ramas capilares que irrigan los túbulos renales, por éstas arteriolas regresan al sistema venoso las moléculas reabsorbidas a través de los túbulos renales.
2. Sistema tubular. Este conjunto de túbulos esta compuesto por: túbulo contorneado proximal, asa de Henle, túbulo contorneado distal y túbulo colector.
 - Túbulo contorneado proximal. Sus células se caracterizan por tener un citoplasma abundante, eosinofílico y un borde en cepillo fácil de identificar. El tamaño citoplasmático, la altura de las células y el borde en cepillo son más prominentes en la primera porción del túbulo contorneado proximal.
 - Asa de Henle. Localizada principalmente en la médula renal. Presenta dos ramas: una descendente con epitelio plano y otra ascendente con epitelio cúbico.
 - Túbulo contorneado distal. Distribuido en la corteza renal. Presenta un epitelio cúbico bajo sin borde en cepillo, por lo tanto, tiene una luz mayor, por ser más bajas, son más numerosas.

- Túbulo colectores. Corresponden a la parte terminal del túbulo contorneado distal y forman los rayos medulares. Poseen un epitelio cúbico sin bordes en cepillo (Estrada y Uribe 2002).

A



B

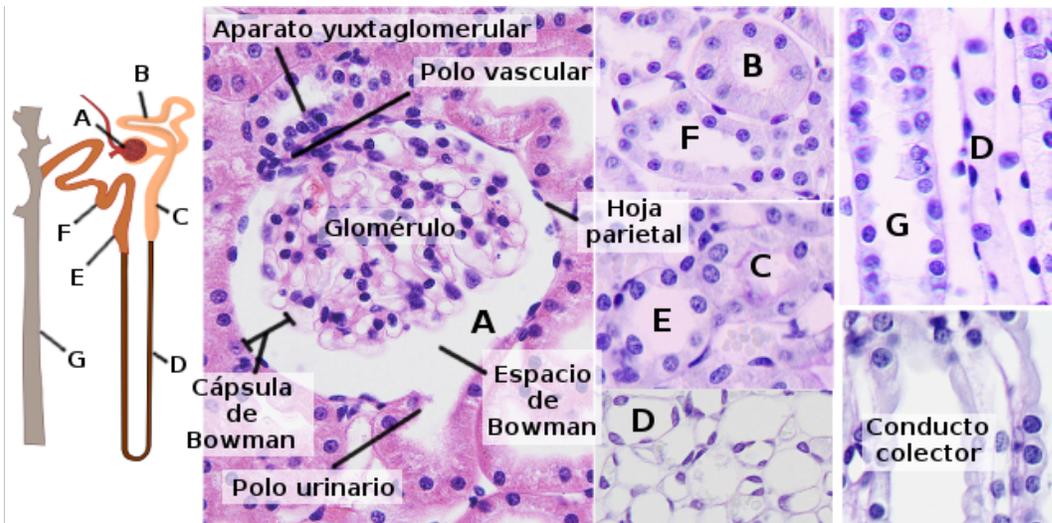


Figura 4. Histología de la nefrona. A) Esquema de los diferentes tipos celulares a lo largo de la nefrona. B) Microfotografías de las diferentes porciones con HE a 400 aumentos.

1.7. Acuaporinas

El movimiento del agua a través de las membranas celulares es fundamental para la vida. La masa corporal de la mayor parte de los organismos vivos esta conformada por agua en aproximadamente 70%. Por lo tanto, se requiere que su distribución sea ordenada para mantener el equilibrio de los diversos compartimentos anatómicos (Treviño 2006).

El agua puede difundir a través de las capas lipídicas pero esta difusión no es lo suficientemente rápida para satisfacer las necesidades de las células. Se han descrito un grupo de proteínas llamadas acuaporinas (AQP) las cuales se encuentran en diversas formas de vida, como: eubacterias, hongos, plantas y animales; las cuales tienen la función de transportar agua rápidamente a través de las membranas biológicas. Las acuaporinas tienen propiedades como la selectividad, permeabilidad y mecanismos de activación. De las trece acuaporinas descritas, en el riñón se expresan siete (AQP1, AQP2, AQP3, AQP4, AQP5, AQP6 Y AQP7) (Treviño 2006). Sin embargo, la AQP2 tiene una relevante importancia debido a que a nivel de túbulo colector en la nefrona, se lleva a cabo la mayor parte de reabsorción de agua en trabajo conjunto con la hormona vasopresina.

1.7.1. Acuaporina 2

El evento clave para el mantenimiento del balance del agua corporal es la reabsorción del agua en el riñón, específicamente, en los túbulos colectores. Esto es regulado por la acuaporina 2 (AQP2). La AQP2 está limitada dentro del citoplasma de las células principales de los túbulos colectores y está controlada por la presencia de la hormona vasopresina (ADH). Cuando el organismo necesita retener agua, la AQP2 se traslada hacia la membrana apical, permitiendo la reabsorción del agua del túbulo urinario hacia dentro de la célula. (Noda y cols. 2013).

La secreción de la ADH se produce a nivel de la neurohipófisis y es regulada en respuesta a los cambios de osmolaridad (≥ 280 mOsm/kg) o a la disminución del volumen circulante efectivo (5-10%). En el riñón, la ADH se une al receptor V2 de vasopresina, en la membrana basolateral del tubo colector. El receptor V2 actúa ligado a proteína G y mediante la activación de la adenilato ciclasa, aumenta el AMPc, originando una respuesta celular que tiene

como evento final la inserción de los canales de agua en la membrana apical, facilitando de esta manera el transporte de agua a través de ella (Figura 5).

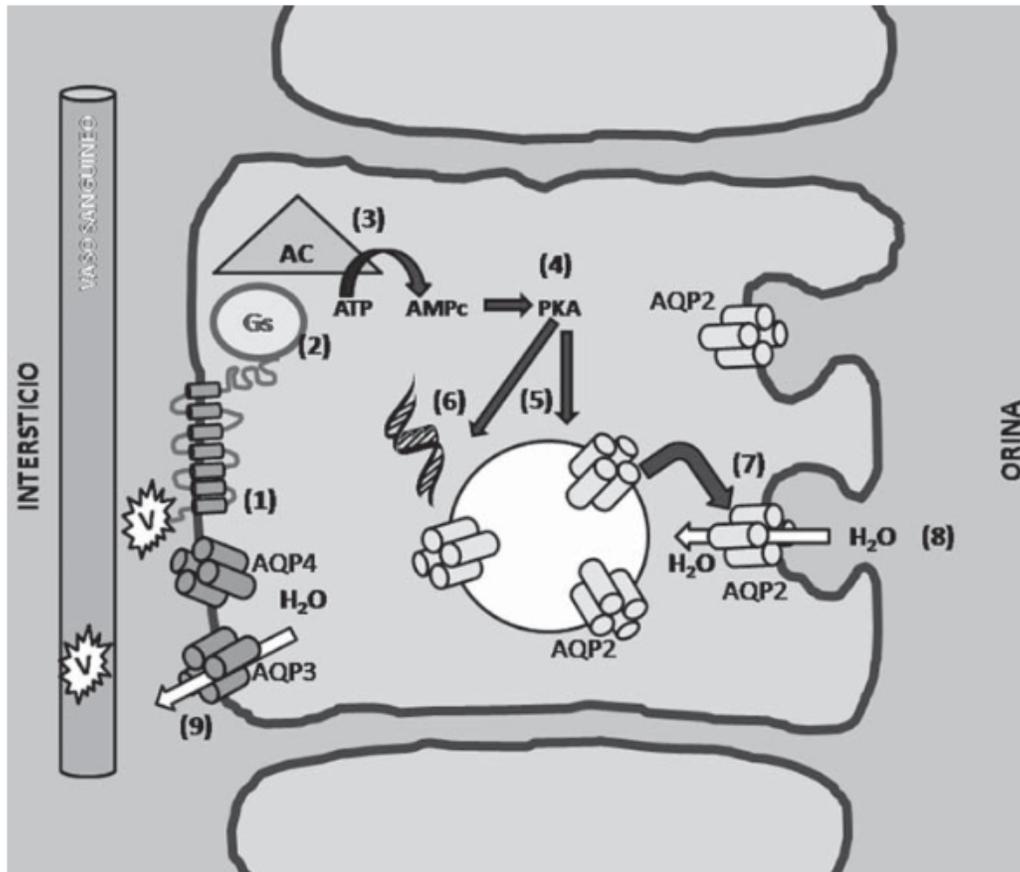


Figura 5. Acción de la hormona vasopresina (ADH). 1) Unión de la ADH a su receptor. 2) Activación de Proteína G. 3) Aumento del AMPc. 4) Incremento de la proteína quinasa A (PKA). 5) Fosforilación de las acuaporinas 2 e inserción en la membrana apical. 6) Aumento en la expresión de genes de AQP2. 7) Reabsorción de agua. 8) El agua es removida hacia el intersticio (Noda 2013).

2. Antecedentes

2.1. Hipótesis de los orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad

Se ha determinado que el origen del desarrollo de la salud y la enfermedad inicia a partir de que el individuo comienza a formarse, es decir, dentro del vientre materno. Cambios metabólicos en útero establecen patrones fisiológicos y estructurales a largo plazo, que pueden programar la salud durante la vida adulta, teoría conocida popularmente como hipótesis de Barker. Evidencia experimental y clínica, sugiere que, patologías como hipertensión arterial, enfermedad isquémica coronaria, síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2, pueden “programarse” durante las primeras etapas del desarrollo fetal y manifestarse en etapas tardías. (Ramírez-Velez 2012, García 2012).

La hipótesis de los orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad, menciona el impacto de las condiciones de vida intrauterina sobre la aparición de enfermedades durante la vida adulta. (Langley-Evans 2006). En donde se destacan tres etapas, la primera etapa, se caracteriza por una malnutrición fetal donde se desencadenan cambios estructurales y funcionales en diferentes órganos y sistemas; en la segunda etapa, hay cambios bioquímicos y clínicos, que constituyen variables intermedias en la aparición de enfermedades metabólicas y cardiovasculares y la tercera etapa, es la aparición de dichas enfermedades.

En la hipótesis de Barker se resaltan dos momentos: la programación, el cual se ha definido como una respuesta permanente de un organismo a un estímulo o agresión en un periodo crítico del desarrollo y que tiene significado a largo plazo (Langley-Evans 2004) y la segunda: la amplificación, se refiere a que los procesos iniciados durante la gestación se amplifican a lo largo de la vida (Durán 2004) (Figura 6).

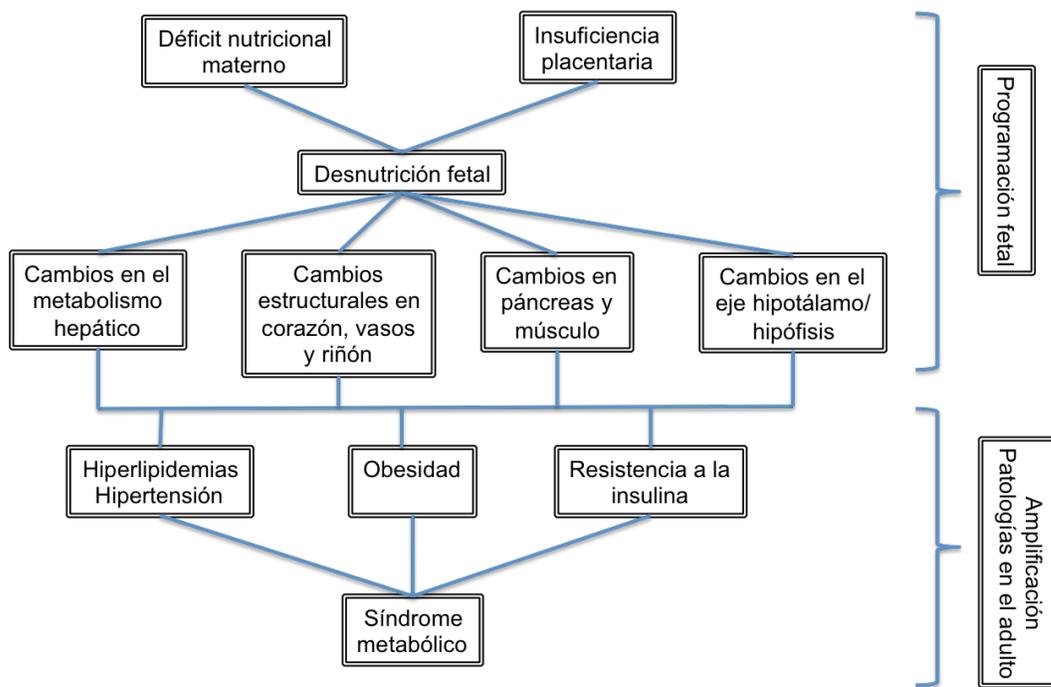


Figura 6. Esquema donde se muestra que las condiciones durante la vida intrauterina, dirigen a una programación fetal que se ve amplificada en la vida adulta (modificado García 2012).

2.2. Efecto de la malnutrición gestacional en la descendencia

La hipótesis del origen de la salud y la enfermedad propone que los cambios en el ambiente durante el desarrollo de un órgano y sistema, pueden tener cambios permanentes aumentando el riesgo de enfermedades cardiovasculares y/o metabólicas en la vida adulta.

Un estudio en humanos, demostró que hay una relación entre la cantidad de alimento consumido por la madre durante la gestación y la consumida por sus hijos en su vida posnatal. Sin encontrar diferencias en la acumulación de tejido graso (Brion y cols. 2010).

Experimentos en animales y estudios epidemiológicos sugieren que la nutrición en la vida intrauterina, modula la función de diversos tejidos con actividad metabólica en la vida posnatal. Asimismo, estudios en ratas, muestran que la progenie de madres malnutridas durante la gestación desarrolla diversas alteraciones en su vida adulta. Durante la vida intrauterina se

produce la primera modificación funcional, que afecta a órganos como hígado, páncreas y riñón, mientras uno de los menos afectados es el cerebro (Desai y cols. 1996).

En crías de madres que se sometieron a una dieta de restricción de proteínas y, que además consumieron agua azucarada después de la lactancia, observaron en la progenie, un aumento de triglicéridos, colesterol, insulina, así como un aumento en el tamaño y distribución del adipocito. Estas alteraciones fueron potenciadas en las crías que consumieron agua azucarada después del destete (Cervantes y cols. 2014).

2.3. Efectos de la malnutrición gestacional en el riñón de la descendencia en su vida posnatal

El riñón es extraordinariamente sensible a la programación fetal adversa. La malnutrición, es la forma más común del desafío durante el desarrollo, retrasa la formación de unidades funcionales, las nefronas. El resultado de una disminución en la cantidad de nefronas al nacimiento, aumenta la susceptibilidad de daño y enfermedad renal en la vida adulta (Li y cols. 2010).

Se ha demostrado que una malnutrición en ratas gestantes con una disminución en su dieta total del 50% (desnutrición), disminuye considerablemente la tasa de filtración glomerular y el flujo plasmático renal en las crías. La osmolaridad urinaria tiende a ser más baja, además, de una disminución en el número de glomérulos (Lucas y cols. 1991).

Estudios más recientes han reportado que una restricción de proteínas en la madre gestante, reduce el número de glomérulos y además programa a las crías tanto hembras como machos a padecer hipertensión sensible a sal. La ventana de sensibilidad de la presión sanguínea a una restricción de proteínas coincide con la nefrogénesis en la rata. Estos datos son consistentes con la hipótesis de que una restricción de proteínas materna causa una hipertensión en las crías adultas por un deterioro del desarrollo renal (Woods y cols. 2004).

2.4. Efectos del consumo de agua azucarada durante la gestación en las crías adultas

El consumo de bebidas ricas en carbohidratos durante la gestación ha sido poco estudiado, sin embargo, los estudios de los posibles efectos del consumo de bebidas azucaradas, sobre la salud de la descendencia son de gran importancia.

Estudios en animales, han demostrado que la ingesta materna de fructosa al 20%, da lugar a cambios en el desarrollo de las crías; mostrando en las crías hembra un aumento de fructosa y leptina circulante, además, encontraron que comparadas con los machos, las hembras fueron más vulnerables a enfermedades metabólicas en su vida adulta (Vickers y cols. 2011).

Colette y colaboradores formularon la hipótesis de que una combinación de dieta pre y posnatal alta en grasa y fructosa al 10%, aumenta el daño renal y metabólico en crías machos en la vida adulta, encontrando en dichos animales, aumento en la albúmina urinaria (450%), glomerulosclerosis (190%) y fibrosis tubulointersticial (101%). La presión sanguínea y la filtración glomerular no tuvieron cambios. Además, encontraron un aumento en el peso, en grasa visceral y en los valores de la insulina (Colette y cols. 2011).

2.5. Alteraciones renales

México no cuenta con un registro único de enfermedades renales, por lo que se desconoce la verdadera prevalencia de la enfermedad renal crónica, aunque se estima que uno de cada 9 adultos padece enfermedad renal (existen aproximadamente 60 000 pacientes en diálisis). Tomando en consideración que la proporción de niños con enfermedad renal crónica en países desarrollados es de aproximadamente de 20 a 25% se puede deducir que existen en México de 3 000 a 6 000 niños con este problema (Amato 2005).

De manera alarmante, se sabe que Tlaxcala ocupa el primer lugar a nivel nacional de enfermedades renales, en pacientes de edades entre 15 y 24 años de edad. Aunque aún no se sabe la causa de esta prevalencia, se sugiere sea por un consumo de agua potable contaminada por metales pesados (Secretaría de salud 2015).

La mortalidad por enfermedades renales en menores de 15 años, durante el periodo de 1998 a 2009, resalta el hecho de que el 42% de los fallecimientos se debieron a una insuficiencia renal aguda. (Fernández y cols. 2011).

Se realizó un estudio basado el protocolo de la National Kidney Foundation, para detectar enfermedad renal en individuos de alto riesgo (con diabetes, hipertensión arterial o bien, historia familiar de diabetes, hipertensión o enfermedad renal crónica) y la prevalencia de enfermedad renal crónica resultó de 22% en adultos del Distrito Federal y de 33% en adultos de Jalisco (Obrador y cols. 2010). Siguiendo esta metodología, la prevalencia mundial es de 11 a 33% dependiendo del país (Obrador y cols. 2011).

En la población de adultos mexicanos, la diabetes, la obesidad y la hipertensión arterial, son las principales causa para que se desarrolle enfermedad renal. Mientras que, en los niños, las principales causas conocidas, son las malformaciones congénitas (displasia, hipoplasia, malformaciones urinarias) seguidas de las glomerulopatías (Medeiros 2005).

2.6. Trastornos metabólicos y su efecto en el riñón

La obesidad aumenta el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, a través de múltiples mecanismos, incluyendo hipertensión, diabetes, dislipidemias y disfunción renal.

Estudios epidemiológicos en humanos, confirman que existe un riesgo significativo de presentar proteinuria y daño renal en personas con obesidad que no padecen otras enfermedades. Además, se ha observado que la obesidad, induce cambios hemodinámicos y favorece los depósitos glomerulares de lípidos, lo cual juega un papel importante en la patogénesis de la enfermedad renal, debido a que no se lleva a cabo la filtración glomerular correctamente (Praga 2011).

Por otro lado, en trabajos con animales obesos, se ha demostrado un aumento en la reabsorción de sodio y también del volumen sanguíneo directamente relacionado con la presión arterial elevada y a una ganancia de peso corporal. Además, observan que el tejido adiposo encapsula casi completamente los riñones e incluso penetra al hilio renal, lo que provoca compresión, incrementando la presión intrarenal (Hall y cols. 1999).

Se ha descrito la función de los túbulos renales para la reabsorción del agua y la formación de orina. Así como, la participación de la AQP2 para la entrada de agua a las células principales del túbulo colector (Noda y cols. 2013).

En un modelo de Diabetes mellitus inducida en ratas, se observó un aumento en la expresión de la AQP2 en la membrana apical de las células principales, y de la AQP2 fosforilada, lo que sugiere un aumento de la traslocación de vesículas de AQP2, lo que está relacionado con un aumento en la concentración de vasopresina circulante en sangre. Se sugiere que estos cambios mediados por vasopresina son en respuesta compensatoria de una diuresis osmótica debido a la presencia de glucosa en los túbulos renales (Lene y cols. 2000). Hay reportes controversiales sobre la expresión de AQP2 en ratas diabéticas inducida por estreptozotocina. Algunos estudios muestran un aumento tanto en la expresión como la traslocación de la AQP2 en la médula renal (Nejsum y cols. 2001), mientras que otros han mostrado una disminución en el marcaje inmunohistoquímico (Leung y cols. 2005) y en otro grupo de investigación no observaron cambios en los niveles totales de AQP2 (Ward y cols. 2001).

2.7. Expresión de acuaporina 2 en síndrome nefrótico

El síndrome nefrótico se caracteriza por un aumento en la permeabilidad de los glomérulos renales, que conlleva a la presencia de niveles altos de proteínas en orina. En un modelo de ratas que inducen a este síndrome, se estudiaron tres tipos diferentes de Acuaporinas (AQP2, AQP3 y AQP4), y se demostró una disminución en un 70% de la expresión de AQP3, siendo la AQP2 la más afectada con una disminución del 87%, al contrario de la AQP4 que no se vio alterada (Apostol y cols. 1997).

Los estudios del síndrome nefrótico inducido con aminoglucósido puromicina, han demostrado que el defecto de concentración urinaria se relaciona con la marcada disminución en la expresión de acuaporina 2 y acuaporina 3 en el túbulo colector medular interno, debido a que las concentraciones circulantes de vasopresina eran más altas en las ratas tratadas con aminoglucósido puromicina que en el control; era de esperarse la sobreexpresión y no la disminución en la expresión de acuaporina 2. El hallazgo de la disminución en la expresión sugiere que las concentraciones plasmáticas elevadas de vasopresina fueron ineficaces para incrementar la concentración intracelular de AMPc (intermediario en la expresión de acuaporina

2) o que algún otro factor no relacionado hubiese alterado el mecanismo mediado por AMPc (Treviño 2006).

3. Justificación

La ENSANUT reportó en el 2012, un aumento en la prevalencia de sobrepeso y obesidad, relacionado con el consumo de bebidas azucaradas como uno de los principales factores de riesgo. Asimismo, la ingesta de éstas bebidas se ha relacionado con la presencia de diabetes mellitus tipo 2 y enfermedades cardiovasculares (Malik y cols. 2015).

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 del feto y se incrementan las reservas maternas para la lactancia; por lo que aumentan los requerimientos de energía y proteínas (Serralda y cols. 2003).

A la fecha, son escasos los estudios en animales que abordan los efectos de la ingesta de bebidas azucaradas durante la gestación y su participación respecto a la salud de las crías, a pesar del notable aumento de su consumo, y que ha sido paralelo a la epidemia de obesidad que presenta la población mexicana en la actualidad.

Estudios en ratas gestantes que proporcionan una concentración elevada de azúcar (fructosa al 10%) y alimento rico en lípidos, encontraron daño a nivel renal en las crías, con una expansión del área mesangial, dilatación de los capilares glomerulares y presencia de proteínas en orina (Colette y cols. 2011). Por otro lado, ratas a las que se les induce a Diabetes mellitus, muestran un aumento en la expresión de AQP2 tanto en la membrana apical como en la intracelular, aunado al incremento de vasopresina circulante (Nejsun y cols. 2001).

Hasta el momento no existen estudios que relacionen el consumo prenatal y posnatal de agua azucarada con la morfometría renal y la expresión de AQP2. De esta manera, obtener resultados que ayuden a entender de que manera se pudiera estar modificando el arreglo histológico y el funcionamiento de AQP2 en el riñón, debido al consumo de agua azucarada, evidentemente dejará un antecedente para entender mejor el funcionamiento a nivel del túbulo colector, específicamente en las células principales.

4. Hipótesis

El consumo prenatal y posnatal de agua azucarada modifica la morfometría renal y aumenta la expresión de acuaporina 2 en el riñón de ratas macho adultas.

5. Objetivo general

Determinar la relación entre el consumo prenatal y posnatal de agua azucarada con la morfometría y expresión de acuaporina 2 en el riñón de ratas macho adultas.

6. Objetivos específicos

- Determinar la ganancia de peso corporal a partir del destete al cuarto mes de edad.
- Evaluar la morfometría de las crías el día 1 de nacimiento.
- Determinar la concentración de creatinina y nitrógeno ureico en suero por espectrofotometría.
- Evaluar el arreglo histológico del riñón izquierdo, con tinción de Hematoxilina- Eosina.
- Determinar la expresión de la acuaporina 2 en los túbulos colectores del riñón izquierdo con inmunohistoquímica.

7. Metodología

Se utilizaron ratas adultas hembra de la raza Wistar de tres meses de edad de un peso de 210-240 gramos. Se mantuvieron en condiciones de bioterio con un fotoperiodo de 12/12 horas, con ciclo luz-oscuridad invertido y temperatura de 20 ± 2 °C, con alimento y agua ad libitum. Todos los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo a la regulación establecida en el Manual de Seguridad en el trabajo de laboratorio del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta y en las especificaciones descritas en la Norma Oficial Mexicana en el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio NOM-062-ZOO-1999.

7.1. Grupos experimentales

7.1.1. Grupos experimentales de las madres

Las ratas hembras fueron apareadas con machos expertos. El día del apareamiento fue considerado como día 0 (cero) de gestación. A partir del día uno, se midió el consumo diario de agua, alimento y el peso corporal. Se asignaron aleatoriamente a las ratas en los diferentes grupos:

Grupo control (MS, madre simple), ratas alimentadas con una dieta Chow 5001 de Purina y agua simple de manera ad libitum durante la gestación y lactancia.

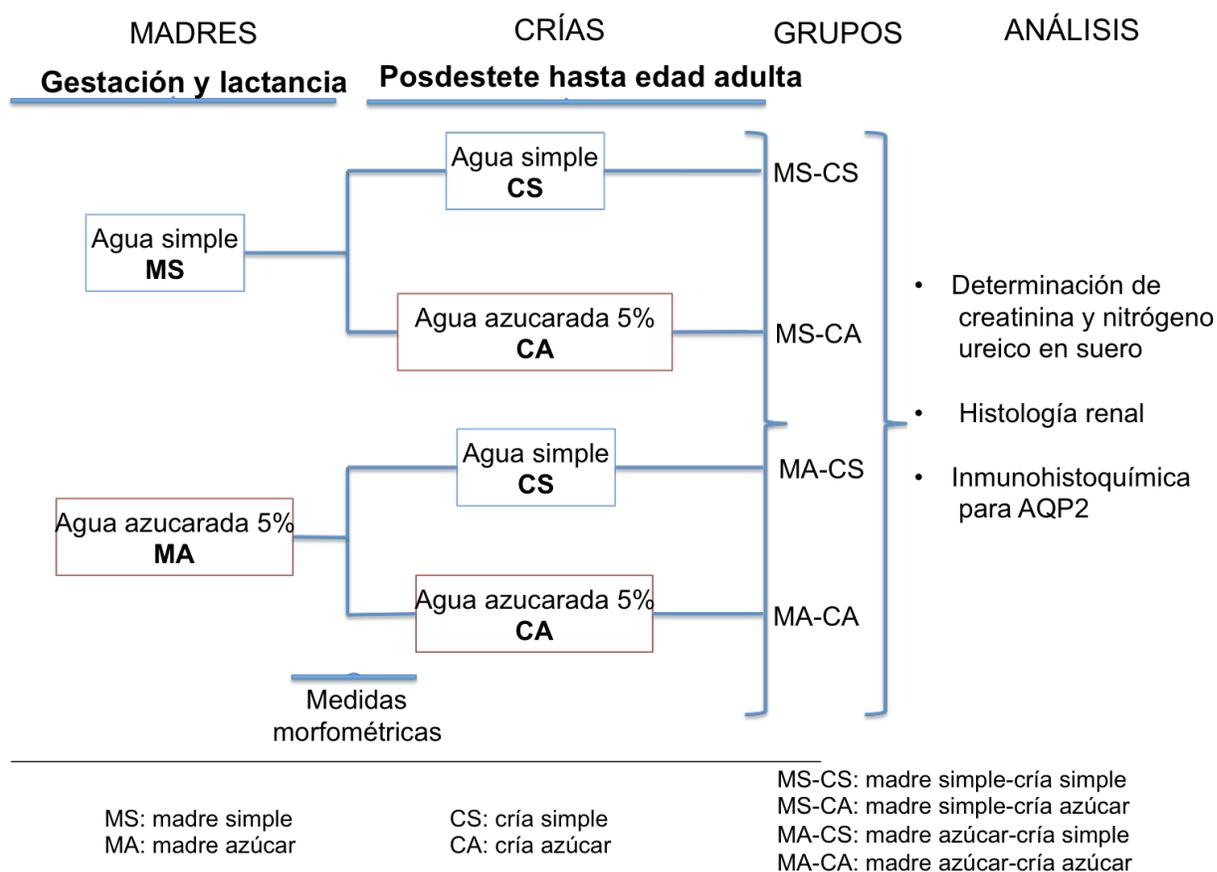
Grupo con tratamiento de agua con azúcar al 5% (MA, madre azúcar), ratas alimentadas con una dieta Chow 5001 de Purina y agua azucarada al 5% de manera ad libitum durante la gestación y lactancia.

7.1.2. Grupos experimentales de las crías

Después del parto, las camadas se ajustaron a diez crías para estandarizar la demanda alimenticia durante la lactancia. El destete se realizó el día veintiuno de lactancia, y se asignaron los machos aleatoriamente a los grupos experimentales correspondientes. Se formaron cuatro grupos en total. Dos procedentes de las madres que tomaron agua simple durante la gestación y lactancia.

A un grupo se le administró agua simple (MS-CS, Madre Simple-Cría Simple) y al otro agua azucarada al 5% (MS-CA, Madre Simple-Cría Azúcar). De igual manera, dos grupos de las madres que consumieron agua azucarada durante la gestación y lactancia. Un grupo con agua simple (MA-CS, Madre Azúcar-Cría Simple) y otro grupo con agua azucarada al 5% (MA-CA, Madre Azúcar-Cría Azúcar). En el siguiente diseño experimental se ilustra lo anteriormente explicado.

7.2. Diseño experimental



7.3. Obtención de muestras sanguíneas y riñón

Previo al sacrificio, las ratas se dejaron en ayuno de 12 h y permanecieron con agua simple *ad libitum* independientemente del grupo al que pertenecían. Los animales se sacrificaron por decapitación para colectar sangre total. La sangre se dejó reposar durante 15 min, posteriormente se centrifugó a 3500 rpm durante 15 min. El suero se separó en alícuotas de 300 μ L para ser congeladas a -30°C .

Se realizó una incisión longitudinal sobre la línea media ventral de la rata y se extrajeron los riñones, los cuales se pesaron y se midieron. Para realizar el análisis de peso se normalizaron los pesos de los riñones al peso corporal del animal. Se utilizó el peso del riñón en miligramos sobre gramos de peso corporal (mg riñón/g peso corporal). Se conservaron los riñones izquierdos en un recipiente con formalina neutra al 10%, donde se dejaron al menos 24 h antes de comenzar los procesos histológicos.

7.4. Determinación de urea y creatinina

Para la cuantificación de urea se utilizó el inserto del reactivo marca Elitech Clinical Systems. Es un método enzimático-cinético. Se mezcló 3 μ L de suero con 300 μ L de reactivo y se leyó en un fotómetro a 340 nm.

La cuantificación de creatinina se realizó con ayuda del inserto incluido en el kit marca Elitech Clinical Systems. El método es colorimétrico. Jaffe-cinético. Se mezclaron 20 μ L de reactivo de trabajo y 2 μ L de suero. Se tomaron dos lecturas, una al agregar la muestra y la otra a los 2 min después de la primer lectura. Se leyeron en un espectrofotómetro marca Biotek a 500 nm.

7.5. Histología renal

Partiendo del hilio renal, se realizó un corte longitudinal y se utilizó la parte ventral del riñón izquierdo. Se deshidrató y aclaró el tejido, con alcohol etílico en concentraciones del 60 al 100% y xilol (Anexo 1). Posteriormente, se incluyó en paraplast X-tra (Sigma-Aldrich).

Una vez incluido el tejido se dejó reposar por 24 h, pasando este tiempo se realizaron cortes longitudinales en un micrótopo marca Leica a 7 μ m de grosor y se recolectaron en laminillas formando series de 3 cortes cada una. Los cortes se dejaron secar durante al menos una semana. Finalmente se tiñeron los tejidos con la técnica de Hematoxilina-Eosina (Anexo 2), y se montaron utilizando Cytoseal TM 60. Para realizar las observaciones se utilizó un microscopio óptico Zeiss (Axio Imager A1). Se tomaron fotografías con una cámara digital OLYMPUS C-5060 a 10X y 40X. Para realizar la cuantificación de glomérulos, se realizó la reconstrucción de un corte longitudinal del riñón izquierdo por cada animal de cada grupo con el programa Adobe Illustrator CS5 (Figura 7).

Para la medición del área glomerular se utilizaron tres porciones de la corteza renal (polo inferior, polo superior y borde lateral) usando el analizador de imágenes AxioVision REL 4.6 (Figura 8).

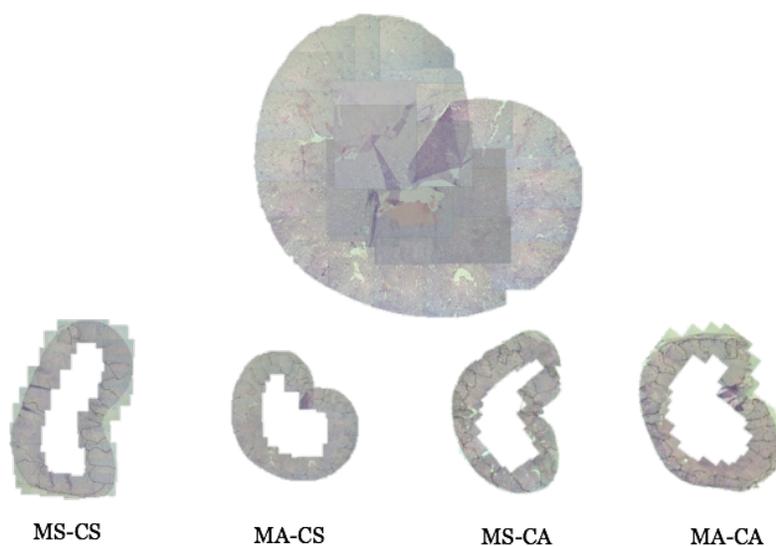


Figura 7. Fotografías representativas de reconstrucciones de riñón por grupo para el conteo del número de glomérulos.

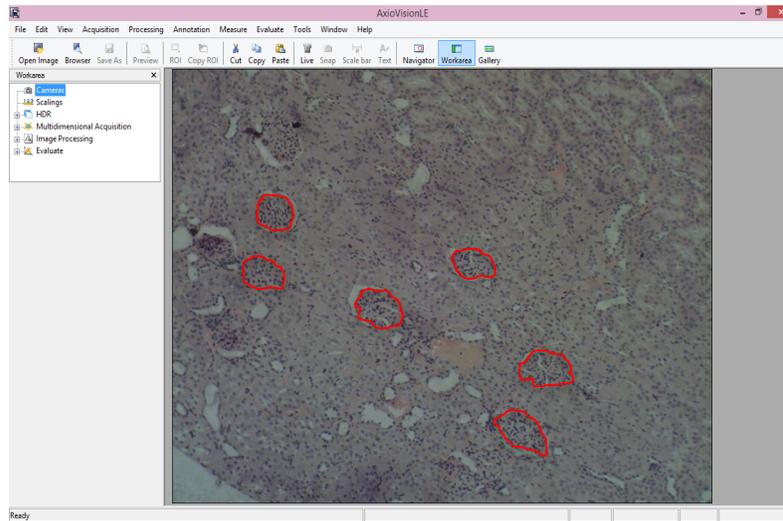


Figura 8. Medición del área glomerular.

7.6. Inmunohistoquímica para acuaporina 2

Se incubaron los cortes de los tejidos antes descritos por 72 h en citrato de sodio (100mM, pH 6) a 4°C, para el desenmascaramiento de antígenos. Al término se realizaron tres lavados con solución amortiguadora de fosfatos (PBS) y después se incubó con agua oxigenada al 3% en PBS para agotar las peroxididasas endógenas por 30 minutos.

Los cortes fueron lavados con PBS-Triton (PBS al 0.3% Triton x-100), se incubaron con solución de bloqueo (Suero Normal Donkey 5%/PBS/0.3% triton X-100). Después de tres lavados con PBS / 0.3% triton x-100, los cortes se incubaron con el anticuerpo primario Anti acuaporina 2 (1:400) diluido en PBS / 0.1% triton X-100 durante 72 h a 4°C; transcurrido este tiempo se realizaron tres lavados con PBS / 0.3% triton x-100, y se incubó con el anticuerpo secundario donkey anti goat (1:500) diluido en PBS / 0.1% triton-X-100 durante 2 h a temperatura ambiente.

El marcaje inmunohistoquímico se reveló con el kit ABC (Vector Lab) utilizando diaminobencidina (DAB) como sustrato y contrateñido con Hematoxila-Eosina. Los cortes fueron deshidratados y cubiertos con Cytoseal-60 (Richard-Allan Scientific) y un cubreobjetos. Las preparaciones histológicas se observaron con un microscopio óptico Zeiss (Axio Imager A1) a 10X y 40X de aumento. Se tomaron fotografías con una cámara digital OLYMPUS C-5060.

De cada corte de riñón por grupo, se tomó una foto de seis diferentes porciones: el polo superior (PS), polo superior parte intermedia (PSI), polo inferior (PI), polo inferior parte intermedia (PII), borde lateral (BL) y borde lateral intermedia (BLI) con objetivo de 10X y 40X. En la figura 9 se muestran fotografías de estas porciones a 40X. Se calcularon las áreas de los túbulos colectores con el analizador de imágenes AxioVision REL 4.6 (Figura 9), midiendo áreas internas de los túbulos colectores que aparecieran en cada fotografía. Para realizar la semicuantificación de la expresión de AQP2 se utilizó el programa ImageJ 1.48v. Con este software se calculó el área del marcaje de la proteína en porcentaje (Figura 10).

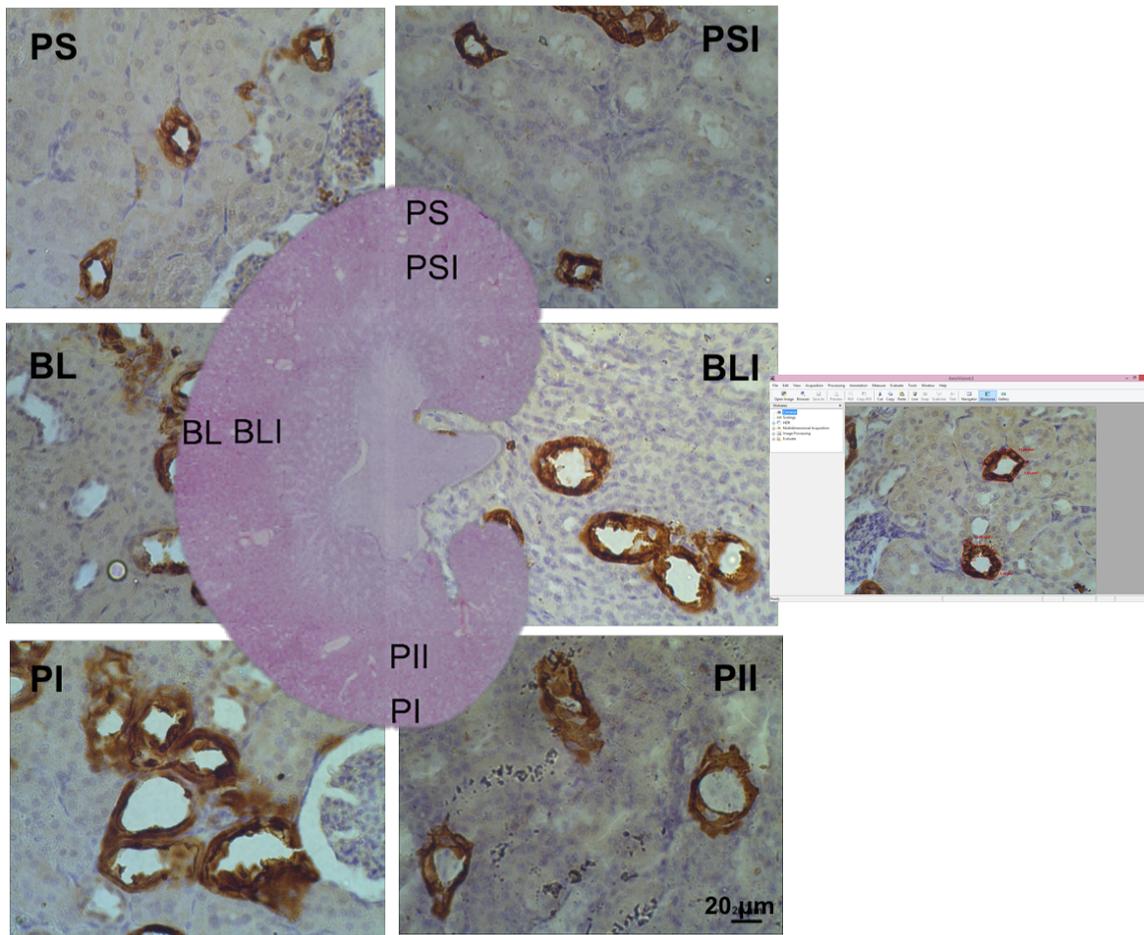


Figura 9. En el lado izquierdo, se muestran fotografías representativas de la expresión de AQP2 en riñón de una cría adulta. Se muestran las seis diferentes porciones de los cortes de riñón de las que se tomaron fotografías: polo superior (PS), polo superior parte intermedia (PSI), polo inferior (PI), polo inferior parte intermedia (PII), borde lateral (BL) y borde lateral (BLI). IMQ para AQP2 a 40X. Del lado derecho, se muestra una fotografía del software utilizado para la medición del área de la luz tubular.

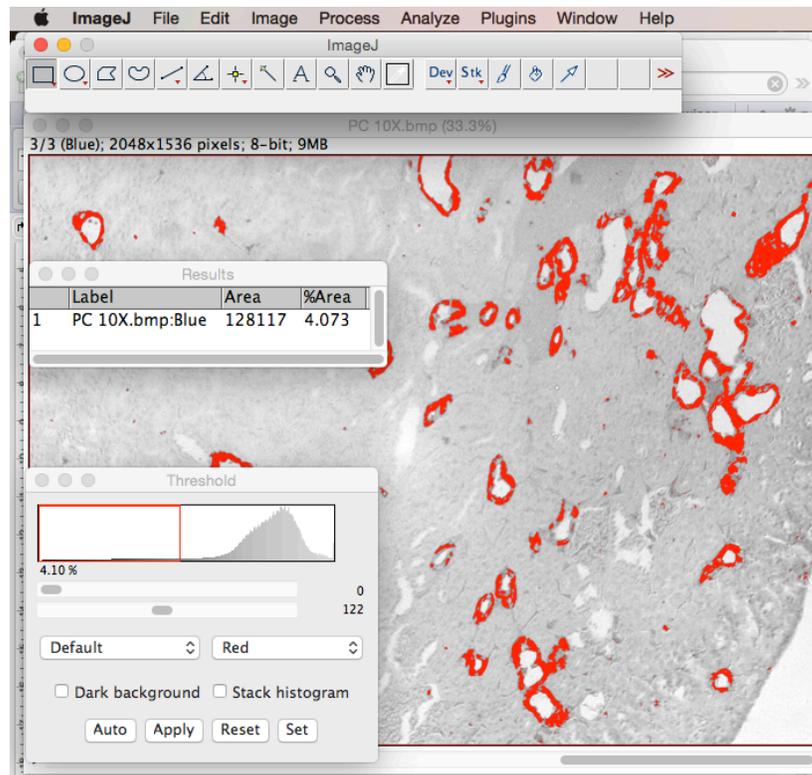


Figura 10. Semicuantificación de la expresión de AQP2 en la corteza renal. Software ImageJ 1.48v.

7.7. Análisis estadístico

El diseño experimental fue un modelo bifactorial, donde el primer factor es el consumo de agua (simple o azucarada) de la madre y el segundo factor, el consumo de agua (simple o azucarada) de las crías posterior al destete.

Para la comparación de los grupos de las madres durante la gestación, así como, la morfometría de las crías al día 1 de nacimiento, se utilizó la prueba de t-student, debido a que se compararon dos grupos (MS vs MA).

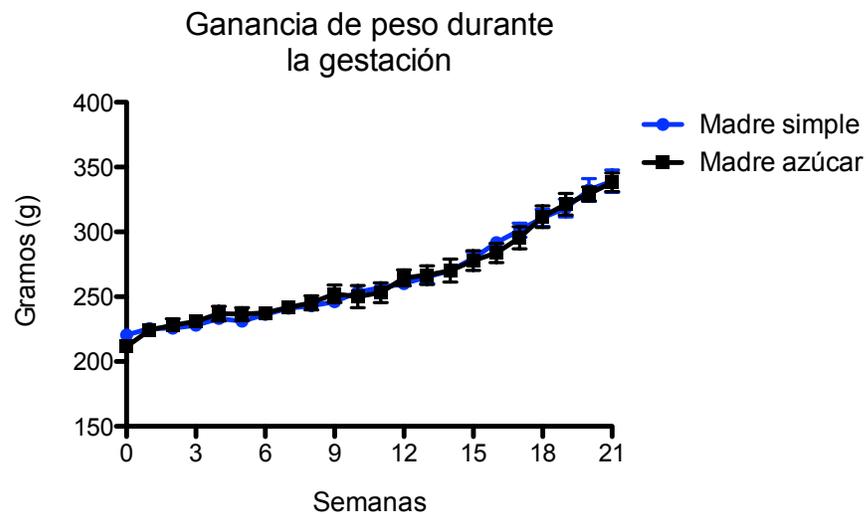
El análisis de las diferencias entre los cuatro grupos se realizó con una ANOVA de dos vías y prueba de Bonferroni como prueba pos hoc. Se consideró un valor de $P < 0.05$ como diferencia significativa. Se utilizó el paquete estadístico del programa GraphPad Prism[®] para Mac OS X versión 5.0, que proporcionó la media y el error estándar para cada grupo.

8. Resultados

8.1. Ratas gestantes

8.1.1. Ganancia de peso

El peso corporal de las ratas control (MS) el día uno de la gestación fue de 225.5 ± 2.71 g y del grupo que consumió agua azucarada al 5% (MA) de 211.6 ± 4.33 . Al final de la gestación, es decir, el día 21, el grupo MS pesó 339.2 ± 8.67 y el grupo MA 338.3 ± 7.14 . Mientras que la ganancia de peso del grupo MS fue de 264.1 ± 7.82 y del grupo MA de 264.0 ± 7.66 . No se observaron diferencias significativas en el peso corporal durante la gestación (Gráfica 1).

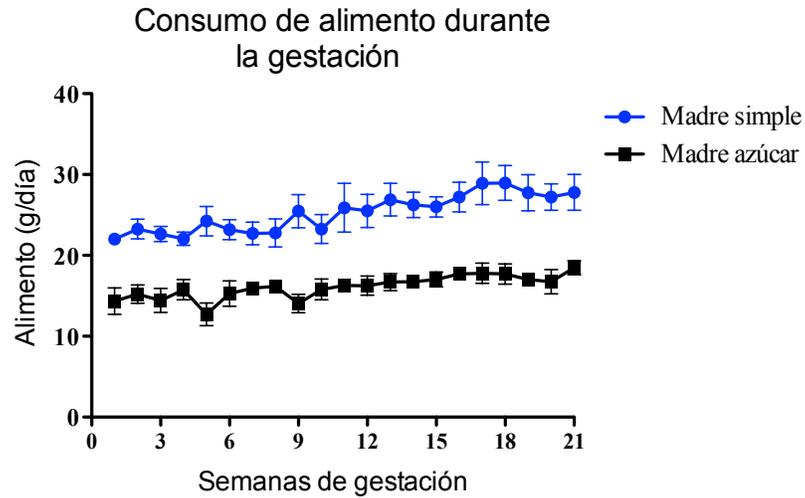


Gráfica 1. Ganancia de peso durante la gestación. Se muestra la media \pm e.e. No se observan diferencias significativas entre grupos (t student, $P > 0.05$).

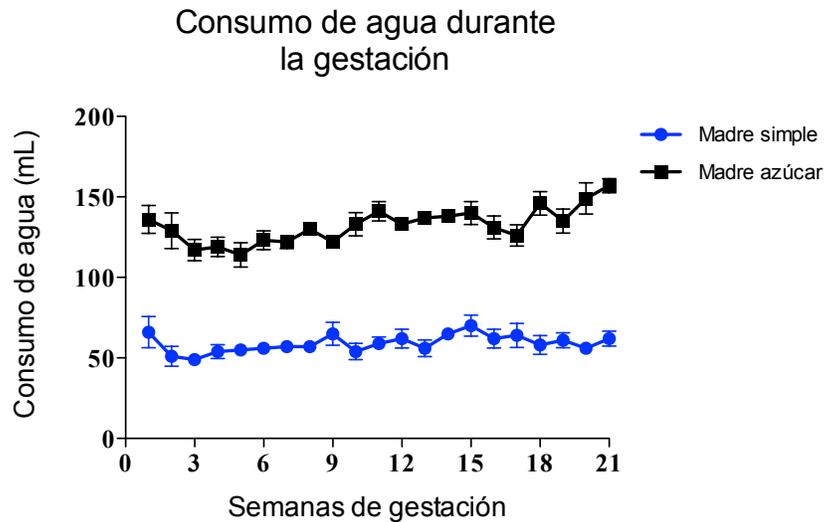
8.1.2. Consumo de alimento y agua

El consumo de alimento sólido disminuyó significativamente en el grupo MA (16.10 ± 0.30 g) mientras que las ratas controles consumieron 25.4 ± 0.50 gramos de alimento sólido (t-student,

$P < 0.05$; gráfica 2). Por el contrario, las ratas gestantes consumieron más agua azucarada 132.3 ± 2.38 ml, mientras que las ratas gestante controles consumieron 59 ± 1.16 de agua simple, mostraron una diferencia significativa (t-student, $P < 0.05$; gráfica 3).



Gráfica 2. Consumo de alimento del día uno al veintiuno de gestación. Se muestra la media \pm e.e. Se observan diferencia significativa entre grupos.



Gráfica 3. Consumo de agua durante la gestación. Se muestra la media \pm e.e. Se observan diferencia significativa entre grupos.

8.2. Crías

8.2.1. Parámetros al nacimiento

El peso al nacer de crías del grupo MS fue de 6.2 ± 0.17 g y las crías de madres que consumieron agua azucarada de 6.1 ± 0.15 g (Tabla 1). Ninguno de los parámetros medidos en la progenie de ambos grupos mostró diferencias significativas.

Tabla 1. Parámetros de las crías un día después del nacimiento.

Parámetro	Madres simple (MS)	Madres azúcar (MA)
Peso corporal (g)	6.2 ± 0.17	6.1 ± 0.15
Longitud (mm)	49.4 ± 0.83	51.9 ± 0.95
Diámetro cefálico (mm)	11.2 ± 0.19	12.1 ± 0.33
Diámetro abdominal (mm)	14.1 ± 0.45	15.7 ± 0.49
Distancia ano-genital (mm)	4.5 ± 0.11	4.7 ± 0.21

Se muestran medias \pm e.e.; n=6. No se observan diferencias significativas entre la descendencia de madres que consumieron agua simple (MS) y las que consumieron agua azucarada (MA)(t-student, $P > 0.05$).

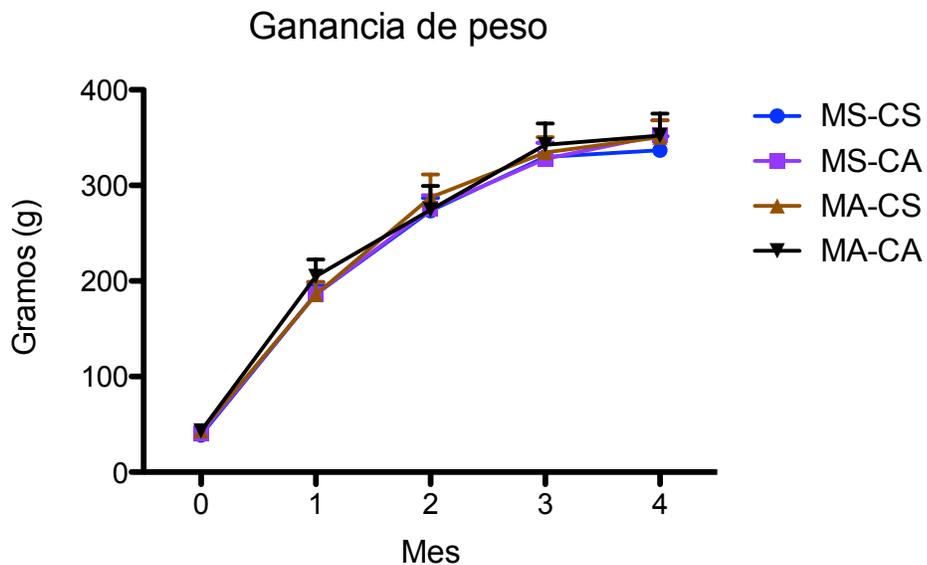
A la semana tres de edad (término de la lactancia) se calculó la ganancia de peso (Tabla 2), mediante la diferencia del peso a la semana tres menos el peso al nacer. Las crías de madres del grupo MS pesaron 25.1 ± 1.1 g y las crías del grupo MA de 26.2 ± 2.2 g. Sin mostrar diferencias significativas. Se muestra media \pm e.e (t student, $P > 0.05$).

Tabla 2. Ganancia de peso a partir del nacimiento a la tercera semana de edad

Grupo	Ganancia de peso
Crías de madres simple	25.1 ± 1.1
Crías de madres azúcar	26.2 ± 2.2

8.2.2. Ganancia de peso

La ganancia de peso fue similar entre los grupos (Gráfica 4). La media de la ganancia de peso para el grupo MS-CS fue de 233±55.55 g, para MS-CA de 236±56.71, del grupo MA-CS de 240.3±57.08 y para MA-CA de 243.5 ±56.67.



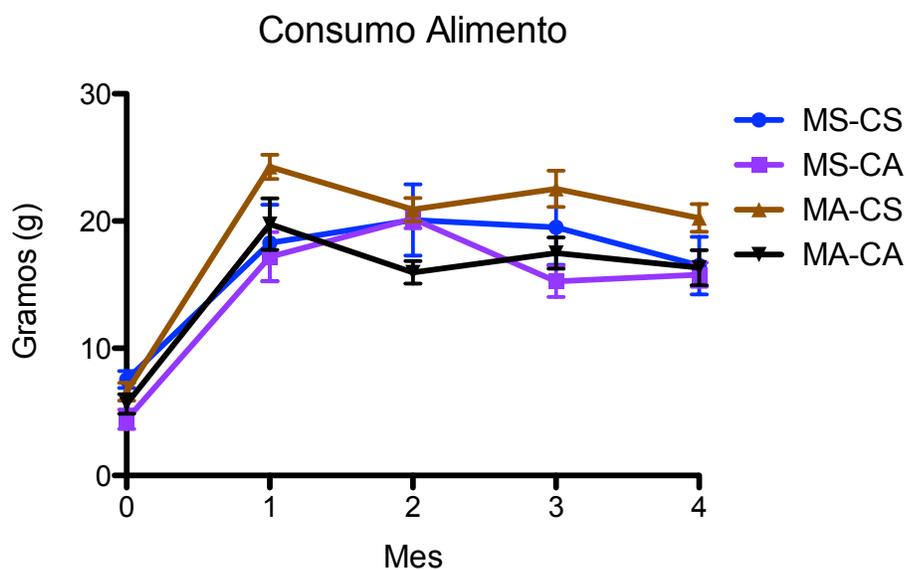
Gráfica 4. Peso de crías a partir de la tercera semana al cuarto mes de edad. Se muestra media±e.e; n=6. No se observan diferencias significativas entre los grupos.

(ANOVA, P >0.05).

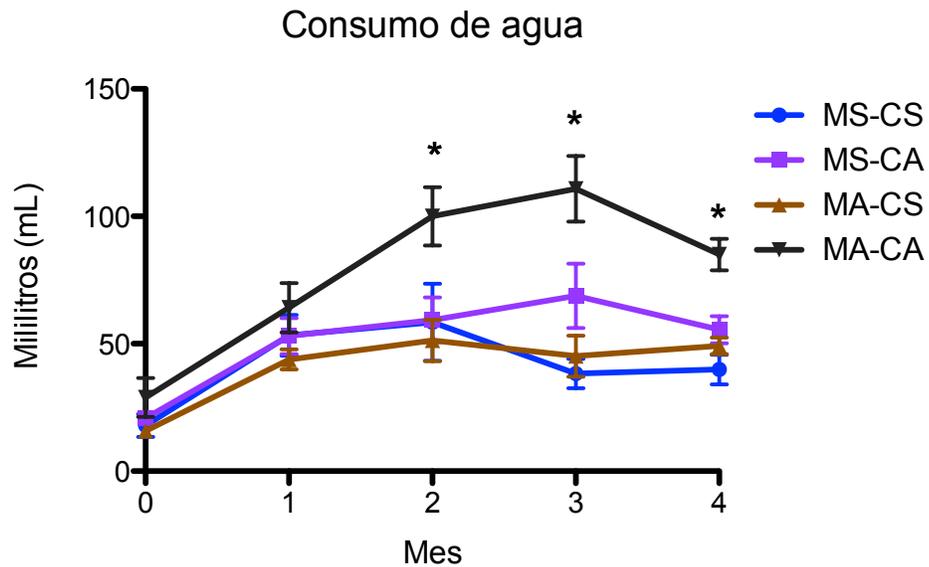
8.2.3. Consumo de alimento y agua

El consumo de alimento promedio del grupo MS-CS fue de 16.39 ± 2.29 g, del grupo MS-CA de 14.57 ± 2.67 , para el MA-CS de 18.91 ± 3.15 y del grupo MA-CA de 15.04 ± 2.44 . En los cuatro grupos no se encontraron diferencias significativas (Gráfica 5).

Con respecto al consumo de agua, el grupo MS-CS consumió en promedio 41.58 ± 7.05 mL y el grupo MA-CA consumió 77.78 ± 14.51 mostrando una diferencia significativa, por otro lado, el grupo MS-CA consumió 51.50 ± 8.12 mientras que el grupo MA-CS consumió 41.07 ± 6.45 (Gráfica 6). El consumo por mes permitió observar que los animales del grupo MA-CA consumen agua en mayor cantidad a partir del segundo mes (98.61 ± 7.49) comparado con los demás grupos, el grupo control MS-CS sólo consumió en promedio de los tres últimos meses 45.56 ± 6.44 , el grupo MS-CA 61.22 ± 3.96 y el grupo MA-CS consumió 48.56 ± 1.80 , encontrando de esta manera diferencias significativas.



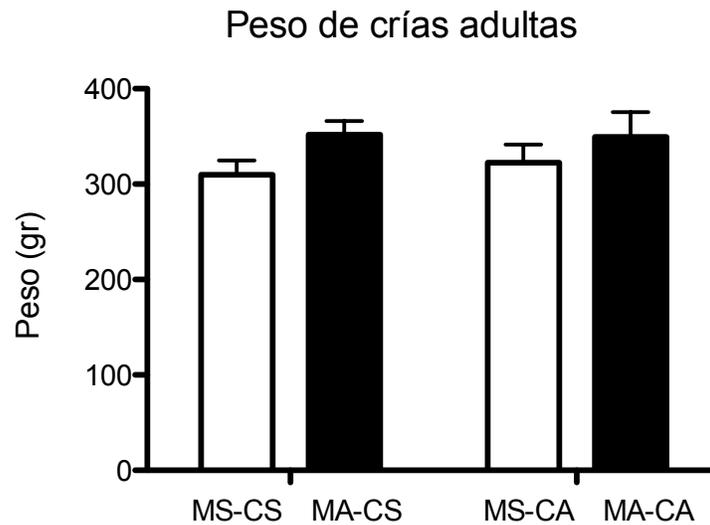
Gráfica 5. Consumo de alimento a partir del destete y hasta el cuarto mes de edad. Se muestra media \pm e.e.; n=6



Gráfica 6. Consumo de agua a partir del destete al cuarto mes de edad. Se muestra media \pm e.e.;n=6

8.2.4. Peso al día del sacrificio

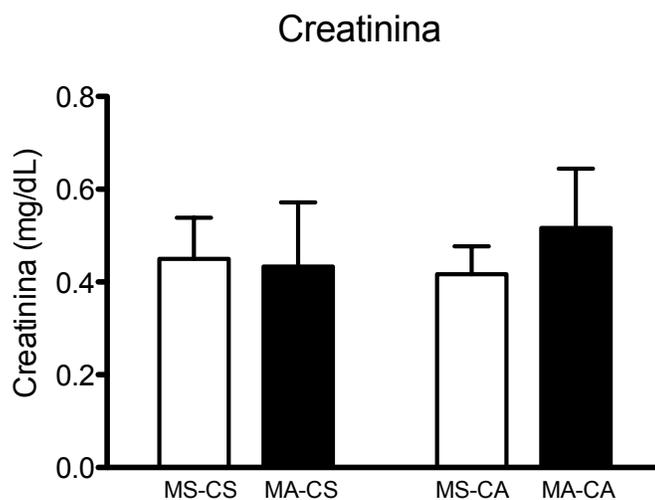
Al día de sacrificio, la media del peso de los animales del grupos MS-CS fue de 309.8 ± 15.05 g, del grupo MA-CS fue de 351.8 ± 14.37 g, los animales del grupo MS-CA pesaron 322.5 ± 18.95 g y el grupo MA-CA 349.5 ± 26.10 g. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos.



Gráfica 7. Peso corporal de las crías adultas. No se encontraron diferencias. Efecto del consumo de agua azucarada durante la gestación (ANOVA, $P=0.087$), efecto del consumo de agua azucarada durante la etapa posnatal (ANOVA, $P=0.787$), efecto de la interacción (ANOVA, $P=0.699$). Se muestran las medias \pm e.e; $n=6$.

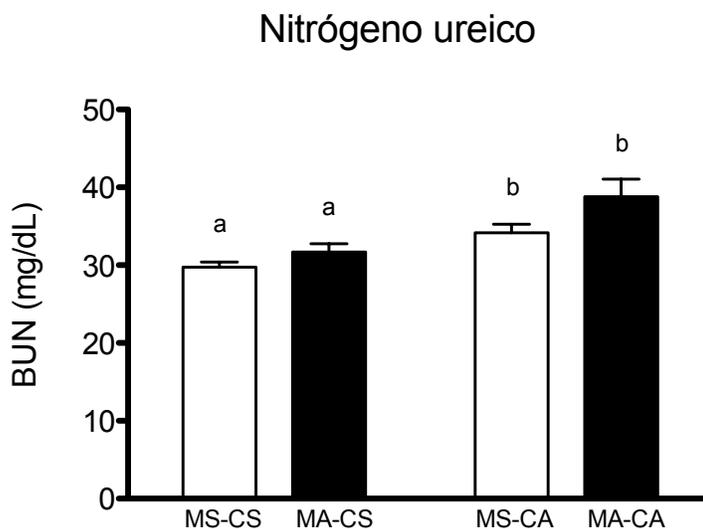
8.2.5. Creatinina y nitrógeno ureico en suero

La cuantificación de creatinina en suero del grupo MS-CS fue de 0.45 ± 0.08 mg/dL, del grupo MS-CA de 0.41 ± 0.06 , en el grupo MA-CS de 0.43 ± 0.13 y en el grupo MA-CA de 0.51 ± 0.12 . No se observan diferencias significativas entre grupos (Gráfica 8).



Gráfica 8. Cuantificación de creatinina en suero de crías adultas. Se muestran medias \pm e.e.;n=6. No se observan diferencias significativas (ANOVA, $P>0.05$).

La concentración de nitrógeno ureico en los sueros de animales del grupo control fue de 29.74 ± 0.66 mg/dL, del grupo MS-CA de 34.18 ± 1.085 , en el grupo MA-CS de 31.69 ± 1.052 y del grupo MA-CA de 38.80 ± 2.25 . Se encontraron diferencias significativas entre los grupos MS-CS vs MA-CA; MS-CS vs MS-CA y MA-CS vs MA-CA.

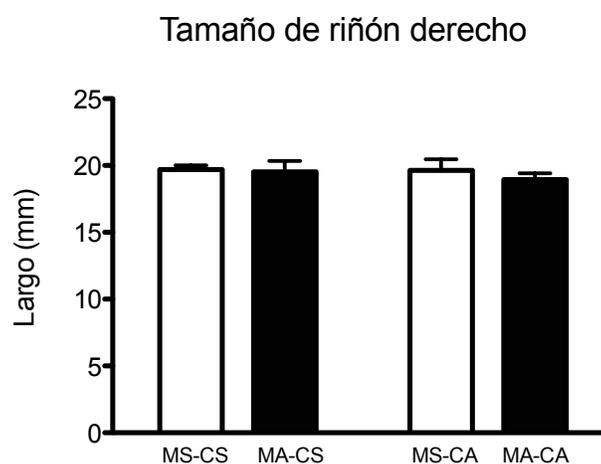


Gráfica 9. Cuantificación de nitrógeno ureico en suero. Se muestran medias \pm e.e; n=6.

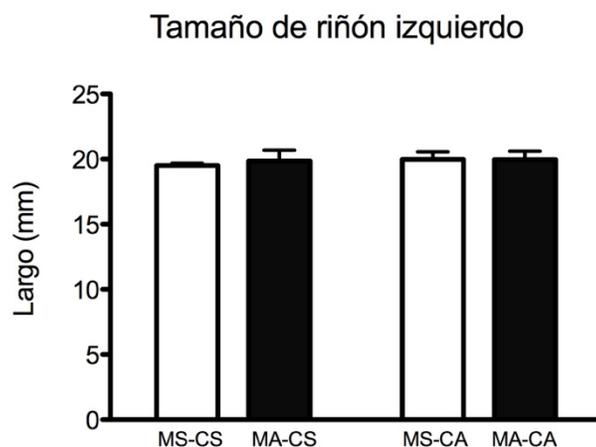
8.2.6. Tamaño de riñones

El tamaño del riñón derecho del grupo MS-CS fue de 19.70 ± 0.30 mm, del grupo MA-CS de 19.34 ± 0.54 , grupo MS-CA de 19.71 ± 0.53 y del MA-CA de 18.95 ± 0.46 , lo que se representa en la gráfica 10.

El tamaño del riñón izquierdo del grupo MS-CS fue de 19.51 ± 0.17 mm, del grupo MS-CA de 19.92 ± 0.37 , del grupo MA-CS de 19.70 ± 0.69 y de MA-CA 19.97 ± 0.64 (Gráfica 11). No se observan diferencias significativas en ninguno de los dos riñones de todos los grupos.



Gráfica 10. Se muestran medias \pm e.e. del tamaño del riñón derecho $n=6$ (ANOVA, $P > 0.05$).

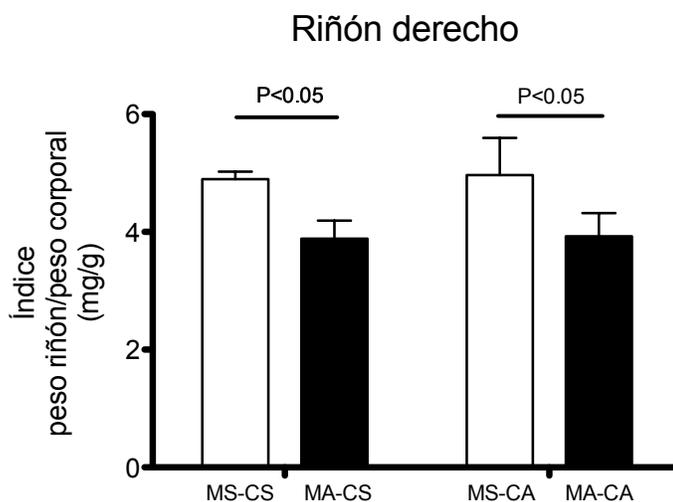


Gráfica 11. Se muestran medias \pm e.e del tamaño del riñón izquierdo $n=6$

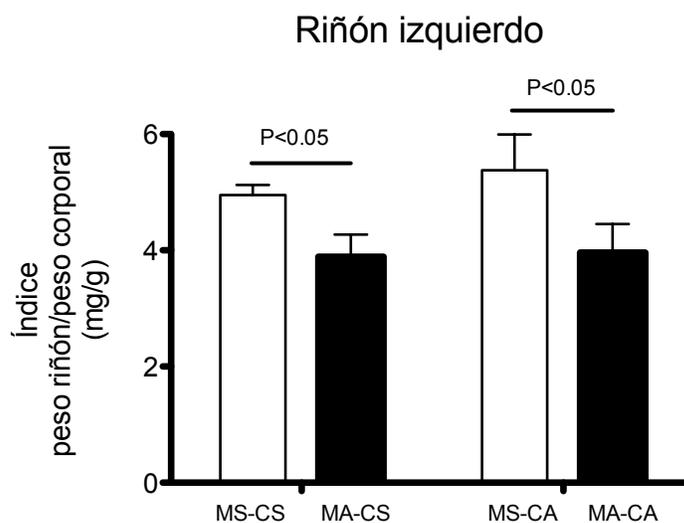
8.2.7. Peso de riñones

El índice del peso corporal/peso riñón derecho del grupo MS-CS fue de 4.89 ± 0.12 , del grupo MS-CA de 4.96 ± 0.63 , del MA-CS de 3.88 ± 0.306 y para MA-CA de 3.92 ± 0.39 . Se encontraron diferencias significativas entre los grupos MS-CS vs MA-CS y MS-CA vs MA-CA (ANOVA, $P < 0.05$) (Gráfica 12).

El índice del peso corporal/peso riñón izquierdo del grupo MS-CS fue de 4.95 ± 0.17 , del grupo MS-CA de 5.38 ± 0.61 , del MA-CS de 3.89 ± 0.37 y para MA-CA de 3.96 ± 0.48 . Se encontraron diferencias significativas entre los grupos MS-CS vs MA-CS y MS-CA vs MA-CA (ANOVA, $P < 0.05$) (Gráfica 13).



Gráfica 12. Índice de peso riñón derecho normalizado al peso corporal del animal. Se muestran medias \pm e.e; $n=6$.



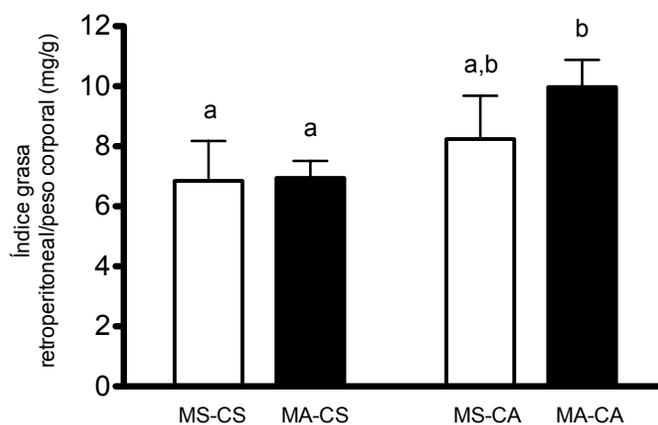
Gráfica 13. Índice de peso riñón izquierdo normalizado al peso corporal del animal. Se muestran medias \pm e.e; n=6

8.2.8. Grasa retroperitoneal

El índice de grasa retroperitoneal/peso corporal del riñón derecho para el grupo MS-CS fue de 6.84 ± 1.3 , del grupo MS-CA de 8.24 ± 1.44 , de MA-CS de 6.94 ± 0.56 y de MA-CA de 9.97 ± 0.90 , mostrado en la gráfica 14.

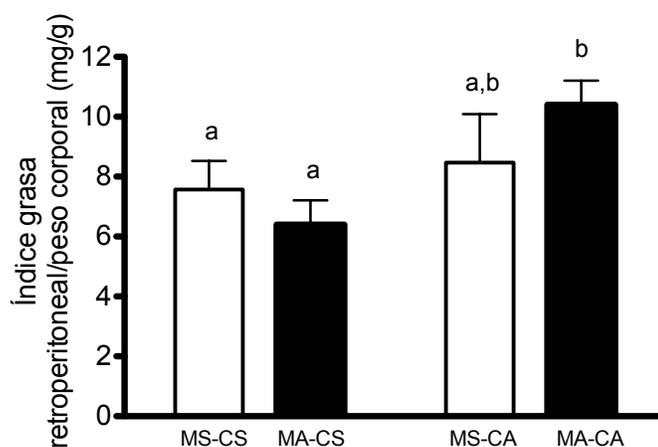
El índice de grasa retroperitoneal/peso corporal del riñón izquierdo para el grupo MS-CS fue de 7.57 ± 0.95 , del grupo MS-CA de 8.46 ± 1.61 , de MA-CS de 6.39 ± 0.81 y de MA-CA de 10.40 ± 0.81 (Gráfica 15). Se observan diferencias significativas en los grupos MS-CS vs MS-CA y MA-CS vs MA-CA (ANOVA, $P < 0.05$).

Índice de grasa retroperitoneal del riñón derecho



Gráfica 14. Índice de grasa retroperitoneal del riñón derecho. Se muestran medias \pm e.e. $n=6$. El consumo de agua azucarada durante la vida posnatal es significativo. MS-CA vs MA-CA.

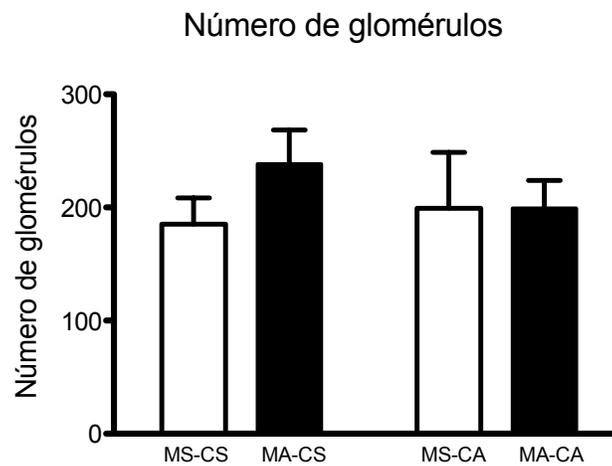
Índice de grasa retroperitoneal del riñón izquierdo



Gráfica 15. Índice de grasa retroperitoneal del riñón izquierdo. Se muestran medias \pm e.e. $n=6$. El consumo de agua azucarada durante la vida posnatal es significativo. MS-CA vs MA-CA.

8.2.9. Número de glomérulos

La cantidad de glomérulos para el grupo MS-CS fue de 185.2 ± 23.21 , del grupo MS-CA de 199.3 ± 49.40 para MA-CS de 238.5 ± 29.90 y del MA-CA fue de 199.3 ± 24.60 . El número de glomérulos fue similar entre los grupos (Gráfica 16).

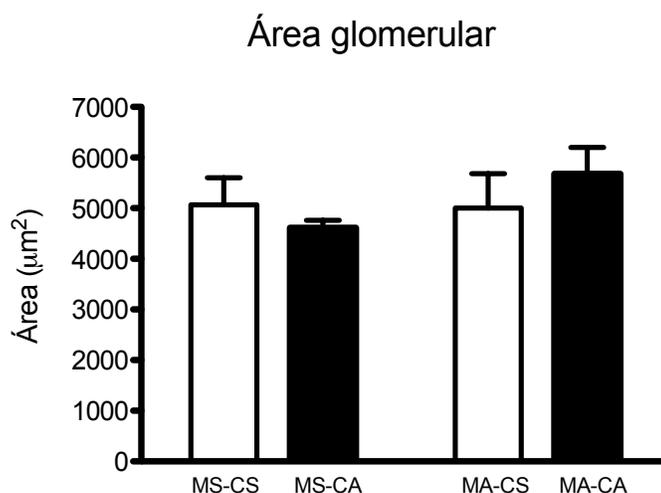


Gráfica 16. Número de glomérulos por grupo. No se encontraron diferencias significativas (ANOVA, $P > 0.05$). Se muestran medias \pm e.e.; $n=6$

8.2.10. Área glomerular y de la luz del túbulo colector

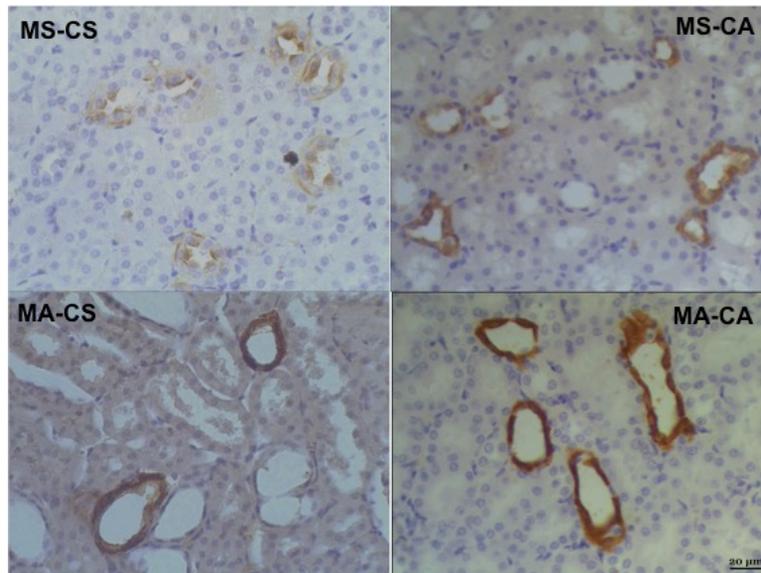
El área glomerular del grupo MS-CS fue de $5067 \pm 534.4 \mu\text{m}^2$, para el grupo MS-CA de 5004 ± 676.8 , MA-CS 4446 ± 222.5 y MA-CA de 5678 ± 568.0 . No se encontraron diferencias significativas en el área glomerular entre los grupos experimentales (Gráfica 17).

Además, se realizó la medición del área de la luz tubular del túbulo colector para los cuatro grupos experimentales. De esta manera para el grupo MS-CS el área midió $149.4 \pm 20.96 \mu\text{m}^2$, del grupo MS-CA 194.2 ± 42.80 , MA-CS 355.7 ± 63.99 y de MA-CA 275 ± 11.66 . Se encontraron diferencias significativas entre los grupos MS-CS vs MA-CS y MS-CA vs MA-CA (Ajuste de Bonferroni, $P < 0.05$) (Figura 11).



Gráfica 17. Área glomerular de los cuatro grupos. No se encontraron diferencias (ANOVA, $P > 0.05$). Se muestran medias \pm e.e. $n=6$

A



B

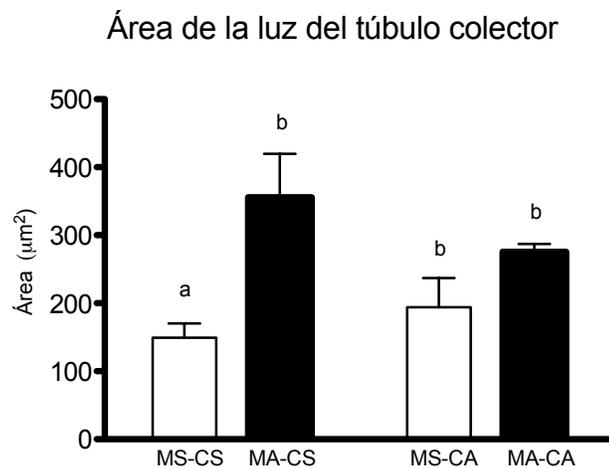


Figura 11. A) Se muestran microfotografías representativas de los cuatro grupos experimentales. B) Gráfica que concuerda con las imágenes de la figura A, donde los grupos con mayor área de luz tubular son los grupos donde las madres consumieron agua azucarada durante la gestación y la lactancia MS-CS vs MA-CA; MS-CS vs MA-CS; MS-CS vs MS-CA ($P < 0.05$). El efecto de las madres es significativo (ANOVA, $P < 0.05$).

8.2.11. Expresión de acuaporina 2

Se observó el marcaje inmunohistoquímico para AQP2 más intenso (color café) en los grupos MA-CS y MA-CA, en comparación con los grupos MS-CS y MS-CA (Figura 12).

La semicuantificación correlaciona con ésta observación, mostrando para el grupo MS-CS un porcentaje de área de 2.14 ± 0.21 , para el grupo MS-CA de 2.02 ± 0.14 , MA-CS fue de 2.45 ± 0.16 y para MA-CA 2.74 ± 0.15 (Figura 13).

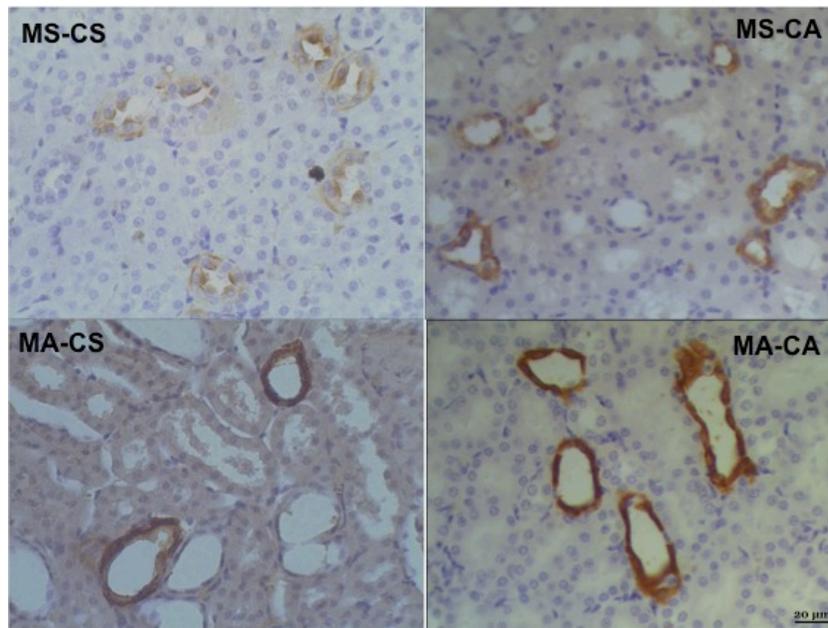
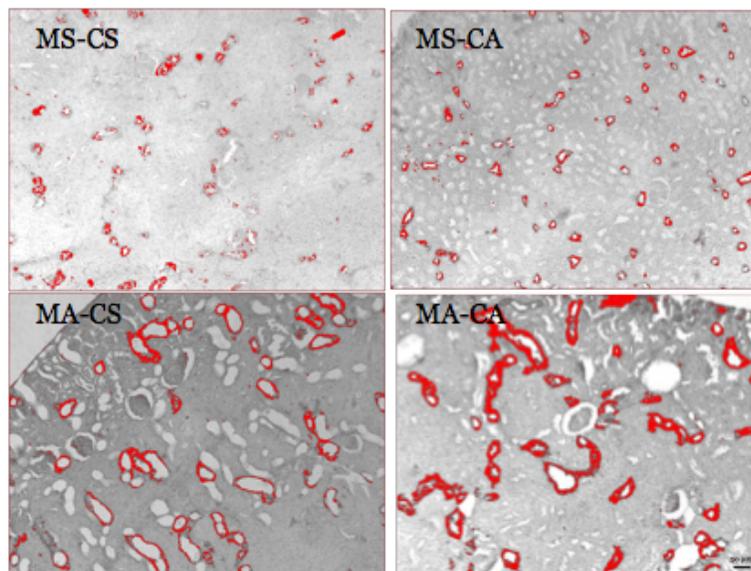


Figura 12. Expresión de acuaporina 2 contrateñida con hematoxilina-eosina del borde lateral del riñón de los cuatro grupos (MS-CS, MS-CA, MA-CS, MA-CA). IMQ para AQP2 a 40X.

A**B**

Expresión de AQP2 en túbulos colectores

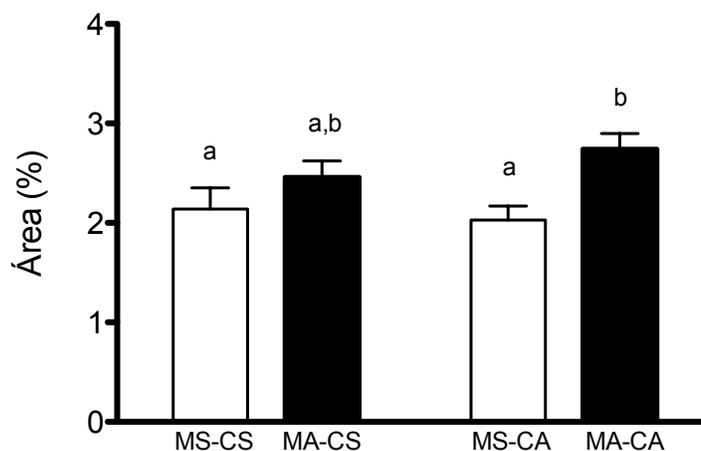


Figura 13. Expresión de AQP2. A) Microfotografías de los cuatro grupos de la porción inferior interna (PII) del riñón, marcados con el programa ImageJ 1.48v. IMQ para AQP2 a 10X. B) Gráfica que muestra el porcentaje de área marcado con AQP2, media \pm e.e; n=6 en cada grupo. Para los que se encontraron diferencias entre los grupos; MS-CA vs MA-CA MS-CS vs MA-CA ($P < 0.05$). El efecto de las madres es significativo (ANOVA, $P < 0.05$).

9. Discusión

- **Ganancia de peso, consumo de agua y alimento**

El aumento en el consumo de bebidas azucaradas ha originado el interés de desarrollar modelos animales que resulten en una aproximación al consumo de estas bebidas y su efecto en humanos.

En trabajos donde se ha investigado el efecto de la malnutrición gestacional sobre la salud de las crías, no muestran resultados de las madres. En nuestro trabajo, nos interesó evaluar el peso corporal, así como el consumo de agua y alimento de las ratas gestantes, para determinar la condición de las mismas. Aunque no observamos diferencias en la ganancia de peso; sí se mostraron diferencias significativas en el consumo de agua y alimento. Las ratas gestantes que consumieron agua azucarada, aumentaron la cantidad de agua consumida, mientras que disminuyeron el consumo de alimento, sin embargo, no mostraron signos de desnutrición, teniendo sus parámetros de hematocrito sin disminución comparados con los grupos control. Estos animales tienen un consumo de energía mayor debido al contenido energético del agua azucarada como tal; lo que puede sugerir que fisiológicamente el animal trata de regular eficientemente el aporte energético total y por ello no tienen un aumento significativo de peso (Cervantes y cols. 2014).

En este trabajo no encontramos diferencias en los parámetros de las crías al momento del nacimiento (peso, longitud, diámetro cefálico, diámetro abdominal y distancia ano-genital). Sin embargo, trabajos con restricción de proteínas durante la gestación han encontrado una disminución en la distancia ano-genital de las crías (Cervantes y cols. 2014).

Las crías, a diferencia de las ratas gestantes, no mostraron diferencia en el consumo de alimento, los animales de los cuatro grupos consumieron en promedio por mes una cantidad similar. El consumo de agua aumentó en el grupo MA-CA a partir del segundo mes de edad comparado con los demás grupos, es decir los animales que consumieron agua azucarada, aumentaron la cantidad de líquido ingerida, tal como lo reporta Gou-Chun y colaboradores 2009, sin embargo, en nuestro estudio no se evidenció un cambio en el consumo de alimento y menos

aún en el peso corporal. Asimismo, ratas que consumen agua azucarada al 30% en su vida posnatal, tampoco muestran diferencias en el peso corporal (Hafidi y cols. 2001).

- **Creatinina y nitrógeno ureico (BUN) en suero**

Los niveles de creatinina en suero fueron similares en los cuatro grupos (ANOVA, $P > 0.05$), lo que pudiera estar explicado debido a que no hay un daño renal severo y ésta se ve aumentada cuando más del 50% de las nefronas están afectadas (Veuthey y cols. 2014).

En el caso de nitrógeno ureico sérico (BUN), se observaron diferencias significativas en los grupos donde las crías consumieron agua azucarada durante su vida posnatal y en aquellos que las madres consumieron agua azucarada durante la gestación (MS-CA, MA-CS), y el efecto se vio potenciado en el grupo que consumió agua azucarada durante toda su vida (MA-CA). Éste trabajo muestra un aumento en las concentraciones de BUN, pero no de creatinina, lo sugiere que los animales no están cursando con un daño renal como tal, sin embargo, se propone que la presencia de niveles elevados de BUN (azoemia) podría ser un daño prerrenal, es decir, una disminución de la filtración glomerular pero con una función renal normal en todos los demás aspectos. Éste fenómeno aparece en patologías como deshidratación, disminución del volumen sanguíneo e insuficiencia cardíaca (Macedo y cols. 2009).

- **Tamaño y peso del riñón**

En nuestro trabajo, ambos riñones no mostraron diferencias significativas en tamaño. Por el contrario, aunque en otro contexto, otros grupos de investigación han observado diferencias en tamaño de ambos riñones al inicio de la diabetes mellitus y al realizar nefrectomía unilateral, ello explicado por una hipertrofia renal compensadora, donde en ésta última no hay disminución del número de nefronas, sin embargo, incrementa la función y con ello el tamaño de los riñones (Li y cols. 2013).

Nuestros resultados mostraron que los riñones de las crías cuyas madres consumieron agua azucarada durante la gestación y la lactancia (MA-CS, MA-CA), pesaron menos

comparadas con los de las crías de madres con consumo de agua simple (MS-CS, MS-CA), independientemente del tratamiento posnatal. A pesar de la disminución del peso, no se evidenció una disminución en la cantidad de glomérulos ni se demostró que la cantidad total de plasma filtrado fuera menor para explicar la disminución de peso total del órgano. Suyama y colaboradores en el 2012 estudiaron una dieta alta en fósforo y mostraron un aumento en el peso de los riñones explicado por una hipertrofia renal, lo cual no fue observado en nuestro trabajo.

- **Índice de grasa retroperitoneal**

Evidenciamos diferencias significativas en el índice de grasa retroperitoneal de ambos riñones (Gráficas 14 y 15), lo que pudiera estar directamente relacionado con hipertensión causada por la compresión del tejido adiposo sobre el riñón (Hall y cols. 1999). Asimismo, se observó mayor cantidad de grasa visceral en los animales que consumieron agua azucarada, en concordancia a lo observado en trabajos que suministran agua azucarada al 30% (Díaz-Águila 2015, Hafidi 2001, Chen 2009), así como en modelos con dietas altas en grasa y fructosa (Colette 2011).

- **Morfometría renal**

El consumo de agua azucarada al 5%, durante la gestación y vida posnatal no modificó el número de glomérulos, a diferencia de un modelo con una dieta hipercalórica, donde disminuyeron el número de crías al nacimiento consiguiendo que las crías tuvieran un acceso aumentado a la leche materna, encontraron una disminución en el número de glomérulos explicado por la intervención en una etapa clave de la nefrogénesis (Boubred y col. 2007). Por otro lado, modelos con malnutrición gestacional por restricción proteica, muestran disminución en el número de glomérulos, explicado por falta de componentes importantes como aminoácidos y vitaminas para la formación de órganos.

Existen estudios en los cuales modifican la dieta materna antes, durante la gestación y la lactancia (Collete y cols. 2011), a diferencia de éste trabajo, la manipulación es sólo durante la gestación y la lactancia, en vías de investigar si lo observado es por la modificación en esta importante ventana de desarrollo.

En un trabajo en el que se les proporcionó a las ratas una dieta rica en grasas y agua azucarada al 10% antes y durante la gestación, además, se formaron grupos a los que se les continuó la misma dieta durante la vida posnatal y otros a los que se les dio la dieta estándar; encontraron glomerulosclerosis, fibrosis tubulointersticial, y disminución en la filtración glomerular (Collete y cols. 2011). En nuestro trabajo sólo se modificó la dieta durante la gestación y la lactancia y no se encontraron cambios en número de glomérulos como fue el caso del grupo de Courrèges y colaboradores en el 2011. Asimismo, el área glomerular fue similar en todos los grupos, lo que podría estar explicado a diferencia del grupo de Colette porque la concentración del agua azucarada fue menor y el tiempo del tratamiento no fue tan prolongado como los trabajos anteriormente descritos.

El efecto del consumo de agua azucarada sobre la luz de los túbulos colectores, fue mayor cuando se bebió durante la gestación que durante la vida posnatal. El área de la luz de los túbulos colectores de los grupos MA-CS, MA-CA y MS-CA mostró mayor apertura que el grupo MS-CS (figura 11). En el trabajo de Cervantes 2014, el agua azucarada administrada posnatalmente fue un segundo reto para las crías, por lo que el efecto se potenció. En nuestro trabajo no fue así, ya que el área de la luz tubular del grupo MA-CS se mostró más grande, incluso que la del grupo MA-CA, en este caso no se favoreció el efecto. Se puede sugerir con esta evidencia que las modificaciones mostradas en la luz tubular del grupo MA-CS no son reversibles y que el tratamiento modificó de alguna manera la organización de estas células de una manera definitiva, al menos hasta los cuatro meses de edad.

- **Modificación de acuaporina 2**

A diferencia de trabajos que muestran cambios en la morfología y función renal (Collete y cols. 2011, Macagno y cols. 2011), debido a la malnutrición gestacional, no se han reportado cambios o implicaciones en la expresión de acuaporina 2.

En el grupo MA-CA comparado con los otros grupos (MS-CS, MS-CA y MA-CS), se observó un marcaje inmunohistoquímico intenso en las células principales del túbulo colector. Se propone que éste fenómeno podría estar dado por el aumento en la concentración de glucosa

en sangre, lo que a su vez esté modificando la osmolaridad de la misma, debido a que se sabe que estos cambios son captados por osmoreceptores, localizados dentro de regiones específicas del hipotálamo. Los osmoreceptores son activados, lo que resulta en una sensación de sed y con ello una subsecuente ingesta de agua. Además, se estimula la producción de vasopresina y su secreción en la hipófisis posterior de donde la ADH es liberada a torrente sanguíneo y viajará al túbulo colector renal donde tendrá su acción, y de esta manera compensar el cambio de osmolaridad (Boone 2008). Asimismo, un aumento en la osmolaridad extracelular por pérdida de agua, causa un flujo de la misma desde la célula hasta el espacio extracelular y ambos experimentan una depleción de volumen. Se ha demostrado que existen proteínas que censan cambios en la tonicidad y que está íntimamente relacionado con la función de la AQP2 (Pearce y cols. 2015).

Podría pensarse que el fenómeno antes descrito, se está presentando debido a la manipulación experimental como una respuesta fisiológica normal por la presencia de agua azucarada y que este proceder desaparezca al cambiar a los animales a un consumo de agua simple. Sin embargo, como lo observamos en la gráfica mostrada con estos resultados (Figura 13), en las crías que consumieron agua simple en su vida posnatal y que descienden de madres que consumieron agua azucarada durante la gestación y la lactancia (MA-CS), la expresión no se ve semejante al grupo control, es decir, el efecto no fue reversible.

Para cuantificar AQP2 es necesario realizar el análisis con western blot, sin embargo, al no tener los riñones de los animales congelados, realizamos una semicuantificación por medio de un software que nos permite visualizar el área de color café que emite el método cuando es revelado con la diaminobencidina (DAB) correspondiente a la presencia de AQP2. De esta manera, tenemos un valor para graficar, no es lo deseable cuando de proteínas se trata, empero, es un acercamiento a lo que probablemente esté sucediendo fisiológicamente.

10. Conclusiones

El consumo de agua azucarada durante la gestación y la lactancia a pesar de que se administró en una concentración baja (5%), comparada con otros trabajos de investigación e incluso comparada con las bebidas azucaradas de consumo humano en los que la gran mayoría tiene una concentración del 12%, mostró alteraciones en el riñón de las crías.

El área de la luz del túbulo colector, el marcaje inmunohistoquímico para acuaporina 2, el nitrógeno ureico, así como, la grasa retroperitoneal, aumentaron en aquellos animales que estuvieron expuestos tanto en su vida prenatal como posnatal al consumo de agua azucarada, lo que pudiera estar modificando directamente de alguna manera la reabsorción de agua a nivel tubular, la filtración glomerular y con ello aumentar la susceptibilidad de daño renal en la vida adulta.

11. Perspectivas

La realización de western blot para la cuantificación de AQP2, es pertinente para saber exactamente la cantidad de proteína presente.

Además para confirmar el daño renal, se necesitan pruebas de funcionalidad, como: depuración de creatinina, proteínas totales en orina de 24 h, velocidad de filtración glomerular, entre otros. Asimismo, la cuantificación sérica de ADH y la medición de la presión arterial sería de gran ayuda para tener datos confirmatorios de daño renal.

12. Referencias

Águila DY, Castelán F, Cuevas E, Zambrano E, Martínez GM, Muñoz A, Rodríguez AJ y Nicolás TL. 2015. Consumption of sucrose from infancy increases the visceral fat accumulation, concentration of triglycerides, insulin and leptin and generates abnormalities in the adrenal gland. *Anatomical Science International*. PMID:25834995.

Amato D, Álvarez-Aguilar C, Castaneda-Limones R, Rodríguez E, Ávila-Díaz M, Arreola F. 2005. Prevalence of chronic kidney disease in an urban Mexican population. *Kidney International Supplements*. 68:S11-S17.

Apostol E, Ecelbarger C, Terris J, Bradford D, Andrews P, Knepper A. 1997. Reduced renal medullary water channel expression in puromycin aminonucleoside induced nephrotic syndrome. *Journal of the American society of nephrology*. 8:15-24.

Boone M y Deen MT. 2008. Physiology and pathophysiology of the vasopressin-regulated renal water reabsorption. *European Journal of Physiology*. 456:1005-1024.

Boubred F, Buffat C, Feuerstein JM, Laurent D, Tsimaratos M y Simeonil U. 2007. Effects of early postnatal hypernutrition on nephron number and long-term renal function and structure in rats. *American Physiological Society*. 293:F1944-F1949.

Brigouri C, Quintavalle C, Donnarumma E y Condorelli G. 2014. Novel biomarkers for contrast induced acuted kidney injury. *Biomed Research International*. ID 568738.

Brion M, Ness A, Rogers I, Emmett P, Cribb V, Smith D, Lawlor D. 2010. Consumo maternal de macronutrientes durante el embarazo y el consumo de los hijos a los 10 años: explorar las comparaciones parentales y efectos prenatales. *American Journal of Clinical Nutrition*. 91:748-56.

Cervantes-Rodríguez M, Martínez-Gómez M, Cuevas E, Nicolás L, Castelán F, Nathanielsz PW, Zambrano E y Rodríguez-Antolín J. 2014. Sugared water consumption by adult offspring of mothers fed a protein restricted diet during pregnancy results in increased offspring adiposity: the second hit effect. *The British Journal of Nutrition*. 111(4): 616-24.

Cherñawsky DR, Sequeira ML y Gómez AR. 2002. Bases moleculares del desarrollo renal. *Archivos latinoamericanos de nefrología pediátrica*. 2(1):13-19.

Colette M, Roach L, Haggerty D, Marbgury D, Hutchens Z, Flynn E y Maric. 2011. Exposure to maternal overnutrition and a high-fat diet during early postnatal development increases susceptibility to renal and metabolic injury later in life. *American Journal of physiology*. 302:F774-F783.

Courrèges MC, Macagno ME y Díaz ML. 2002. Gestational protein restriction induces a reduced number of glomeruli in the young. *Nutrition research*. 22:1497-1505.

Desai M, Crothers N, Lucas A y Hales N. 1996. Organ selective growth in the offspring of protein restricted mothers. *The British Journal of Nutrition*. 76:591-603.

Durán P. 2004. Nutrición temprana y enfermedades en la edad adulta: acerca de la “hipótesis de Barker”. *Archivos argentinos de pediatría*. 102:1-14.

Estrada FE, Uribe AMC. 2002. Atlas de histología de vertebrados. Primera edición. México. Universidad Nacional Autónoma de México. 1:117-120

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados nacionales. Instituto Nacional de Salud Pública.

Elitech Clinical Systems. Inserto para la determinación de creatinina Jaffe. PIT-CRCO-3-v18.

Elitech Clinical Systems. Inserto para la determinación de urea uv sl. PIT-URSL-4-v17.

Fernández S, Montoya Y, Viguri R. 2011. Sobrepeso y obesidad en menores de 20 años de edad en la ciudad de México. Boletín médico del Hospital Infantil de México. 68(1):79-81.

Fernández-Cantón S, Hernández-Martínez A, Viguri-Uribe R, Gutiérrez-Trujillo G. 2011. La mortalidad por enfermedades renales en menores de 15 años, México 1998-2009. Boletín médico del Hospital Infantil de México. 68:328-330.

Ganong F. William. 2002. Fisiología médica. 18va edición. México. Manual moderno.

García R, Ayala PA, Perdomo SP. 2012. Epigenética: definición, bases moleculares e implicaciones en la salud y en la evolución humana. Revista Científica de Salud. 10(1):59-71.

Gou-Chun C, Chun-Yin H, Mei-Yu C, Chi-Hua C, Shiow-Wen C, Ching-jan H y Pei-Min C. 2011. Two unhealthy dietary habits featuring a high fat content and a sucrose-containing

beverage intake, alone or in combination, on inducing metabolic syndrome in Wistar rats and C57BL/6J mice. *Metabolism Clinical and Experimental*. 60:155-164.

Guyton Arthur. 2009. *Fisiología médica*. 11va edición. Elsevier.

Hafidi EM, Cuéllar A, Ramírez J y Baños G. 2001. Effect of sucrose addition to drinking water, that induces hypertension in the rats, on liver microsomal Delta9 and Delta5-desaturase activities. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 12:396-403.

Hall, JE, Brands MW y Henegar JR. 1999. Mechanisms of hypertension and kidney disease in obesity. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 892:91-107.

Hill RW, Gordon AW y Anderson. 2006. *Animal physiology*. Panamericana. 868-870

Obrador GT, García-García G, Villa AR, Rubilar X, Olvera N, Ferreira E, et al. 2010. Prevalence of chronic kidney disease in the Kidney Early Evaluation Program (KEEP) Mexico and comparison with KEEP US. *Kidney International Supplements*. 77:S2-S8.

Obrador GT, Mahdavi-Mazdeh M, Collins AJ. 2011. Establishing the Global Kidney Disease Prevention Network (KDPN): a position statement from the National Kidney Foundation. *American Journal of Kidney Diseases*. 57:361-370.

Langley-Evans. 2004. *Fetal programming of adult disease: programming of chronic disease thought fetal exposure to undernutrition*. Wallingford, UK. CABI Publishing.

Langley-Evans. 2006. Developmental programming of health and disease. Cambridge Journals. Proceedings of the nutrition society. 65:97-105.

Lene N, Tae K, Marples D, Flyvbjerg A, Knepper M, Nielsen S. 2001. Compensatory increase in AQP2, p-AQP2 y AQP3 expression in rats with diabetes mellitus. American Journal of Renal Physiology. 280: F715-F726.

Li Y y Wingert AR. 2013. Regenerative medicine for the kidney: stem cell prospects and challenges. Clinical and Translational Medicine. 2:11.

Li Juan, Khodus G, Kruusmagi M, Kamali P, Kamali-Zare P, Xiao-Li L, Eklof Ann, Zelenin S, Brismar H, Aperia A. 2010. Poabain protects against adverse developmental programming of the kidney. Nature communications. 1:42

Lucas SR, Zaladek-Gil F, Costa-Silva VL, Miraglia SM. 1991. Function and morphometric evaluation of intrauterine undernutrition on kidney development of the progeny. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 24: 967-970.

Macedo E y Ravindra LM. 2009. Prerenal failure: from old concepts to new paradigms. Current Opinion in Critical Care. 15(6):467-473.

Malik VS, Hu FB. 2015. Fructose and cardiometabolic health: what the evidence from sugar-sweetened beverages tells us. Journal of the American College of Cardiology. 66(14):1615-24.

Mataix J. 2009. Tratado de nutrición y alimentación. Primera edición. Océano. Barcelona España. 2:982-985.

Medeiros-Domingo M, Romero-Navarro B, Valverde-Rosas S, Delgadillo R, Varela-Fascinetto G, Munoz-Arizpe R. 2005. Transplante renal en pediatría. *Revista de Investigación Clínica*. 57:230-236.

Noda Yumi. 2013. Dynamic regulation and dysregulation of the water channel aquaporin-2: a common cause of and promising therapeutic target for water balance disorders. *Japanese Society of nephology*. 18:558-570.

Pearce D, Soundararajan R, Trimpert C, Kash O, Deen P y Kohan D. 2015. Collecting duct principal cell transport processes and their regulation. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. 10:135-146.

Praga M y Morales E. 2011. Obesity, proteinuria and progression of renal failure. *Current opinion in nephrology and hypertension*. 15(5):481-486.

Ramírez-Vélez R. 2012. In utero fetal programming and its impact on health in adulthood. *Endocrinología y Nutrición* 59:383-93.

Serralda Z, Meléndez M y Pasquetti C. 2003. Requerimientos y recomendaciones proteicas, referencias internacionales y mexicanas. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 11(2): 73-79.

Shetty P. 2006. Malnutrition and undernutrition. *Medicine*. 1: 524-529.

Suyama T, Okada S, Ishijima T, Lida K, Abe K y Nakai Y. 2012. High phosphorus diet induced changes in NaPi-IIb phosphate transporter expression in the rat kidney: DNA microarray analysis. *PLoS ONE* 7(1):e20483.

Treviño Hernández Raúl. 2006. Papel de las acuaporinas en los defectos de concentración y dilución del síndrome nefrótico. *Medicina universitaria*. 8(31):99-104.

Veuthey T, Hoffmann D, Vaidya V y Renick WM. 2014. Impaired renal function and development in Belgrade rats. *American Journal of Physiology*. 306(3):F333-F343.

Vickers M., Clayton E., Yap C., Sloboda M. 2011. Consumo materno de fructosa durante el embarazo y la lactancia, altera el crecimiento placentario y provoca cambios específicos del sexo en la función endocrina fetal y neonatal. *Endocrinology*. 152:1378-1387.

Woods LL, Weeks DA, Rasch R. 2004. Programming of adult blood pressure by maternal protein restriction: role of nephrogenesis. *Kidney International*. 65:1339-1348.

Nejsum LN, Kwon TH, Marples D, Flyvbjerg A, Knepper MA, et al. 2001. Compensatory increase in AQP2, p-AQP2, and AQP3 expression in rats with diabetes mellitus. *American Journal of Renal Physiology*. 280:F715-726.

Leung JC, Chan LY, Tsang AW, Tang SC, Lai KN. 2005. Differential expression of aquaporins in the kidneys of streptozotocin-induced diabetic mice. *Nephrology*. 10:63-72.

Ward DT, Yau SK, Mee AP, Mawer EB, Miller CA, et al. 2001. Functional, molecular, and biochemical characterization of streptozotocin-induced diabetes. *Journal of the American Society of Nephrology*. 12:779-790.

13. Anexos

Anexo 1. Deshidratación e inclusión del riñón.

REACTIVO	TIEMPO
Alcohol al 60%	15 minutos (3 lavados de 5 min)
Alcohol al 70%	20 minutos
Alcohol al 80%	20 minutos
Alcohol al 80%	30 minutos
Alcohol al 96%	30 minutos
Alcohol al 100%	30 minutos
Alcohol al 100%	30 minutos
Alcohol - Xilol	30 minutos
Xilol 1	30 minutos
Xilol 2	30 minutos
Paraplast Extra I	2 horas
Paraplast Extra I	2 horas
Paraplast Extra II	4 horas
Paraplast Extra II	5 horas

Anexo 2. Tinción de Hematoxilina-eosina

PROCEDIMIENTO	REACTIVO	TIEMPO
Desparafinar	Xileno	5 min
	Xileno	5 min
	Xileno:etanol	5 min
Hidratar	Etanol 100 %	5 min
	Etanol 100 %	5 min
	Etanol 96 %	3 min
	Etanol 80 %	3 min
	Etanol 60 %	3 min
	Agua destilada	3 min
Colorante básico	Hematoxilina de harris	11 min
	Agua corriente	40 seg

Contraste	Etanol ácido	40 seg
	Agua destilada	40 seg
Azuleamiento	Etanol amoniacal	3-4 min
Colorante ácido	Eosina	3-4 min
	Agua destilada	40 seg
Deshidratación	Etanol 96 %	40 seg
	Etanol 96 %	40 seg
	Etanol 100 %	30 seg
	Etanol 100 %	30 seg
	Etanol:xileno	10 seg
	Xileno	10 seg
	Xileno	10 seg
Montaje	Cytoseal TM 60	

14. Publicaciones



Expresión de acuaporina2 renal en adultos que consumieron agua azucarada durante la gestación y lactancia

Velázquez-Orozco Verónica¹ (Estudiante de posgrado), Xicohténcatl-Rugiero Irving², Nicolás-Toledo Leticia³, Martínez-Gómez Margarita^{3,4}, Castelán Francisco³, Rodríguez-Antolín Jorge³

¹Maestría en Ciencias Biológicas, UATx. ²Doctorado en Neurootología, UV. ³Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx. ⁴Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.

La fisiología del aparato urinario implica el control y eliminación de sustancias tóxicas para el organismo. El riñón realiza la filtración de tales sustancias, cuando existe alteración en este mecanismo se pueden presentar diversas patologías renales. El incremento del consumo de bebidas azucaradas se ha relacionado con alteraciones metabólicas como la diabetes mellitus 2, dicha enfermedad a su vez se ha correlacionado con insuficiencia renal. El transporte del agua a nivel de los túbulos renales se hace a través de las acuaporinas. El objetivo del presente trabajo es determinar si el consumo de agua azucarada durante la gestación y lactancia, altera la expresión de acuaporina 2 en el riñón en la progenie adulta masculina. Utilizamos ratas Wistar hembras, las cuales se aparearon y se dividieron en dos grupos: grupo control, alimentadas con dieta estándar y agua simple durante la gestación y lactancia; y el grupo experimental alimentadas con dieta estándar y agua azucarada al 5%. Al destete, se formaron dos subgrupos con los machos, uno recibió agua simple y otro agua azucarada. Los animales fueron sacrificados a los cuatro meses de edad y se les extrajo el riñón izquierdo, de los cuales se hicieron cortes histológicos que fueron utilizados para observar la expresión de acuaporina 2.

Resultados preliminares muestran una sobreexpresión de acuaporina 2 en el grupo que consumió agua azucarada durante la gestación, la lactancia y vida independiente hasta el sacrificio, *versus* el grupo que consumió agua azucarada después del destete hasta el sacrificio y el grupo control. Inferimos que el consumo de agua azucarada, aún en bajas concentraciones, modifica la expresión de acuaporina 2, ello podría estar relacionado directamente con el transporte de agua en los túbulos renales alterando la función del aparato urinario superior.

CONACYT INFR-2014-01-I010/186/2014, C-122/2014-I010/163/2014, 295860-VVO; 248115-IXR; UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA, PROYECTO CACyPI-UATX-2014.



SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS A.C.

OTORGAN EL PRESENTE

DIPLOMA



A

VERÓNICA VELÁZQUEZ OROZCO

POR HABER OBTENIDO EL **3^{ER} LUGAR EN EL
CONCURSO LA CIENCIA EN UN MINUTO**

Celebrado durante el
LVII CONGRESO NACIONAL DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS
en OAXACA, OAXACA a 3 de septiembre de 2014


Dr. Roberto Salgado Delgado
Coordinador del Concurso


Dra. Marcia Hirriart Urdanivia
Presidenta
Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas


Dra. Carolina Escobar Briones
Coordinadora del Concurso