



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

**Descripción Morfológica Del Músculo Iliococcígeo En La Rata Macho y
Su Relación Con El Consumo De Agua Azucarada**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Saret Dávila Santacruz

Codirectores

Dr. Jorge Rodríguez Antolín

Dra. Margarita Cervantes Rodríguez

Tlaxcala, Tlax.

Agosto, 2019



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Descripción Morfológica Del Músculo Iliococcígeo En La Rata Macho y Su Relación Con El Consumo De Agua Azucarada

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Saret Dávila Santacruz

Comité Tutorial

Dr. Jorge Rodríguez Antolín
Dra. Margarita Cervantes Rodríguez
Dra. Estela Cuevas Romero
Dra. Kenia López García
Dr. Pablo Pacheco Cabrera
Dr. Miguel Ángel Lara García

Tlaxcala, Tlax.

Agosto, 2019

Esta investigación fue realizada bajo la dirección de los Drs. Jorge Rodríguez Antolín y Margarita Cervantes Rodríguez en las instalaciones del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala en la Maestría en Ciencias Biológicas misma que está registrada en el Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional. Padrón Nacional de Posgrado (PNP)

Este trabajo fue financiado por beca CONACyT (857159) a SDS



Universidad
Autónoma de
Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas
Coordinación de la División de Ciencias Biológicas
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado

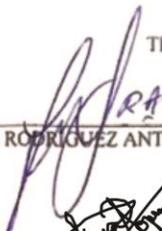


**COORDINACIÓN POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E**

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que Saret Dávila Santacruz 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 "Descripción morfológica en relación al consumo de agua azucarada del músculo iliococcígeo en la rata macho".

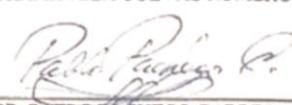
Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., 31 DE JULIO 2019


DR. JORGE RODRÍGUEZ ANTOLÍN


DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO


DRA. KENIA LÓPEZ GARCÍA


DR. PABLO PACHECO CABRERA


DR. MIGUEL ÁNGEL LARA GARCÍA



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma:
ISO 9001:2015-NMX-CC-9001-IMNC-2015



Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala por su destacado programa que ofrece y por el apoyo para la realización de este proyecto.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por haber financiado mis estudios de Maestría.

A mis tutores los Drs. Estela Cuevas Romero, Kenia López García, Pablo Pacheco Cabrera y Miguel Ángel Lara García a los cuáles agradezco sus grandes aportaciones en conocimiento y su participación activa para la realización de este proyecto.

Agradecimientos

Agradezco de manera especial a los Drs. Jorge Rodríguez Antolín y Margarita Cervantes Rodríguez por su gran apoyo, paciencia y tiempo que me brindaron para realizar este proyecto pero sobre todo agradezco su confianza, la oportunidad y libertad que me brindaron al formar parte de su equipo de trabajo del Laboratorio de Nutrición y Metabolismo y que sin duda esta experiencia ha sido de suma importancia para mi desarrollo personal y profesional.

De manera especial agradezco a:

A mis hijos Naty y Alejandrino Tapia Dávila por ser mi fuerza y mis dos grandes motivaciones en la vida.

A mi compañero de vida Joan P. Tapia Catillo por ser mi gran apoyo en todo momento durante mi formación profesional y gracias por no desistir y seguir a mi lado.

A mis padres Alina Santacruz Lima que sigue siendo el pilar fundamental de apoyo incondicional, amor, cariño y fortaleza que me ha brindado durante toda la vida. A mi padre Israel Dávila Pérez que a pesar de no estar cerca y parecer un extraño aún sigo teniéndote en mente como eras antes.

A mis hermanos Alina e Israel Dávila Santacruz gracias por todo ese apoyo incondicional que me han brindado ahora reflejado con mis hijos, así como todos esos momentos de felicidad en las buenas y en las malas, porque sin duda sin su humor los momentos difíciles hubieran sido difíciles de sobrellevar.

A mis abuelos Yolanda Lima Delgado y Raciél Santacruz Meneses porque han sido de igual manera pilares fundamentales durante toda la vida, gracias por su apoyo, cariño y comprensión para culminar mis logros.

Con mucho cariño agradezco a mis compañeros Verónica Velázquez Orozco, Guadalupe Citlaly Hernández Hernández, Sharet Y. Jaimes Rodríguez, Omar Vargas Ruiz, Gabriela Cordoba Sosa, Aldair Aguilar Lazcano por su apoyo, y disponer de tiempo para intercambiar conocimientos y hacer del cubículo un lugar apropiado para trabajar.

RESUMEN

Los músculos del piso pélvico forman un complejo funcional importante ya que contribuyen a la continencia urinaria y urinaria, así como al soporte de los órganos pélvicos. También son relevantes para las funciones reproductivas, tanto en machos como en hembras. El desarrollo de estos músculos del piso pélvico se lleva a cabo durante la gestación. Cualquier cambio o factor que este en contacto con la madre durante la gestación se va a ver reflejado en el desarrollo de la cría, ello puede aplicar incluso para la musculatura estriada, a esto se le conoce como la “teoría de Barker”, “Programación fetal”, actualmente llamada “Hipótesis de los orígenes de la salud y la enfermedad”. Existen pocos estudios que administran agua azucarada durante la etapa de gestación y lactancia, así mismo que relacionen trastornos metabólicos en la edad adulta. En nuestro laboratorio de Nutrición y metabolismo se ha demostrado que la alta ingesta de carbohidratos durante la etapa prenatal y perinatal condiciona a la descendencia a padecer trastornos metabólicos que se potencian al consumir agua azucarada en la vida adulta, demostrando que la ingesta de agua con azúcar tiene efectos en la organización morfológica y eléctrica del músculo pubococcígeo (Xicoténcatl 2015), dicho músculo forma parte del piso pélvico y muestra participación durante el reflejo uretrogenital, el cual ha sido descrito como el paso de líquido a través de la uretra y es un símil al proceso de micción y eyaculación. Por lo anterior este estudio está enfocado en describir las características morfológicas en relación al consumo de agua azucarada ahora del músculo iliococcígeo, dicho músculo se localiza adyacente al pubococcígeo, y ambos forman parte del piso pélvico en la rata macho. De acuerdo a los registros electromiográficos realizados durante el reflejo uretrogenital se ha visto que estos músculos tienen diferentes fases de activación, por lo que es necesario caracterizar desde la morfología del músculo iliococcígeo. Para ello se utilizaron doce ratas hembras adultas de la cepa Wistar de tres meses de edad, con un peso de entre 230-260 g, las cuales 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 (Chow 5001 Purina®) y agua *ad libitum*. Estas hembras fueron apareadas formando dos grupos: el grupo control (C) y el grupo experimental que consumió sacarosa al 5% (S); de estas hembras se obtuvieron las crías macho con las que formamos los grupos a partir del destete

(n=6/grupo). El grupo proveniente de madre simple y que en la vida adulta siguió consumiendo agua simple (CC), el grupo proveniente de madre simple y que en la vida adulta consumió sacarosa al 5% (CS), el grupo proveniente de madre sacarosa y que en la vida adulta consumió agua simple (SC), y el grupo proveniente de madre sacarosa y que en la vida adulta consumió sacarosa al 5% (SS). A la edad de 17 semanas se sacrificaron los animales y se obtuvieron los músculos iliococáceos, se midieron y posteriormente fueron extraídos, pesados y congelados a -80°C . Los cortes se realizaron en un criostato y fueron teñidos usando la tinción de Hematoxilina-Eosina para la medición cuantitativa de las fibras musculares y la tinción Tricrómica de Masson para la cuantificación de colágeno. Los datos fueron analizados mediante una ANOVA de dos vías y la post hoc Bonferroni. El peso y el ancho del músculo iliococáceo de los tres grupos experimentales no se vieron modificados por la ingesta de agua azucarada desde la gestación hasta la vida adulta en comparación con el grupo control; sin embargo, se generó una disminución en el largo del músculo en los grupos provenientes de madres que consumieron agua azucarada durante la gestación. En el área transversal de las fibras musculares de los tres grupos experimentales no se encontraron diferencias significativas respecto al grupo control, sin embargo se observó una tendencia a aumentar el área transversal en el grupo que consumió sacarosa durante toda su vida. En la cuantificación de la expresión de colágeno no se encontraron diferencias significativas en los diferentes grupos experimentales respecto al grupo control, sin embargo se ve un aumento en los grupos a los que se les invirtió la dieta posnatal. En conclusión aunque no se encontraron diferencias significativas tanto en el peso y el ancho del músculo, pero si una disminución en el largo del músculo se sugiere que el cambio en la nutrición durante la etapa de gestación es significativo para generar el buen desarrollo del músculo. En cuanto al tamaño del área transversal de las fibras se ve aumentada en el grupo que consume azúcar durante toda la vida lo que indica que el consumo de agua azucarada desde la gestación predispone a la prole a presentar cambios morfológicos a nivel muscular comprometiendo funciones fisiológicamente importantes tanto reproductivas como no reproductivas en la vida adulta.

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 13 |
| 1.1 NUTRICIÓN Y MALNUTRICIÓN..... | 13 |
| 1.2 MÚSCULO ESQUELÉTICO | 14 |
| 1.3 CONTRACCIÓN MUSCULAR | 16 |
| 1.4 TIPOS DE FIBRAS MUSCULARES..... | 17 |
| 1.5 DESARROLLO EMBRIONARIO DEL MÚSCULO ESTRIADO..... | 18 |
| 1.6 ANATOMÍA DE LOS MÚSCULOS DEL PISO PÉLVICO | 20 |
| 1.7 INERVACIÓN DE LOS MÚSCULOS DEL PISO PÉLVICO..... | 23 |
| 2. ANTECEDENTES | 24 |
| 2.1 HIPÓTESIS DE LOS ORÍGENES DE LA SALUD Y LA ENFERMEDAD | 24 |
| 3. JUSTIFICACIÓN | 26 |
| 4. HIPÓTESIS | 28 |
| 5. OBJETIVOS..... | 28 |
| 5.1 OBJETIVO GENERAL | 28 |
| 5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 28 |
| 6. METODOLOGÍA | 29 |
| 6.1 ANIMALES | 29 |
| 6.2 GRUPOS EXPERIMENTALES..... | 29 |
| 6.3. DETERMINACIÓN DE LA GANANCIA DE PESO DURANTE LA LACTANCIA | 31 |
| 6.4 DETERMINACIÓN DE LA GANANCIA DE PESO DURANTE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS | 31 |
| 6.5 IDENTIFICACIÓN DEL MÚSCULO ILIOCOCÍGEO..... | 32 |
| 6.6 ANÁLISIS HISTOLÓGICO DEL MÚSCULO ILIOCOCÍGEO | 34 |
| 6.7 DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE COLÁGENO. | 35 |
| 6.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS | 36 |
| 7. RESULTADOS..... | 37 |
| 7.1 MORFOMETRÍA | 37 |
| 7.1.1 PARÁMETROS MORFOMÉTRICOS AL NACER DE LAS CRÍAS UTILIZADAS EN EL PROYECTO..... | 37 |

| | |
|---|-----------|
| 7.2 GANANCIA DE PESO DURANTE LA LACTANCIA..... | 38 |
| 7.3 GANANCIA DE PESO DURANTE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS | 39 |
| 7.4 CONSUMO DE ALIMENTO Y AGUA..... | 40 |
| 7.5 MORFOMETRÍA DEL MÚSCULO ILIOCOCCÍGEO | 43 |
| 7.6 ÁREA TRANSVERSAL DE LAS FIBRAS MUSCULARES | 45 |
| 7.7 DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE COLÁGENO | 49 |
| 8. DISCUSIÓN..... | 52 |
| 9. CONCLUSIÓN..... | 57 |
| REFERENCIAS | 57 |

1. INTRODUCCIÓN

1.1 NUTRICIÓN Y MALNUTRICIÓN

La nutrición se refiere al equilibrio entre el consumo de alimento y el gasto energético que un organismo requiere para realizar sus funciones vitales como el crecimiento, desarrollo, reproducción, y mantenimiento de las funciones vitales del organismo (Lozano y cols, 2016).

Asimismo la alimentación es el proceso de elección e ingesta de los alimentos, es un acto consciente, voluntario y sometido a diferentes factores como biológicos, psicológicos, sociales y ambientales, los cuales en combinación mantienen una adecuada nutrición, si esta adecuada o buena nutrición que envuelve una correcta cantidad, calidad y balance de nutrientes obtenidos de la comida (Castrogiovanni y cols. 2014) se ve modificada hacia alguna desviación patológica se le considera como malnutrición que se define como un desequilibrio nutricional por una deficiencia, insuficiencia o por un exceso de alimentos sin tener alguna enfermedad subyacente (Lozano y cols. 2016).

Durante la gestación existen diferentes factores externos e internos que pueden modificar la información del material genético, estos se conocen como factores epigenéticos. Se ha descrito que estos factores epigenéticos pueden modular la función de varios tejidos con actividad metabólica posnatal, asimismo existen diversos factores que influyen en la etapa posnatal que al juntarse con los que se expuso durante la gestación podrían tener un efecto potenciador en la vida adulta (Boney y cols. 2005).

Los estilos de vida actual así como los patrones alimenticios que incluyen la frecuencia y la cantidad de nutrientes ingeridos representan un factor de riesgo potencial para el desarrollo de enfermedades no transmisibles (McCrary y cols. 2016). Estudios en modelos animales relacionan que el consumo de azúcar es asociado con un incremento en la prevalencia de obesidad (Schmidt y cols. 2014) así como enfermedades cardiovasculares (Malik y cols. 2010) trastornos metabólicos (Miller y cols. 2008) hígado graso no alcohólico (Alwahsh y cols. 2016) y una disminución en la cognición (Soares y cols. 2013). La adición de azúcar a comidas y bebidas agrega calorías sin ningún beneficio, así muchas observaciones

epidemiológicas y clínicas indican que un exceso en la ingesta de glucosa y fructosa exacerba complicaciones metabólicas en diferentes tejidos debido al incremento en la ingesta de calorías. El endulzante más comúnmente utilizado es la sacarosa formada por 50% de fructosa y 50% de glucosa. La glucosa y la fructosa son absorbidas en el intestino delgado, pero la capacidad de absorción para la fructosa es más baja a comparación de la molécula de glucosa (Truswell y cols. 1988). Después de la absorción, el metabolismo de los dos monosacáridos sigue diferentes vías, la glucosa que puede ser utilizada directamente por las células para la obtención de energía en diferentes órganos, mientras que la molécula de fructosa es metabolizada principalmente en el hígado dando como resultado productos finales del metabolismo celular que han sido relacionados en patologías diversas como enfermedades neurodegenerativas, aterosclerosis y enfermedades crónicas inflamatorias (Yamagishi y cols. 2007) particularmente en el desarrollo de diabetes, resistencia a la insulina dando como resultado el desarrollo de enfermedades metabólicas. (Yamagishi y cols. 2016) Algunos de los principales órganos afectados por el exceso en la ingesta de bebidas azucaradas son el hígado, el riñón y el músculo esquelético.

1.2 MÚSCULO ESQUELÉTICO

El músculo esquelético representa el tejido más grande en el cuerpo constituyendo del 40 al 45% del peso total, compuesto por células musculares, nervios y vasos sanguíneos así como tejido conectivo (Garrett y Best 1994). Este complejo de componentes es necesario para producir conjuntamente movimiento y locomoción asimismo dar soporte al proceso de regeneración, proceso que ocurre después de una lesión. El músculo esquelético está formado por el epimisio, una capa de tejido conectivo irregular y colágeno que se encuentra en la parte más externa del músculo rodeándolo por completo, sin embargo, esta membrana se continua dentro de la fibra del musculo esquelético en numerosas invaginaciones denominadas túbulos T (Túbulos transversales) que se entremezclan con las miofibrillas, en su interior se encuentra el perimisio formado por un tejido conjuntivo menos denso y colágeno y organiza en haces o fascículos las fibras musculares o miofibrillas las cuales forman el elemento estructural del músculo esquelético. Cada una de estas fibras musculares o miofibrillas están

rodeadas por el sarcolema endomisio compuesto de fibras reticulares y una lámina externa (lamina basal) que rodea cada célula muscular y es la membrana plasmática que rodea a cada miofibrilla, cada miofibrilla contiene una multitud de núcleos derivados de los mioblastos localizados en la periferia de las miofibrillas estos mioblastos se fusionan para formar largos y cilíndricos miotubos multinucleados que exhiben una nucleación en posición central durante la etapa fetal y que posteriormente tomaran una posición justo debajo del sarcolema poco antes del nacimiento. Aunado a ello, existe un tipo de células particulares llamadas células satélites que se localizan entre la lámina basal y el sarcolema y tienen un papel importante en el proceso de la regulación de la regeneración muscular (Garrett y Best 1994) (Figura 1)

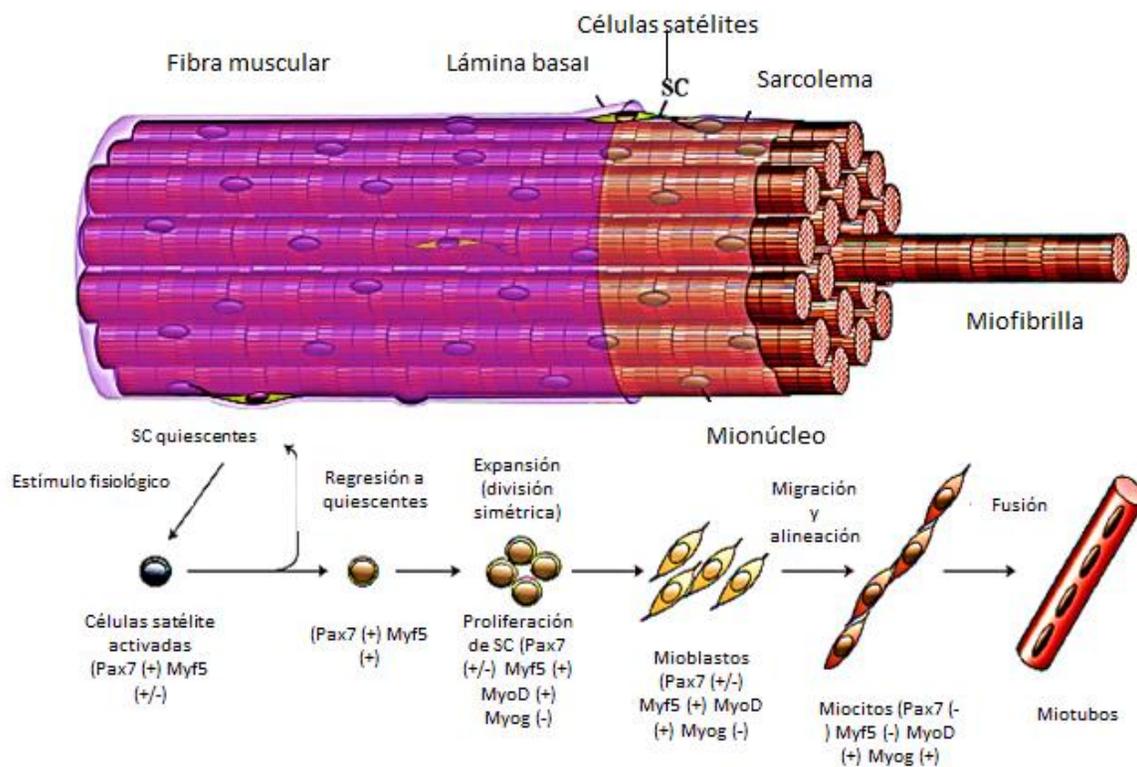


Figura 1. Composición estructural del músculo esquelético. Imagen tomada y modificada de “Pitx2 in Embryonic and Adult Myogenesis” Hernández-Torres y cols. 2017

El músculo esquelético es un tejido especializado en la contracción que permite que los organismos se muevan, por medio de la contracción de las células musculares y la disposición de los componentes extracelulares del músculo para posibilitar la locomoción. El diámetro de las fibras musculares varía de 10 a 100µm, así mismo la fuerza de contracción de las fibras

musculares depende directamente de su diámetro por lo que la fuerza de un músculo completo depende del número y grosor de las fibras musculares que lo componen, el color del músculo esquelético es de color rosa a rojo dependiendo de su vasculatura y la presencia de pigmentos de mioglobina los cuales son proteínas que transportan oxígeno y se asemejan a la hemoglobina. De acuerdo a la cantidad de mioglobina, el número de mitocondrias, la extensión del retículo sarcoplásmico, la concentración de diversas enzimas, las fibras musculares se clasifican en rojas, blancas o intermedias, así como también de acuerdo a la inervación de cada fibra muscular determina el tipo de fibra. La disposición paralela de las miofibrillas explica las estriaciones transversales del bandeo claro y oscuro característico del músculo esquelético que se observa en los cortes longitudinales. Las bandas oscuras se conocen como bandas A (anisotrópicas) y las bandas claras se conocen como I (isotrópicas), el centro de cada banda A tiene una banda más clara denominada banda H y a la mitad de esta banda se encuentra una línea llamada M y una línea Z divide la banda I, una sárcomera está limitada por dos líneas Z y se considera como la unidad contráctil del músculo esquelético, (Gartner y Hiatt 2007 pp. 157)

1.3 CONTRACCIÓN MUSCULAR

Las fibras musculares están compuestas de proteínas miofibrilares contráctiles llamadas miofilamentos. El mecanismo contráctil del músculo estriado depende de las proteínas miosina II, actina, tropomiosina y troponina, esta última formada por tres subunidades: troponina I, troponina T y troponina C. El proceso de contracción muscular se debe al deslizamiento de los filamentos delgados sobre los filamentos gruesos, en el músculo en reposo la troponina I y la tropomiosina se une con los filamentos de actina, y cubren los sitios en donde las cabezas de miosina se unen con la actina; después de la llegada de un potencial de acción el aumento de calcio citosólico permite que los iones de Ca^{2+} se unan a la troponina C, esta unión genera el debilitamiento de la interacción de troponina I con la actina y expone el sitio de unión de la actina para la miosina permitiendo la formación de puentes cruzados de miosina y actina. En el músculo en reposo el ATP se une en el sitio libre de la miosina generando un desacople de la cabeza de la miosina con el sitio de unión de la actina, posteriormente el ATP se hidroliza y se libera fosfato inorgánico (P_i) generando un cambio de conformación de la cabeza de

miosina generando la unión de la cabeza de miosina con la actina o *punte cruzado* de manera que se genera el deslizamiento de los filamentos delgados sobre los filamentos gruesos y comprende “*el golpe de poder*” posteriormente el ATP se une al sitio libre de la cabeza de miosina lo que genera que la cabeza de miosina se desprenda del filamento de actina, después el ATP se hidroliza y libera fosfato inorgánico (P_i) lo que produce el re-levantamiento de las cabezas de miosina completando así el ciclo de la contracción muscular (Barret, Barman, Boitano, Brooks, 2010 pp. 93) (Figura 2)

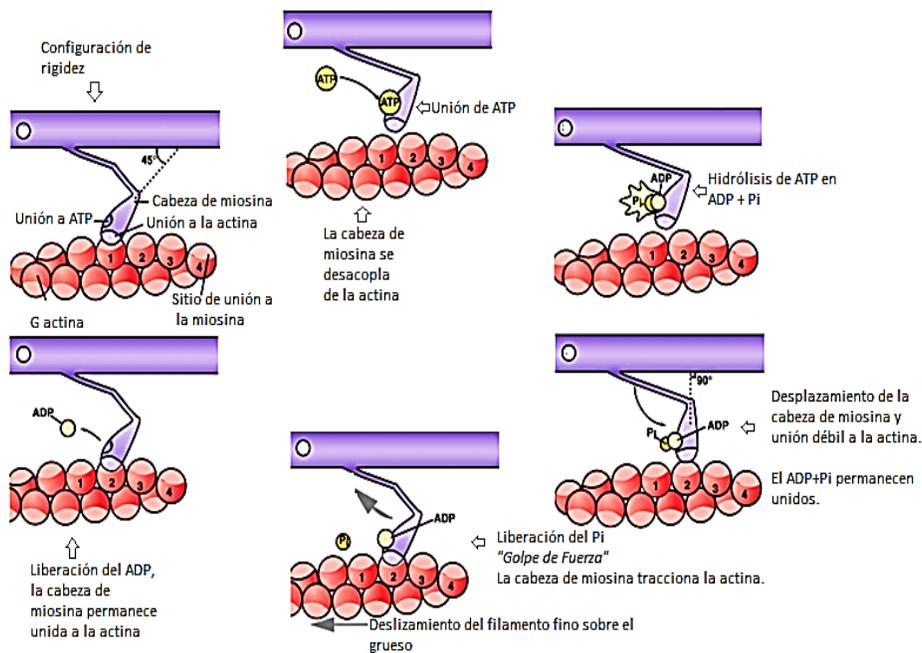


Figura 2. Diagrama de fases de la contracción muscular. El calcio se une a la troponina, genera un cambio conformacional del complejo troponina-tropomiosina que permite la unión afín entre actina y miosina. El deslizamiento que se requiere de los filamentos delgados sobre los gruesos será regulado por la actividad de ATP, siendo necesario tanto para la contracción como para la relajación. (Modificado de Ross, 2007).

1.4 TIPOS DE FIBRAS MUSCULARES

El músculo estriado está formado por fibras que varían en cuanto a su actividad ATPasa de la miosina, velocidad contráctil y otras propiedades, existen tres tipos de fibras: Tipo I (SO, por

oxidación lenta [*slow-oxidative*]), tipo IIA (FOG, por oxidación y glucólisis rápida [*fast-oxidative-glycolytic*]), o tipo IIB (FG, por glucólisis rápida [*fast-glycolytic*]) (Tabla 1).

Tabla 1. Tipos de fibras musculares tomado de Ganong Fisiología Médica 2010.

| | TIPO I | TIPO IIA | TIPO IIB |
|--|----------------------|------------------------------------|-------------------------|
| Otros nombres | Oxidativa lenta (SO) | Oxidativa glucolítica rápida (FOG) | Glucolítica rápida (FG) |
| Color | Rojo | Rojo | Blanco |
| Actividad de la ATPasa de miosina | Lenta | Rápida | Rápida |
| Capacidad del retículo sarcoplásmico para bombear Ca ²⁺ | Moderada | Alta | Alta |
| Diámetro | Pequeño | Grande | Grande |
| Capacidad Glucolítica | Moderada | Alta | Alta |
| Capacidad oxidativa | Alta | Moderada | Baja |
| Tipo de unidad motora relacionada | Alta | Moderada | Baja |
| Potencial de membrana = -90mV | | | |

1.5 DESARROLLO EMBRIONARIO DEL MÚSCULO ESTRIADO

La formación de fibras musculares es denominada miogénesis, el cual es un proceso de diferenciación donde una porción de células madre provenientes del linaje miogénico provenientes del mesodermo así como factores miogénicos como Myf5 y el factor de diferenciación MyoD generan la formación y proliferación de mioblastos que son los componentes básicos estructurales tempranos para la formación del músculo estriado (Kollias

y McDermott 2008). La miogénesis se lleva a cabo durante el periodo de gestación y se divide en dos partes: la miogénesis primaria y secundaria. La miogénesis primaria se lleva a cabo en la etapa embrionaria, donde solo se forma un número limitado de fibras musculares, la miogénesis secundaria se lleva a cabo durante el periodo fetal donde se forma la mayor cantidad de fibras musculares (Beermann y cols. 1978) por lo tanto la etapa fetal es crucial para el desarrollo del músculo esquelético porque no hay un incremento en el número de fibras musculares después del nacimiento (Stickland 1978, Zhu y cols. 2004). (Figura 3) El crecimiento del músculo esquelético posnatal es dado principalmente por el aumento en el tamaño de las fibras musculares sin que haya formación de nuevas fibras (Stickland 1978, Karunaratne y cols. 2005) En conclusión el desarrollo del músculo esquelético durante la etapa fetal es de gran importancia debido a que se forman el mayor número de fibras musculares durante este periodo y es vulnerable a la mayoría de las perturbaciones incluyendo la deficiencia de nutrientes (Zhu y cols. 2004).

Las fibras musculares son derivadas de células mesenquimales, las cuales pueden ser dirigidas a convertirse en un linaje miogénico o también a otro tipo de linaje ya sea para la formación de adipocitos o fibroblastos (Bailey y cols. 2001), estos tres tipos celulares producen la estructura básica del músculo esquelético, los fibroblastos son encargados de la formación de tejido conectivo en la membrana basal e intersticial del músculo esquelético (Liu y cols. 2010), un aumento en la cantidad de tejido conectivo se le denomina fibrosis, la cual lleva a una disfunción muscular incluyendo la capacidad oxidativa de las fibras musculares (Lahoute y cols. 2008). Uno de los factores que modifica la diferenciación de las células mesenquimales es la sobre nutrición materna ya que se ha visto que modifica el aumento en la proliferación de adipocitos y aumento en la cantidad e infiltración de colágeno en las fibras musculares (Du y cols. 2010) (Yan y cols. 2011) resultando en una disminución en la integridad estructural y capacidad funcional del músculo esquelético (Beggs y cols. 2004).

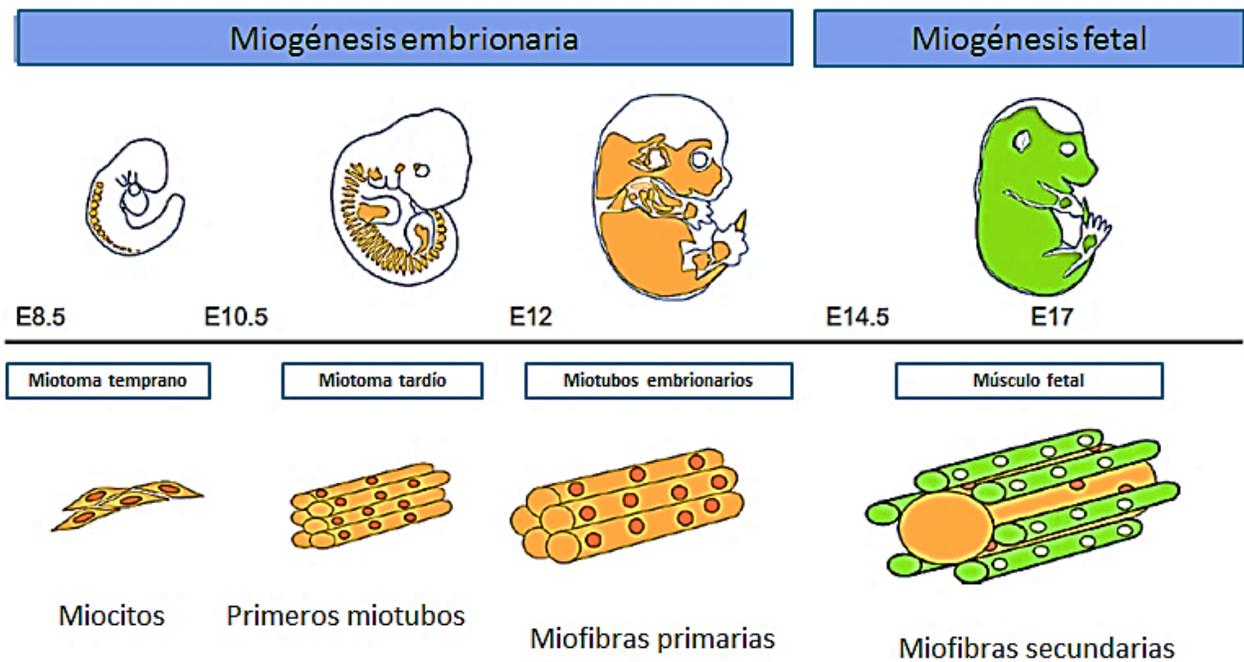


Figura 3. Fases de la formación del músculo esquelético durante la gestación en ratón. Imagen tomada y modificada de Skeletal Muscle Development; Margaret Buckingham y Alicia Mayeuf (2007).

1.6 ANATOMÍA DE LOS MÚSCULOS DEL PISO PÉLVICO

Las cavidades abdominales y pélvicas están separadas a través del diafragma, anteriormente por los músculos abdominales y el hueso pélvico, posteriormente por la columna y hacia abajo por el piso pélvico. Los músculos estriados cierran la cavidad pélvica estos músculos se denominan músculos del piso pélvico los cuales son encargados del soporte de los órganos pélvicos y participan en funciones tanto reproductivas como no reproductivas. Los órganos alojados dentro de la cavidad pélvica son parte de distintos sistemas funcionales. Las partes terminales del sistema urinario corresponden a la uretra y la vejiga, mientras las partes terminales del sistema digestivo corresponden a el recto y el canal anal, estos órganos están conectados partes del sistema abdominal y tienen su parte final en el piso pélvico. El espacio entre los órganos pélvicos y la pared del hueso de la pelvis está compuesto de tejido conectivo que contiene vasos sanguíneos, nervios y linfáticos, así como también se encuentra el tejido adiposo. La inervación en el piso pélvico está dada por el sistema nervioso central, en el entran diversas formas de información sensitiva, alguna de esta información proviene del cerebro acerca de condiciones de la piel y músculos estrechamente relacionados con los estereoreceptores y los propioceptores del músculo. Por lo tanto, el piso pélvico no debe de ser

visto en aislamiento sino como conexión con diferentes sistemas especializados, así como también la importancia de las diferentes partes que lo conforman individualmente y su diferente función que realizan en el mantenimiento del equilibrio de un organismo. (Delancey JOL. The anatomy of the pelvic floor.)

El diafragma pélvico está formado por los músculos isquiococcígeo (coccígeo) y el elevador del ano, este último es un complejo muscular compuesto por diferentes partes simétricas bilaterales, asimismo existe aún un poco de disputa en la literatura acerca de la organización y nomenclatura de las diferentes partes, sin embargo existe una clasificación en la cual hay una división en tres partes del músculo elevador del ano: pubococcígeo, iliococcígeo y puborectal. (Figura 4) El pubococcígeo inicia en la superficie interna de la rama púbica superior y está insertado dentro de la parte baja sacral y la vértebra coccígea. El músculo iliococcígeo se encuentra junto al músculo pubococcígeo y no tiene directamente un origen en el hueso, y se inicia por una banda facial reforzada que se extiende en forma de un arco, el arco tendinoso del elevador del ano, que se encuentra por encima de la fascia del músculo obturador interno a la espina isquiál, y se inserta dentro de la parte baja del sacro y la última vertebra coccígea. El músculo puborectal tiene su origen en el hueso cerca del músculo pubococcígeo en la superficie interna del hueso púbico, este músculo se interdigita alrededor del recto y de esta manera forma el anillo posterior de la pared rectal. (Delancey JOL. The anatomy of the pelvic floor.)

En la rata macho las fibras del músculo iliococcígeo toman su origen en una zona blanda en el borde ventromedial iliaco posterior al canal o muesca del glúteo en el nivel de acetábulo. Estas fibras pasan caudalmente y forman dos tendones, los cuales se continúan caudalmente hacia la terminación lateral de la parte ventral de la cola. (Poortmans y Wyndaele 1998)

El músculo iliococcígeo y el pubococcígeo tanto en hombres como en ratas machos muestran varias similitudes. El músculo elevador del ano en rata muestra una apariencia anatómica similar a lo que en hombre se le conoce como el músculo puborectal. Ambos músculos bilaterales se encuentran conectados a través del rafe dorsal y engloban el recto, tanto de lado dorsal como lateral con una fuerte fijación muscular al cóccix, sin embargo el origen de las fibras difiere completamente, el músculo puborectal tiene su inserción en ambos lados de la

símfisis del pubis, mientras que el músculo elevador del ano en la rata macho se origina del cuerpo cavernoso de la uretra. (Poortmans y Wyndaele 1998) (Figura 4)

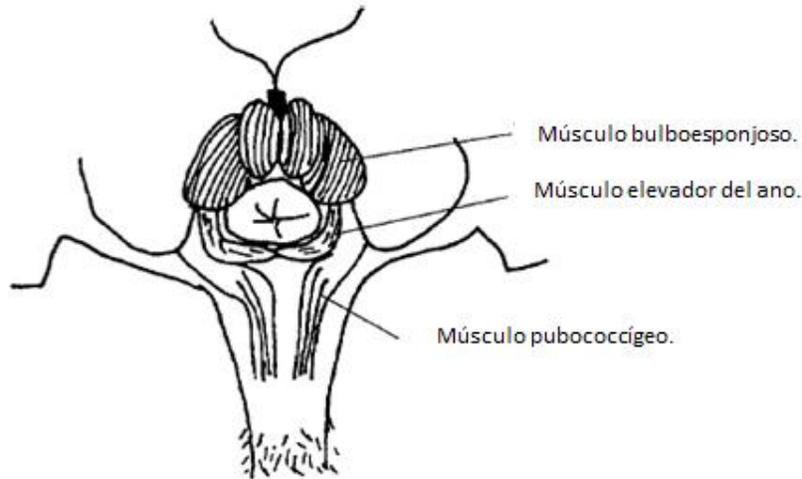


Figura 4. Músculos del piso pélvico en rata macho. Imagen tomada y modificada de M. Levator Ani in the Rat: Does it Really Lift the Anus? (Poortmans y Wyndaele. 1998).

En humanos el músculo elevador del ano es una unidad compleja, que consiste de varios componentes musculares con diferentes orígenes e inserciones y por lo tanto distintas funciones. El músculo pubococcígeo está compuesto por el músculo puboperineal y puboanal en hombres (Myers y cols. 2000) y puboperineal, puboanal y pubovaginal en mujeres. El puborectalis representa las fibras mediales e inferiores del elevador de ano el cual surge de cada lado del hueso púbico. El músculo iliococcígeo es la parte delgada y posterior del elevador del ano y se origina lateralmente a el arco tendinoso del elevador del ano y de la espina isquial y las fibras musculares provenientes de un lado del lado opuesto del rafe iliococcigeal y del cóccix (Corton y cols. 2008) (Ashton-Miller y DeLancey 2007) El modelo de investigación animal más usado es el modelo en ratas para investigar el prolapso de órganos pélvicos así como la incontinencia fecal y urinaria. El elevador del ano en ratas su principal función es dar soporte a la cola (Poortmans y Wyndaele 1988) Estudios de estimulación eléctrica realizados en humanos por Shafik y El-Sibai (2001) encontraron que la

contracción del elevador del ano durante la presión anal y uretral ayudan al proceso de evacuación, esta es la diferencia entre la función del elevador del ano entre ratas y humanos.

1.7 INERVACIÓN DE LOS MÚSCULOS DEL PISO PÉLVICO

Los músculos del piso pélvico se encuentran inervados por el nervio pélvico y el nervio pudendo, los cuales tienen componentes sensoriales que juegan un rol importante en la reproducción. El nervio pélvico recibe inervación aferente de la vagina de la piel peri genital, así como del cérvix, facilitando la respuesta de lordosis induciendo la receptividad sexual, así como también modifica los reflejos espinales y craneales. (Harrington y cols. 1967). El nervio pudendo recibe información sensitiva de la piel peri genital, así como del clítoris y juega un rol importante en la regulación de la receptividad sexual en las ratas hembras (Kow y cols. 1975). Estos dos nervios se distribuyen en la espina dorsal en las vértebras L6 y S1. El músculo iliococcígeo y el músculo pubococcígeo son inervados por la rama somatomotora del nervio pélvico que está compuesta por axones motores aferentes provenientes de los segmentos espinales L6 y S1 (Manzo y cols. 2000). El nervio pélvico forma una rama proveniente de L6 y S1, donde los nervios viajan caudalmente aproximadamente 10 mm en una dirección dorsal a ventral, después ocurre una bifurcación, en la cual una rama de esta bifurcación viaja a través de la línea media del cuerpo dando lugar a la rama viscero-cutanea. La otra rama es del componente muscular del nervio pélvico la cual es más compacta y viaja caudalmente dando una bifurcación después de los 5 mm, y una rama de esta bifurcación muscular inerva el músculo iliococcígeo y más caudalmente inerva al músculo pubococcígeo. (Pacheco y cols. 1997; Pacheco y cols. 1989)

2. ANTECEDENTES

2.1 HIPÓTESIS DE LOS ORÍGENES DE LA SALUD Y LA ENFERMEDAD

La programación fetal se define como un proceso de adaptación en el que la nutrición y otros factores ambientales u hormonales modulan el crecimiento y la adaptación del feto en el útero de la madre, induciendo cambios en el metabolismo postnatal (Ramírez y cols. 2012). La programación fetal se centra bajo la hipótesis de los orígenes de enfermedades metabólicas como: la obesidad, síndrome metabólico, enfermedades cardiovasculares, hipertensión arterial y diabetes mellitus, las cuales aparecen en respuesta a factores maternos y placentarios que se predisponen durante la vida fetal. (Barker 1992). Las adaptaciones fetales son la causa de cambios permanentes en la estructura y fisiología del organismo, que finalmente derivan en el desarrollo de enfermedades en la vida adulta. El crecimiento y el desarrollo del feto están determinados por tres factores: el estado nutricional de la madre, la función placentaria y la capacidad del feto para utilizar los nutrientes; en este último factor el feto puede cambiar su metabolismo, por ejemplo, cambiando la oxidación de la glucosa a la de aminoácidos o redistribuir el flujo sanguíneo para proteger los órganos más importantes como el cerebro e incluso puede tener un crecimiento más lento para disminuir las exigencias del metabolismo (Ramírez y cols. 2012) (Figura 5). Entre los factores maternos que modulan el crecimiento y adaptación del feto en el útero la nutrición juega un papel importante, ya que modula la función de varios tejidos con actividad metabólica en la vida posnatal (Boney y cols. 2005). Estudios realizados en modelos animales han observado que modificaciones en la dieta de animales preñadas pueden dar lugar a cambios fisiológicos o bioquímicos en las crías durante la vida adulta (Barker y cols. 1993), puesto que durante la gestación los órganos principales que reciben una mayor parte de nutrientes dentro del feto son el cerebro, el hígado y el músculo esquelético. En el músculo esquelético al principio de la etapa fetal existe una mayor expresión de fibras musculares tipo IIa, y las fibras de tipo IIb se desarrollan en etapas gestacionales más tardías así como la expresión de la función metabólica de las fibras musculares se establece antes del nacimiento (Tilley y cols. 2007) (Fahey y cols. 2005). Por lo cual se ha establecido que el músculo esquelético es un objetivo clave para la programación

fetal, ya que un cambio en el ambiente intrauterino podría afectar la composición y función del músculo esquelético en la vida adulta (Malenfant y cols. 2001; Schuker y cols. 2006) (Figura 5).

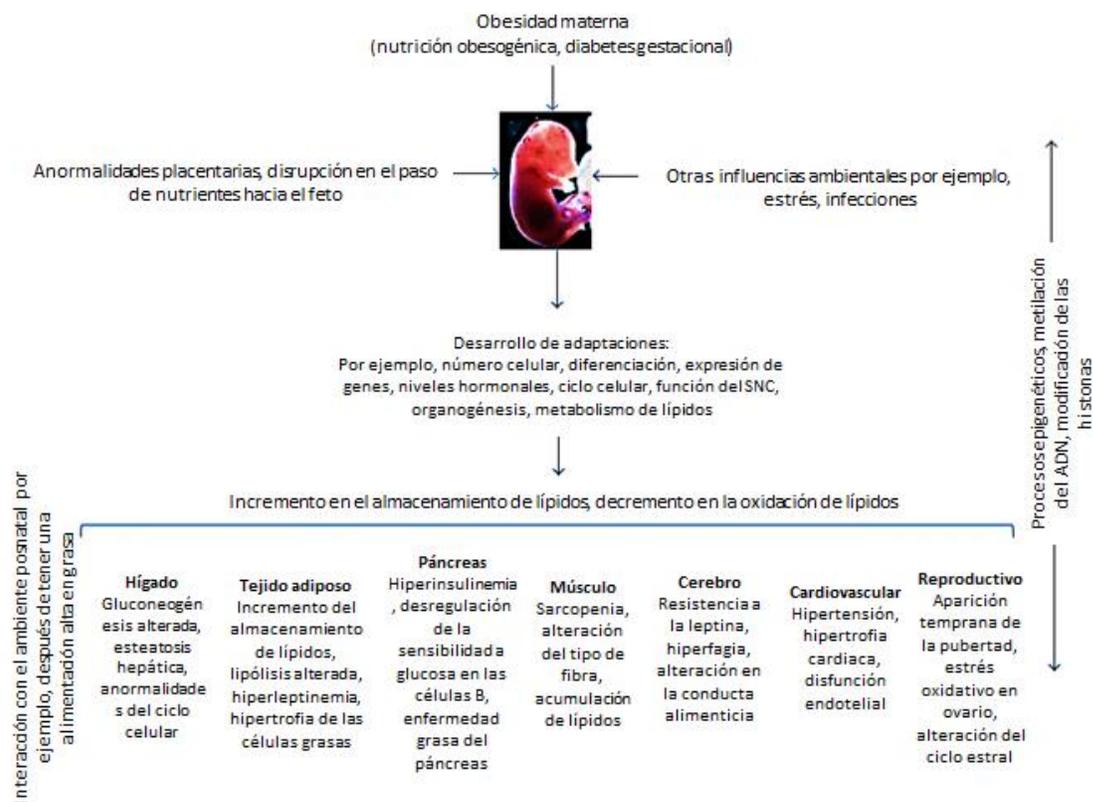


Figura 5. Programación fetal y sus consecuencias de un ambiente materno adverso. Imagen tomada y modificada de Review Article Maternal Obesity and Developmental Programming of Metabolic Disorders in Offspring: Evidence from Animal Models. Modificado de Li y cols. 2011.

Asimismo La proliferación de células progenitoras miogénicas es altamente sensible a la cantidad de nutrientes disponibles para su desarrollo, por lo tanto la nutrición materna afecta drásticamente el desarrollo del músculo esquelético durante la etapa de gestación (Zhu y cols. 2004; Zhu y cols. 2008; Tong y cols. 2009; Yan y cols. 2010). Consecuentemente comparado con el cerebro y el corazón, el músculo esquelético tiene una baja prioridad para la repartición

de nutrientes lo cual hace que el desarrollo del músculo esquelético sea especialmente vulnerable a las deficiencias nutricionales (Zhu y cols. 2006). El proceso de miogénesis es regulado por diferentes factores entre ellos la nutrición, y cualquier modificación en los patrones alimenticios pudiera desencadenar alteraciones en la morfología del músculo. (Figura 6)

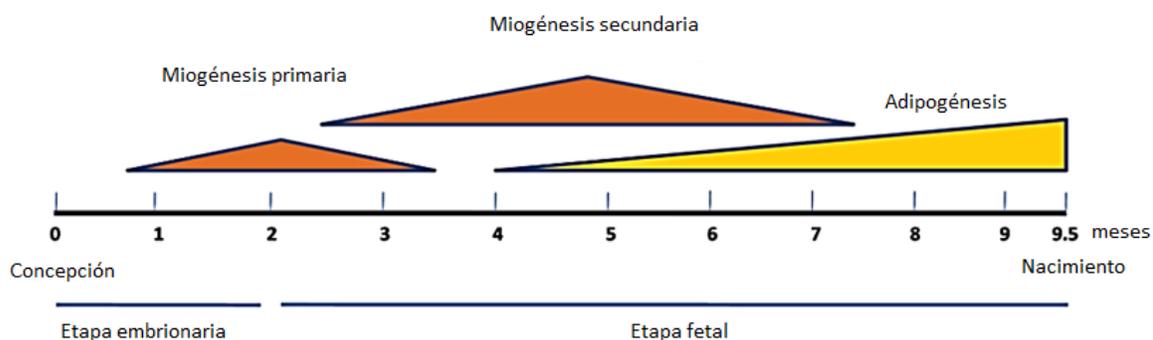


Figura 6 Desarrollo del músculo esquelético en vaca durante la gestación. Imagen tomada y modificada de Du y cols. 2010. Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals.

Igualmente se han descritos cambios en el metabolismo de las fibras musculares debidas al tipo de nutrición materna durante la gestación (Vázquez-Mendoza y cols. 2017). Por consiguiente la nutrición durante la gestación es de vital importancia para el buen desarrollo del tejido muscular.

3. JUSTIFICACIÓN

Estudios realizados sobre el alto consumo de carbohidratos así como una dieta obesogénica en diferentes etapas del desarrollo han sido relacionados con diferentes modificaciones

metabólicas, anatómicas e histológicas, en el músculo esquelético, sin embargo estos estudios han sido realizados en miembros de las extremidades superiores e inferiores así como respiratorias dejando de lado la musculatura estriada del área pélvica. La musculatura pélvica se ha propuesto juega un papel importante en procesos fisiológicos como la continencia urinaria y fecal así como en las funciones reproductivas. De igual manera estos estudios han sido realizados en etapas determinadas del desarrollo y han sido pocos los trabajos en donde se aborda desde la etapa de gestación hasta la vida adulta, tomando en cuenta que la etapa de gestación es una de las principales ventanas críticas del desarrollo del musculo esquelético y que cualquier factor incluyendo la nutrición que intervengan durante esta etapa se verá reflejada en el desarrollo de la descendencia. En la actualidad el abuso en la ingesta de bebidas azucaradas ha desencadenado una serie de alteraciones metabólicas afectando la anatomía y fisiología de la musculatura estriada. En 2015 Xicoténcatl y cols. administrando agua azucarada al 5% durante la gestación y lactancia encontraron cambios histológicos así como una disminución en el área transversal de las fibras musculares, en los cambios morfométricos se observó una disminución en el tamaño y peso del músculo y cambios funcionales en el músculo pubococcígeo. Entre los cambios funcionales mostró que el músculo pubococcígeo participa en el reflejo uretrogenital en la rata macho adulta y que su actividad eléctrica se ve modificada por el consumo de agua con sacarosa y esto probablemente afecte los mecanismos que regulan la expulsión seminal. Al momento de registrar el musculo pubococcígeo se registró de manera simultánea al músculo iliococcígeo que también forma parte de los músculos del piso pélvico y se vio que ambos músculos tienen diferentes fases de activación durante el reflejo uretrogenital, por lo que este trabajo está encaminado a determinar la morfología del músculo iliococcígeo ya que actualmente se encuentra poca literatura que haga referencia a dicho músculo, sabiendo que forma parte de estructuras de suma importancia fisiológica tanto reproductiva como no reproductiva.

4. HIPÓTESIS

El consumo de agua azucarada prenatal y postnatal disminuye el área transversal de las fibras y aumenta la expresión de colágeno en el músculo iliococcígeo de la rata macho.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar cambios en la histología del músculo iliococcígeo por efecto del consumo de agua azucarada durante la vida prenatal y posnatal.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar cambios morfológicos de las crías al nacimiento.
- Registrar el peso diario de los grupos de estudio durante los dos periodos de estudio (lactancia y pos destete).
- Registrar el consumo de agua y alimento diario durante el periodo de estudio.
- Cuantificar el peso absoluto del músculo iliococcígeo en los grupos.
- Determinar la morfología gruesa del músculo iliococcígeo de los grupos de estudio.
- Caracterizar la morfología del músculo iliococcígeo por medio de la tinción de Hematoxilina y Eosina.
- Determinar la expresión de colágeno dentro del músculo iliococcígeo por medio de la tinción Tricrómica de Masson.

6. METODOLOGÍA

6.1 ANIMALES

El cuidado y el uso de los animales se llevaron a cabo bajo la Norma Oficial Mexicana en el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio NOM-062-ZOO-1999.

Se utilizaron doce ratas hembras adultas de la cepa Wistar de tres meses de edad, con un peso promedio de 230-260g, las cuales se mantuvieron en condiciones de bioterio, con un fotoperiodo de 12/12 horas, con ciclo luz-oscuridad invertido y temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, con alimento (Chow 5001 Purina®) y agua *ad libitum*, las cuales sirvieron para obtener las crías macho con las que se formaron el grupo control y experimentales. El día del apareamiento fue considerado como el día 0 (cero) de la gestación, y a partir del día 1 se midió el consumo de agua y alimento diario durante el periodo de gestación y lactancia.

Al día siguiente del parto se tomaron las medidas morfométricas de las crías: peso, largo circunferencia abdominal, circunferencia cefálica, y distancia ano-genital, posteriormente las camadas se ajustaron de 8-10 crías para estandarizar la demanda alimenticia durante la lactancia. El destete fue realizado al día 22 después del nacimiento y se asignaron aleatoriamente los machos a los diferentes grupos experimentales.

6.2 GRUPOS EXPERIMENTALES

GRUPO CONTROL: PROVENIENTES DE MADRES QUE CONSUMIERÓN AGUA SIMPLE

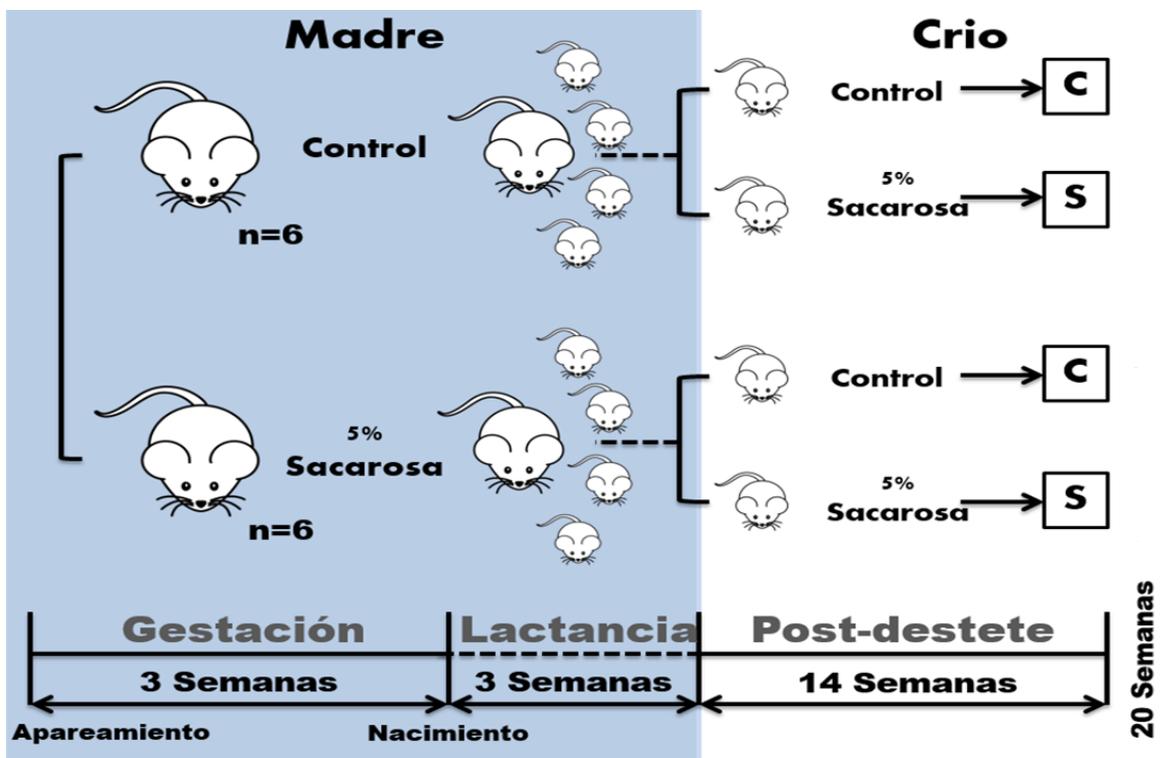
CC: Seis ratas macho descendientes de madres que consumieron agua simple durante la gestación y que a partir del destete consumieron agua simple.

CS: Seis ratas macho descendientes de madres que consumieron agua simple durante la gestación y que a partir del destete consumieron agua con azúcar al 5%.

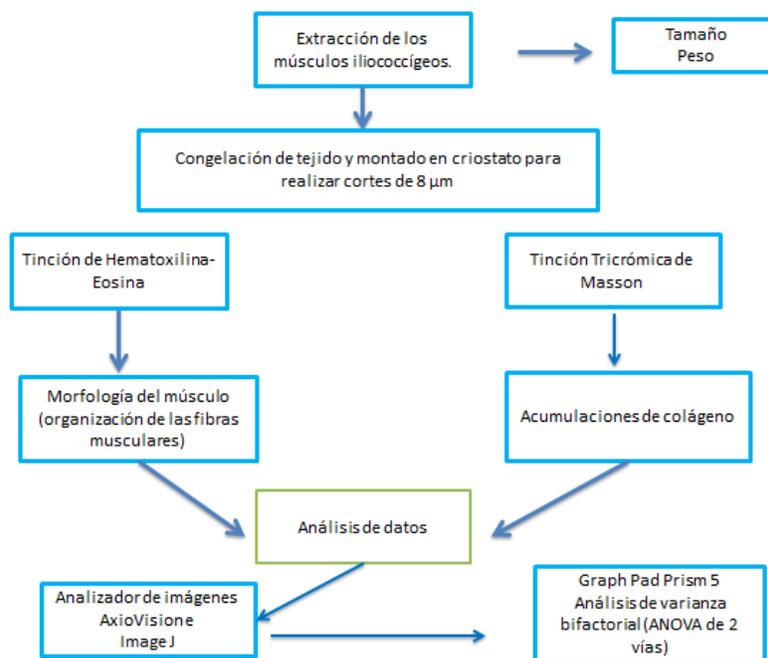
GRUPO EXPERIMENTAL: PROVENIENTES DE MADRES QUE CONSUMIERON AGUA CON AZÚCAR AL 5%

SC: Seis ratas macho descendientes de madres que consumieron agua con azúcar al 5% durante la gestación y que a partir del destete consumieron agua simple.

SS: Seis ratas macho descendientes de madres que consumieron agua con sacarosa al 5% durante la gestación y que a partir del destete consumieron agua con sacarosa al 5%.



DISEÑO EXPERIMENTAL



6.3. DETERMINACIÓN DE LA GANANCIA DE PESO DURANTE LA LACTANCIA

Al día 22 posnatal se llevó a cabo el destete de las crías y se calculó la ganancia de peso del periodo de lactancia mediante la diferencia de la semana tres posnatal menos el peso al nacer.

6.4 DETERMINACIÓN DE LA GANANCIA DE PESO DURANTE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS

La ganancia de peso fue calculada tomando el peso de la semana tres (cuando se realizó el destete y se asignaron a diferentes grupos de estudio) y el peso de la semana 17 mediante la siguiente fórmula (peso de la semana final de tratamiento - peso de la semana en que se realizó el destete).

6.5 IDENTIFICACIÓN DEL MÚSCULO ILIOCOCÍGEO

Se origina en la zona blanda en el borde ventromedial del arco tendinoso del elevador del ano y se inserta la parte ventral de la cola (parte baja del sacro y última vértebra coccígea). (Imagen 1)

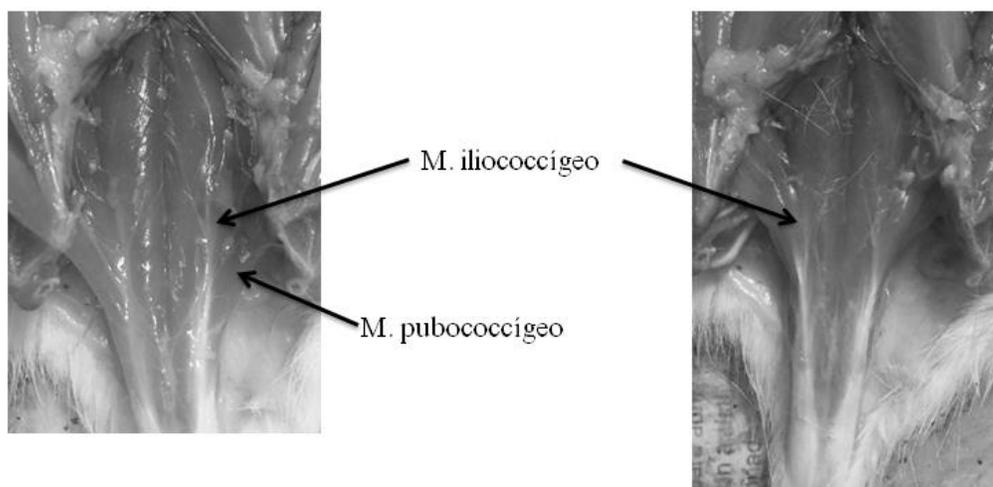


Imagen 1. Localización anatómica del músculo iliococcygeo.

La medición del músculo iliococcygeo se realizó antes de aislar el musculo utilizando un vernier. El largo se tomó desde la parte de su origen hasta su inserción en el arco tendinoso del elevador del ano y posteriormente se midió el ancho con ayuda de un vernier. (Imagen 2)

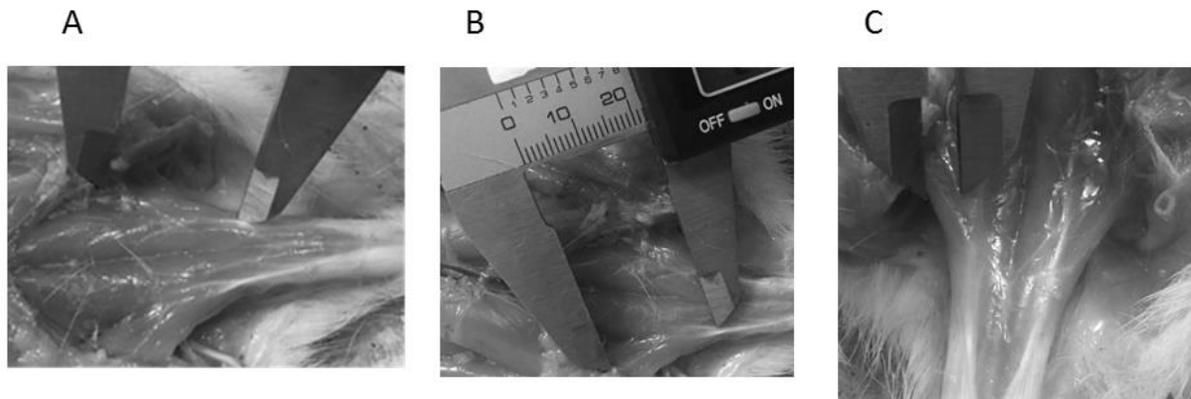


Imagen 2. Medición del largo del músculo iliococígeo (A, B), medición del ancho del músculo Iliococígeo (C).

- Aislamiento del músculo iliococígeo

Se realizó una incisión longitudinal sobre la línea media de la piel abdominal removiendo el músculo obturador externo, la sínfisis púbica y el músculo obturador interno, conjuntamente con el recto y el ano, asimismo se disecto primero el músculo pubococígeo y posteriormente se tomó como referencia el tendón del musculo iliococígeo que se encuentra en la inserción ventral de la cola, una vez localizado se procedió a cortar el tendón y se levantó hacia la parte ventral delimitándose hasta llegar al arco tendinoso del elevador del ano. (Imagen 3)



Imagen 3. Aislamiento del músculo iliococígeo.

6.6 ANÁLISIS HISTOLÓGICO DEL MÚSCULO ILIOCOCÍGEO

Los músculos se pesaron y se congelaron con isopentano, posteriormente se mantuvieron a -80°C hasta su montaje en el criostato donde se realizaron secciones transversales seriadas de $8\mu\text{m}$ de grosor, los músculos fueron cortados a en la porción media transversalmente, montados en una solución criopreservadora (Tissue-Tek®, USA) y cortados en criostato (CM-1100, Leica Biosystems, Germany) a una temperatura de -25°C , se recolectaron en laminillas donde se tiñeron con la tinción de Hematoxilina y Eosina. Los cortes teñidos con la tinción de Hematoxilina-Eosina se utilizaron para la medición de las áreas transversales, posteriormente se procedió a tomar fotos de cada corte en un microscopio óptico Zeiss (Axio Imager A1) con una cámara digital acoplada OLYMPUS C-5060 a 10x. Para la reconstrucción de las microfotografías se utilizó el programa Adobe Photoshop Versión 8.0.1. y posteriormente para el análisis de las fotos se utilizó el programa Axio Visión SE64 Rel. 4.9.1 e Image J. (Figura 6)

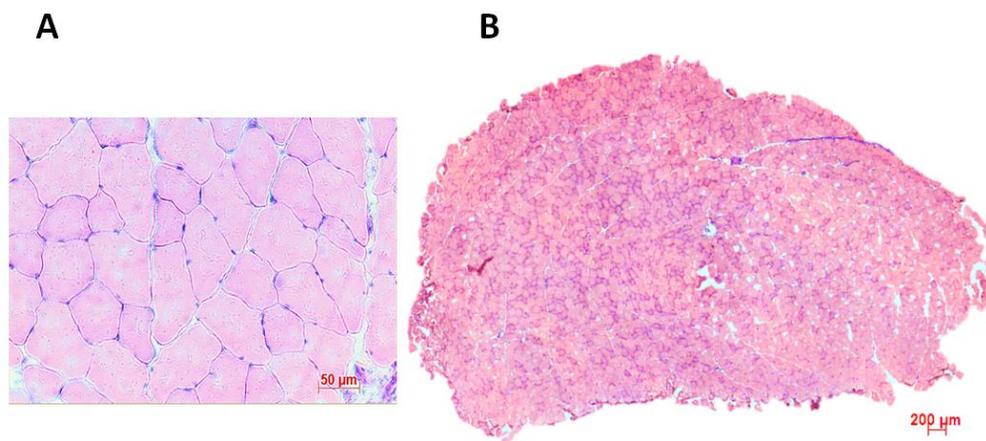


Figura 6. A) Fotomicrografía de un cuadrante seleccionado aleatoriamente con tinción de Hematoxilina-Eosina (10X) del músculo iliococígeo. B) Reconstrucción total de un corte del músculo iliococígeo con tinción de Hematoxilina- Eosina (10X).

Para la medición del área transversal de las fibras musculares, se determinaron áreas de medición para lo cual se realizó un cuadrante donde se eligieron las áreas de interés para tener

una muestra representativa del músculo completo, como criterio de inclusión se seleccionaron las fibras que mantuvieron una morfología conservada que incluye una membrana plasmática bien definida y el núcleos marcados en la periferia, se midieron 20 fibras musculares por cuadrante dando un total de 100 fibras por corte, posteriormente las medidas se pasaron a una base de datos en el programa GraphPad Prism 5 donde se hicieron los análisis estadísticos.

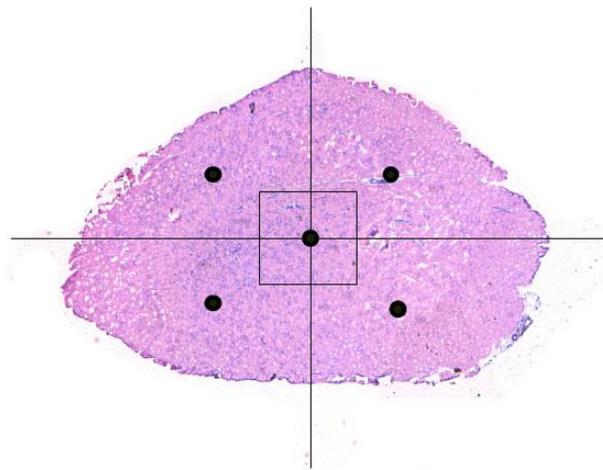


Figura 7. Reconstrucción de un corte total del músculo iliococcígeo. Se muestran con un punto las áreas que se determinaron para la medición de las áreas transversales.

6.7 DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE COLÁGENO.

Para la determinación de la expresión de colágeno en las fibras musculares se utilizó la tinción Tricrómica de Masson, previamente se realizó el mismo procedimiento anterior de mantenimiento y cortado de los tejidos así como la captura y la reconstrucción de fotos de cada corte; se utilizó el programa Image J donde se marcaron los sitios que expresaban colágeno. Posteriormente se hizo una relación entre el área total del corte y la cantidad de colágeno marcada. Los resultados fueron expresados en porcentaje (Figura 8).

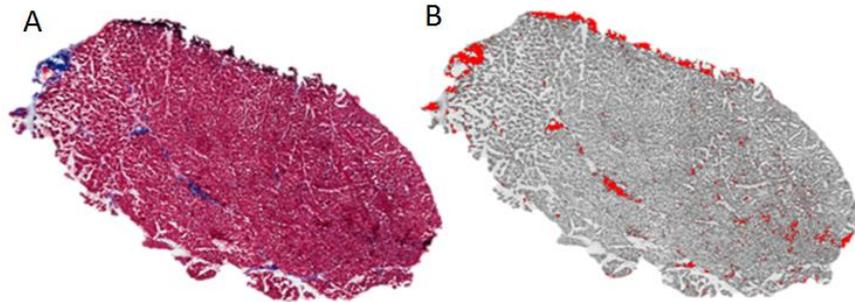


Figura 8. A) Corte transversal del músculo iliococcígeo teñido con la tinción Tricrómica de Masson. B) Imagen del mismo corte transversal del músculo iliococcígeo convertida a escala de grises en el programa Image J, en color rojo se marcan las expresiones de colágeno marcadas en color azul en la figura A.

6.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

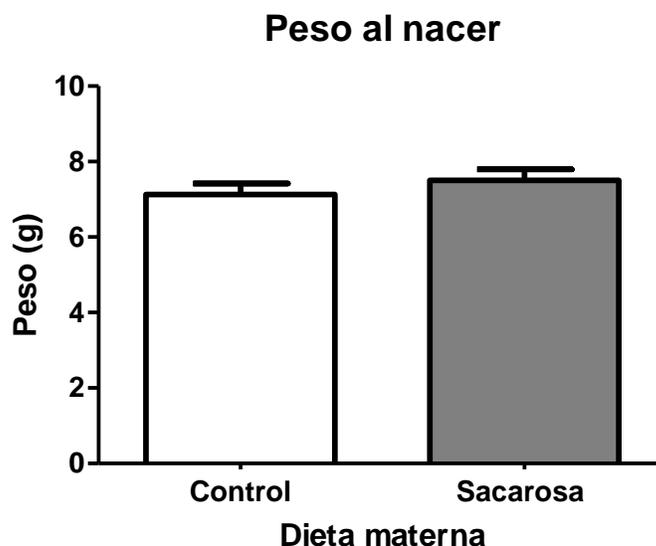
El análisis morfométrico se llevó a cabo por medio del analizador de imágenes AxioVision. Los datos fueron analizados con el programa GraphPad Prism Versión 5.00. Para los datos al nacimiento se utilizó una T de Student y se utilizó un análisis de varianza bifactorial (ANOVA), donde se consideró como primer factor el consumo de agua azucarada (C y S) y como segundo factor el tiempo de exposición (prenatal y postnatal). Únicamente cuando se encontró significancia estadística por el efecto de alguno de los dos factores se realizó la comparación post hoc con el test de Bonferroni entre los grupos. Las diferencias con valores de $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativas.

7. RESULTADOS

7.1 MORFOMETRÍA

7.1.1 Parámetros morfométricos al nacer de las crías utilizadas en el proyecto

El peso al nacer de crías no fue modificado por los tratamientos a los cuales se sometieron sus madres durante la gestación. Se realizó el análisis estadístico T-Student donde los pesos fueron similares tanto en las crías de la madres que consumieron sacarosa al 5% (7.50 ± 0.15 g, $p > 0.05$) respecto al grupo de crías de las madres control (7.12 ± 0.29 g $p > 0.05$) no se observaron diferencias estadísticamente significativas $p = 0.3845$ (Gráfica 1).



Gráfica 1. Peso de las crías al nacer. Se muestra la media \pm e.e de las crías provenientes de madres control y madres que consumieron sacarosa durante la gestación. T-Student $P = 0.3845$ $t = 0.9095$ $df = 10$ ($n = 6$ /grupo).

Al nacimiento de las crías se tomaron diferentes mediciones morfológicas para comparar si había alguna modificación dada por el efecto del consumo de agua azucarada durante la gestación, las medidas que se tomaron fueron las siguientes: longitud al nacer, circunferencia

cefálica, circunferencia abdominal, distancia ano-genital (Tabla 2). Se realizó análisis estadístico T-Student para cada parámetro medido, no hubo diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 2. Longitud, circunferencia cefálica, circunferencia abdominal y distancia ano-genital.

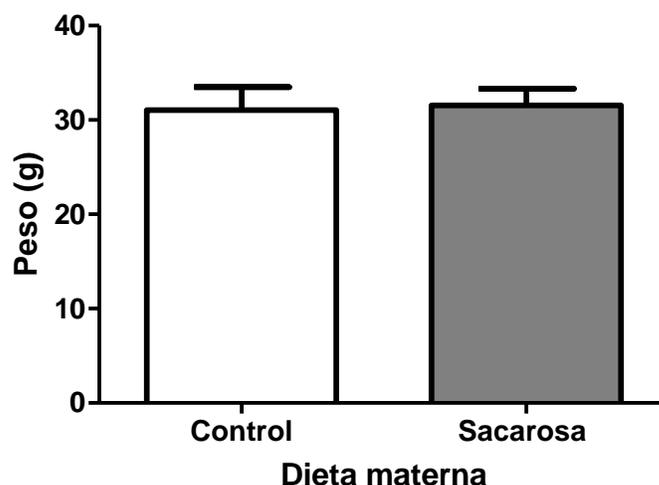
| Parámetros | Control | Sacarosa 5% | P |
|-------------------------------|---------------------|-----------------------|---------------|
| Longitud (mm) | <u>49.12 ± 0.56</u> | <u>50.47 ± 0.3828</u> | <u>0.0746</u> |
| Circunferencia cefálica (mm) | <u>12.03 ± 0.31</u> | <u>12.29 ± 0.46</u> | <u>0.6564</u> |
| Circunferencia abdominal (mm) | <u>14.82 ± 0.89</u> | <u>15.44 ± 0.42</u> | <u>0.5488</u> |
| Distancia ano-genital (mm) | <u>3.45 ± 0.15</u> | <u>3.42 ± 0.18</u> | <u>0.9116</u> |

El análisis se llevó a cabo por medio del análisis estadístico T-Student sin mostrar diferencias significativas.

7.1.2 GANANCIA DE PESO DURANTE LA LACTANCIA

Al día 21 posnatal se llevó a cabo el destete de las crías y se calculó la ganancia de peso del periodo de lactancia mediante la diferencia de la semana tres posnatal menos el peso al nacer. La ganancia de peso de las crías durante la lactancia no se vio afectado por el tratamiento de la madre durante esta etapa, las crías del grupo control pesaron 31.06 ± 2.4 g y las crías del grupo sacarosa 31.54 ± 1.78 g ($P=0.8787$). (Gráfica 2)

Ganancia de peso de las crías durante la lactancia

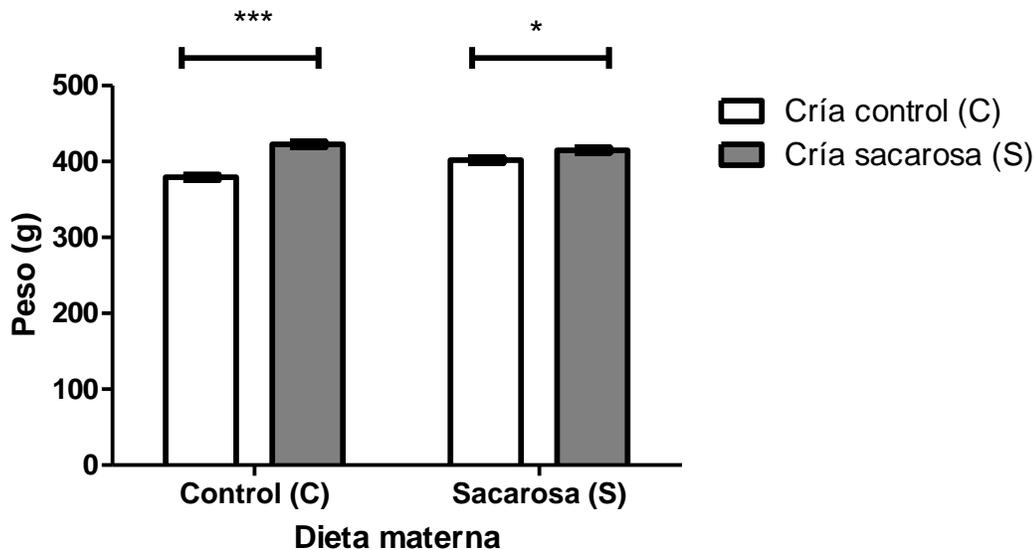


Gráfica 2. Ganancia de peso de las crías durante la lactancia. Se muestra la media \pm e.e. T-Student $P=0.8787$ $t=0.1566$ $df=10$ ($n=6$ /grupo).

7.3 GANANCIA DE PESO DURANTE LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS

La ganancia de peso fue calculada de la semana tres (cuando se realizó el destete y se asignaron a diferentes grupos de estudio) a la semana 17 mediante la siguiente fórmula (semana final de tratamiento – semana en que se realizó el destete). Los valores promedio de la ganancia de peso para el grupo de crías provenientes de madres control y crías control al destete (CC) fue de 321.80 ± 9.13 g, para el grupo de crías provenientes de madres control y que después del destete consumieron agua con sacarosa al 5% (CS) de 358.62 ± 13.01 g, del grupo de crías provenientes de madres que consumieron agua con sacarosa al 5% y que posterior al destete consumieron agua simple (SC) de 343.78 ± 9.92 g y para el grupo de crías provenientes de madres que consumieron agua con sacarosa al 5% y que posterior al destete siguieron consumiendo agua con sacarosa al 5% (SS) de 354.99 ± 14.73 g. Se muestran diferencias significativas entre los grupos que consumieron sacarosa post-lactancia $*P<0.05$, $***p<0.001$ ANOVA de dos vías ($n=6$ /grupo) (Dieta materna prenatal $F_{1, 1,20}= 3.988$ $P=0.0596$) (Dieta de crías posnatal $F_{2, 1,20}= 59.46$ $P<0.0001$) (Interacción de los dos factores $F_{1, F_2, 1, 20}=16.95$ $P=0.0005$). (Gráfica 3)

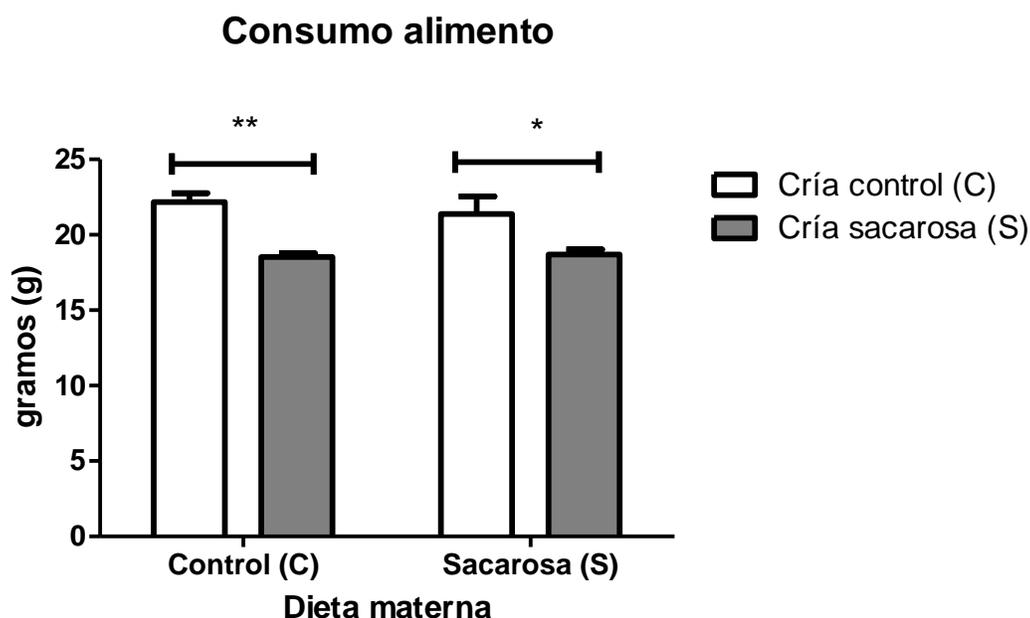
Ganancia de peso al final del tratamiento



Gráfica 3. Ganancia de peso al final del tratamiento. Se muestra la media \pm e.e Diferencia significativa. ANOVA de dos vías y pos-hoc de Bonferroni *** $P < 0.001$, * $P < 0.05$ (n=6/grupo).

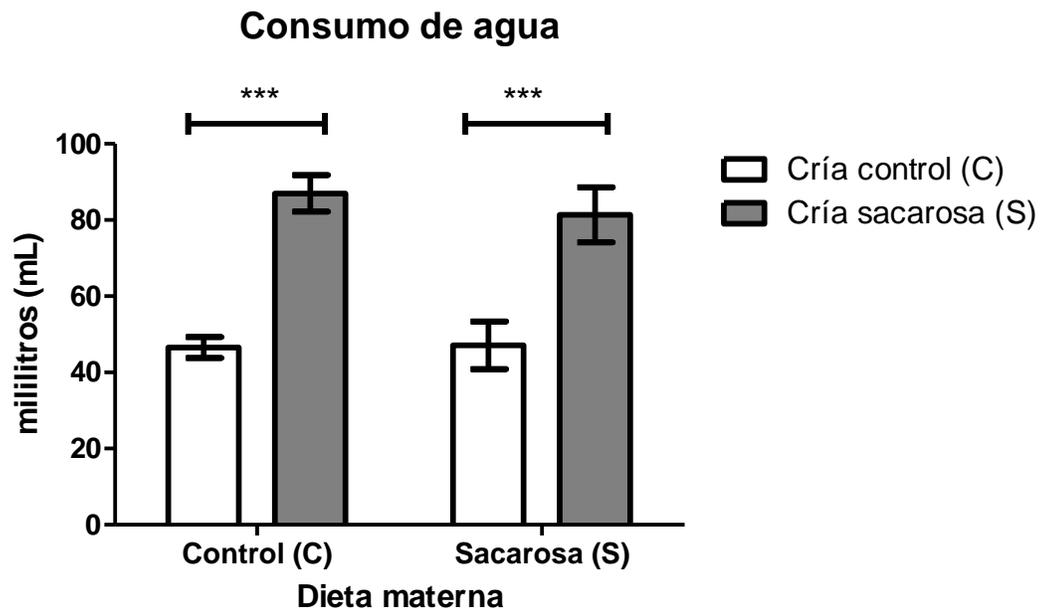
7.4 CONSUMO DE ALIMENTO Y AGUA

El consumo de alimento promedio de los grupos se vio disminuido por aquellos grupos que consumieron agua con sacarosa en la vida posnatal, los valores promedio fueron los siguientes Madre Control – Crío Control (CC) fue de 22.17 ± 1.46 g, del grupo Madre Control – Crío Sacarosa (CS) de 18.52 ± 0.62 g, para el grupo Madre Sacarosa – Crío Control (SC) de 21.38 ± 2.85 g y del grupo Madre Sacarosa – Crío Sacarosa (SS) de 17.70 ± 2.45 g. (Dieta materna prenatal $F_{1, 1,20} = 0.1998$, $P = 0.6597$) (Dieta de crías posnatal $F_{2, 1,20} = 21.20$, $P = 0.0002$) (Interacción de los dos factores $F_{1, 2, 1, 20} = 0.5033$ $P = 0.4862$). Se muestran diferencias significativas entre los grupos que consumieron sacarosa post-lactancia (CC vs CS y SC vs SS (Gráfica 4).



Gráfica 4. Consumo de alimento. Se muestra la media \pm e.e. Diferencia significativa ANOVA de dos vías, pos hoc de Bonferroni ** $P < 0.01$ * $P < 0.05$. CC (Madre Control – Crío Control), CS (Madre Control – Crío Sacarosa) SC (Madre Sacarosa – Crío Control) y SS (Madre Sacarosa – Crío Sacarosa) (n=6/grupo).

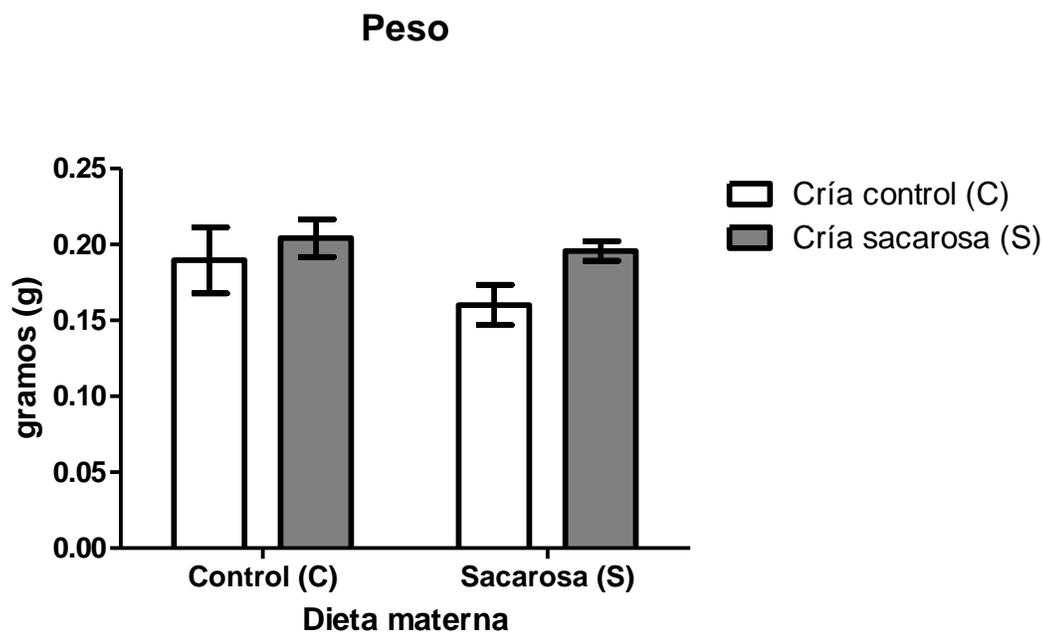
Con respecto al consumo de agua, hubo un aumento en la ingesta por parte de los grupos que consumieron agua con sacarosa en la vida posnatal, el grupo Madre Control – Crío Control (CC) consumió en promedio 46.54 ± 6.71 ml, el grupo Madre Control – Crío Sacarosa (CS) consumió 86.98 ± 11.74 ml, por otro lado, el grupo Madre Sacarosa – Crío Control (SC) consumió 47.09 ± 15.29 ml mientras que el grupo Madre Sacarosa – Crío Sacarosa (SS) consumió 81.37 ± 17.70 ml. Análisis estadístico ANOVA de dos vías con pos-hoc de Bonferroni. (Dieta materna prenatal $F_{1, 1,20} = 0.2094$, $P = 0.6522$) (Dieta de crías posnatal $F_{2, 1,20} = 45.91$, $P = 0.6522$) (Interacción de los dos factores $F_{1, F_2, 1, 20} = 0.3122$, $P = 0.5826$) (Gráfica 5)



Gráfica 5. Consumo de agua. Se muestra la media \pm e.e. Diferencia significativa *** $P < 0.0001$. ANOVA de dos vías, pos hoc de Bonferroni. CC (Madre Control – Crío Control), CS (Madre Control – Crío Sacarosa) SC (Madre Sacarosa – Crío Control) y SS (Madre Sacarosa – Crío Sacarosa) (n=6/grupo).

7.5 MORFOMETRÍA DEL MÚSCULO ILIOCOCÍGEO

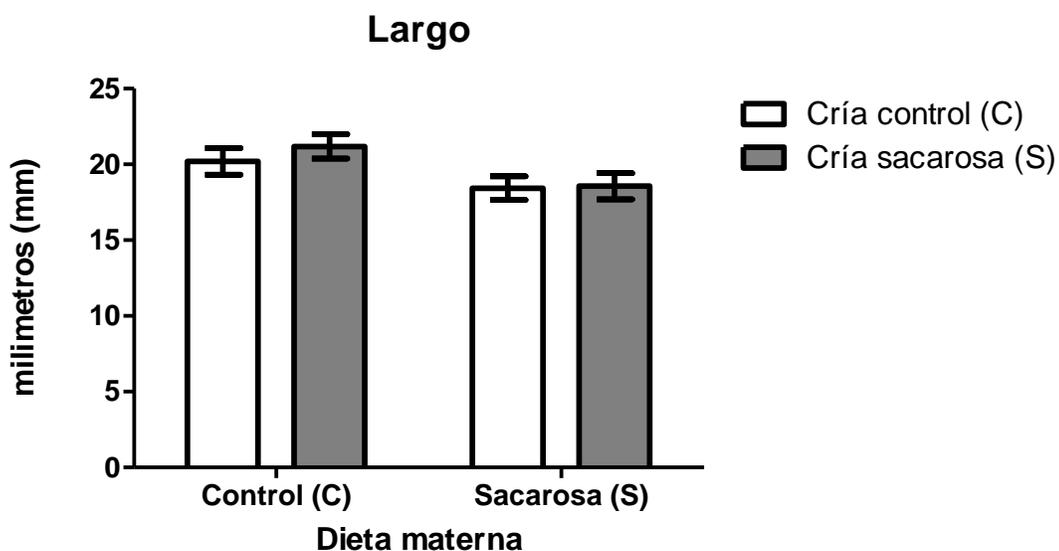
El peso del músculo iliococcígeo no fue modificado por la dieta materna ni la dieta postnatal (dieta materna prenatal $F_{1, 1, 20} = 1.695$; $p = 0.2077$; Dieta de crías posnatal $F_{2, 1, 20} = 2.983$; $P = 0.0995$). Tampoco se encontró una interacción significativa entre los factores ($F_1, F_2, 1, 20 = 0.5240$ $p = 0.4775$) (Gráfica 6)



Gráfica 6. Peso del músculo iliococcígeo. Se muestra la media \pm e.e. No hay diferencia significativa $p > 0.05$ ANOVA de dos vías, pos hoc de Bonferroni. CC (Madre Control – Crío Control), CS (Madre Control – Crío Sacarosa) SC (Madre Sacarosa – Crío Control) y SS (Madre Sacarosa – Crío Sacarosa)($n = 6$ /grupo).

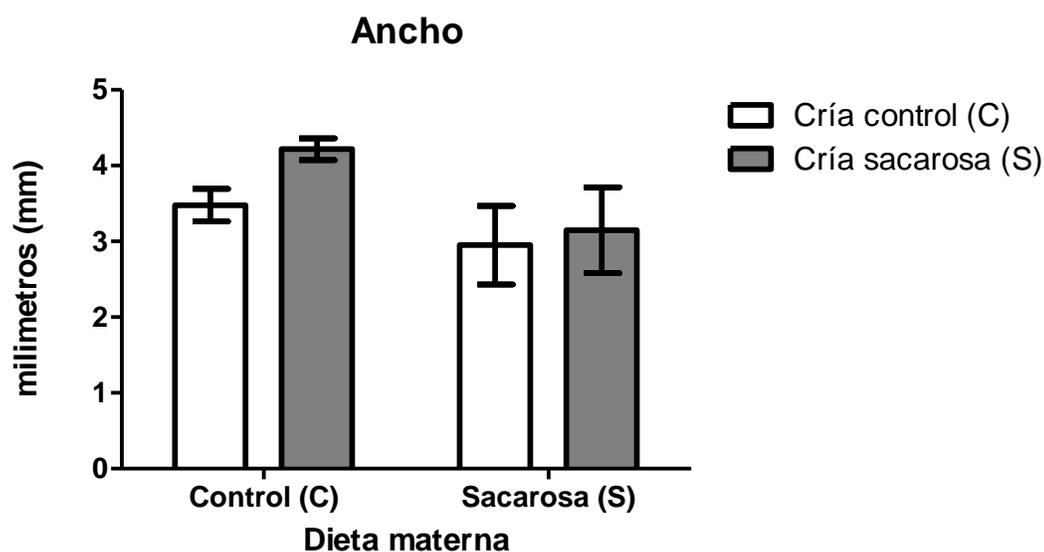
El largo del músculo iliococcígeo mostró diferencias significativas entre el grupo control y el grupo con consumo de agua azucarada durante la dieta materna ($F_{1, 1, 20} = 6.892$ $P = 0.0162$) donde hubo una disminución en el tamaño de los músculos provenientes de madres que consumieron sacarosa durante la gestación y lactancia respecto al grupo de crías provenientes de madres que consumieron agua simple en estos dos periodos. La dieta de crías posnatal ($F_{2, 1, 20} = 0.4347$, $P = 0.0162$) y la interacción de ambos factores ($F_1, F_2, 1, 20 = 0.2594$, $P = 0.6161$)

(Gráfica7).



Gráfica 7. Largo del músculo iliococcígeo. Se muestra la media \pm e.e Se observa una disminución en el largo del músculo iliococcígeo en los grupos provenientes de madres que consumieron agua con sacarosa durante la gestación y lactancia respecto a los grupos provenientes de madres que consumieron agua simple. ANOVA de dos vías $p < 0.01$ ($n=6$ /grupo).

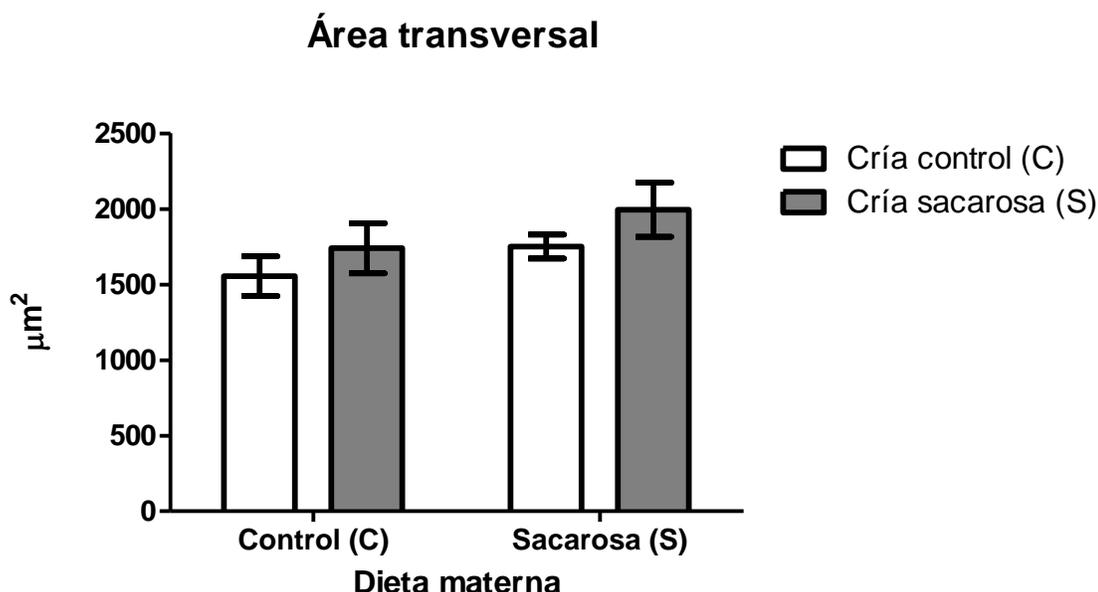
El ancho del músculo iliococcígeo no se vio modificado en los grupos provenientes de madres que consumieron agua con sacarosa durante la vida prenatal y durante la lactancia respecto a los grupo provenientes de madres que consumieron agua simple (Dieta materna; $F_{1,1, 20} = 3.877$, $P = 0.0630$); (Dieta de crías posnatal $F_{2, 1, 20} = 1.332$, $P = 0.2620$) y la interacción de ambos factores ($F_1, F_{2, 1, 20} = 0.4438$, $P = 0.5129$) (Gráfica 8).



Gráfica 8. Ancho del músculo iliococcígeo. Se muestra la media \pm e.e No hay diferencia significativa $p > 0.05$ ANOVA de dos vías, pos hoc de Bonferroni. CC (Madre Control – Crío Control), CS (Madre Control – Crío Sacarosa) SC (Madre Sacarosa – Crío Control) y SS (Madre Sacarosa – Crío Sacarosa) (n=6/grupo).

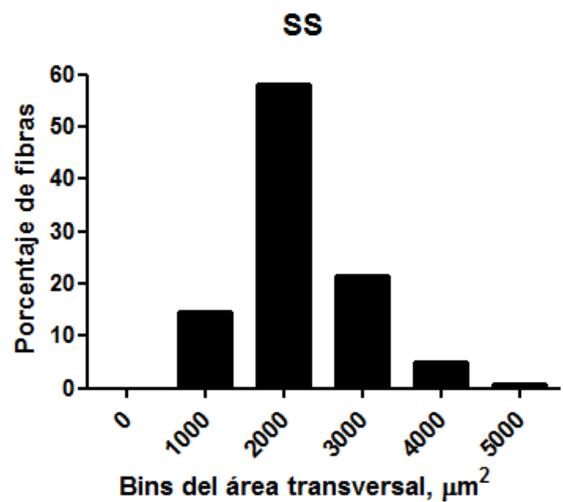
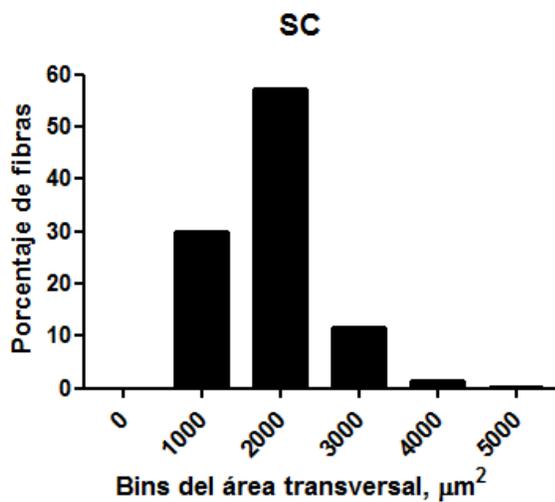
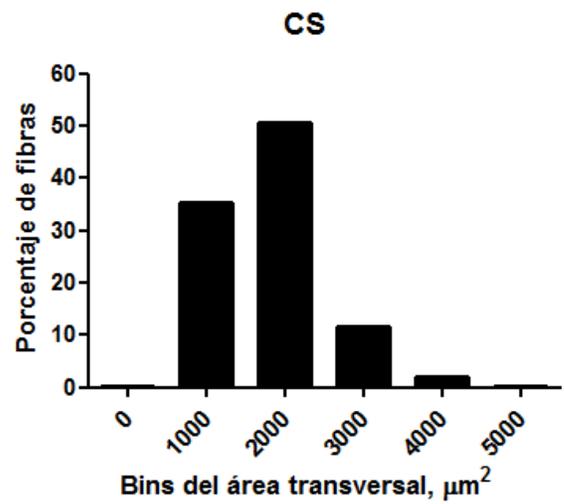
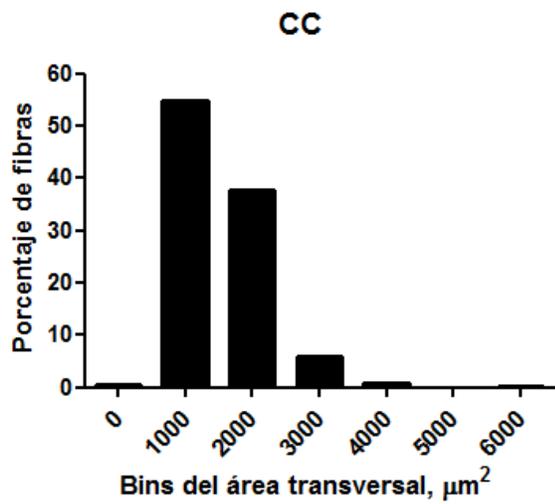
7.6 ÁREA TRANSVERSAL DE LAS FIBRAS MUSCULARES

No se encontraron diferencias significativas en el área transversal de las fibras del músculo iliococcígeo en el grupo que consumió agua azucarada al 5% durante el periodo prenatal y posnatal (dieta materna prenatal $F_{1, 1, 20} = 3.725$, $P = 0.0679$); (Dieta de crías posnatal $F_{2, 1, 20} = 3.442$, $P = 0.0783$). Tampoco se encontraron interacciones entre los factores analizados (F_1 , F_2 , $F_{1, 20} = 0.3388$, $P = 0.5670$), sin embargo, cualitativamente existe una tendencia a aumentar el área transversal de las fibras en los músculos de los individuos de los dos grupos provenientes de las madres que consumieron agua azucarada durante el periodo prenatal (Gráfica 9).

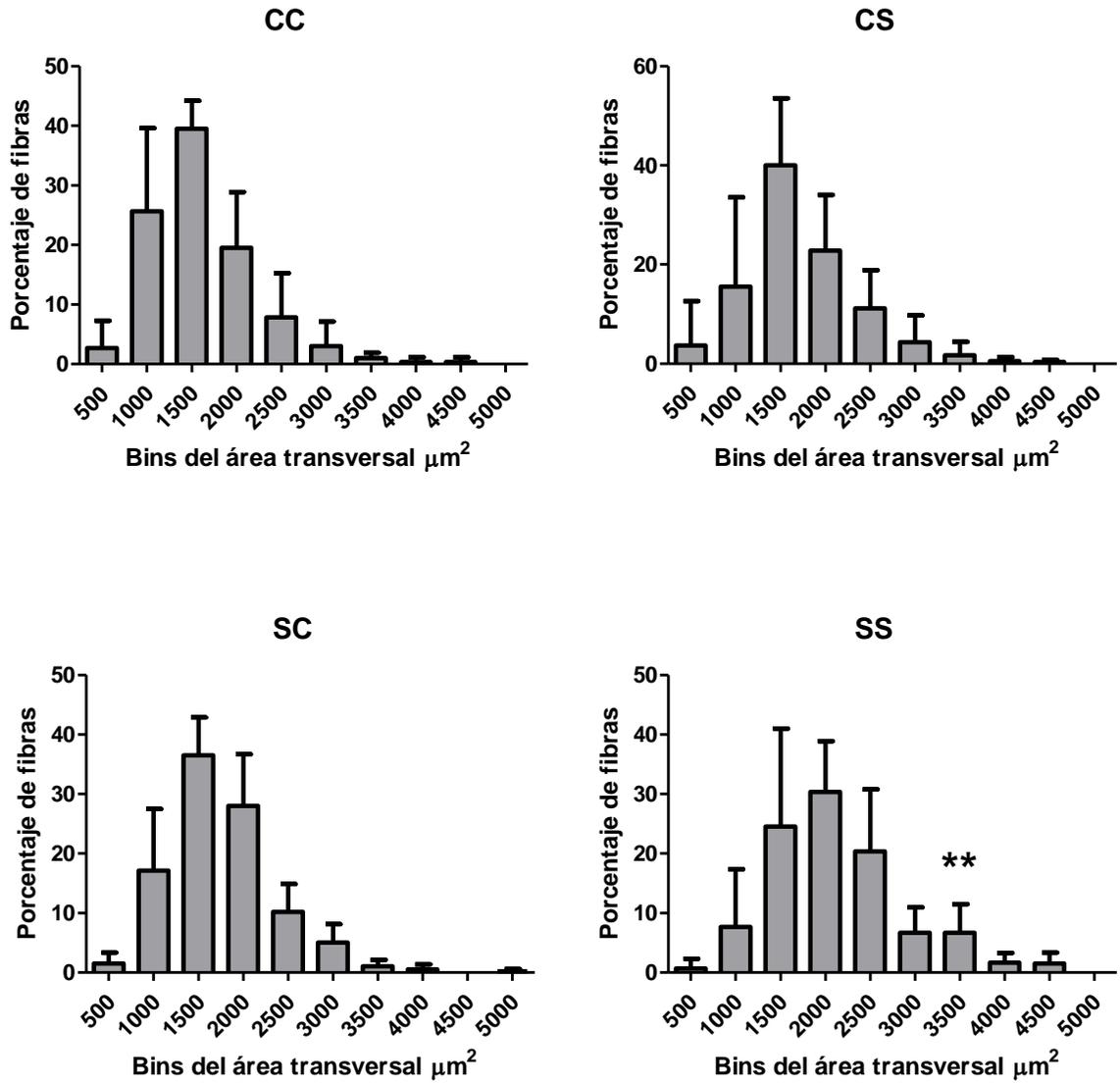


Gráfica 9.- Área transversal de las fibras musculares. Se muestra la media \pm e.e. (n=3/grupo) $p > 0.05$ ANOVA de dos vías pos hoc de Bonferroni. CC (Madre Control – Crío Control), CS (Madre Control – Crío Sacarosa) SC (Madre Sacarosa – Crío Control) y SS (Madre Sacarosa – Crío Sacarosa) (n=6/grupo).

En los histogramas de distribución del área transversal de las fibras analizadas, se puede observar que cada grupo de estudio muestra un incremento en el porcentaje de fibras con mayor área transversal en el grupo que consumió agua con sacarosa al 5% en la vida posnatal comparado con el grupo control (Gráfica 11). Al realizar el análisis estadístico entre los diferentes rangos solo salió estadísticamente significativo el bin de 3500 entre los críos que provinieron de las madres que consumieron agua con sacarosa durante la gestación y la lactancia (dieta materna prenatal $F_{1, 1, 20} = 0.0454$) (Dieta de crías posnatal $F_{2, 1, 20} = 0.0137$) y la interacción de los dos factores ($F_1, F_2, 1, 20 = 0.0454$) (Gráfica 12). Asimismo se realizó un histograma de frecuencias de distribución mostrando los cuatro grupos en la misma gráfica donde se observa en color rojo al grupo que consumió sacarosa durante toda la vida su gráfica se desplaza hacia la derecha hacia valores de rangos mayores. (Gráficas 10-12).

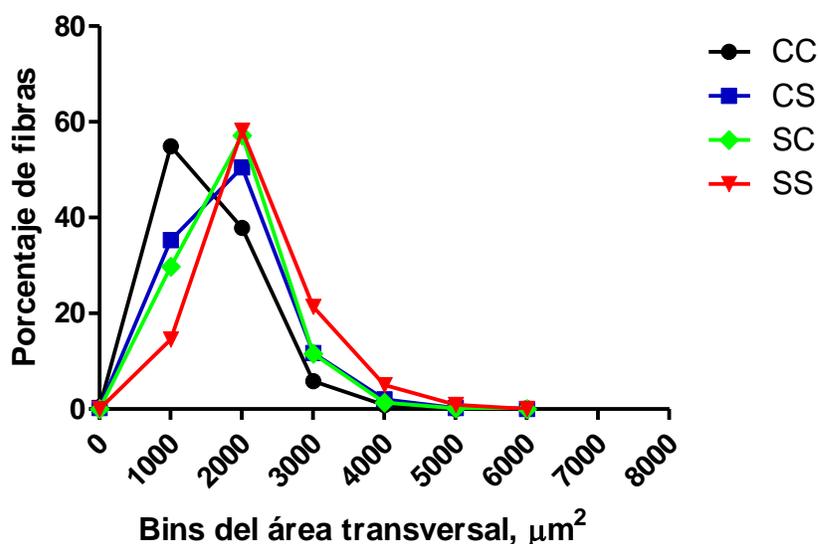


Gráficas 10. Gráficas de frecuencia de distribución del área transversal de las fibras musculares. CC (Madre Control – Crío Control), CS (Madre Control – Crío Sacarosa) SC (Madre Sacarosa – Crío Control) y SS (Madre Sacarosa – Crío Sacarosa) (n=6/grupo).



Gráficas 11. Histogramas de frecuencia de distribución. Se muestra la media \pm e.e ANOVA de dos vías pos hoc de Bonferroni. CC (Madre Control – Crío Control), CS (Madre Control – Crío Sacarosa) SC (Madre Sacarosa – Crío Control) y SS (Madre Sacarosa – Crío Sacarosa) (n=6/grupo).

Histograma de frecuencia de distribución

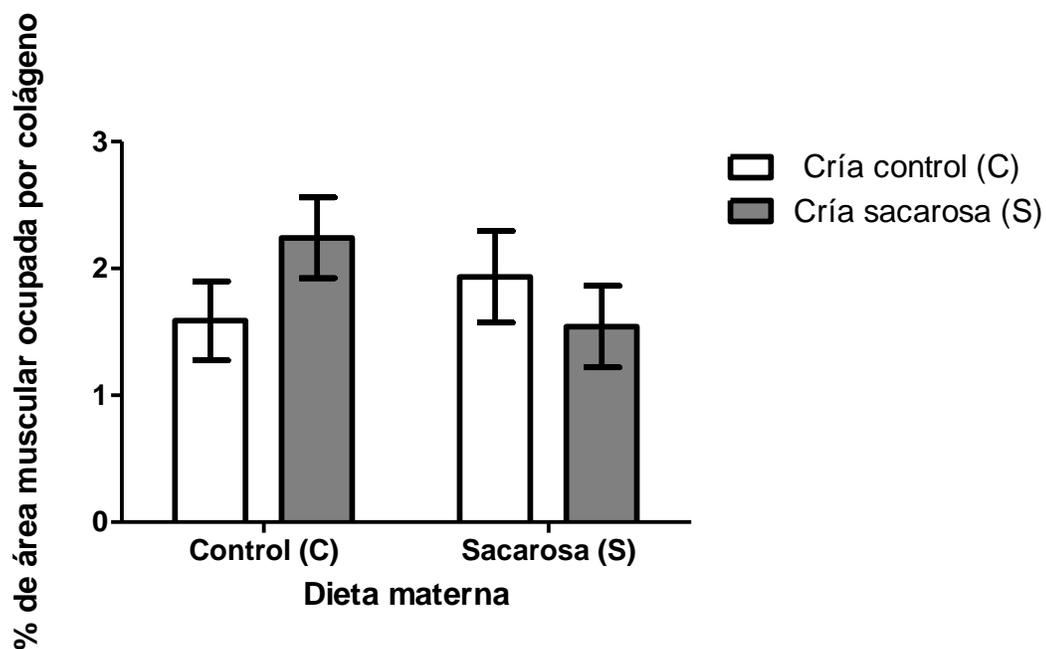


Gráfica 12. Histograma de frecuencias de distribución del área transversal de las fibras del músculo iliococciógeo, se muestran los cuatro grupos de estudio. CC (Madre Control – Crío Control), CS (Madre Control – Crío Sacarosa) SC (Madre Sacarosa – Crío Control) y SS (Madre Sacarosa – Crío Sacarosa) (n=6/grupo).

7.7 DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE COLÁGENO

El porcentaje de área muscular ocupada por colágeno no se ve modificada la expresión de colágeno en los grupos de estudio (Dieta materna prenatal $F_{1, 1, 20} = 0.2884$, $P=0.5972$; Dieta de las crías posnatal $F_{2, 1, 20} = 0.1589$ $P=0.6944$) y la interacción de los dos factores ($F_{1, 1, 20}$, $F_{2, 1, 20}=2.532$, $P=0.1272$); Gráfica 14), sin embargo se observa que el grupo que consume agua con sacarosa durante toda la vida tiene un comportamiento similar al grupo control, en contraste con los grupos a los que se les invierte el tratamiento durante la vida posnatal, los cuales muestran una tendencia a aumentar la cantidad de colágeno presente en el músculo.(Gráfica 13). Asimismo se muestra una imagen con microfotografías a aumentos de 10x y 40x de los cuatro grupos experimentales con la tinción tricrómica de Masson donde se

observa de color azul la expresión de colágeno dentro de las fibras musculares, los grupos que presentan una mayor expresión son los grupos a los que se les invirtió la dieta en la etapa posnatal (CS, SC), sin embargo el grupo que consumió sacarosa durante toda la vida se comporta de manera similar al grupo control. (Figura 9)



Gráfica 13. Porcentaje (%) de área muscular ocupada por colágeno. Se muestra la media \pm e.e. Diferencias significativas. ANOVA de dos vías (n=6/grupo).

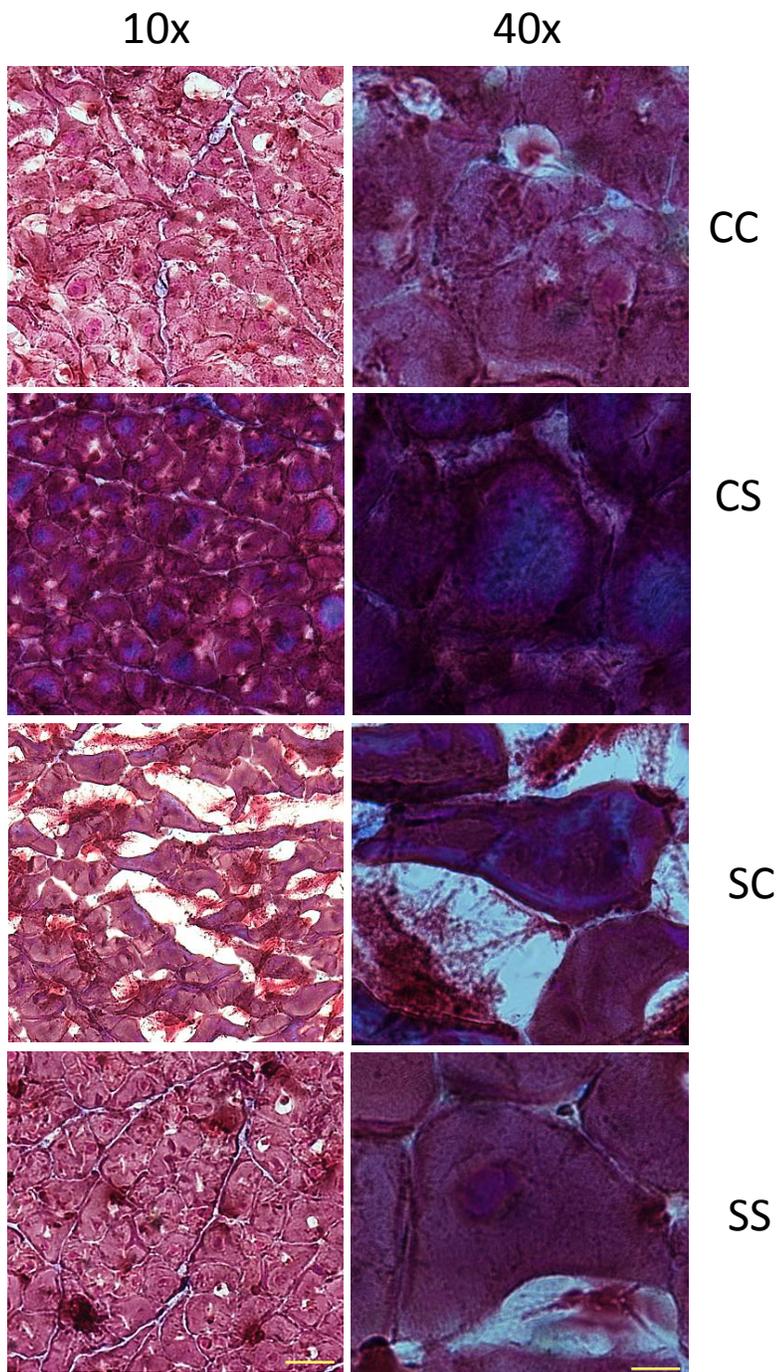


Figura 9. Microfotografías del músculo iliococcígeo teñidas con la tinción Tricrómica de Masson. Aumentos de 10x la barra equivale a 100µm y aumento de 40x la barra equivale a 50µm. En color azul se muestra la expresión de colágeno.

8. DISCUSIÓN

Nuestro grupo de trabajo se ubica dentro de las directrices de la hipótesis sobre los orígenes de la salud y de la enfermedad, antes llamada teoría de Barker o programación fetal que es la respuesta a cambios específicos en el organismo de los mamíferos durante un periodo crítico del desarrollo que altera la trayectoria de la calidad del desarrollo tanto cualitativa-, cuantitativamente o ambas dando como resultado efectos persistentes en la vida adulta (Nathanielsz y cols. 2007). Hasta el momento se conoce que la nutrición materna durante la gestación es de vital importancia para el desarrollo del músculo esquelético ya que durante esta etapa se da el primer flujo preferencial de nutrientes hacia órganos de vital importancia metabólica como el cerebro, hígado y músculo esquelético, Barker en (2008) describió que tanto el cerebro como el músculo esquelético son tejidos que se restringen en crecimiento bajo una desnutrición materna y por lo tanto se asocia con un bajo peso al nacimiento, además que estos efectos pueden no ser solo visibles al nacimiento sino que pueden expresarse a lo largo de las diferentes etapas de la vida, asimismo estudios en diferentes modelos animales incluyendo los humanos se ha visto que cambios en la nutrición durante la gestación producen un crecimiento desproporcionado de algunos tejidos mientras que en otros se inhibe el desarrollo completo (Widdowson y McCance 1974) en el tejido muscular específicamente se ha descrito una relación entre una disminución en el desarrollo de la masa muscular con la aparición de enfermedades crónicas como la diabetes tipo 2, hipertensión y enfermedades cardiovasculares (Barker y cols. 2004). Los resultados en nuestro modelo de estudio muestran que el consumo de agua azucarada durante la gestación y la lactancia no modifica ninguno de los parámetros morfométricos de las crías, lo que evidencia que no existe una restricción de crecimiento en estos periodos críticos del desarrollo en nuestro modelo animal; sin embargo, al día 21 postnatal, cuando se realiza el destete y se forman los cuatro grupos experimentales se observa una ganancia de peso en los grupos que consumieron agua azucarada al 5% en la vida posnatal respecto a los grupos que consumieron agua simple al final del tratamiento. En cuanto al consumo de agua y alimento se observó una disminución en la ingesta de alimento sólido y un aumento en la ingesta de agua en los grupos que consumieron agua con sacarosa al 5% respecto a los grupos que consumieron agua simple en la vida posnatal, además se observó

de esta manera que el grupo consume agua azucarada al 5% tiene tendencia a aumentar de peso.

En cuanto al peso y ancho del músculo iliococcígeo no fueron modificados por el consumo de agua con sacarosa al 5%, sin embargo, el largo del músculo iliococcígeo disminuyó en tamaño en los grupos provenientes de madres que consumieron sacarosa al 5% durante la gestación. Esto sugiere que este tipo de dietas durante etapas importantes del desarrollo como la gestación, ocasionan cambios en la musculatura estriada que perduran a lo largo de la vida, esto es debido a que la mayoría de las fibras musculares se forman durante esta etapa y, por lo tanto su desarrollo es vulnerable a la mayoría de las perturbaciones incluyendo la deficiencia de nutrientes (Zhu y cols. 2004).

En las características histológicas evaluadas en el músculo iliococcígeo no se encontraron diferencias en el área transversal de las fibras musculares provenientes de los tres grupos de estudio respecto al grupo control, sin embargo se observa una tendencia a aumentar en el grupo que consumió agua con sacarosa desde la gestación hasta la vida adulta, esto coincide por lo reportado por Pantalao y cols. (2010), lo cual pudiera deberse a un aumento en la acumulación de lípidos intramiofibrilares o un aumento en la cantidad de colágeno, ya que la mal nutrición modifica el desarrollo de las fibras musculares debido a que favorece la formación de adipocitos intramusculares y la fibrogénesis (Du y cols. 2010). Esto se debe a que los adipocitos y las células musculares provienen de un tipo de célula progenitora en común, las cuales son sensibles a diferentes factores provenientes del medio externo incluyendo la nutrición, de esta manera existen diferentes proteínas que interfieren en el desarrollo del músculo esquelético como son Wingless e Int (Wnt) donde la sobreexpresión de Wnt promueve la miogénesis y la desregulación promueve la adipogénesis (Du y cols. 2010).

Se ha descrito que la sobrenutrición materna durante la gestación incrementa el contenido de colágeno así como su infiltración en las fibras musculares (Du y cols. 2010), por tal motivo se evaluó la cuantificación de la expresión de colágeno, ya que su incremento se ha relacionado con procesos patológicos como la fibrosis, sin embargo, nuestros resultados muestran que no

existe un aumento estadísticamente significativo en la cantidad de colágeno entre los tres grupos experimentales respecto al grupo control. Aún con lo anterior, pudo observarse un cambio drástico en el aumento de colágeno en aquellos grupos a los que se les invirtió la dieta en la etapa posnatal, lo cual pudiera deberse a un desbalance en la adaptación previa que se favoreció durante la gestación, indicando que la gestación predispone los mecanismos moleculares y celulares dependiendo de los factores que influyen sobre la madre durante este periodo crítico, estos cambios permiten la sobrevivencia de la descendencia al momento ya que el feto maximiza las oportunidades inmediatas para sobrevivir dando una respuesta ante un ambiente intrauterino adverso, estas adaptaciones fisiológicas surgen durante la gestación y pueden ser benéficos a corto plazo pero al mismo tiempo mal adaptativos a largo plazo en la vida posterior (Sloboda y Vickers 2011). Sin embargo, cuando esa descendencia se enfrenta a un segundo reto en la vida posnatal que fue diferente al reto que enfrentaron durante la gestación estos mecanismos compensatorios ahora se ven desregulados generando alteraciones en tejidos encargados principalmente del metabolismo. De acuerdo a los resultados obtenidos se observó que el grupo que consumió sacarosa durante la vida prenatal y en la vida posnatal hasta la edad adulta se comporta de manera similar al grupo control en la cuantificación de la expresión de colágeno, esto se relaciona con el proceso de adaptación de mecanismos fisiológicos ante un primer reto en la gestación y que en la vida posnatal al enfrentarse al mismo reto al que estuvieron expuestos durante la gestación favorecen que el organismo se encuentre fisiológicamente adaptado para controlar dicho estímulo de manera que no comprometa sus funciones vitales. Esta hipótesis se ha conocido como respuesta predictiva adaptativa (PARs) la cual se ha descrito como una respuesta ante un ambiente intrauterino adverso el feto adapta un desarrollo fisiológico para maximizar las oportunidades inmediatas para sobrevivir, entre las adaptaciones se encuentran el constante reinicio de puntos específicos (set point) involucrados con el mantenimiento en el metabolismo, cambios en el sistema endocrino y una desregulación en el crecimiento (Sloboda y Vickers 2011)

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran la importancia del factor nutrición y su vital importancia para el buen desarrollo de los seres vivos durante la gestación, ya que a partir de la obtención de nutrientes y la distribución de los mismos a diferentes órganos de vital

importancia son factores determinantes para contribuir a la determinación de la función específica de diversos tejidos entre ellos el músculo esquelético.

En conclusión no se encontraron cambios estadísticamente significativos en el área transversal ni en la cantidad de colágeno sin embargo se observó una tendencia a un aumento en el área transversal en el grupo que consumió agua con azúcar al 5% durante la gestación y la vida posnatal lo cual no coincide con lo reportado por Xicohtencatl y cols (2015) en el músculo pubococcígeo en el mismo modelo de estudio esto puede ser explicado por la peculiaridad del tipo de músculo, ya que se el músculo pubococcígeo se ha descrito que participa en funciones de vital importancia fisiológica tanto reproductiva como no reproductivas y que puede ser modificado por factores como la castración o la denervación (Alvarado y cols. 2013; Lara y cols. 2017) disminuyendo el área trasversal de las fibras musculares. Sin embargo poca ha sido la literatura referenciada para el músculo iliococcígeo y solo se ha descrito que este musculo participa en el movimiento y sostén de la cola (Poortmans y JJ Wyndaele M 1998), asimismo se ha descrito como un músculo dimórfico que participa en diferentes funciones, en machos se ha visto su participación en el reflejo uretrogenital que se describe como un símil de paso de líquidos a través de la uretra y en hembras como el trabajo realizado por Martínez Gómez y cols (1991) donde se describe la participación del músculo iliococcígeo en el movimiento de la cola, de la vagina y de la uretra asimismo su participación en la posición de lordosis. Desde el punto de vista de la anatomía gruesa el músculo iliococcígeo se describe como un músculo más claro en color a comparación del músculo pubococcígeo que se encuentra en colindancia y que probablemente el músculo iliococcígeo tenga un papel fundamental en el apoyo estructural del músculo pubococcígeo ya que de acuerdo a nuestros resultados obtenidos no se observa una disminución en el área transversal de las fibras como se observa en el músculo pubococcígeo, sino que se observa una tendencia a aumentar, lo que sugiere que presente un mecanismo compensador para apoyar al músculo pubococcígeo a realizar dichas funciones en las que participa tanto reproductivas como no reproductivas.

9. CONCLUSIÓN

En conclusión se explica que la nutrición durante la gestación es de suma importancia para el óptimo desarrollo del músculo esquelético, al igual que los músculos de las extremidades superiores e inferiores y respiratorios los músculos del piso pélvico son susceptibles a diferentes perturbaciones externas en este caso la nutrición, ya que puede modificar el arreglo de las fibras musculares cambiando de esta manera la contracción muscular y por lo tanto comprometiendo las funciones vitales fisiológicas tanto reproductivas como no reproductivas en la vida adulta.

REFERENCIAS

- Alvarado M, Cuevas E, Lara-García M, Camacho M, Carrillo P, Hudson R y Pacheco P. 2008. Effect of gonadal hormones on the cross-sectional area of pubococcygeus muscle fibers in male rat. *Anat Rec* 291:586-92.
- Bailey P, Holowacz T y Lassar AB. 2001. The origin of skeletal muscle stem cells in the embryo and the adult. *Curr Opin Cell Biol* 13: 679-689.
- Barker DJ, Gluckman PD, Godfrey KM, Owens JA y Robinson JS. 1993. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet* 341: 938-41.
- Barker DJ. 1994. Mothers, babies and disease in later life. London BMJ Publishing Group.
- Barker DJ. 2000. Fetal programming: influences on development and disease in later life. NHI Monograph series, New York: Marcel Dekker.
- Barker DP. 2004. The developmental origins of well-being. *Philos Trans R Soc Lond B* 359:1359-1366.
- Baker J, Hurtado AM, Pearson OM y Jones T. 2008. Evolutionary medicine and human obesity: developmental adaptive responses in human body composition. In: Trevathan W, Smith EO, McKenna J, editors. *Evolutionary medicine and health: new perspectives*. Oxford: Oxford University Press. p 314–324.
- Barret KE, Barman SM, Boitano S y Brooks HL. GANONG Fisiología médica. McGraw-Hill Interamericana Editores. México, D.F. pp. 93.
- Beggs ML, Nagarajan R, Taylor-Jones JM, Nolen G, Macnicol M y Peterson CA. 2004. Alterations in the TGFbeta signaling pathway in myogenic progenitors with age. *Aging Cell* 3:353-361.
- Beermann DH, RG Cassens y GJ Hausman. 1978. A second look at fiber type differentiation in porcine skeletal muscle. *J. Anim Sci* 46:125-132.
- Boney CM, Verma A, Tucker R y Vohr BR. 2005. Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics* 115:e290-6.
- Buckingham M. 2006. Myogenic progenitor cells and skeletal myogenesis in vertebrates. *Curr Opin Genet Dev* 16:525-32.

- Castrogiovanni P, Musumeci G, Trovato FM, Avola R, Magro G y Imbesi R. 2014. Effects of high-tryptophan diet on pre- and postnatal development in rats: a morphological study. *Eur. J. Nutr* 53:297-308.
- Delancey JOL. 1994. The anatomy of the pelvic floor. *Obstet. Gynecol* 6:313-316.
- Du M, Yan X, Tong JF, Zhao J y Zhu MJ. 2010. Maternal obesity, inflammation, and fetal skeletal muscle development. *Biol Reprod* 82:4-12.
- Fahey AJ, Brameld JM, Parr T y Buttery PJ. 2005. Ontogeny of factors associated with proliferation and differentiation of muscle in the ovine fetus. *J. Anim Sci* 83:2330-8.
- Garrett WE Jr y Best TM. 1994. Anatomy, physiology, and mechanics of skeletal muscle. In: Simon SR, editor. *Orthopaedic basic science*. Rosemont, IL: American Academy of Orthopaedic Surgeons p 89-125.
- Gartner LP y Hiatt JL. Texto y Atlas de Histología. McGraw-Hill Interamericana Editores. Copyright 2007 by Saunders, an imprint of Elsevier, Inc. pp.157 Libro
- Harrington EE, Eggert RG y Wilbur RD. 1967. Induction of ovulation in chlorpromazine-blocked rats. *Endocrinology* 81:877-881.
- Hernández-Torres F, Rodríguez-Outeiriño L, Franco D y Aranega AE. Pitx2 in Embryonic and Adult Myogenesis. *Front. Cell Dev. Biol* 5:46.
- Karunaratne JF, Ashton CJ y Stickland NC. 2005. Fetal programming of fat and collagen in porcine skeletal muscles. *J. Anat* 207:763-768.
- Kollias HD y McDermott JC. 2008. Transforming growth factor- β and myostatin signaling in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol* 104:579-587.
- Kow L y Pfaff DW. 1975. Dorsal root recording relevant for mating reflexes in female rats: identification of receptive fields and effects of peripheral denervation. *J. Neurobio* 6: 23-37.
- Lahoute C, Sotiropoulos A, Favier M, Guillet-Deniau I, Charvet C, Ferry A, Butler-Browne G, Metzger D, Tuil D y Daegelen D. 2008. Premature aging in skeletal muscle lacking serum response factor. *PLoS ONE* 3:e3910.
- Li M, Sloboda DM, y Vickers MH. 2011. Maternal Obesity and Developmental Programming of Metabolic Disorders in Offspring: Evidence from Animal Models Review Article. *Experimental Diabetes Research*, Volume, Article ID 592408, 9 pages.
- Liu RM y Gaston Pravia KA. 2010. Oxidative stress and glutathione in TGF-beta-mediated fibrogenesis. *Free Radic Biol Med* 48:1-15.

Lozano I, Van der Werf R, Bietiger W, Seyfritz E, Peronet C, Pinget M y Dal S. 2016. High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. *Nutr Metab* 25:13-15.

Malenfant P, Jjoanisse DR, Theriault R, Goodpaster BH, Kelley DE y Simoneau JA. 2001. Fat content in individual muscle fibers of lean and obese subjects. *Int Obes Relat Metab Disord* 25:1316-21.

Malik VS, Popkin BM, Bray GA, Després JP y Hu FB. 2010. Sugar-sweetened beverages, obesity, type 2 diabetes mellitus, and cardiovascular disease risk. *Circulation* 121:1356-1364.

Manzo MI, Vazquez MR, Cruz ME, Hernández P, Carrillo P y Pacheco P. 2000. Fertility ratio in male rats: Effects after denervation of two pelvic floor muscles. *Physiology & Behavior* 68:611-618.

McCrorry MA, Shaw AC y Lee JA. 2016. Energy and nutrient timing for weight control. *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am* 45:689-718.

Miller A, Adeli K. 2008. Dietary fructose and the metabolic syndrome. *Curr. Opin. Gastroenterol* 24:204-209.

Nathanielsz PW, Poston L y Taylor PD. 2007. In utero exposure to maternal obesity and diabetes: Animal models that identify and characterize implications for future health. *Clin. Perinatol* 34:515-526.

Pacheco P, Martínez-Gomez M, Whipple B, Beyer C y Komisaruk BR. 1989. Somato-motor components of the pelvic and pudendal nerves of the female rat. *Brain Res* 490:85-94.

Pacheco P, Camacho MA, Garcia LI, Hernandez ME, Carrillo P y Manzo J. 1997. Electrophysiological evidence for the nomenclature of the pudendal nerve and sacral plexus in the male rat. *Brain Res* 763:202-8.

Poortmans* y JJ Wyndaele M. 1998. Levator Ani in the Rat: Does it Really Lift the Anus? *The anatomical record* 251: 20-27.

Ramírez-Vélez R. 2012. Programación Fetal in útero y su impacto en la salud del adulto. *Endocrinol Nutr* 59:383-393.

Schmidt LA. 2014. New unsweetened truths about sugar. *JAMA* 174:525-526.

Schuler M, All F y Chambon C. 2006. PGC 1alpha expression is controlled in skeletal muscles by PPARbeta, whose ablation results in fiber-type switching, obesity and type 2 diabetes. *Cell Metab* 4:407-14.

Shafik A y El Sibai O. 2009. Electromyographic study of ejaculatory mechanism *Int J Androl* 32:212-217.

Sloboda M Li DM, y Vickers MH. 2011. Maternal Obesity and Developmental Programming of Metabolic Disorders in Offspring: Evidence from Animal Models. *Experimental Diabetes Research* Volume 2011, Article ID 592408, 9 pages doi:10.1155/2011/592408.

Soares E, Prediger RD, Nunes S, Castro AA, Viana SD, Lemos C, De Souza CM, Agostinho P, Cunha RA, Carvalho E, et al. 2013. Spatial memory impairments in a prediabetic rat model. *Neuroscience* 250:565-577.

Stickland NC. 1978. A quantitative study of muscle development in the bovine foetus (*Bos indicus*). *Anat. Histol. Embryol* 7:193-205.

Tilley Re, McNeil CJ, Ashworth CJ, Page KR y Mcardie HJ. 2007. Altered muscle development and expression of the insulin-like growth factor system in growth retarded fetal pigs. *Domest Anim Endocrinol* 32:167-77.

Tong JF, Yan X, Zhu MJ, Ford SP, Nathanielsz PW y Du M. 2009. Maternal obesity downregulates myogenesis and beta-catenin signaling in fetal skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 296:E917-924.

Truswell AS, Seach JM y Thornburn AW. 1988. Incomplete absorption of pure fructose in healthy subjects and the facilitating effect of fructose. *Am. J. Clin. Nutr* 48:1424-1430.

Vázquez-Mendoza E, Rodríguez-Torres EE, López-García K, Hinojosa-Rodríguez CX y Jiménez-Estrada I. 2017. Differential effect of chronic undernutrition on the fiber type composition of fascicles in the extensor digitorum longus muscles of the rat. *Acta Histochemica* 119:364-371.

Vickers H, Clayton E, Yap C y Sloboda M. 2011. Maternal Fructose Intake during Pregnancy and Lactation Alters Growth and Leads to Sex-Specific Changes in Fetal and Neonatal Endocrine Function. *Endocrinology* 152:1378-1387.

Yan X, Zhu MJ, Xu W, Tong JF, Ford SP, Nathanielsz PW y Du M. 2010. Up-regulation of Toll-like receptor 4/nuclear factor-kappa B signaling is associated with enhanced adipogenesis and insulin resistance in fetal skeletal muscle of obese sheep at late gestation. *Endocrinology* 151:380-387.

Yamagishi S, Ueda S y Okuda S. 2007. Food-derived advanced glycation end products (AGEs): A novel therapeutic target for various disorders. *Curr. Pharm. Des* 13:-2832-2836.

Yamagishi S y Matsui T. 2016. Pathologic role of dietary advanced glycation end products in cardiometabolic disorders, and therapeutic intervention. *Nutrition* 32:157-165.

Zhu MJ, Ford SP, Nathanielsz PW y Du M. 2004. Effect of maternal nutrient restriction in sheep on the development of fetal skeletal muscle. *Biol. Reprod* 71:1968-1973.

Zhu MJ, Ford SP, Means WJ, Hess BW, Nathanielsz PW y Du M. 2006. Maternal nutrient restriction affects properties of skeletal muscle in offspring. *J Physiol* 575:241-250.

Zhu MJ, Han B, Tong J, Ma C, Kimzey JM, Underwood KR, Xiao Y, Hess BW, Ford SP, Nathanielsz PW y Du M. 2008. AMP-activated protein kinase signalling pathways are down regulated and skeletal muscle development impaired in fetuses of obese, over-nourished sheep. *J Physiol* 586:2651-2664.