



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Determinación de la infiltración de TNF- α y CD163 en los músculos pubococcígeo e iliococcígeo con relación al consumo de agua azucarada durante la etapa gestacional y posnatal en la rata macho

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

L.N. ADRIANA SÁNCHEZ RIVAS

Director

Dr. Jorge Rodríguez Antolín

Tlaxcala, Tlax.

Septiembre, 2023



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Determinación de la infiltración de TNF- α y CD163 en los músculos pubococcígeo e iliococcígeo con relación al consumo de agua azucarada durante la etapa gestacional y posnatal en la rata macho

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

L.N. ADRIANA SÁNCHEZ RIVAS

Directora

Dr. Jorge Rodríguez Antolín

Dra. Estela cuevas Romero

Dra. Laura Guadalupe Hernández Aragón

Tlaxcala, Tlax.

Septiembre, 2023

Financiamiento

Este trabajo se realizó en el Centro Tlaxcala Biología de la conducta en la Maestría en Ciencias Biológicas mismo que está registrado en el Patrón Nacional de Posgrados de Calidad (PNCP) y fue financiado por CONAHCYT 1142891 ASR,



**COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E**

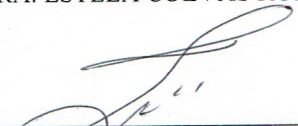
Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Adriana Sánchez Rivas** realiza para la obtención del grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“Determinación a la expresión de receptores a macrófagos y TNF-Alfa en los músculos pubococcígeo e iliococcígeo en relación al consumo de agua azucarada durante la etapa prenatal y posnatal en la rata macho”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., A 11 DE SEPTIEMBRE DEL 2023



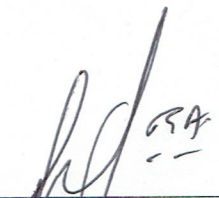
DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO



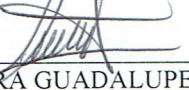
DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO



DRA. SARET DÁVILA SANTACRUZ



DR. JORGE RODRÍGUEZ ANTOLÍN



DRA. LAURA GUADALUPE HERNÁNDEZ ARAGÓN



CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA
Coordinación de la División de Ciencias Biológicas
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado

**COMITÉ ACADÉMICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Sirva este medio para describir el proceso de revisión de la tesis realizada por La estudiante **Adriana Sánchez Rivas** titulada “Determinación de la infiltración de TNF-a y CD163 en los músculos pubococcígeo e iliococcígeo con relación al consumo de agua azucarada durante la etapa gestacional y posnatal en la rata macho” para optar por su grado de **Maestra en Ciencias Biológicas**.

El documento de la tesis de Adriana Sánchez Rivas fue revisado por mí como director de tesis antes de presentarse en cada examen tutorial y, posteriormente a los exámenes tutorales, los miembros de su comité tutorial realizaron también sus respectivas observaciones. De manera que el documento, llevó un proceso de revisión por varios profesores expertos en el tema. El documento final de la tesis fue procesado con el programa del turnitin marcando en su texto de tesis un bajo porcentaje de similitudes (6%). Los textos detectados con similitud están marcados en algunos pies de figuras, dichas similitudes contienen las respectivas citas que indican de donde fue tomada la información, otras similitudes fueron detectadas en la sección del Introducción, Antecedentes, Metodología, Resultados y Discusión, correspondiendo a lenguaje común, por lo que esta similitud no podría ser considerada como plagio.

Por lo anterior, confirmo que **la estudiante no incurrió en ninguna práctica no deseable** en la escritura de la tesis.

Sin más por el momento, reciban atentos saludos.

Tlaxcala, Tlax., a 23 de noviembre del 2023

Dr. Jorge Rodríguez Antolín
Director de tesis



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

NOMBRE DEL TRABAJO

Tesis

AUTOR

Adriana Sánchez

RECUENTO DE PALABRAS

14067 Words

RECUENTO DE CARACTERES

76376 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

61 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

26.6MB

FECHA DE ENTREGA

Nov 23, 2023 6:17 PM CST

FECHA DEL INFORME

Nov 23, 2023 6:18 PM CST**● 6% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 6% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref
- Base de datos de trabajos entregados
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 8 palabras)

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera particular al Posgrado del CTBC, UATx. Por darnos la oportunidad de seguirmos preparando y aprendiendo, abriéndonos sus puertas en este camino de la ciencia, así como a los apoyos recibidos de la beca CONACYT.

De manera particular agradezco al Dr. Jorge Rodríguez Antolín, por su apoyo, guía, comprensión y confianza hacia mí y al proyecto de investigación, así como a las Dras. Estela Cuevas Romero y Laura Hernández Aragón, por su dedicación, entrega, comprensión y determinación en su enseñanza, muchas gracias. Su cimiento es invaluable. A la Dra. Rosalía por su mentoría y ejemplo. Mi respeto y profunda admiración a ustedes.

A los Docentes del centro, por su guía en cada paso.

A mis amig@s y compañer@s de laboratorio, ya que, gracias a cada uno, los tiempos en el mismo fueron más llevaderos, así como por su apoyo de compartir conocimiento a este mundo nuevo de la investigación. Los llevo en el corazón.

El principal agradecimiento es a Dios quien me ha guiado y me ha dado la fortaleza para seguir adelante.

Gracias a la vida que cada día me demuestra, que los sueños se hacen realidad. Y que el rumbo por el que nos guía es mejor que el que nosotros planeamos.

A todos muchas gracias, atesoro a cada persona que conocí y tuve la dicha de coincidir en esta aventura.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis amados padres Edith Rivas y Eleazar Sánchez por formarme con buenos valores, sentimientos y hábitos. Gracias por sostenerme en los momentos más difíciles de mi vida, por su comprensión y apoyo para culminar esta meta. Por sus viajes interminables para venir a verme y acompañarme en las tempestades.

Gracias por su amor.

También se la dedico a mis herman@s, Eleazar, Lupita y Maritza porque cada uno a su manera ha sabido estar presente, entenderme, sostenerme en este transcurso, porque con ustedes tengo los mejores recuerdos de mi infancia y gracias a su motivación constante para que yo pueda cumplir mis anhelos. A mis sobrinos Iker, Mateo y Kenji que, a pesar de su corta edad, sin ustedes saberlo son el rayito de felicidad y motivación de nunca rendirme, de ser persistente, los amo con locura, gracias por quererme. A mis cuñad@s Lupita y Yoshi por su comprensión y ser la guía de mis herman@s.

A mi familia por su amor y estímulo constante. A todas las personas que sin saberlo me apoyaron en la realización de este proyecto.

Nunca pierdas la fe, porque aquello por lo que has luchado lo vas a tener ...CR

Resumen.

La programación fetal es un proceso de adaptación del desarrollo debida a la interacción de la genética y factores exógenos. La malnutrición materna dada por una dieta hipercalórica durante la etapa fetal puede promover el desarrollo de enfermedades en la vida adulta. Se ha sugerido que un exceso en el consumo de carbohidratos durante el periodo gestacional y postnatal mantiene un estado de inflamación crónica en diversos órganos y tejidos durante ambas etapas. Sin embargo, se desconoce si tejidos como la musculatura pélvica son afectados al producirse un estado inflamatorio, lo cual impactaría sobre las funciones reproductivas en la adultez. Nuestro grupo de trabajo ha demostrado que el consumo de agua azucarada durante la etapa pre y postnatal disminuye la actividad electromiografía del músculo pubococcígeo durante la activación del reflejo uretrogenital. El objetivo de este trabajo se centró en determinar si el consumo de agua azucarada aumenta la infiltración de CD163 y TNF- α en los músculos pubococcígeo e iliococcígeo en la etapa gestacional y postnatal en la rata macho. Para ello, se utilizaron 6 ratas gestantes que consumieron agua simple y 6 que consumieron agua con azúcar al 5%. Posteriormente al destete fueron seleccionadas las crías machos de su descendencia y se formaron 4 grupos experimentales, de acuerdo con el consumo de agua durante la gestación y postdestete: simple-simple (n=6); simple-azúcar (n=6); azúcar-simple (n=6) y azúcar- azúcar (n=6). Transcurridas las 14 semanas de tratamiento, se extrajeron los músculos pubococcígeo e iliococcígeo para identificar CD163 y TNF- α , mediante inmunohistoquímica. Los resultados indican que el consumo de agua azucarada pre y postnatal (MA-CA) aumenta la presencia de macrófagos CD163, en ambos músculos y la expresión de TNF- α , probablemente relacionada al incremento en tejido adiposo abdominal y pélvico, así como a los cambios metabólicos que sufren los músculos. Ello sugiere que el consumo crónico de agua azucarada durante una etapa temprana del desarrollo activa la respuesta inflamatoria y antiinflamatoria.

Contenido

1. INTRODUCCIÓN	8
1.1 Músculos del piso pélvico y sistema reproductor masculino	9
1.2 Generalidades del músculo	14
1.3 Tipo de fibras	15
1.4 Metabolismo muscular	17
1.5 Regeneración del músculo esquelético.....	18
1.6 Estrés oxidativo	19
1.7 Miogénesis del músculo	20
1.8 Malnutrición y epigenética.....	22
1.9 Sistema inmunitario innato-adaptativo-inflamación	24
2.0 Tejido adiposo	25
2.1 Macrófagos.....	26
2.2 Vías de señalización	29
2.3 CD163	30
2.4 TNF- α	31
2.4 TNF- α y músculo	32
2.5 Fibrogénesis del músculo	35
2.6 Continencia e incontinencia urinaria	35
2.7 Disfunción eréctil	36
2. ANTECEDENTES.....	37
3. JUSTIFICACIÓN	39
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	41
5. HIPÓTESIS.....	41
6. OBJETIVOS	41
7. METODOLOGÍA	42
8. RESULTADOS.....	45
8.1 Identificación de CD163 en el músculo pubococcígeo	45
8.2 Identificación de CD163 en el músculo iliococcígeo.....	50
8.3 Identificación de TNF- α en el músculo pubococcígeo.....	55
1.5 Identificación de TNF- α en el músculo iliococcígeo	58
9. DISCUSIÓN	61
TNF- α	61

CD163	63
10. CONCLUSIÓN	66
11.PERPECTIVAS	67
12.REFERENCIAS	68
13. GLOSARIO DE TÉRMINOS	75
14. PUBLICACIONES	76

1. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial el importante vínculo sobre el estado de nutrición es dado por la alimentación, específicamente el estado de malnutrición anteriormente causaba problemas principalmente de desnutrición, actualmente esto provoca una sobre nutrición vinculada por alimentos o bebidas con exceso de calorías, pero bajas en nutrientes; como es el caso de las bebidas azucaradas (Kereliuk y cols. 2017a). El embarazo es un periodo esencial para el desarrollo y la funcionalidad del músculo esquelético, puesto que el número de fibras suele fijarse al nacer y define la masa muscular adulta. Las alteraciones en cuanto a su morfología y funcionalidad, durante el periodo gestacional podrían dar lugar no solo a una alteración de la masa muscular, sino también a una disfunción metabólica sistémica. La programación temprana del metabolismo del músculo esquelético es relevante, ya que, en primer lugar; las adaptaciones metabólicas regulan su funcionalidad, rendimiento y fuerza, en segundo lugar, el metabolismo muscular actúa como un regulador clave de la homeostasis corporal, debido a su flexibilidad metabólica, es decir la capacidad de seleccionar el uso de sustrato y controlar la canalización corporal, la sensibilidad hormonal y la homeostasis (Salto y cols. 2020). Por lo que un desbalance energético en la etapa gestacional y posnatal puede traer efectos adversos.

El desarrollo del músculo esquelético fetal implica los procesos de miogénesis, adipogénesis y fibrogénesis, derivadas de las células madre mesenquimales (MSC). Cambiar el desarrollo de éstas, dará como resultado un desequilibrio provocando consecuencias como un aumento de la grasa intramuscular y de tejido conectivo, así como una reducción del número de fibras y / o diámetros musculares, lo cual tiene efectos negativos duraderos en la función y las propiedades de los músculos de la descendencia. La etapa fetal también está asociada a la fibrogénesis en donde los fibroblastos desarrollados durante este momento sintetizan el tejido conectivo que forma el perimisio y el epimisio en el músculo esquelético fetal durante el final de la gestación (Du y cols. 2010). Las condiciones de salud en el curso de la edad adulta son el resultado de la combinación entre el genotipo y el fenotipo que comienza en el periodo prenatal. Este efecto se conoce como "orígenes fetales de la enfermedad adulta", entre los resultados se han encontrado modificaciones en la estructura y vías de señalización del músculo esquelético, el cual tiene cualidades de ser metabólicamente flexible, es decir depende del estímulo que sea impuesto,

dará como resultado el tipo de sustrato que sea ocupado para la generación de energía.

Las alteraciones del entorno intrauterino, como las causadas por la nutrición materna durante la gestación, pueden modificar el desarrollo prenatal teniendo consecuencias positivas o negativas en la vida adulta, ya que son fases críticas para el desarrollo de la descendencia, donde puede verse comprometida su homeostasis por las modificaciones en el tejido adiposo, donde un mayor riesgo de sobre activación del sistema inmunitario en la madre induce una inflamación crónica que se vincula con un desbalance energético en la etapa prenatal con riesgo a desarrollar enfermedades metabólicas en la edad adulta, provocando alteraciones en diversos órganos y tejidos blanco (Claycombe y cols. 2015). En particular el tejido muscular se asocia con cambios en su funcionalidad y morfología (Sanglard y cols. 2018). En nuestro grupo de trabajo hemos mostrado que la dieta con modificación del 5% de azúcar, induce a cambios en la activación del músculo pubococcígeo y su frecuencia durante el reflejo uretrogenital en las crías consumieron azúcar en la etapa pre y posnatal (Corona-Quintanilla y cols. 2021).

1.1 Músculos del piso pélvico y sistema reproductor masculino

El sistema reproductor masculino está formado por las estructuras internas: los testículos, el epidídimo, los conductos deferentes y la próstata, y externas como: el escroto y el pene. Estas estructuras están bien vascularizadas y cuentan con diversas glándulas y conductos que promueven la formación, el almacenamiento y la eyaculación de los espermatozoides (Mackern-Oberti y cols .2013). En esta zona de la parte baja encontramos el diafragma pélvico.

Las partes terminales del sistema urinario corresponden a la uretra y la vejiga, mientras las partes terminales del sistema digestivo corresponden al recto y el canal anal, los cuales se conectan en la parte superior por el sistema abdominal e inferiormente por el piso pélvico. Este se debe ver como una conexión, no de forma aislada. Alteraciones en estos tejidos, puede la continencia urinaria y en los músculos superficiales problemas de erección y eyaculación, ya que esto son encargados de mantener una condición tónica contante, así como su contracción (Pischedda y

cols. 2013; Rossetti 2016). El diafragma, pélvico se encuentra constituido por músculos estriados de carácter voluntario que se asocian con funciones principales de contención y protección (Carrillo y Sanguineti 2013), la fascia endopélvica y los ligamentos que están regidos por un sistema nervioso (Jorge y Bustamante-López 2022; Rossetti 2016).

Los músculos estriados del suelo pélvico en el ser humano forman un complejo funcional muy importante, puesto que participan en procesos de micción, sexual y defecación (Dorey y cols. 2005). Asimismo, conforman estructuras con múltiples funciones, abarcan la zona genito-urinaria-anal, por lo que su participación es necesaria para el desarrollo de las funciones involucradas en esta área. Morfológicamente tanto en hombres como mujeres, forman el diafragma pélvico (Jorge y Bustamante-López 2022; Pischedda 2013). En humanos se sabe que el piso pélvico es un complejo multicapa, estos se dividen en capa externa compuesta por el bulboesponjoso, isquiocavernoso, transverso superficial, perineal superficial y el esfínter anal externo, la segunda capa que recubre el diafragma pélvico, que cubre la cavidad pélvica desde la parte anterior hasta el posterior músculo puborrectal, isquiococcígeo, pubococcígeo e iliococcígeo denominados por su ubicación músculos elevadores del ano formando una “hamaca” de contención elástica, donde la disfunción o alteración de alguno de estos está relacionado con diversas patologías (Jorge y Bustamante-López 2022; Rotman y cols. 2020; Suriyut y cols. 2020). Landmark ubica a los músculos de la siguiente manera entre el iliococcígeo detrás y el músculo pubococcígeo en el frente (Courtney 1950).

Las cavidades abdominales y pélvicas se separan por medio 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 por medio del cual los órganos pélvicos pasan o donde ellos se abren. La parte anterior (ventral) se encuentra el hiato genital y en la parte posterior (dorsal) se encuentra el hiato anal. Cada una de estas estructuras está rodeada por músculos o por tejido fibroso. El espacio entre los órganos pélvicos y la pared del hueso de la pelvis, compuesto de tejido conectivo, el que a su vez está vascularizado por vasos sanguíneos, nerviosos, linfáticos y tejido adiposo. La inervación del piso pélvico está regida por el sistema nervioso central, es importante para diferentes partes que lo conforman individualmente y su función en conjunto realiza el mantenimiento del equilibrio en un

organismo (Figura 1)(Poortmans y cols. 1998).

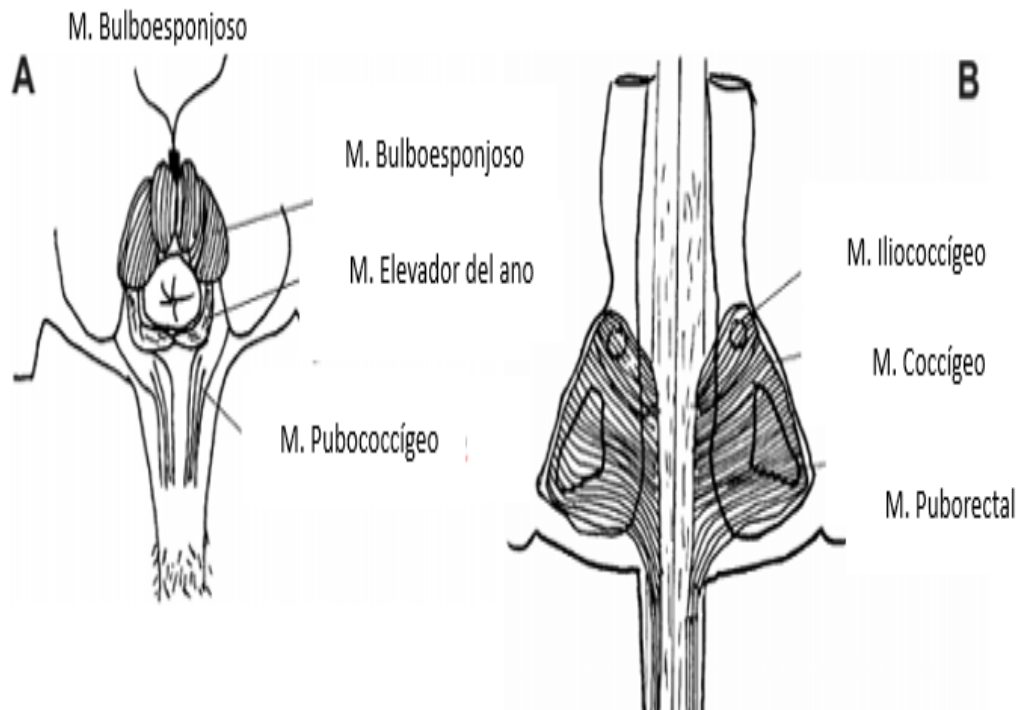


Figura 1. Ubicación del músculo pubococcígeo e iliococcígeo en la rata macho. A) posición decúbito dorsal B) lateral, modificada de Poortmans y cols. 1998.

MÚSCULO PUBOCOCCÍGEO

El músculo pubococcígeo inicia en la superficie interna de la rama púbica superior y está insertado dentro de la parte baja sacral y la vértebra coccígea, con una forma triangular. Las fibras musculares presentan una morfología transversal poliédrica u ovalada con núcleos periféricos, constituida por una composición mixta, con un 33% de fibras de tipo II parte anterior, relacionada con la uretra, y un 24% de fibras de tipo II en su parte posterior anorrectal, surgiendo de la parte interna del pubis y de la cara anterior de la fascia obturadora (Poortmans y cols. 1998; Rossetti 2016). Se origina en la cara interna del hueso pélvico a nivel del acetábulo e insertado en la vértebra caudal 3 y 4, sus fibras están unidas en parte a la porción ventrolateral del complejo muscular de la uretra externa y está inervado por medio de la rama somatomotora del nervio pélvico (Poortmans y cols. 1998). Inervado por motoneuronas situadas en los

segmentos espinales L6-S1 (Tabla 1)(Lara-García y cols. 2022). En la rata macho, desempeña un papel importante en el proceso de micción, regulando la tensión de la vejiga y desencadenando un mecanismo reflejo espinal que promueve la continencia. Es importante también para el rendimiento copulatorio (Poortmans et al., 1998). Por lo que se ha remarcado su papel en la función sexual masculina (Xicohtécatl-Rugerio y cols. 2017).

MÚSCULO ILIOCOCÍCEO

Las fibras del músculo iliococcígeo, son triangulares y planas, tienen su origen carnoso en el borde ventromedial del eje ilíaco posterior a la escotadura glútea a nivel del acetábulo. Comienza en la espina isquiática y porción posterior de la fascia obturadora (arcus tendineus levator ani), recorriendo medial e inferiormente para insertarse en el rafe anococcígeo y en las caras laterales de los huesos y coccígeo, junto con las fibras del lado opuesto. Las fibras pasan caudalmente y desarrollan dos tendones, que continúan atravesando, recorriendo inicialmente el borde lateral de la cola ventral. Los tendones de éste pasan medialmente al músculo pubococcígeo (Tabla 1). El diafragma pélvico abarca la abertura lateral de la pelvis actuando como un estante sobre el cual los órganos pueden descansar. Los músculos pélvicos en la rata están compuestos por fibras de contracción rápida (Jorge y Bustamante-López 2022). El músculo iliococcígeo se encuentra junto al pubococcígeo y no tiene directamente un origen en el hueso, se inicia por una banda facial, se extiende en forma de un arco tendinoso del elevador del ano, ubicado por encima de la fascia del músculo obturador interno a la espina isquial, y se inserta dentro de la parte baja del sacro y la última vertebra coccígea. Al igual que en las mujeres, la rama somatomotora en los hombres tiene axones sensoriales y motores que inervan los músculos iliococcígeos y pubococcígeos (Figura 2) (Poortmans y cols.1998).El musculo pubococcígeo e iliococcígeo están inervados por la rama somatomotora (Smb) del nervio pélvico, que se compone de axones aferentes y motores de los segmentos L6 y S1 de la médula espinal y relacionan su participación con la contención urinaria y la eyaculación. Su nombre deriva de sus inserciones (Manzo y cols. 2000). El debilitamiento de estos músculos puede predisponer a padecer incontinencia urinaria o fecal (Rotman y cols. 2020).

	Humano	Rata
Pubococcígeo	Abarca la abertura lateral de la pelvis y actúa como un estante sobre el que pueden descansar los órganos.	
	Acción, tónica lenta	Contracción rápida.
	Forma plana	Forma plana, origen triangular
Iliococcígeo	Banda fibrosa de la pared pélvica	Borde ventromedial del eje ilial, dorsal a la inserción del M. pubococcígeo

Tabla 1. Comparación de los músculos pubococcígeo e iliococcígeo en humano y rata modificada de Poortmans y cols. 1998.

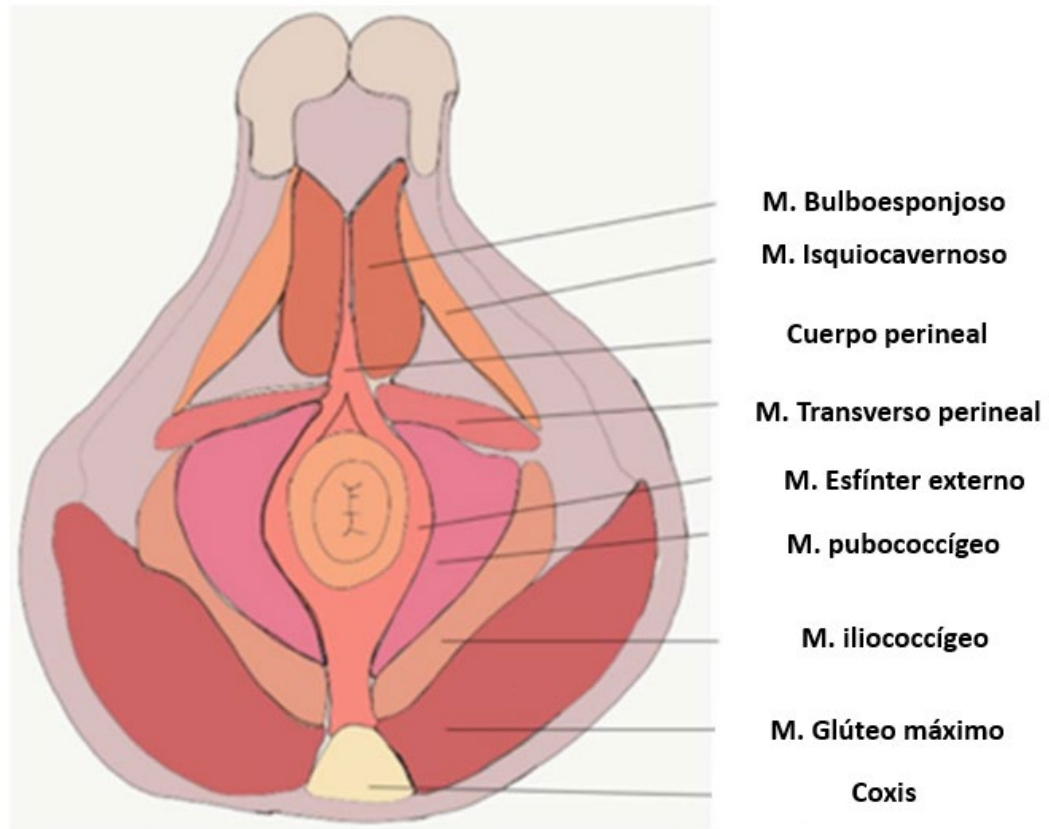


Figura 2. Ubicación de músculos del piso pélvico en humano, modificada de Rotman y cols. 2020).

1.2 Generalidades del músculo

Alrededor de 600 músculos individuales representando la mayor masa tisular del cuerpo, llevan a cabo funciones de soporte y fuerza (Chal y Pourquié 2017). Existen tres tipos de musculatura; 1) el músculo cardíaco es autónomo, 2) músculo liso principalmente recubriendo vísceras y 3) músculo estriado es voluntario (Mukund y Subramaniam 2020). Este último tiene alrededor del 40% del peso corporal, se encarga de la síntesis y uso de proteínas. Interviniendo en diferentes factores metabólicos, endocrinos. El tipo de fibras también está determinado por la regulación hormonal como las hormonas tiroideas. Sin embargo, para el tamaño de las fibras se involucra la testosterona (Blaauw y cols. 2013). Conforme a su composición, se encuentra en su mayoría por agua 75%, proteínas 20%, hidratos de carbono 5% y otras sustancias como grasas y sales

minerales. Entre sus funciones se destaca el convertir energía química en mecánica, con esto generando fuerza y potencia (Frontera y Ochala 2015). Los mionúcleos de las células musculares, los cuales son multinucleados, se ubican principalmente en la periferia a excepción las uniones neuromusculares donde se agruparán (Prasad y Millay 2021).

Las células musculares son multinucleadas y postmitóticas, contarán con células satélite que se encontrarán en el sarcolema y la lámina basal, serán encargadas de la reparación y regeneración ante un daño, estas se encuentran en un estado quiescente, pero están dispuestas a actuar ante una lesión. La matriz extracelular está conformada por tres capas, la más superficial que rodea a las células agrupadas en haces se conoce como epimisio, la capa que envuelve a los haces es tejido conectivo llamado perimisio, la capa que rodea cada fibra es una membrana basal que se le llama endomisio, a la membrana de cada célula se le llama sarcolema, así como también la matriz tendrá colágenos de distintos tipos. Contienen dos proteínas en mayor proporción que abarcan entre un 70-80% y se conocen como proteínas contráctiles, una de ellas denominada actina, la cual forma parte de los filamentos delgados o finos y la segunda proteína llamada miosina que conforma los filamentos gruesos. Proteínas reguladoras como troponina independiente de calcio (C, I y T) y la tropomiosina se asocia al deslizamiento y generación de fuerza. Titina asociada al disco Z es una proteína elástica gigante, nebulina asociada a la actina (Frontera y Ochala 2015; Mukund y Subramaniam 2020).

1.3 Tipo de fibras

Se conocen 4 tipos de fibras, estas se establecen durante el desarrollo embrionario (Schiaffino y Reggiani 2011). Las fibras tipo I que dan como resultado contracciones lentas con poca utilización de fuerza caracterizándolas como de menor amplitud pero mayor duración (lenta, oxidativa, resistente a la fatiga) el cual morfológicamente se encuentra densamente vascularizado y lleno de mitocondrias (donde su regeneración mitocondrial de ATP es más eficaz), mioglobina, enzimas oxidativas dando un color blanco siendo glucolíticas tipo II se caracterizan por ser de contracción rápida y altamente fatigables, disminuidas en la cantidad de mitocondrias, siendo de mayor amplitud pero corta duración, serán glucolíticas, se dividirán en

3, esto dependerán de la isoforma de la miosina IIA (rápida, propiedades metabólicas intermedias), oxidativa IIB solo se expresa en roedores (rápida y fácilmente fatigables) y IIX (más rápida, glucolítica, fatigable), cada tipo tendrá unidades motoras específicas, así como el complejo troponina-tropomiosina será diferente según el tipo de fibra (Blaauw y cols. 2013; Frontera y Ochala 2015; Mukund y Subramaniam 2020; Schiaffino y Reggiani 2011).

De acuerdo con diversos estudios se ha visto que las fibras rápidas tienden a ser más resistentes ante un cambio como es el nutricional a comparación de las lentas, así como que estas últimas surgirán de las primeras (Fahey y cols. 2005). Con esto definimos al músculo con una característica peculiar, su “plasticidad” que lo llevará a dar una respuesta adaptativa a un cambio prolongado involucrado en las demandas funcionales (Blaauw y cols. 2013). Conforme al tipo de fibras tendrá tres vías principales para la generación del ATP, para las fibras rápidas predominantemente será el fosfato creatina (CP) de regeneración inmediata que principalmente se lleva a cabo bajo la actividad de la creatina cinasa, de igual manera se encuentra la vía glucolítica a partir de la glucosa 6-fosfato que viene de depósitos intracelulares. Sin embargo, en las fibras lentas se usa primordialmente la regeneración oxidativa mitocondrial de ATP, la cual será de larga duración usando como sustratos los ácidos grasos y así también la glucosa (Blaauw y cols. 2013). Se han visto cambios fenotípicos del tipo de fibras en personas o en ratas que tienen una dieta rica en azúcares y grasa, así como por la obesidad, cambiando tipo de fibras lentas a rápidas (Tallis y cols. 2018).

CONTRACCIÓN MUSCULAR

El disco Z se encuentra en los extremos, de color característico oscuro, con bandas I más clara; en el centro se encuentra la banda A constituida por filamentos gruesos, justo en medio de ésta, una zona H más clara dividida por la línea M interconectando los filamentos gruesos (Mukund y Subramaniam 2020). El comienzo de la contracción muscular es conocida por la concentración de calcio citosólico que entrará en interacción con las proteínas, su proceso comenzará con la activación de canales de sodio que generan un potencial de acción que se transmite a la fibra muscular y despolariza túbulos T, aperturando el canal de Ca^{2+} y su entrada, éste a su vez tendrá una interacción con el complejo troponina-tropomiosina causando la exposición de miosina y activa, provocando su unión por un arrastre de las cabezas de miosina sobre los filamentos de

actina, dando la hidrólisis de ATP el cual induce la contracción, este mecanismo repitiéndose más de una vez (Mukund y Subramaniam 2020; Webb 2003).

1.4 Metabolismo muscular

El músculo es un reservorio de distintos macronutrientes, entre los destacados se encuentran las proteínas y los hidratos de carbono (Frontera y Ochala 2015).

Metabolismo glucolítico: La glucosa es la principal fuente de energía específicamente para las fibras de tipo II, éste comienza con la entrada de glucosa mediante transportadores de glucosa tipo 4 (GLUT4) principalmente donde entrará al ciclo de Krebs (Mukund y Subramaniam 2020). De acuerdo con el tipo de fibra será la cantidad de proteína transportadora GLUT 4 y su captación de glucosa (Heinonen y cols. 2012).

Metabolismo oxidativo: Principal vía para la utilización de los productos de la glucólisis o por medio de los ácidos grasos que se lleva a cabo por β -oxidación de los ácidos grasos.

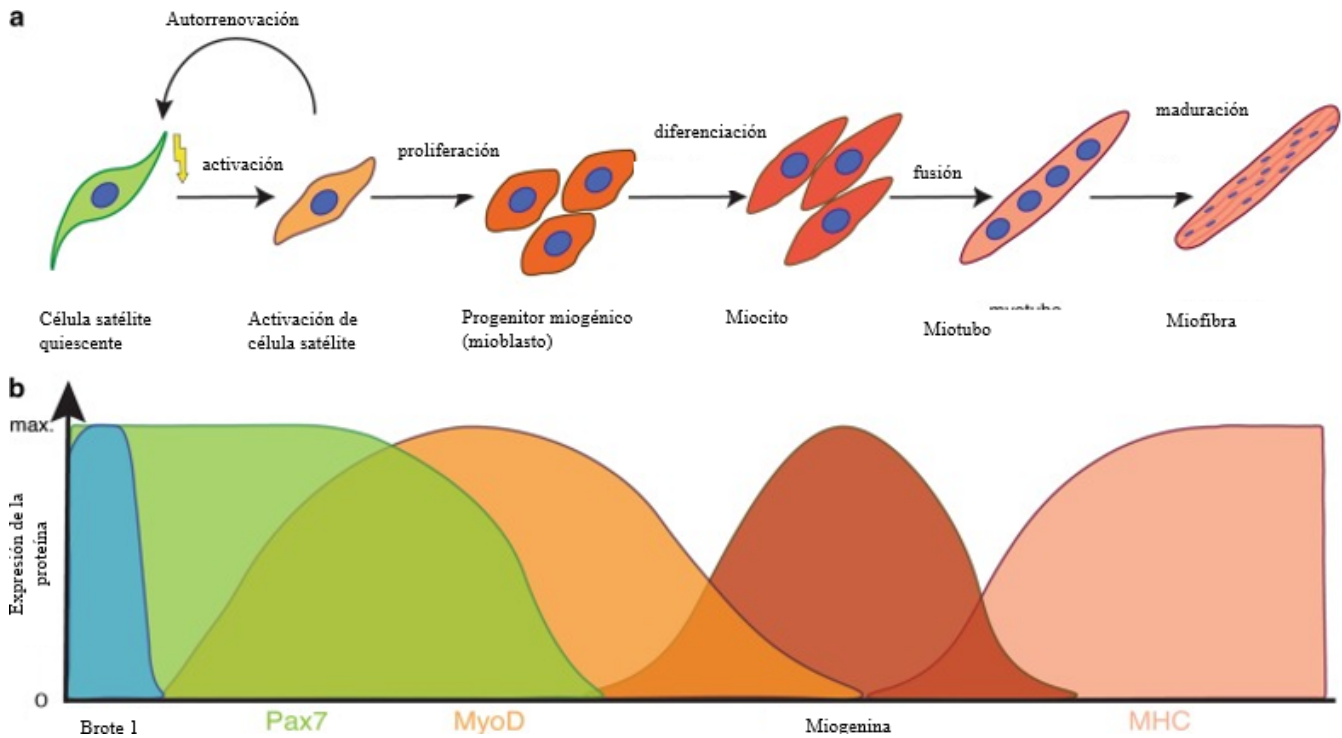
Mecanismo de captación de glucosa: Transportadores de glucosa los cuales darán la entrada, específicamente en el músculo esquelético se conocen cuatro, los dos principales y en mayor abundancia GLUT4 se encuentra en vesículas intracelulares y es transportada a la superficie cuando es estimulada y GLUT1 ubicado en membrana plasmática, GLUT3 exclusivo músculo fetal y neonatal, GLUT 5 para el metabolismo de la fructosa (Merz y Thurmond 2020).

CÉLULAS SATÉLITE

Se encuentran encargadas de la regeneración y reparación muscular, es un proceso controlado por la expresión secuencial de factores de transcripción específicamente Pax7 y MyoD (figura 3) que se diferenciarán en miocitos para posteriormente madurar, están en forma quiescente hasta su uso y se encuentran bajo la lámina basal de la miofibra y la matriz extracelular (Schmidt y cols. 2019), las cuales disminuyen conforme a la edad (Scicchitano y cols. 2018). La formación de estas miofibras maduras están reguladas por todo su microentorno en el que se encuentran inmersos, así como la presencia de diferentes moléculas y células como los macrófagos y citoquinas (Wang y Zhou 2022). Conforme a diversos estudios la adición de nuevos mionúcleos,

mediante las células satélite se asocia a la hipertrofia muscular, por el contrario, una atrofia se vincula a la pérdida de los mionúcleos (Blaauw y cols. 2013).

Figura 3. Diferenciación de las células satélite modificada de Schmidt y cols. 2019



1.5 Regeneración del músculo esquelético

Constará de tres fases, la primera (figura 4): La cual se dividirá en dos, dada cuando se provoca el daño, reclutando a los leucocitos circulantes y a los neutrófilos, tras la lesión alrededor del día 6 se lleva a cabo la infiltración de macrófagos de tipo 1 (CD68) y tipo 2 (CD163), los cuales alcanzarán su pico aproximadamente a las 24 horas, liberando citoquinas proinflamatorias como el TNF- α . El segundo momento sucede cuando los macrófagos liberan citoquinas de tipo antiinflamatorias como la IL-10. Fase 2: Sucede cuando comienza la activación y diferenciación de las células satélite, en donde se formarán los miocitos para dar lugar a los miotubos multinucleados, que se caracterizarán por tener los núcleos centrales debido a su nueva formación. Por último, la fase 3: De regeneración, en la cual se llevará a cabo la maduración de

las miofibrillas (Schmidt y cols. 2019).

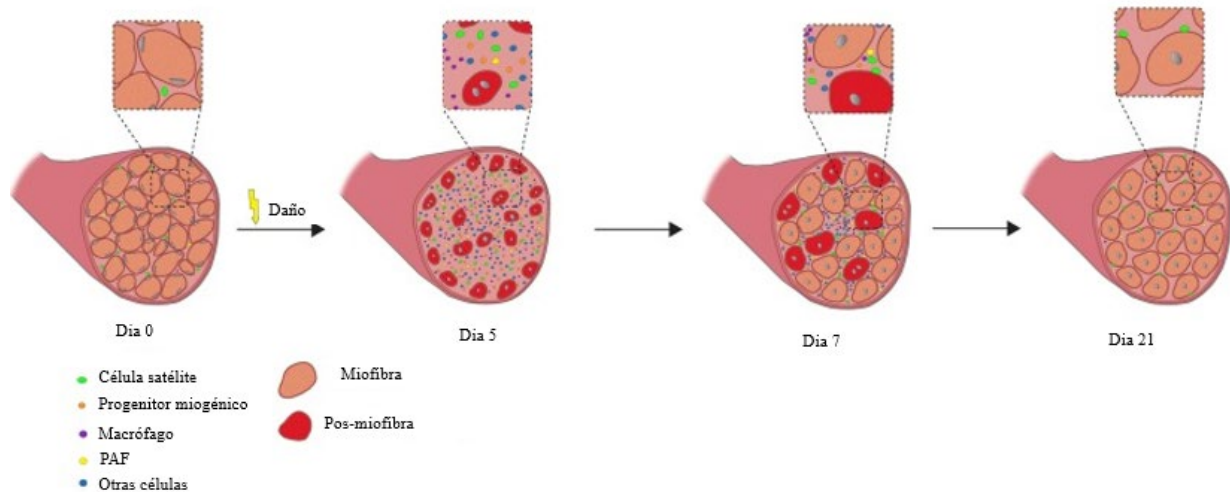


Figura 4. Regeneración muscular modificada de Schmidt y cols. 2019.

1.6 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo transitorio en el músculo es bueno ya que se relaciona con la activación celular producida por el ejercicio, sin embargo, una acumulación incontrolada de éste puede tener complicaciones patológicas, ya que se relaciona con la inflamación, así como la disfunción mitocondrial, la cual se asocia con atrofia muscular dado a cambios en biogénesis y recambio mitocondrial, cambio de Ca^{2+} , la apoptosis (Bouredji y cols. 2022^a; Scicchitano y cols. 2018). Al existir alguna alteración del metabolismo de la glucosa o lípidos surgen las especies reactivas de oxígeno en las mitocondrias como respuesta celular (Roberts et al., 2005). El óxido nítrico (NO) se produce por tres isoformas de la sintetasa del óxido nítrico (NOS); células endoteliales (eNOS, NOS3), tejido nervioso (nnNOS, NOS1) y (Inos, NOS2) la cual es inducida por citocinas inflamatorias como el $TNF-\alpha$. En el músculo esquelético, se encuentran estas tres isoformas en las fibras tipo II (nNOS, eNnos) en las mitocondrias de todo tipo de fibras e (Inos) en el

citoplasma de las fibras tipo 1(figura 5) (Hernández y cols. 2011).

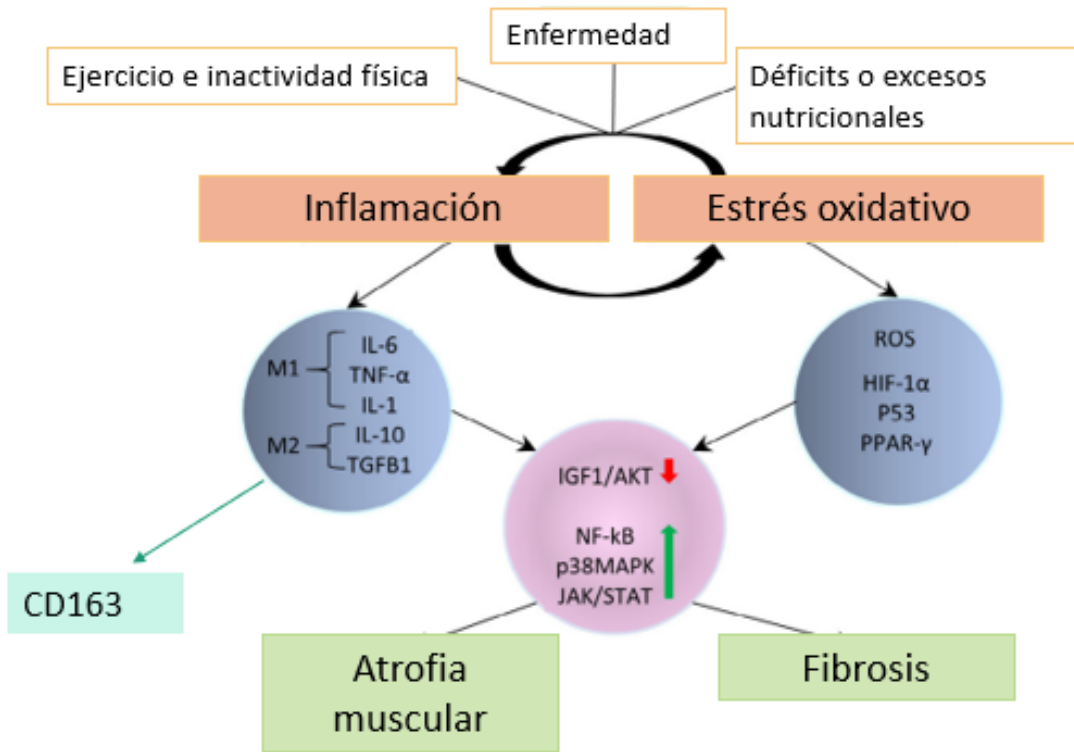


Figura 5. Estrés oxidativo e inflamación modificada Ceribelli y cols. 2016.

1.7 Miogénesis del músculo

El músculo esquelético corporal deriva de células precursoras mesodérmicas originadas en el miotoma, un linaje derivado de las somitas (Mukund y Subramaniam 2020). Durante el desarrollo muscular, las miofibras primarias (tienen núcleos centrales y diámetros mayores) se forman por primera vez durante la etapa embrionaria, se vuelven lentas (tipo I/oxidativo), la formación de las secundarias (tienen núcleos situados en la periferia) y de tamaños pequeños, se convierten en fibras rápidas (tipo IIA: rápido, mixto oxidativo y glucolítico y tipo IIB: rápido, glucolítico) (Du y cols. 2010; Sharples y cols. 2016). Las fibras primarias musculares de los

mamíferos se forman aproximadamente en el día 32-38 gestacional, así como las secundarias después de la 38-62 días, en roedores es un proceso más veloz, en el día 14-16 se forman las primarias, las fibras secundarias alrededor del día 17-19. Para la formación se derivarán de células precursoras de PAX7 (figura 6) para dar paso a la formación de mioblastos, se diferencian en miotubos y finalmente maduran a fibras musculares, en conjunto con factores reguladores miogénicos (MRF) específicos del músculo, MYF5 (proliferación), MYOD (fusión temprana), miogenina (fusión) y MRF4 (fusión tardía/maduración de miotubos) (Sharples, Stewart, et al., 2016). El gasto de consumo de glucosa fetal representa un 67% para el músculo esquelético, por lo que su regularización es importante (Yates y cols. 2012) porque en esta etapa las fibras musculares se fijan, en la vida adulta los únicos cambios que pueden ocurrir son la hipertrofia (donde se traduce como el aumento de orgánulos, citoplasma y proteínas) o atrofia (disminución de los orgánulos y atrofia de proteínas) de las fibras musculares (Blaauw y cols. 2013).

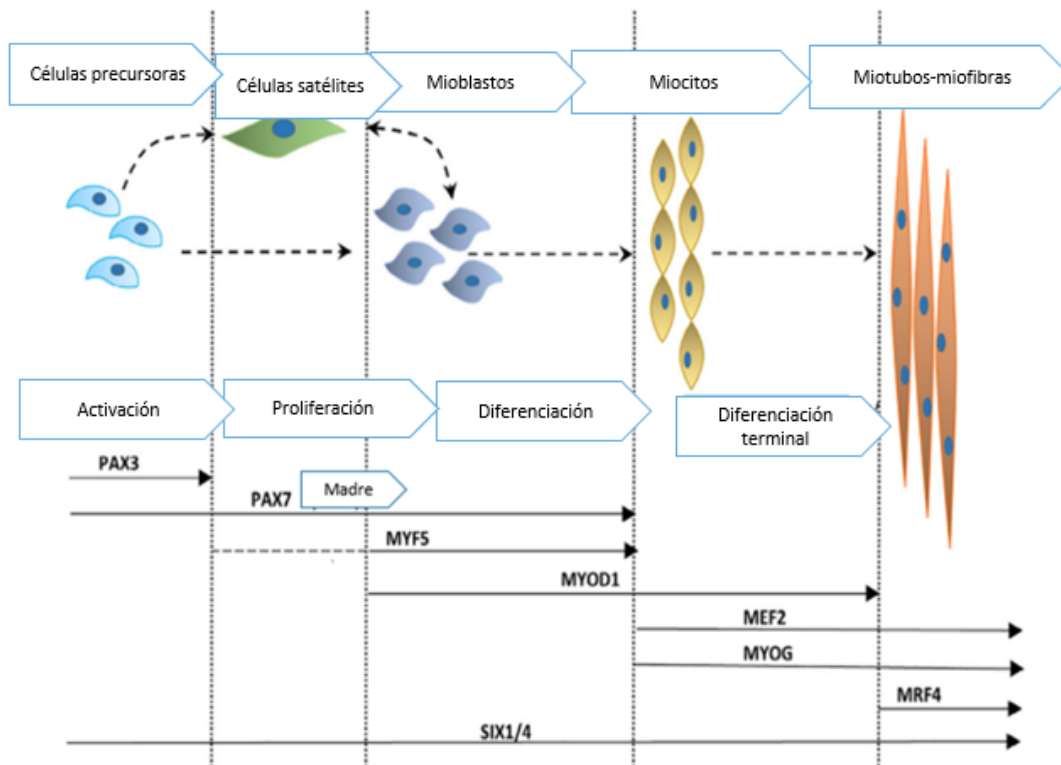


Figura 6. Miogénesis del músculo y factores reguladores miogénicos modificada de (Mukund y Subramaniam 2020).

1.8 Malnutrición y epigenética

La nutrición humana es una rama de la medicina basada en las interacciones bioquímicas de los alimentos con el cuerpo humano. La nutrición en equilibrio genera un estado de homeostasis, sin embargo, puede haber un desequilibrio (Di Renzo y cols. 2019), el cual se presenta cuando no existe una regulación entre la ingesta y las necesidades diarias, ya sea por un déficit o un aumento que provoque cambios estructurales y funcionales a nivel de órganos y tejidos, teniendo el riesgo de desarrollar enfermedades, esto causado por un estado de desnutrición o sobre nutrición en el organismo, esto se ha vuelto un problema a nivel mundial (Norman y cols. 2008; Pullar y cols. 2019).

Las enfermedades metabólicas están en aumento, uno de los eventos causales de su desarrollo, es el papel que juega la nutrición en los periodos importantes de la vida como, en la etapa gestacional, se relaciona el rol que ejerce la nutrición materna durante la gestación. Un suministro inadecuado de nutrientes materno-fetales conduce a marcados cambios en el metabolismo materno modificando la nutrición fetal. Ya que, se necesitan ajustes, morfológicos y fisiológicos durante el desarrollo en el entorno uterino, sin estos el crecimiento posnatal se ve perjudicado (Damasceno y cols. 2013). Diversos estudios epidemiológicos y experimentales han demostrado (figura 7) los cambios a nivel estructural, fisiológico e incluso hormonal que el cuerpo logra hacer para adaptarse, teniendo como consecuencias efectos graves en edad adulta (Ramírez- López y cols. 2015). La relación entre la exposición del entorno materno, el desarrollo y la salud del feto se reporta en la hipótesis de los orígenes evolutivos de la salud y la enfermedad (DOHaD). El pionero fue el Dr. Baker, planteaba la programación fetal y el riesgo en la descendencia a padecer enfermedades. Entre los factores causales está vinculada la nutrición en la que se engloba el concepto de malnutrición, la cual se define de dos formas como una sobrealimentación o una desnutrición porque ambas provocan un desequilibrio de nutrientes (Peral-Sanchez y cols. 2022). La forma en la que se llevan a cabo estas modificaciones se acuña a los cambios epigenéticos, ésta es una ciencia que estudia las modificaciones del ADN, ya sea por una metilación, acetilación de histonas y microRNA. (Ramírez- López y cols. 2015). Estos cambios ocurren a nivel sistémico y diversos órganos son afectados entre ellos el músculo esquelético, en donde se han visto cambios estructurales anatómicos, organización espacial, fascículos que lo componen y sus conexiones específicas.

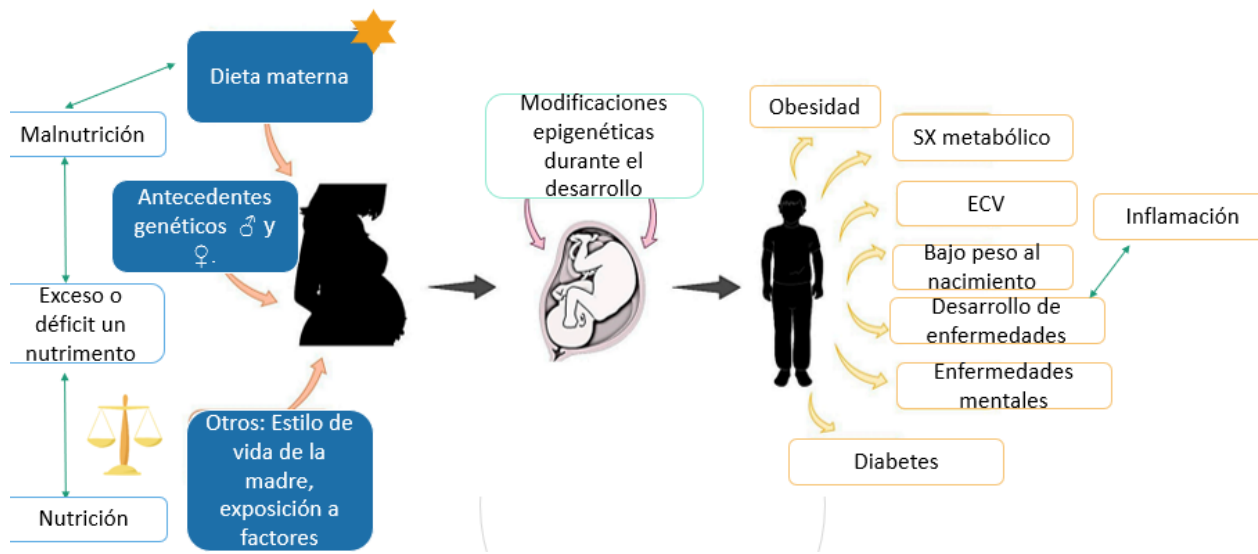


Figura 7. Nutrición y salud en la etapa gestacional modificada de Peral-Sanchez y cols. 2022.

La programación temprana del metabolismo del músculo esquelético es relevante, ya que es un sistema que ocupa alrededor de 40-50% de la masa corporal total y se encarga de utilizar el glucógeno para la producción de energía, pero al alterarse en etapas críticas donde se fijan el número de fibras (figura 6), se puede ver el metabolismo directamente alterado principalmente por sus vías de señalización metabólicas y sistémicas, cambiando propiedades fisiológicas y bioquímicas según el estímulo al que se les somete (Damasceno y cols. 2013; Salto y cols. 2020). La glucosa es el principal sustrato para el desarrollo del feto, que procede de la circulación materna. Mientras que la insulina es la principal hormona de crecimiento del feto, que es responsable del 50% del peso fetal. Un mal desarrollo del músculo esquelético fetal perjudica el metabolismo de la glucosa y los ácidos grasos por parte del músculo esquelético en respuesta a la estimulación de la insulina y, por lo tanto, predispone a la descendencia a presentar un alto riesgo de desarrollar enfermedades metabólicas (figura 7) (Du, Tong y cols. 2010). Así, el cambio de tipo de fibras, como el tamaño en la gestación se ha visto relacionado con mayor predisposición de padecer en la vida adulta enfermedades crónico-degenerativas, las cuales se han relacionado con la disminución de transportadores de GLUT4 (Sharples y cols.

2016). Pero no todos los mecanismos que hacen cambiar el funcionamiento del músculo están dados en la primera etapa de su desarrollo, sino también existen otras ventanas importantes, como lo es en la vida posnatal, donde el organismo tiene la capacidad de elegir sus propios alimentos, dado a esto que en la actualidad cada vez sea más recurrente el desequilibrio por una mala alimentación provocando en primera instancia inflamación sistémica. Los cambios ambientales como los involucrados con la nutrición pueden estar no reflejados inmediatamente en el nacimiento, ejemplificando el peso al nacimiento. Si no verse reflejados hasta la vida adulta (Sayer y Cooper 2005).

1.9 Sistema inmunitario innato-adaptativo-inflamación

Es la respuesta para mantener en homeostasis el organismo, eliminando células dañadas, agentes patógenos, estímulos nocivos. La diferencia entre inflamación aguda y crónica es el tiempo, en la primera las células infiltrantes serán los granulocitos donde al pasar por la primera fase y no ser mitigada se convertirá en crónica, dando paso a la infiltración de macrófagos proinflamatorios y antiinflamatorios, así como neutrófilos y linfocitos, se relaciona una persistencia de ésta a diversas enfermedades crónicas-degenerativas, dada por el ambiente externo, sustancias nocivas o al tipo de dieta. (Zhao y cols. 2021; Mann y cols. 2011; Mukund y Subramaniam 2020). Uno de los sistemas en responder ante estímulos causados por un desequilibrio externo de la dieta, es el sistema inmunológico. Se conoce que la inflamación crónica de bajo grado es la característica a la patología de obesidad, en donde existe un aumento de las citocinas proinflamatorias y una disminución de las antiinflamatorias en circulación, llegando directamente al tejido adiposo a través de hormonas implicadas en sangre como lo es la insulina y las catecolaminas que ayudarán al aumento de flujo de sangre hacia otros órganos/tejidos diana, los cuales son metabólicamente activos donde migran las células inflamatorias (Osborn y Olefsky 2012), como el caso del músculo en donde las células musculares responden las estímulo de moléculas inflamatorias mediante su receptor toll-like4 (TLR4) (Asghar y cols. 2021). Un cambio en el equilibrio de un perfil inmunometabólico adaptativo, observado en el tejido muscular sano, a un estado des adaptativo como el observado en los trastornos metabólicos crónicos, se produce a través de una interacción deficiente entre factores de señalización inmunitaria y metabólica como el inflamasoma, los receptores de

insulina, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y otras citocinas (Mukund y Subramaniam 2020). Se asocia la aparición de macrófagos inflamatorios dada por la reprogramación metabólica hacia la glucólisis aerobia y el ciclo de Krebs alterado. En primera instancia estos estarán encargados en diversos entornos tisulares a promover la homeostasis, pero frente a un estímulo sea este dado por algún tipo de lesión o cambio metabólico estos cambiarán fenotípicamente montando una respuesta inflamatoria (Kasmi y Stenmark 2015).

2.0 Tejido adiposo

El tejido adiposo se divide en dos, el blanco el cual se encarga de almacenar energía que se encuentra en exceso dada a un superávit calórico (Burhans y cols. 2019), y el pardo que la disipa en forma de calor a causa del exceso de energía o por hipotermia. Se relaciona con múltiples funciones y procesos entre los que se encuentran su respuesta inmune, su relación autocrina y paracrina. Se ha encontrado que la hipertrofia de este tejido se da en zonas de hipoxia y libera una mayor cantidad de interleucinas proinflamatorias, vinculando al tejido adiposo blanco (TAB) que conlleva daños en órganos y tejidos, disminuyendo su flexibilidad metabólica haciéndolo susceptible a enfermedades crónico-degenerativas (Meriño y cols. 2017). El (TAB) es regulado principalmente en organismos obesos por la leptina en donde tiene un efecto proagregante en las plaquetas y también podría regular función inmunitaria a través de una estimulación de las respuestas inflamatorias. Donde lograría ser una de las vías implicada en el principio de la respuesta inflamatoria para su posterior migración a otros tejidos (Dandona y cols. 2004). Se ha demostrado que el tejido adiposo blanco, secreta citocinas proinflamatorias (figura 8) como el factor de necrosis tumoral (Canello & Clement 2006). Durante la obesidad, TNF- α produce un aumento de la activación de los macrófagos (M1) en las células musculares. El tejido adiposo, principalmente el visceral resguardada cerca de 40% de los macrófagos y actúa de forma parácrina, esto a causa de una cascada de inflamación crónica, generando un desequilibrio de manera endocrina provocando la migración por el torrente sanguíneo a otros tejidos, de igual manera se relaciona con cambios en la señalización de la insulina, pudiendo provocar una resistencia (Osborn y Olefsky 2012).

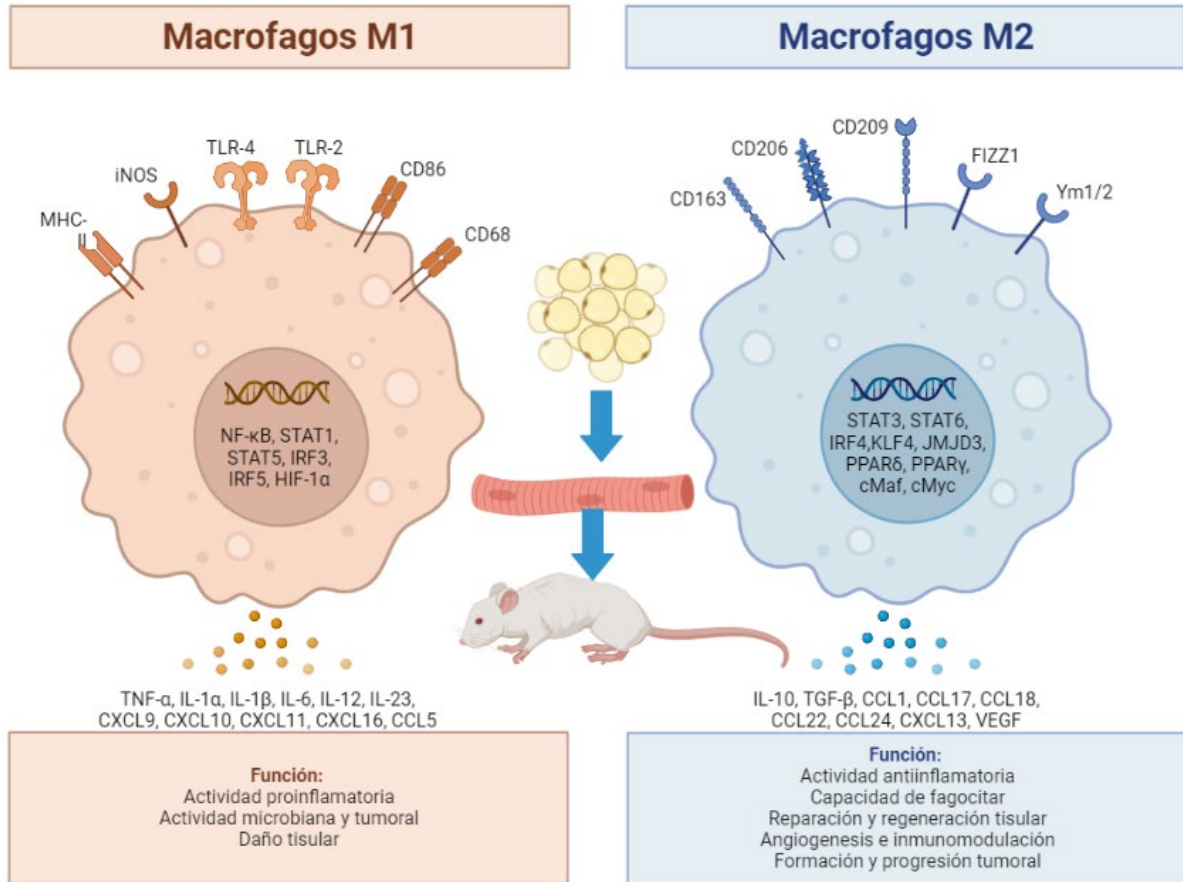


Figura 8. Tejido adiposo y translocación de macrófagos modificado de Yao y cols. 2019.

2.1 Macrófagos

Los macrófagos son células fagocíticas mononucleares representan un compartimento integral del sistema inmunitario innato y derivados de los progenitores hematopoyéticos; monocitos formados en la médula ósea, reguladores críticos tanto de la homeostasis, así como de patologías relacionadas con alteraciones del sistema inmune, además son cruciales para la remodelación adecuada de los tejidos durante el desarrollo fetal. Son células que pueden cambiar fenotípicamente, así, existen diferentes vías de señalización acorde al tipo de macrófago activado. Los M1 clásica con un rol inflamatorio dirigido por ligandos del receptor tipo Toll (TLR) y el interferón gama ($IFN\gamma$) (figura 8) y alternativamente (M2) antiinflamatorio inducido por la IL4/IL13 (M2a), el complejo inmunitario (M2b). Se ha visto que su polarización puede cambiar rápidamente, así como revertirse o repolarizarse. La vía JNKs está relacionada en este cambio de polarización. Así como la vía de señalización Jak/STAT implicada en la

mediación de respuestas biológicas inducidas por citocinas como vía IFN- γ /Jak-STAT1 (Zhou y cols. 2014).

De acuerdo con el ambiente por el cual sean estimuladas, en los M1 ocurre un “secuestro” de hierro para optimizar las funciones bacteriostáticas y de protección, en cambio en la vía M2 ocurre “expulsión” de hierro, lo que está relacionado con reparación de los tejidos, pero a su vez provoca el crecimiento tumoral y la metástasis (Shapouri-Moghaddam y cols. 2018). Así como presentan fenotipos intermedios que tendrán características mixtas M1 Y M2 (Skytthe y cols. 2020). La población de macrófagos M2 es dividida en distintos subtipos. Los macrófagos M2a macrófagos activados alternativamente, son activados por las citocinas Th2 IL-4 e IL-13, y están más comúnmente asociados con la reparación de tejidos, las heridas y la fibrosis. Los macrófagos M2c se consideran antiinflamatorios, ya que desempeñan un papel clave en la desactivación del fenotipo M1 y promueven la proliferación de células no mieloides. Los macrófagos M1 suelen encontrarse en las primeras fases tras una lesión muscular, posterior a los macrófagos M2c. Los macrófagos M1 expresan marcadores específicos de la superficie celular, además se liberan una serie de citocinas reguladoras como la interleucina 10 (IL-10), interleucina 1 (IL-1), interleucina 15 (IL-15) y TNF- α y el ligando de quimiocinas, dentro del músculo la presencia de infiltrados inflamatorios compuestos principalmente por macrófagos, células T y células dendríticas se correlaciona con la pérdida de fibras musculares mediada por el sistema inmunitario y una incapacidad para resolver el proceso de regeneración eficazmente. Se ha demostrado que la polarización de los macrófagos se ve afectada por las vías de detección de nutrientes, como la Proteína-quinasa activada por Monofosfato de Adenina (AMPK) y el complejo sensible a rapamicina (mTOR1), Los macrófagos que carecen de una subunidad catalítica de proteína quinasa (AMPK α 1) han demostrado tener una polarización M2 defectuosa” (Mukund y Subramaniam 2020). Los macrófagos inflamatorios se hacen dependientes de glucosa y por lo tanto, un ambiente lleno de ésta, aumentará su proliferación y aunado a que migrarán a otros tejidos, un mecanismo parecido al de las células cancerosas. Los macrófagos M2 tienden a tener una mayor captación de ácidos grasos para su oxidación y obtención de energía (Kasmi y Stenmark 2015). Además, relacionan la ubicación de los macrófagos en el epimisio/perimisio acorde a la línea de defensa innata a la lesión (Mann y cols. 2011). Se ha corroborado con diversos estudios un aumento de los M1 y M2 en el envejecimiento (Trollet y cols. 2021). En ausencia de estímulos, el macrófago entra

inicialmente en un estado quiescente en el que son capaces de mantenerse durante un corto periodo de tiempo antes de inducir su muerte por apoptosis (Mann y cols. 2011).

MACRÓFAGOS Y OBESIDAD

Se vinculan en una alteración de su polarización en el desarrollo de la obesidad y su progresión, en particular un aumento de M2 sobre los M1 (Zelinka-Khobzey y cols. 2021). El tejido adiposo es el mayor reservorio de células inmunitarias durante la obesidad. En humanos, en estado de homeostasis el porcentaje de macrófagos va de un 10% y este en estado de obesidad oscila entre 40-50% (Mujkić y cols. 2023). Se ha demostrado mediante técnicas invitro que comparten perfiles celulares muy similares e incluso que un preadipocito puede ser un precursor de un macrófago, lo cual plantea otro factor que tiene el potencial de plasticidad para transdiferenciarse en macrófagos (Charrière y cols. 2003).

TIPOS DE MACRÓFAGOS

En los macrófagos (M1) se ubica la glicoproteína CD68, entre los marcadores M2 se encuentran CD14, CD163, CD206 y CD209 (Shapouri-Moghaddam y cols. 2018). Los macrófagos M2, promueven la diferenciación de células satélite (Bouredji y cols. 2022b). Su metabolismo es obteniendo por dos vías por una parte aumentando el catabolismo provocando la proteólisis y por otro disminuyendo las vías anabólicas (Dargelos y cols. 2018).

2.2 Vías de señalización

La exposición al interferón-g (IFN γ) y a los ligandos del receptor tipo Toll (TLR) hacia un fenotipo inflamatorio (Biswas y Mantovani 2012). A diferencia de la vía alternativa la cual es estimulada por la IL-4, la IL-13, los glucocorticoides, el factor de crecimiento transformante β (TGF- β), los complejos inmunitarios y la IL-6 (figura 8) (Skytthey cols. 2020).

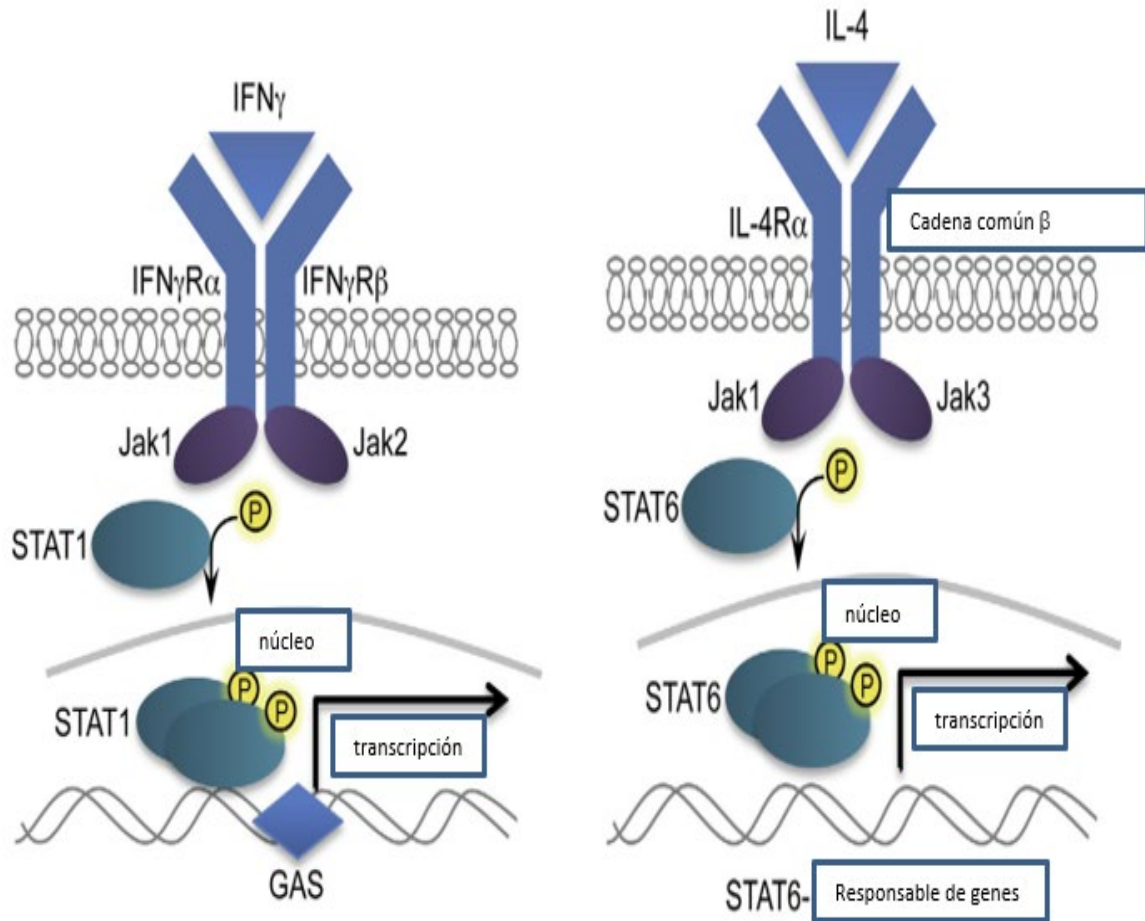


Figura 8. Izquierda vía de señalización macrófagos M1, Derecha vía de señalización macrófagos M2. Modificada de Grabowska y cols. 2015.

2.3 CD163

Es una proteína de superficie específica para monocitos/macrófagos, específicamente de una subpoblación de monocitos CD14(high)CD16(+)(Kawarabayashi y cols. 2017; Semnani-Azad y cols. 2019). Macrófagos M2 receptores scavenger ricos en cisteína (Sporrer cols. 2009) forman un complejo por su unión haptoglobina-hemoglobina, de membrana con un peso de 130 kDa y una cola citoplasmática corta, está constituido por nueve cisternas de receptores scavenger de clase B (Etzerodt y Moestrup 2013). Su funcionalidad se relaciona con señalización endocrina, la angiogénesis, el crecimiento tumoral y metástasis. Se vincula su expresión en diversas patologías como en las placas ateroscleróticas carotídeas, en la entero hepatitis no alcohólica, enfermedades inflamatorias como la aterosclerosis, la linfocitosis hemofagocítica y la diabetes mellitus. Entre los estimuladores más potentes para su activación de esta proteína CD163 se encuentra la IL-6, TNF- α (Skytthe y cols. 2020).

La forma soluble/ plasmático se logra gracias al desprendimiento de CD163 mediado por el TNF- α , en cuanto a su parte no soluble éste, es una diana para los fármacos dirigidos a los macrófagos en la inflamación, el receptor se une al TNF- α como inductor débil de la apoptosis citocina (TWEAK), y algunas bacterias patógenas y virus (Etzerodt y Moestrup 2013). Se encontrará en forma constitutiva en diversos tejidos maduros como lo es la pulpa roja esplénica, células de Kupffer en el hígado, de médula ósea residente (Polfliet et al., 2006). Entre otras relaciones y vínculos se ha visto la del CD163 en tejido adiposo correlacionado con la tasa de eliminación de la glucosa (Hu y cols. 2019).

sCD163

Esta se desprenderá en condiciones de inflamación de la membrana del CD163 por medio de la enzima convertidora de necrosis tumoral (TACE/ADAM17), donde posteriormente se irá a circulación, los niveles se correlacionan con TNF- α (Hu y cols. 2019). Se ha relacionado un aumento significativo de sCD163 en sujetos obesos y se ha correlacionado como un predictor a desarrollar DM2 (Fjeldborg y cols. 2013a). Entre los otros factores y mecanismos causantes de su desprendimiento, se encuentra una dieta rica en grasas y el estrés reticular endoplasmático (Hu y cols. 2019).

2.4 TNF- α

El TNF- α es una proteína homotrímica de 157 aminoácidos codificada en el brazo corto del cromosoma 6 en los seres humanos, con una presentación en forma soluble y otra unida a la membrana de los macrófagos y de otras células inmunitarias, que se distribuye en forma soluble en la superficie celular después de su corte enzimático (Sørensen y cols. 2015; Thoma y Lightfoot 2018), originada tras la activación del sistema inmunitario por macrófagos M1 activados, mastocitos, neutrófilos, linfocitos T_H1, células asesinas naturales y por leucocitos polimorfonucleares (Jang y cols. 2021; Abdel-Salam y cols. 2009). Es proinflamatoria soluble denominada TNF- α que como su nombre lo indica, ejerce una citotoxicidad significativa sobre muchas líneas celulares tumorales y causa necrosis tumoral (Wajant y cols. 2003).

El TNF- α es una proteína transmembrana que se da por la síntesis de la proteína transmembrana (tmTNF- α), la cual con ayuda de la enzima (TACE) metaloproteinasa, libera el homotrímico soluble de (sTNF- α) se une a dos tipos de receptores (TNFR) tipo 1 (TNFR1) y tipo 2 (TNFR2) (figura 9), donde ejercen su función a través de receptores, el primero se dividirá en tres complejos; I, IIa, IIb y IIc. Complejo I asociado a la inducción de la inflamación, proliferación y defensa inmunitaria, IIa al dominio de muerte. TNFR2 que se relaciona con actividades homeostáticas; regeneración de tejidos, proliferación y supervivencia celulares. Así, también se le vinculan respuestas inflamatorias (Xue y cols. 2022^a; Jang y cols. 2021; Wang y cols. 2019). Se expresa y sintetiza en los adipocitos y células del estroma vascular (Mann y cols. 2011). El TNF- α disminuye la lipogénesis, aumenta la lipólisis, induce hiperglucemia y resistencia a la insulina por interferir con su receptor y activación de diversas vías de señalización. Estudios sugieren que la expresión de TNF- α en los macrófagos es inducido por los ácidos grasos libres (Sierra-Castrillo y Gómez-Rave 2017). Diversos estudios han relacionado el papel de esta citocina con resistencia a la insulina (Osborn y Olefsky 2012). Además, estudios sugieren un mecanismo por el cual la obesidad llevará a un aumento de las células inflamatorias y a su vez se provocará una disminución de la masa muscular (Wang y cols. 2019). Asimismo, se ha relacionado con cambios en el metabolismo glucolítico muscular según diversos estudios (Remels y cols. 2015). La presencia de TNF- α se ha visto relacionada con cambios en el metabolismo oxidativo, así como una expresión de la enzima glucolítica hexocinasa II (HK II).

2.4 TNF- α y músculo

La asociación de la malnutrición en las etapas fetales del desarrollo del músculo esquelético se vincula con la cantidad y calidad de éste, así como las enfermedades que se desarrollan durante estas etapas. Cantidades elevadas del TNF- α (figura 10) se vinculan con aspectos como la pérdida de masa muscular, mayor incidencia de morbilidad y mortalidad. El desarrollo muscular se lleva a cabo por diversos factores como el factor de regulación miogénica (myoD), en donde se ha visto que la presencia de la citocina TNF- α impide la fusión /diferenciación de los mioblastos. Por ahora se sabe que esta citocina se encuentra en los mioblastos de forma constitutiva, formando otra cara de la moneda como regulador fisiológico que participa en la regeneración, y no únicamente su participación en patologías (Sharpley y cols. 2016). El TNF- α actúa sobre las células musculares provocando una pérdida de proteínas y una atrofia de las miofibrillas. Llevado a cabo a través del factor nuclear (NF- κ B) (Stratos y cols. 2022). La señalización de (NF κ B) en músculo, tiene varias funciones entre las principales se encuentra su participación en la regulación de la inflamación, así como en la miogénesis (Tidball y cols. 2018a).

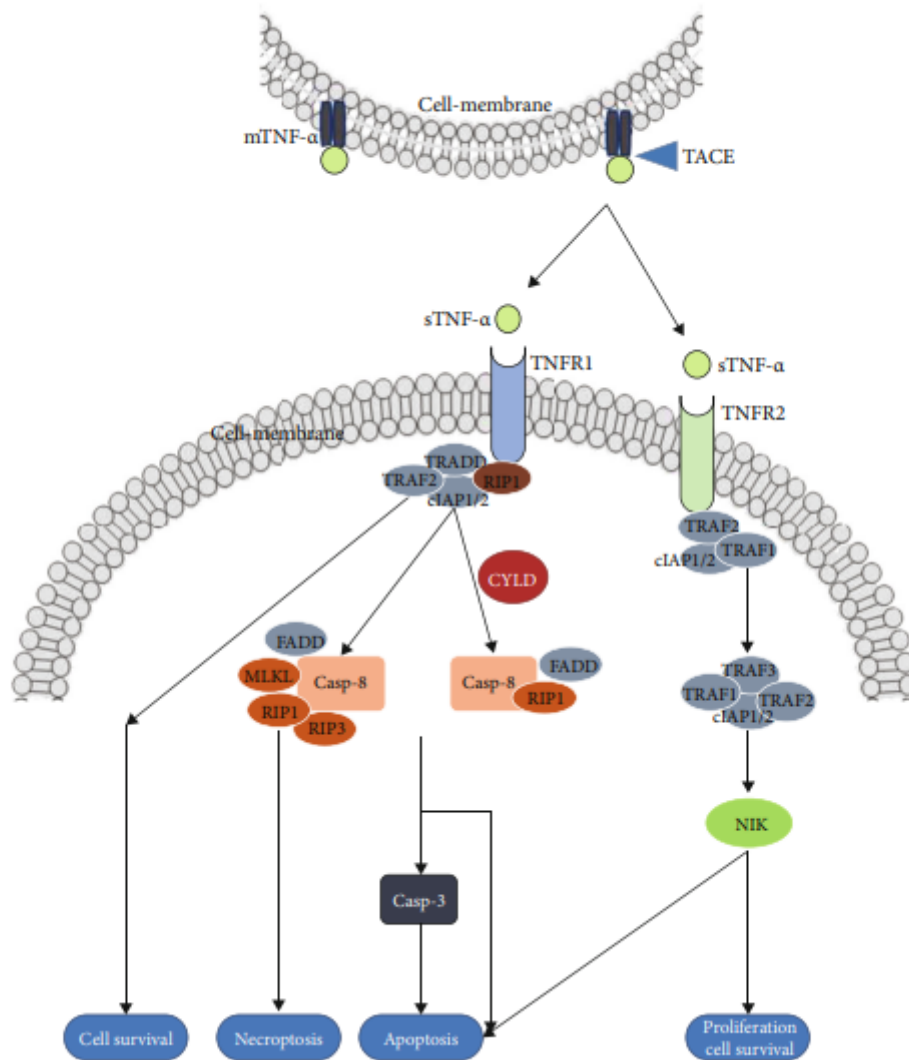


Figura 9. Vías de señalización de TNF- α . Modificada de Xue y cols. 2022a.

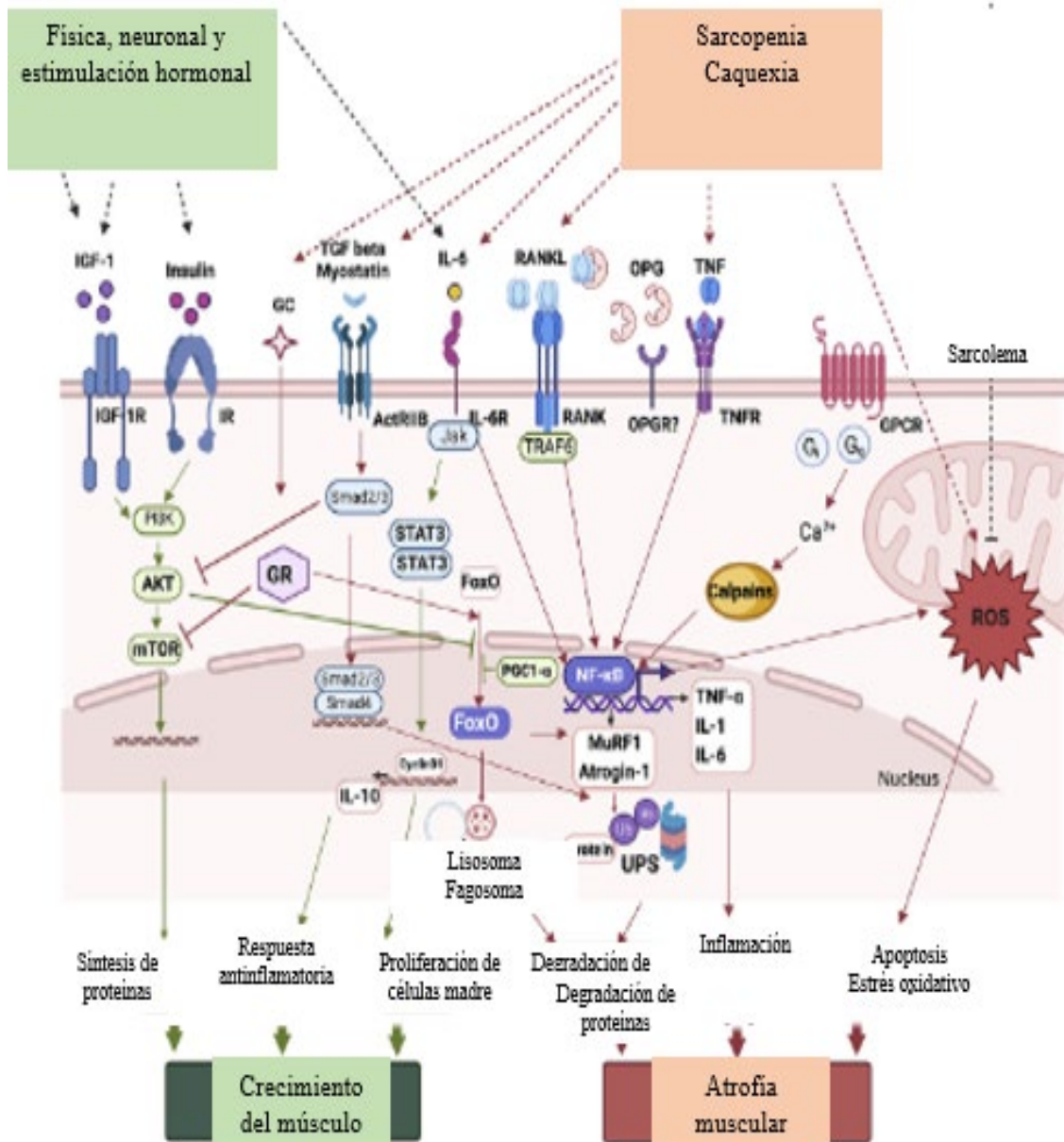


Figura 10. Vías de señalización músculo modificada de Bouredji y cols. 2022.

2.5 Fibrogénesis del músculo

La fibrosis fisiopatológica, es esencialmente una acumulación excesiva de componentes de la matriz extracelular, pues ésta será la primera línea de defensa, constituida principalmente de colágeno, es el resultado final de una cascada de acontecimientos que proceden de la lesión tisular a través de la inflamación, resultando al final una cicatriz permanente reflejada como un engrosamiento de la matriz extracelular. La fibrosis puede perjudicar la función de los tejidos y causar enfermedades crónicas en diversos órganos y tejidos vitales. Se llevan a cabo reacciones; como la degeneración celular y tisular, la infiltración de leucocitos, la inflamación persistente del tejido y la proliferación de células con un fenotipo similar al de los fibroblastos (Mann y cols. 2011). Una mala regeneración dada por un proceso inflamatorio dará como resultado una fibrosis (Grabowska y cols. 2015). La fibrogénesis está presente en el desarrollo del músculo esquelético, mediada principalmente por la vía de señalización del TGF- β en el músculo fetal, parece estar en curso durante todo el periodo de gestación, pero es más activa después de la mitad de la gestación, coincidiendo con la miogénesis (Du y cols. 2010). Ante cierta agresión al músculo se lleva a cabo una cascada inflamatoria ya sea aguda o crónica en la cual la matriz extracelular juega un papel importante, en ésta se llevará una remodelación sustancial, donde entrarán macrófagos a defensa, los de tipo M2 secretando cascada TGF- β , que secretara fibroblastos y síntesis de colágeno para generar la curación (Mukund y Subramaniam 2020).

2.6 Continencia e incontinencia urinaria

Se define como la contracción sistematizada de diversos músculos que forman un complejo de “hamaca” según la hipótesis de ésta, se realiza al tener aumentos de la presión abdominal dando como resultado el control de la presión uretral, estos actuarán de una forma diferencial pero coordinada a su vez (Herschorn 2004). Así, durante el proceso de micción el músculo detrusor se contrae y los músculos lisos y estriados de la uretra se relajan (Hodges y cols. 2020). La micción normal se consigue bajo dos mecanismos cuando la presión uretral disminuye y la presión de la vejiga aumenta. Los problemas con estos procesos y los músculos involucrados

pueden conducir a la incontinencia. La presión uretral en los hombres está controlada por diversos mecanismos que incluyen varios músculos. El sistema nervioso autónomo es responsable de la presión tónica para mantener la continencia; músculos estriados/esqueléticos ubicados en el suelo pélvico, forman fuerzas opuestas para lograr el cierre activo de la uretra, específicamente los músculos que forman parte del elevador del ano, los cuales participan en comprimir la uretra y son controlados por entradas reflejas y descendentes para contribuir a la continencia activándose voluntariamente (Hodges y cols. 2020; Sayner y Nahon 2020). La incontinencia urinaria es definida por la sociedad internacional de continencia, como “un síntoma de almacenamiento y se define como la queja de cualquier pérdida involuntaria de orina”, se acuñe un 40% - 88% debido a una insuficiencia del esfínter (Hodges y cols. 2020).

2.7 Disfunción eréctil

Las enfermedades relacionadas con el piso pélvico masculino son multifactoriales y tienen un origen biológico o psicológico según sea el caso. En este contexto entra la disfunción eréctil. Este tipo de patologías para el género masculino, forman una parte vital de su salud y bienestar. Pero el papel que ejerce el piso pélvico en estas es de suma importancia, pero es tomado en cuenta en pocas ocasiones (Cohen y cols. 2016). Diversos estudios demuestran que la debilidad de los músculos del suelo pélvico se relaciona como un factor para el desarrollo de esta enfermedad (Kim y cols. 2021). La disfunción eréctil es un trastorno que disminuye la calidad de vida de los hombres, se calcula que para el año 2025 existirá una prevalencia mundial de 322 millones de casos. Las categorías de factores de riesgo asociadas incluyen el estado de salud general del individuo y su estilo de vida, incluyendo hábitos de alimentación y la genética. Estas condiciones metabólicas están fuertemente asociadas con una alteración con el sistema inmune dando como resultado un estado proinflamatorio que provoca una disfunción endotelial y una disminución de la disponibilidad y la actividad del óxido nítrico (Ghanem y cols. 2021). Se ha propuesto que uno de los factores a su desarrollo es un cambio en el metabolismo o alteración producida por una dieta rica en carbohidratos (Corona-Quintanilla y cols. 2021).

2. ANTECEDENTES

El tamaño de un músculo está determinado principalmente por el número de las fibras musculares individuales, aunque la infiltración patológica por grasa y tejido conectivo puede alterar el tamaño de las fibras musculares (Frontera y Ochala 2015). El principal tejido responsable de la resistencia a la insulina es el tejido adiposo, en individuos obesos y diabéticos de tipo 2, acorde a estudios en animales sobre la restricción temprana o exceso de nutrientes de la madre y la obesidad durante la gestación, indican que la dieta materna deficiente o excesiva pueden predisponer a la descendencia a padecer este tipo de enfermedades (Du y cols. 2010). Diversos retos en la etapa prenatal y posteriormente en la posnatal de restricción proteica o incremento de hidratos de carbono, aumentan en el tejido adiposo, así como los niveles séricos de insulina y triglicéridos (Cervantes-Rodríguez y cols. 2014), esto puede modular las vías de señalización y flexibilidad metabólica del músculo esquelético. Las modificaciones en la dieta en la etapa prenatal y posnatal están relacionadas con modificaciones en la activación, frecuencia y reflejo uretrogenital del músculo esquelético particularmente con aquellos que participan en la respuesta sexual masculina como lo es el pubococcígeo (Corona-Quintanilla y cols. 2021).

Estudios relacionados al sistema reproductor masculino y los músculos del piso pélvico, con nuestro mismo modelo de investigación en donde se le sometió al estímulo de dar agua azucarada al 5% en la etapa pre y postnatal, reportamos en el testículo un aumento proporcional de macrófagos y mastocitos en el grupo que consumió agua azucarada toda la vida (Córdoba y cols. 2022). Recientemente también reportamos que el músculo bulboesponjoso aumenta la frecuencia durante el reflejo uretrogenital cuando el consumo de agua azucarada es durante la etapa prenatal, mientras que cuando el consumo de agua azucarada es durante la etapa pre y posnatal modifica el área transversal de la fibra (Dávila 2023).

En ratas alimentadas con una dieta tipo cafetería en la etapa prenatal y al control con una dieta rica en hidratos de carbono complejos, mostraron que la primera dieta disminuía significativamente los transportadores GLUT4 comparado a la dieta control, relacionado a esto, aumenta el deterioro del metabolismo de la glucosa en músculo. De igual forma la dieta control mostró mejora en su estructura y funcionalidad del músculo (Sharples y cols. 2016; Damasceno y cols. 2013).

Las evidencias en humanos como en modelos de rata demuestran que el tipo de dieta y, la obesidad materna; crean un ambiente adverso duradero en diversos sistemas, como el sistema inmunitario. Estas exposiciones aceleran la adipogénesis, alteran el metabolismo mitocondrial y perjudican la detección de energía, afectando varios órganos y sistemas entre ellos el músculo esquelético. Investigaciones indican que no sólo el músculo estriado uretral, sino también la matriz extracelular desempeña un papel fundamental en la insuficiencia urinaria (Piculo y cols. 2014). Dietas altas de sacarosa aumentan las especies reactivas de oxígeno y como consecuencia provocan una disfunción endotelial (Roberts y cols. 2005). Las células inflamatorias viajan por el torrente sanguíneo para combatir la inflamación ya sea causada por una lesión o una desregularización metabólica, llegando al lugar donde se tiene que combatir (Grabowska y cols. 2015b). Estudios mencionan que después de cierta agresión muscular, existe una población homogénea de macrófagos tanto M1 y M2 (Mann y cols. 2011). Se evaluó el CD163 soluble en pacientes obesos y un grupo control con restricción de dieta, se encontró una diferencia significativa mayor en individuos obesos y su asociación con el marcador predictor de resistencia a la insulina relacionado a obesidad (Fjeldborg y cols. 2013). Este mismo marcador en pacientes con riesgo de diabetes mellitus se asocia con el aumento de sCD163 con un mayor riesgo de disglucemia incidente (Semnani-Azad y cols. 2019). Collins y cols. (2017) demostraron que la capacidad y velocidad de daño está vinculada con el tipo de fibras que tenga cada músculo, el soleo en su estudio, no tuvo un impacto significativo de los receptores CD68, puesto que es un músculo oxidativo, el mayor impacto lo sufren las fibras de tipo glucolíticas, se observan repercusiones dadas por el desafío metabólico que se les presente (Collins y cols. 2017). Además, se ha relacionado una de las vías por la cual la dieta podría afectar al epigenoma, es la inflamación, ya que se ha consolidado un vínculo entre la dieta y los marcadores proinflamatorios, en la gestación específicamente cuando está presente una inflamación crónica, vinculada a exceso de tejido adiposo, alterando mecanismos homeostáticos de ésta. En dicho estudio se investigó la asociación de citocinas maternas circulantes y la metilación en nueve regiones metiladas (las más estudiadas a su asociación, donde el análisis multivariante una menor metilación de MEG3 y su asociación con mayores niveles circulantes de IL-6 y TNF- α , esto dado por alteraciones en su tipo de dieta (McCullough y cols. 2017).

3. JUSTIFICACIÓN

Las modificaciones por las dietas modernas, provocan alteraciones relacionadas a la malnutrición, el consumo de una dieta alta en azúcares son bien conocidas, por su alta incidencia de morbilidad y mortalidad en enfermedades crónico-degenerativas en etapas tempranas de la vida adulta; sin embargo, existen menos conocimientos sobre la influencia de este tipo de dietas durante el periodo gestacional, así como las adaptaciones y alteraciones a corto y largo plazo de la descendencia, lo que puede traer consigo modificaciones estructurales en la flexibilidad metabólica del músculo esquelético.

Un aparato muscular bien desarrollado es importante, pues realizará sus funciones óptimas y esto será crucial para la salud y bienestar del individuo (Wang y Zhou 2022). Sin embargo, las modificaciones en el crecimiento y el desarrollo del músculo esquelético durante el periodo prenatal podrían dar lugar a alteraciones metabólicas en la masa muscular como cambios en la adipogénesis o fibrogénesis, así como una disfunción metabólica sistémica.

Diversos estudios vinculaban la asociación de sCD163 con resistencia a la insulina, en donde se ha visto que el tejido adiposo blanco visceral aumenta los niveles de este marcador soluble (Sørensen y cols. 2015), sin embargo, al estudiar el CD163 en monocitos en humanos se encontró una estrecha relación y se vincula fisiopatológicamente con el desencadenamiento de resistencia a la insulina de pacientes con diabetes mellitus tipo2 (Kawarabayashi y cols. 2017). Corona-Quintanilla y cols. (2021) encontraron que el consumo de agua con sacarosa al principio del desarrollo (gestación-lactancia) o durante la vida postnatal produjo un aumento en el peso de las crías. De igual manera modificó la activación del músculo pubococcígeo y su frecuencia durante la estimulación peneana, al igual que el reflejo uretrogenital, esto observado en las crías que en algún momento de su vida consumieron azúcar. En otro estudio de Du y cols, (2010) observaron una mayor adipogénesis y una hipertrofia de estos, en el músculo fetal de las ovejas alimentadas con dietas obesogénicas. Estas anomalías relacionadas a la acumulación tejido adiposo, incluyendo la inflamación, el estrés oxidativo y la resistencia a la insulina. La inflamación puede alterar la progresión normal de los eventos regenerativos en el músculo esquelético lesionado y dirige las células precursoras miogénicas hacia un fenotipo adipogénico.

Ya que los músculos del piso pélvico específicamente el músculo pubococcígeo e iliococcígeo se asemejan parcialmente al del ser humano, es oportuno inferir un estudio enfocado en la relación del consumo de agua azucarada y determinación de la expresión de receptores a macrófagos (CD163) y TNF- α , se conocen como células inmunitarias que intervienen en la reparación y la distrofia muscular (Mann y cols 2011). Actualmente existen pocos estudios al respecto, esto podría ser de gran ayuda al manejo en la etapa gestacional y posnatal, así conocer sus vínculos directos al desarrollo de la inflamación y con esto una mayor susceptibilidad a padecer enfermedades asociadas a los músculos del piso pélvico como la incontinencia urinaria y la disfunción eréctil.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El consumo de agua azucarada durante la etapa gestacional y posnatal aumenta la infiltración de TNF- α y CD163 en los músculos pubococcígeo e iliococcígeo en la rata macho adulta?

5. HIPÓTESIS

El consumo de agua azucarada durante la etapa gestacional y posnatal aumenta la infiltración de TNF- α y CD163 en los músculos pubococcígeo e iliococcígeo en la rata macho adulta.

6. OBJETIVOS

Determinar si el consumo de agua azucarada durante la etapa gestacional y posnatal aumenta la infiltración de TNF- α y CD163 en los músculos pubococcígeo e iliococcígeo en la rata macho adulta.

ESPECÍFICOS

Determinar la infiltración de TNF- α y CD163 del músculo pubococcígeo por la técnica de inmunohistoquímica en relación con el consumo de agua azucarada.

Determinar la infiltración de TNF- α y CD163 del músculo iliococcígeo por la técnica de inmunohistoquímica en relación con el consumo de agua azucarada.

7. METODOLOGÍA

Se utilizaron 12 ratas hembra adultas de la cepa Wistar de tres meses de edad, con un peso promedio de 230-260 g, las cuales se mantuvieron en condiciones de bioterio a temperatura de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, con alimento (Chow 5001 Purina®) y agua *ad libitum*. Las hembras fueron apareadas para obtener las crías machos para formar los grupos control y experimentales. Las crías fueron destetadas al día 22 posnatal. Los animales fueron alojados en jaulas de polipropileno (65 cm x 25 x 15 cm) y se mantuvieron bajo un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad invertido

DISEÑO EXPERIMENTAL

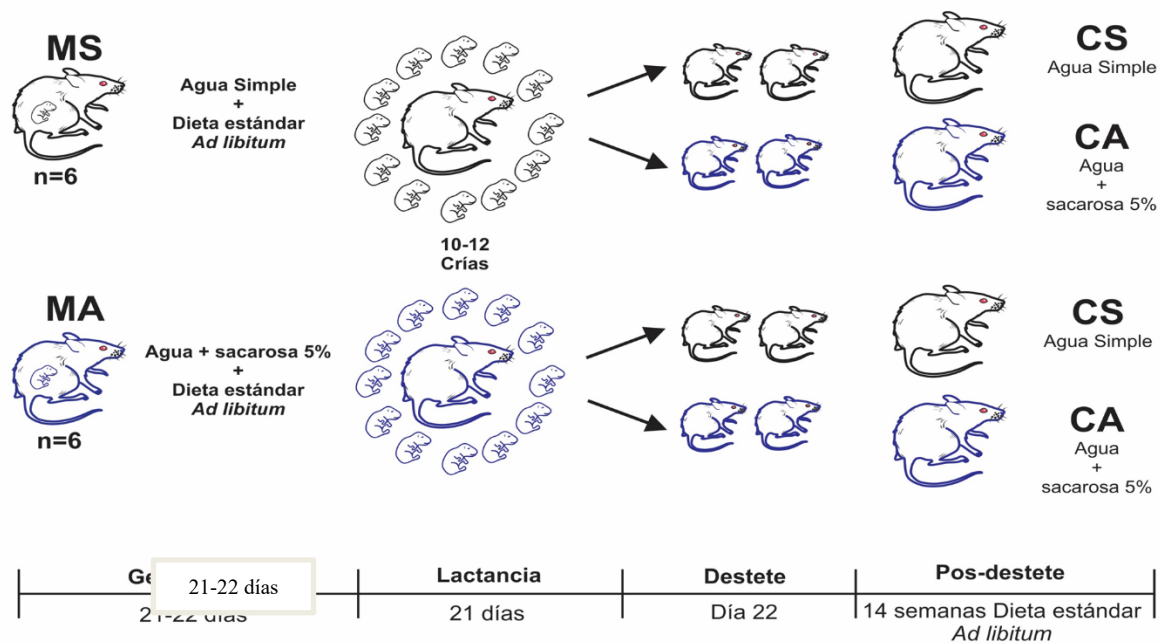


Figura 11 Modificada de (Dávila 2023)

GRUPO CONTROL: 6 MADRES QUE CONSUMIERON AGUA SIMPLE

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

MS-CA: 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: 6 MADRES QUE CONSUMIERON AGUA CON AZÚCAR.

MA-CS: 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.

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

Las ratas fueron sacrificadas con una sobredosis de pentobarbital sódico. Para posteriormente pasarlas a la guillotina. Se extrajo el músculo pubococcígeo e iliococcígeo. Se congeló con nitrógeno líquido para conservar la estructura celular del tejido íntegro y poder ser incluidos en parafina, posteriormente se realizaron cortes en el micrótopo a 8 micras. Y finalmente se hicieron inmunohistoquímicas, donde el período ideal de fijación no fue menor de 24 horas ni mayor de 48 horas.

Inmunohistoquímica. Se utilizaron cortes transversales (8 μ m) obtenidos en un microtopo Leica (RM2135). Posteriormente fueron sometidos a un tratamiento para reexponer los antígenos de la preparación (citrate de sodio 10 mM pH 6, durante 72 h a 4°C y 5 min a 90°C). Con el fin de bloquear las peroxidases endógenas, los cortes se incubaron en una solución de peróxido de hidrógeno al 3 % en PBS (Na₂HPO₄ 7.6 mM, NaH₂PO₄ 2.66 mM y NaCl 0.15 M, pH 7.4) durante 30 min. Después de la incubación los cortes se lavaron con PBS. Posterior al lavado, los cortes se incubaron en una solución de bloqueo de uniones inespecíficas (5 % de suero normal de burro (NSD) en PBS / tritón X100) durante 1 h. A continuación, los cortes fueron incubados (72 h, 40C) con el primer anticuerpo (CD163 sc-18794 1:20, anti-TNF- α antibody ab9739 1:100) diluido en PBS / tritón X100). Transcurrida esta incubación se hicieron tres lavados con PBS / triton X100 para posteriormente incubar con el anticuerpo secundario (anti-IgG de burro hecho en cabra, diluido 1:250, mouse anti-rabbit IgH-HRP sc-2357 en PBS / tritón X100) durante 2 horas a temperatura ambiente. El marcaje inmunohistoquímico fue revelado con el kit ABC (Vector Lab) utilizando diaminobencidina como sustrato. Al término de la inmunohistoquímica, los cortes fueron deshidratados en alcohol etílico de 60, 80, 96, 100

%, aclarados con una solución de etanol-xileno y xileno. Las preparaciones fueron cubiertas con un medio de montaje (Cytoseal 60) y un cubreobjetos. Los cortes fueron observados y se tomaron fotografías con el objetivo de 10X y 40X en un microscopio de luz visible (Nikon ECLIPSE E600®).

Conteo. En el microscopio Leica agregando un filtro azul, se hizo el conteo en forma de zig-zag, obteniendo 10 campos por animal. Tomando en consideración macrófagos dentro y fuera; realizando un promedio para cada uno y al finalizar uno individual. Llevando a cabo los siguientes criterios de inclusión y exclusión para conteo. Inclusión. Morfología en forma de frijol y alargados, agranulados, dentro de la célula y fuera de ésta.

Exclusión, basura, ajuste con macro y micro. Dadas las observaciones anteriores se realizó un análisis cuantitativo mediante la valoración de la de la expresión de CD163 por 10 campos en forma de zig-zag con el microscopio leica usando filtro azul. La especificidad del marcaje se determinó llevando a cabo 3 conteos por área endomisio/perimisio, fibra muscular y marcaje total. Para el conteo de TNF- α se tomaron 2 fotos con el objetivo de 10X en un microscopio de luz visible (Nikon ECLIPSE E600®) haciendo un conteo de 50 células musculares, provenientes de la región central de 2-3 cortes histológicos, se ingresaron al programa ImageJ, se transformó la imagen a color de 8-bit, se dibujó el área de cada célula mediante el ROI normalizando el área a 19.62 μm , se contabilizó la intensidad de marcaje positivo anti-TNF- α en unidades arbitrarias.

Estadística. Todos los datos se expresaron como media \pm e.e. Se analizaron mediante ANOVA de dos vías para medidas repetidas con factor tiempo y tratamiento (con la prueba post-hoc de Bonferroni, para ver la comparación entre grupos). Usando GraphPad Prism 9.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

8. RESULTADOS

8.1 Identificación de CD163 en el músculo pubococcígeo

La identificación de CD163 se realizó en cortes histológicos del músculo pubococcígeo, mediante inmunohistoquímica en las regiones centrales del corte histológico. Se observaron macrófagos CD163 positivos en el endomisio, perimisio y en el interior de la fibra muscular (Figura 12,13,15).

Se cuantificó número total de macrófagos en un total de 50 fibras musculares, de diferentes campos de muestreo en un mismo corte histológico. Se aplicó la prueba estadística de ANOVA de 2 vías para cada rango, los resultados para el análisis de células CD163 totales en el músculo pubococcígeo mostraron cambios significativos por el factor de la dieta materna ($F_{1,20} = 12.50$, $p = 0.0021$) y por el factor de dieta posnatal ($F_{1,20} = 9.947$, $p = 0.0050$), sin diferencia por la interacción de ambos factores ($F_{1,20} = 0.907$, $p = 0.7070$). En las pruebas pos-hoc de Bonferroni se observó un incremento significativo del número total de macrófagos marcados con CD163 en el grupo MA-CA, comparado al grupo MS-CS (Figura 14 A; $*** < P = 0.0008$ $n=6$ /grupo). El análisis para la infiltración de las células CD163 fuera de la fibra muscular del músculo pubococcígeo no se mostraron cambios significativos por el factor de dieta materna ($F_{1,20} = 3.246$ $p = 0.0867$) sin embargo en el factor de dieta posnatal se mostraron cambios significativos ($F_{1,20} = 8.795$, $p = 0.0076$), sin diferencias por la interacción de ambos factores ($F_{1,20} = 0.1298$, $p = 0.7224$). En las pruebas pos-hoc de Bonferroni se observó un incremento significativo del número total de macrófagos marcados con CD163 en el grupo MA-CA, comparado al grupo MS-CS (Figura 14 B; $* < P = 0.0182$ $n=6$ /grupo). En el análisis para la infiltración de las células CD163 dentro del músculo estriado pubococcígeo, se mostraron cambios significativos por el factor de dieta materna ($F_{1,20} = 17.18$, $p = 0.0005$) y por el factor de dieta posnatal ($F_{1,20} = 7.174$, $p = 0.0144$), sin diferencias por la interacción de ambos factores ($F_{1,20} = .03294$, $p = 0.5724$). En las pruebas pos-hoc de Bonferroni se observó un incremento significativo del número total de macrófagos marcados con CD163 grupo MS-CA, comparado al grupo MS-CS y del grupo MA-CA comparado al grupo MS-CS (Figura 14 C; $* < P 0.0197 < P *** 0.0006$ ($n=6$ /grupo)).

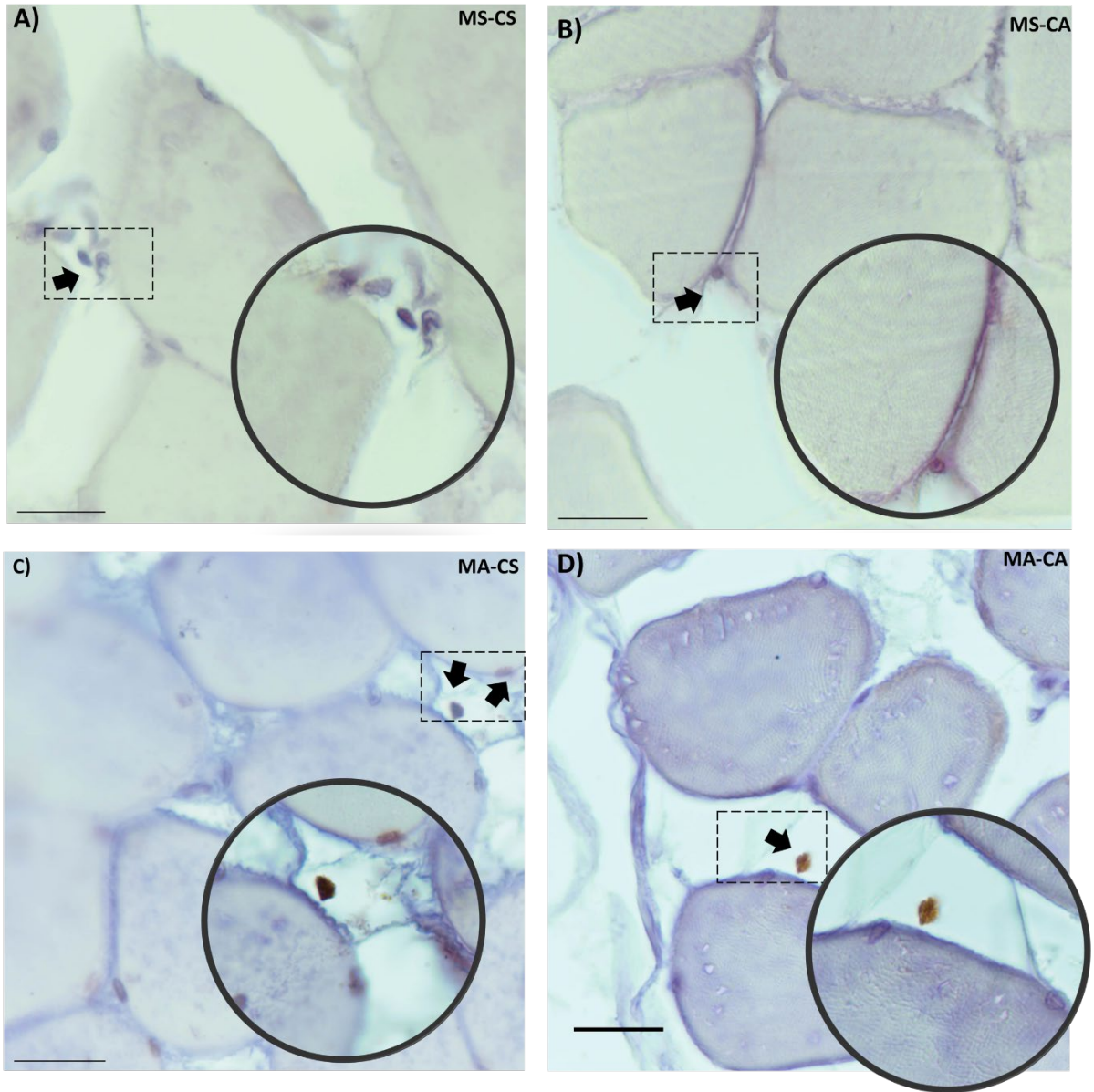


Figura 12. Microfotografías representativas del marcador CD163 en el músculo estriado pubococcígeo. Madre simple-cría simple (MS-CS; **A**), Madre simple-cría azúcar (MS-CA; **B**), Madre azúcar-cría simple (MA-CS; **C**), Madre azúcar- cría azúcar (MA-CA; **D**). Amplificación 40X, escala 20 μ m. Las flechas señalan el marcaje identificado por el color marrón para CD163 fuera de la fibra muscular, el cuadro con la línea punteada el aumento. Amplificación 100X. Tomadas de (NIKON ECLIPSE E600®).

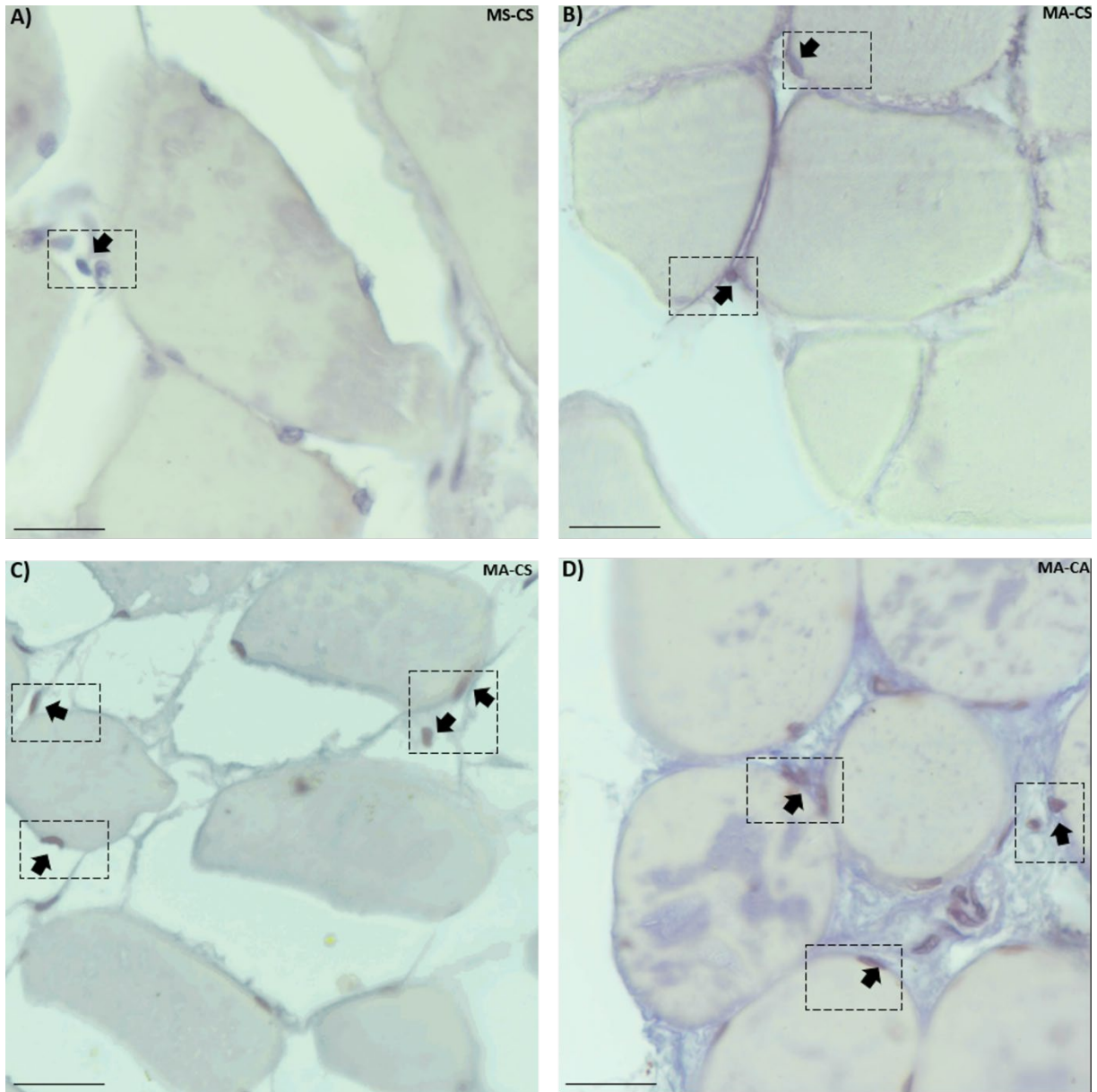


Figura 13. Microfotografías representativas del marcador CD163 en el músculo estriado pubococcígeo. Madre simple-cría simple (MS-CS; A), Madre simple-cría azúcar (MS-CA; B), Madre azúcar-cría simple (MA-CS; C), Madre azúcar- cría azúcar (MA-CA; D). Amplificación 40X, escala 20 um. Las flechas señalan el marcaje identificado por el color marrón para CD163 fuera de la fibra muscular, el cuadro con la línea punteada el aumento. Amplificación 100X. Tomadas de (NIKON ECLIPSE E600®).

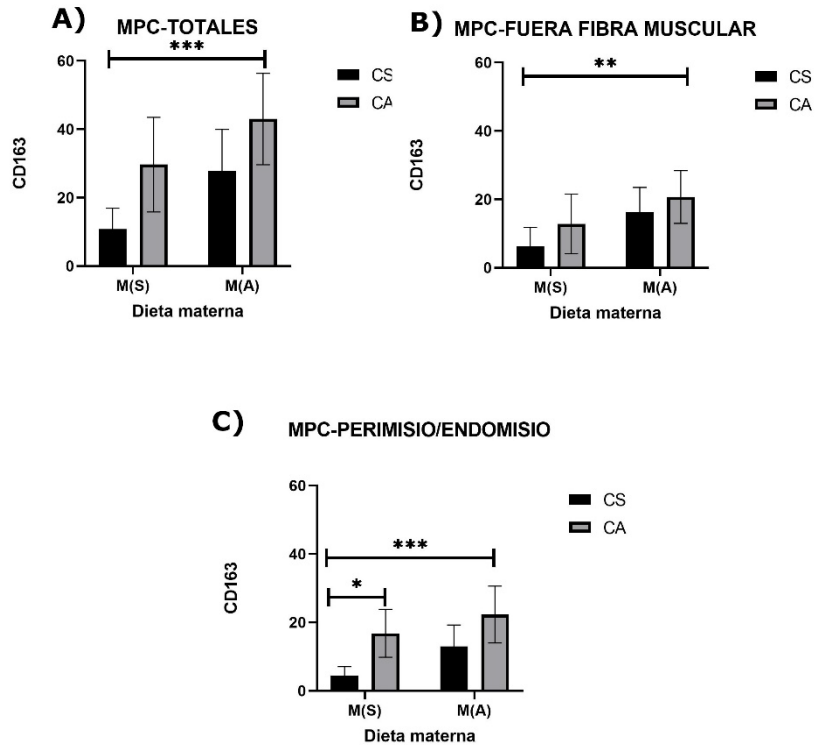


Figura 14. Análisis cuantitativo total de la expresión de CD163 en el músculo estriado pubococcígeo. Los resultados provienen de los grupos. Madre simple-cría simple (MS-CS), Madre simple-cría azúcar (MS-CA), Madre azúcar-cría simple (MA-CS), Madre azúcar- cría azúcar (MA-CA). Los datos representan la media \pm e.e, la barra vertical los valores máximos y mínimos de la varianza. Diferencia significativa ANOVA de dos vías, pos hoc de Bonferroni (n=6/grupo) *** $P < 0.0008$ (MS-CS vs MA-CA; **A**), ** $P < 0.0182$ (MS-CS vs MA-CA; **B**), * $P < 0.0197$ (MS-CS vs MS-CA; **C**) < $P < 0.0006$ (MS-CS vs MA-CA; **C**)

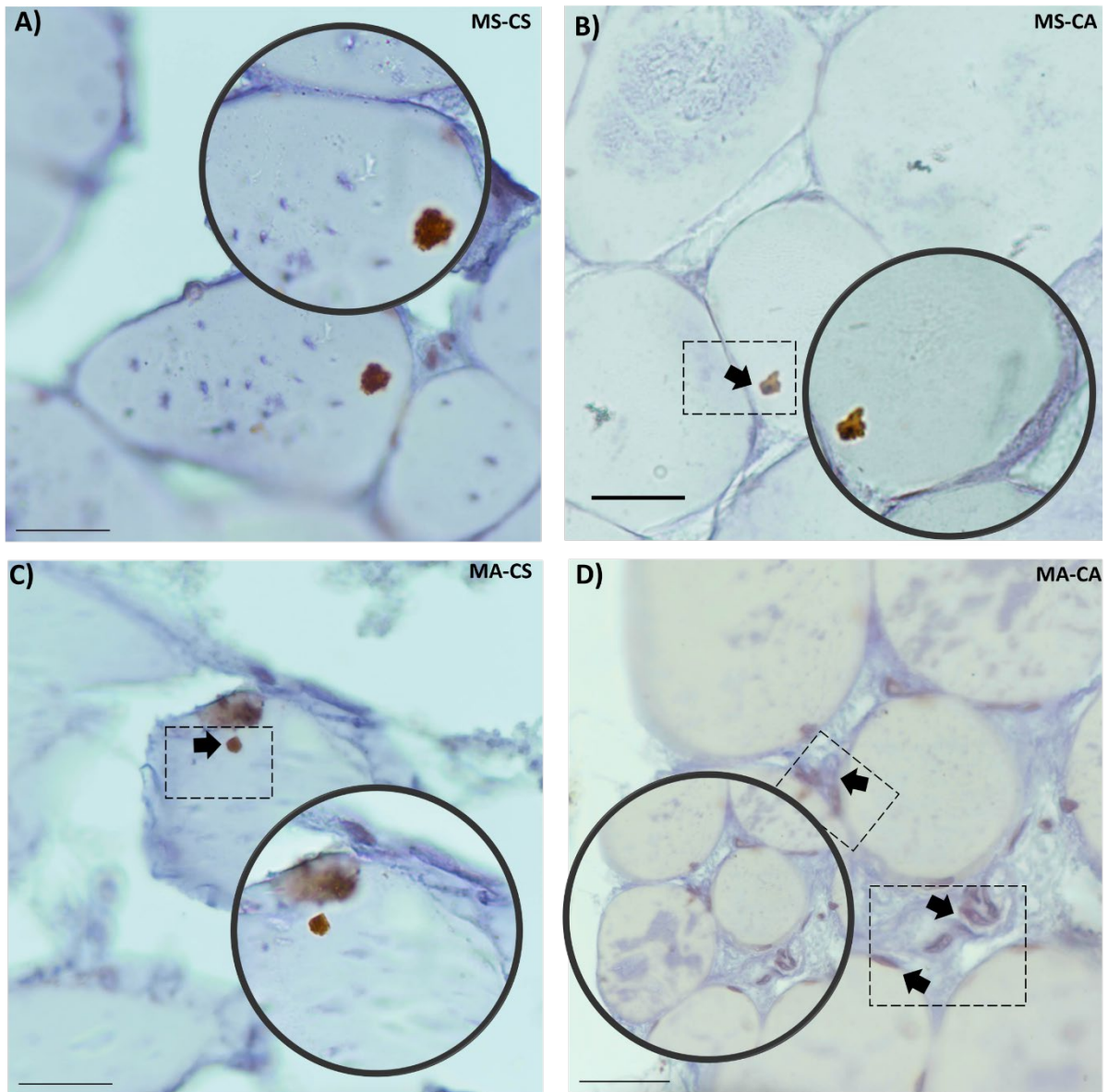


Figura 15. Microfotografías representativas del marcador CD163 en el músculo estriado pubococcígeo. Madre simple-cría simple (MS-CS; **A**), Madre simple-cría azúcar (MS-CA; **B**), Madre azúcar-cría simple (MA-CS; **C**), Madre azúcar- cría azúcar (MA-CA; **D**). Amplificación 40X, escala 20 μ m. Las flechas señalan el marcaje identificado por el color marrón para CD163 dentro de la fibra muscular (perimio/endomisio), el cuadro con la línea punteada, el aumento. Amplificación 100X. Tomadas de (NIKON ECLIPSE E600®).

8.2 Identificación de CD163 en el músculo iliococcígeo

La identificación de CD163 se realizó en cortes histológicos del músculo pubococcígeo, mediante inmunohistoquímica en las regiones centrales del corte histológico. Se observaron macrófagos CD163 positivos en el endomisio, perimisio y en el interior de la fibra muscular (Figura 16, 17 y 18).

Se cuantificó número total de macrófagos en un total de 50 fibras musculares, de diferentes campos de muestreo en un mismo corte histológico. Se aplicó la prueba estadística de ANOVA de 2 vías para cada rango, los resultados para el análisis de células CD163 totales en el músculo iliococcígeo mostraron cambios significativos por el factor de la dieta materna ($F_{1,20} = 8.716$, $p = 0.0079$) y por el factor de dieta posnatal ($F_{1,20} = 8.716$, $p = 0.0079$), sin diferencia por la interacción de ambos factores ($F_{1,20} = 0.2976$, $p = 0.5914$). En las pruebas pos-hoc de Bonferroni se observó un incremento significativo del número total de macrófagos marcados con CD163 en el grupo MA-CA, comparado al grupo MS-CS (Figura 19 A; $** < P = 0.0028$ $n = 6/\text{grupo}$). El análisis para la infiltración de las células CD163 fuera de la fibra muscular del músculo iliococcígeo no se mostraron cambios significativos por el factor de dieta materna ($F_{1,18} = 2.821$ $p = 0.1103$) y por el factor en la dieta posnatal ($F_{1,18} = 2.914$, $p = 0.1050$), sin diferencias por la interacción de ambos factores ($F_{1,18} = 0.04852$, $p = 0.8281$). En las pruebas pos-hoc de Bonferroni no se observó un incremento significativo entre grupos (Figura 19 B; $n = 6/\text{grupo}$). En el análisis para la infiltración de las células CD163 dentro del músculo estriado iliococcígeo, se mostraron cambios significativos por el factor de dieta materna ($F_{1,20} = 5.1412$, $p = 0.0306$) y por el factor de dieta posnatal ($F_{1,20} = 6.394$, $p = 0.0200$), sin diferencias por la interacción de ambos factores ($F_{1,20} = 0.04092$, $p = 0.8417$). En las pruebas pos-hoc de Bonferroni se observó un incremento significativo del número total de macrófagos marcados con CD163 del grupo MA-CA comparado al grupo MS-CS (Figura 19 C; $< P * 0.0158$, $n = 6/\text{grupo}$).

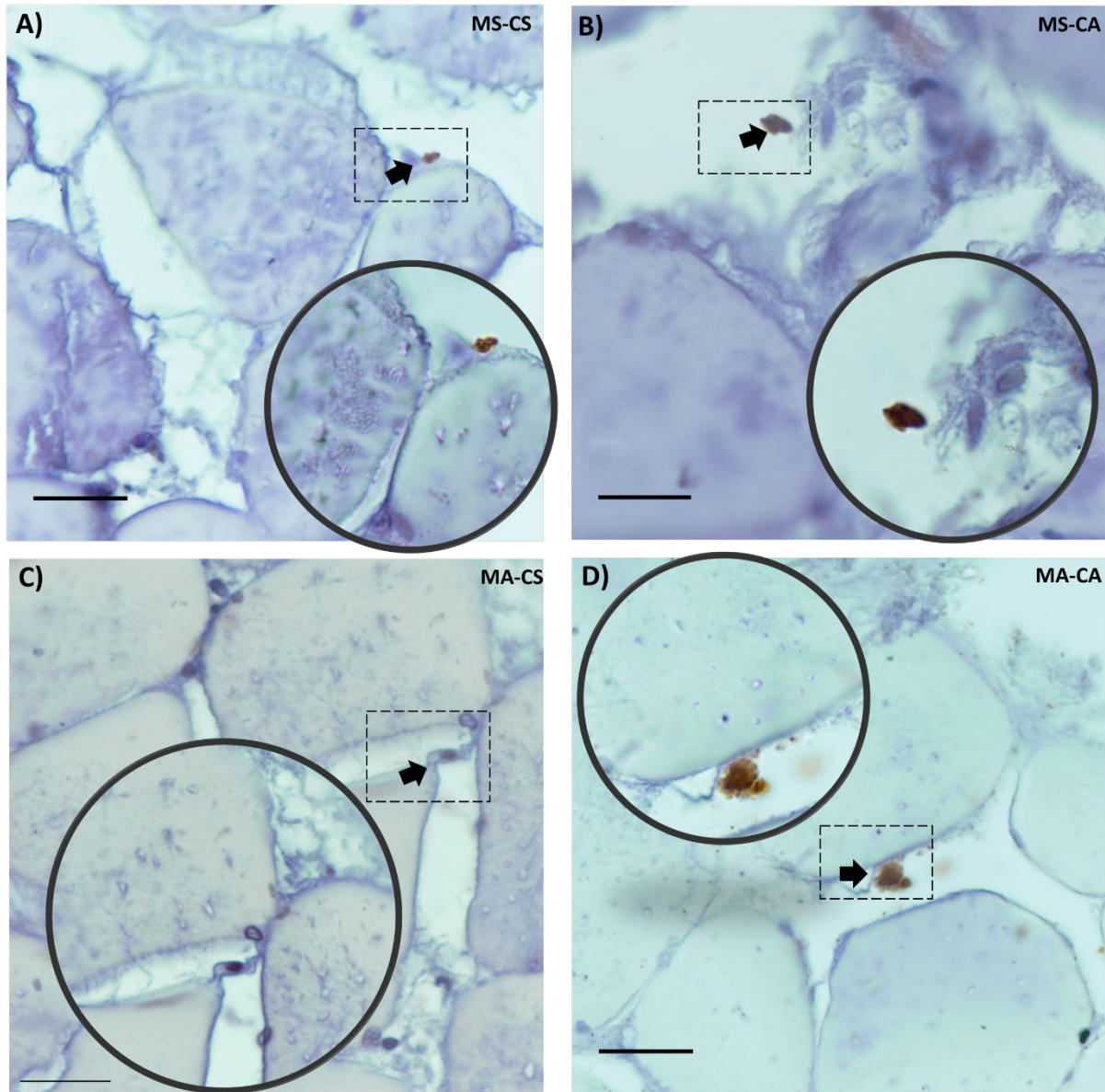


Figura 16. Microfotografías representativas del marcador CD163 en el músculo estriado iliococcígeo. Madre simple-cría simple (MS-CS; A), Madre simple-cría azúcar (MS-CA; B), Madre azúcar-cría simple (MA-CS; C), Madre azúcar- cría azúcar (MA-CA; D). Amplificación 40X, escala 20 μ m. Las flechas señalan el marcaje identificado por el color marrón para CD163 fuera de la fibra muscular, el cuadro con la línea punteada el aumento. Amplificación 100X. Tomadas de (NIKON ECLIPSE E600®).

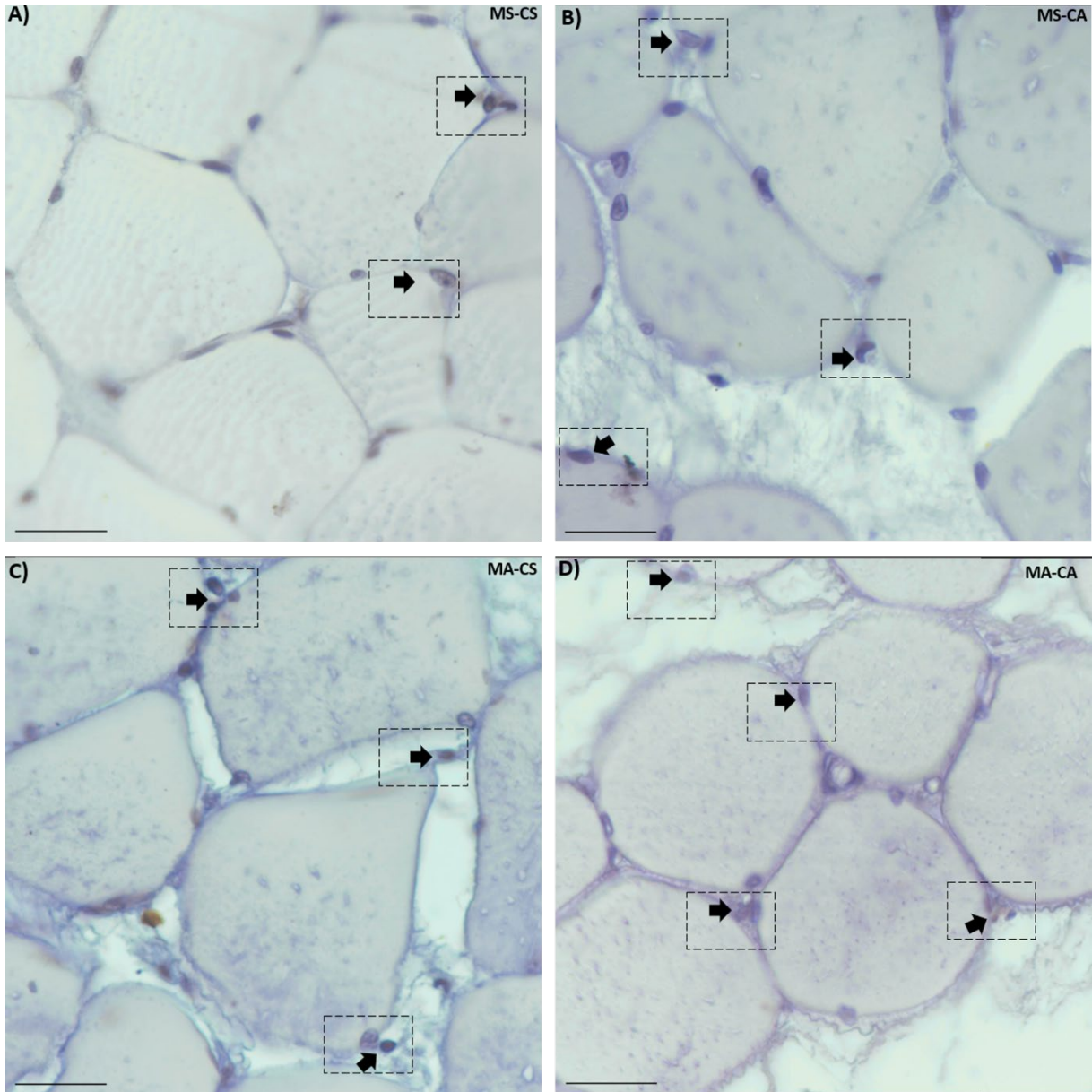


Figura 17. Microfotografías representativas del marcador CD163 en el músculo estriado iliococcígeo. Madre simple-cría simple (MS-CS; A), Madre simple-cría azúcar (MS-CA; B), Madre azúcar-cría simple (MA-CS; C), Madre azúcar- cría azúcar (MA-CA; D). Amplificación 40X, escala 20 μ m. Las flechas señalan el marcaje identificado por el color marrón para CD163 fuera de la fibra muscular, el cuadro con la línea punteada el aumento. Amplificación 100X. Tomadas de (NIKON ECLIPSE E600®). (Grafica 2)

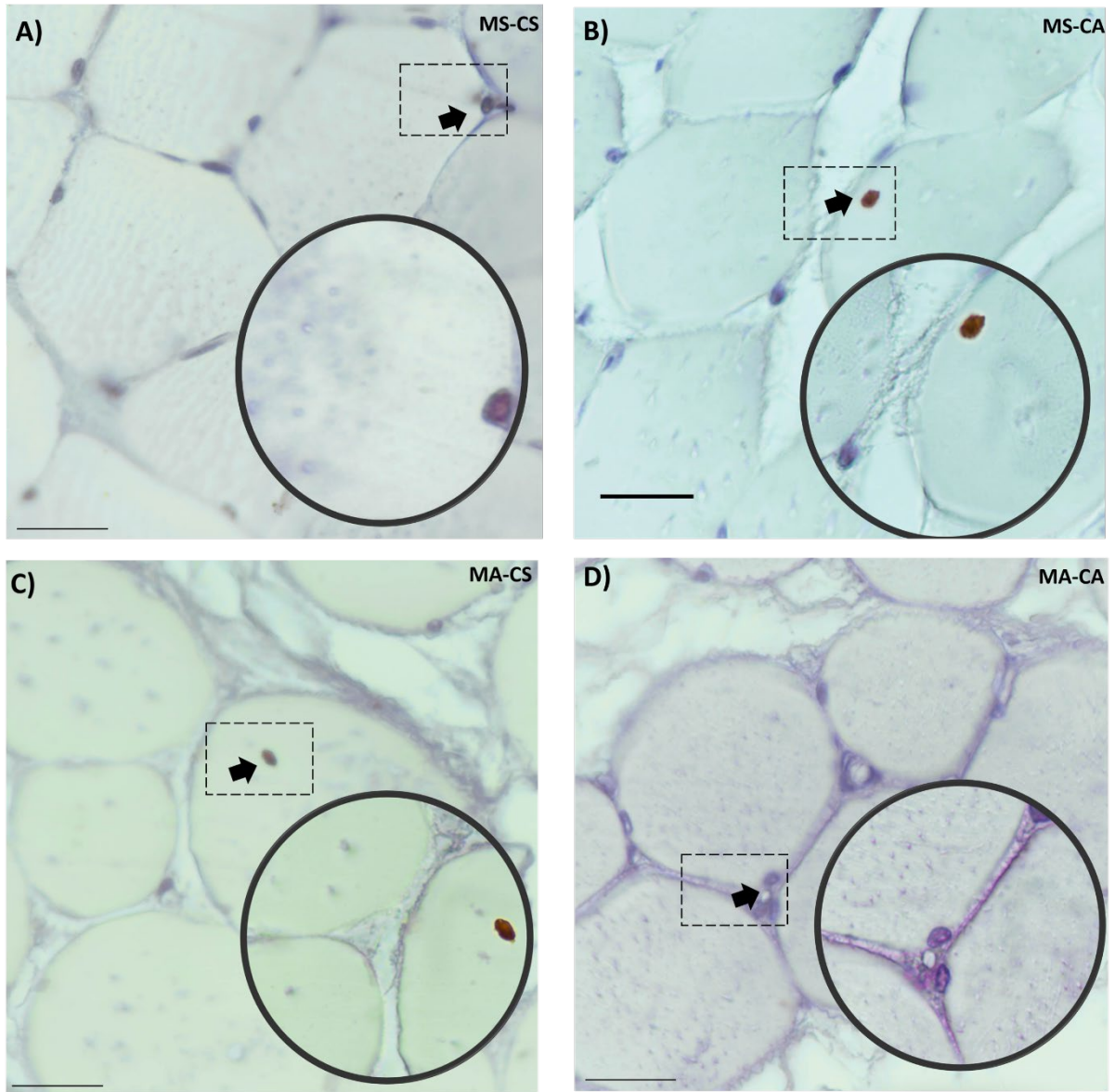


Figura 18. Microfotografías representativas del marcador CD163 dentro de la fibra en el músculo estriado iliococcígeo. Madre simple-cría simple (MS-CS; A), Madre simple-cría azúcar (MS-CA; B), Madre azúcar-cría simple (MA-CS; C), Madre azúcar- cría azúcar (MA-CA; D). Amplificación 40X, escala 20 μ m. Las flechas señalan el marcaje identificado por el color marrón para CD163 dentro de la fibra muscular, el cuadro con la línea punteada el aumento. Amplificación 100X. Tomadas de (NIKON ECLIPSE E600®)

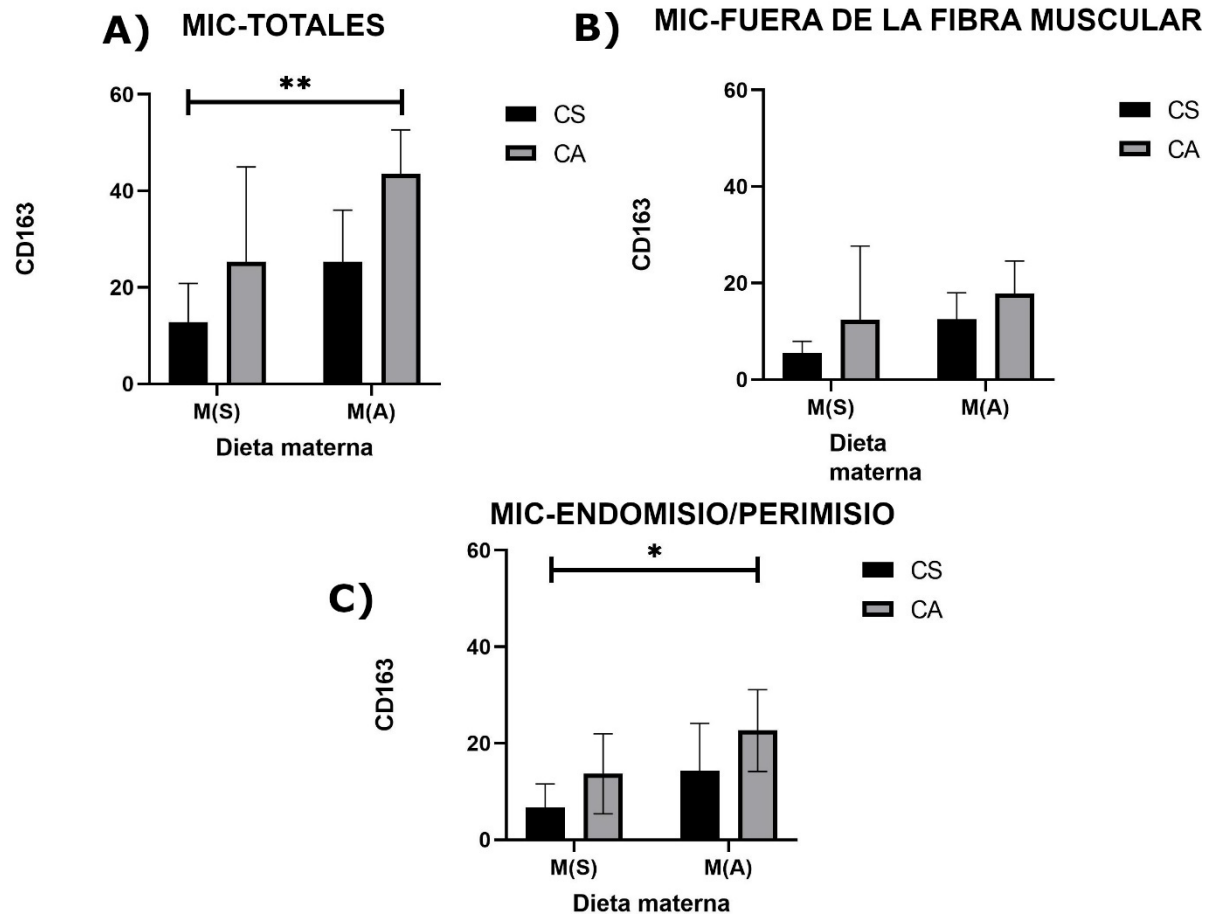


Figura 19. Análisis cuantitativo total de la expresión de CD163 del músculo estriado iliococcígeo. Los resultados provienen de los grupos Madre simple-cría simple (MS-CS), Madre simple-cría azúcar (MS-CA), Madre azúcar-cría simple (MA-CS), Madre azúcar- cría azúcar (MA-CA). Los datos representan la media \pm e.e, la barra vertical los valores máximos y mínimos de la varianza. Diferencia significativa ANOVA de dos vías, pos hoc de Bonferroni (n=6/grupo) $** < P 0.0028$ (MS-CS vs MA-CA; A), $* < P 0.0158$ (MS-CS vs MA-CA; C).

8.3 Identificación de TNF- α en el músculo pubococcígeo

La identificación de TNF- α se realizó en cortes histológicos del músculo pubococcígeo, mediante inmunohistoquímica en las regiones centrales del corte histológico. Se observó la expresión de la proteína TNF- α positivos en la fibra muscular (Figura 20).

La expresión de TNF- α en la fibra muscular del músculo pubococcígeo. Se aplicó la prueba estadística de ANOVA de 2 vías para cada rango, en el músculo pubococcígeo sin cambios significativos por el factor de dieta materna ($F_{1, 20} = 3.176, p = 0.0899$) y por el contrario se mostraron cambios por el factor posnatal ($F_{1, 20} = 6.394, p = 0.0200$) y así mismo, en la interacción de ambos factores ($F_{1, 20} = 14.81, p = 0.0010$). En las pruebas pos-hoc de Bonferroni se observó un incremento significativo de la expresión de TNF- α del grupo MA-CA comparado al grupo MS-CS (Figura 21; ** $P < 0.0044$), del grupo MA-CA comparado al grupo MS-CA (Figura 21; *** $P = < 0.0007$) y del grupo MA-CA comparado al grupo MA-CS (Figura 21; * $P = < 0.0213$ (n=6/grupo)).

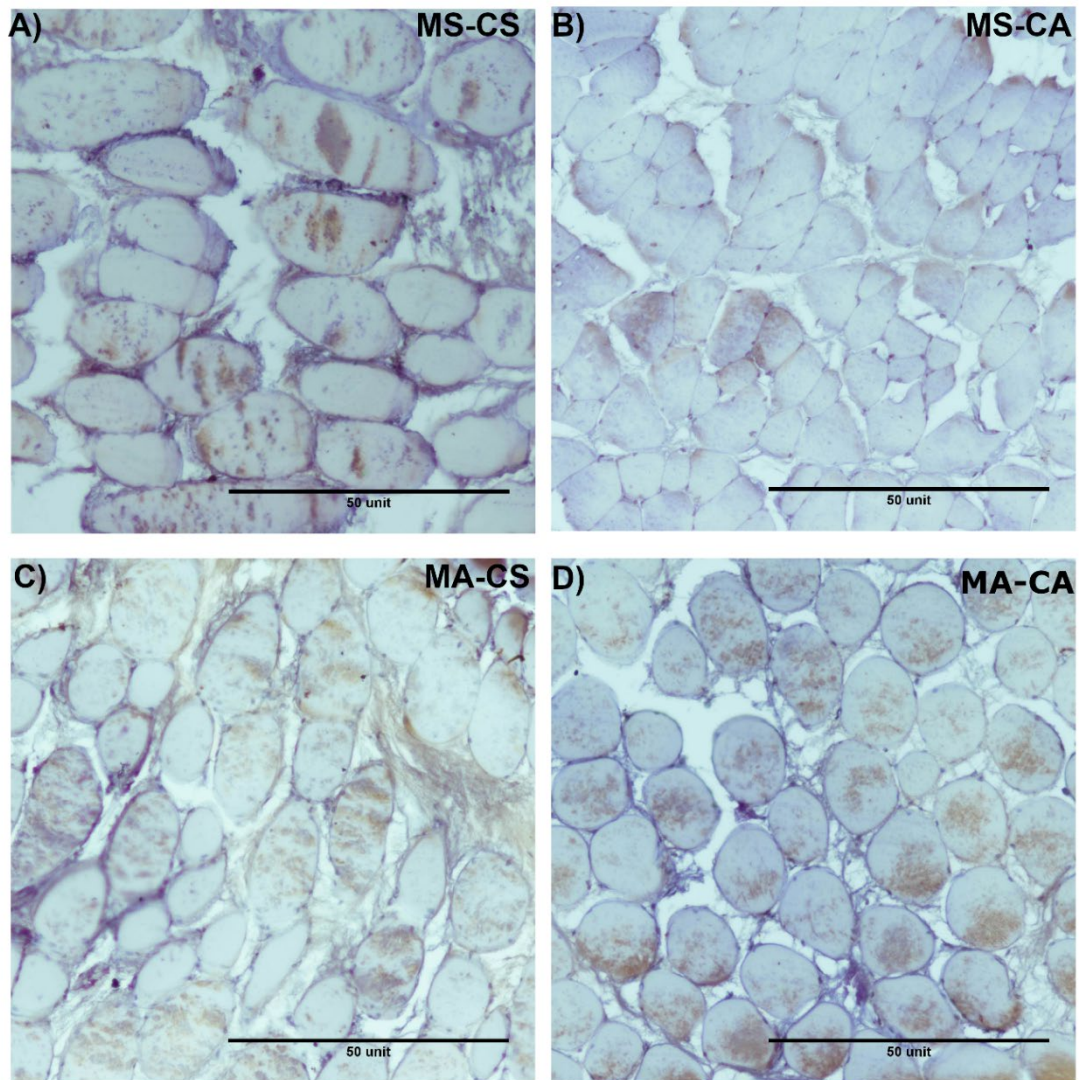


Figura 20. Microfotografías representativas del marcador TNF- α en las fibras del músculo estriado pubococcigeo. Madre simple-cría simple (MS-CS; A), Madre simple-cría azúcar (MS-CA; B), Madre azúcar-cría simple (MA-CS; C), Madre azúcar- cría azúcar (MA-CA; D). Las flechas señalan el marcaje para TNF- α , identificada por el color marrón. Amplificación 10X, escala 50 μ m. Tomadas de (NIKON ECLIPSE E600®).

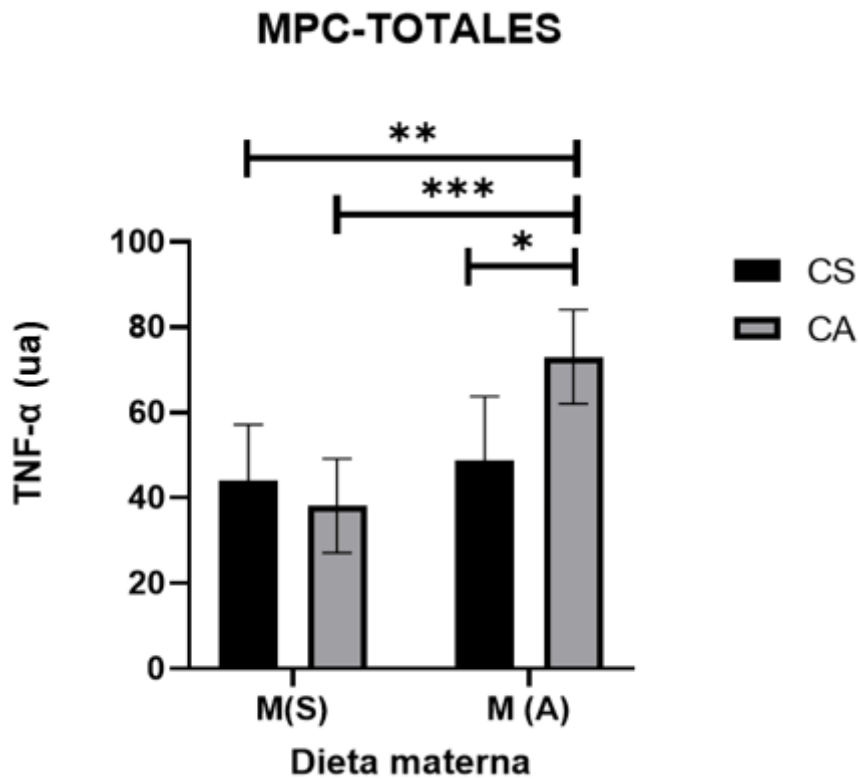


Figura 21. Análisis semicuantitativo de la expresión de TNF- α del músculo estriado pubococcígeo. Los resultados provienen de los grupos Madre simple-cría simple (MS-CS), Madre simple-cría azúcar (MS-CA), Madre azúcar-cría simple (MA-CS), Madre azúcar- cría azúcar (MA-CA). Los datos representan la media \pm e.e, la barra vertical los valores máximos y mínimos de la varianza. Diferencia significativa ANOVA de dos vías, pos hoc de Bonferroni ** $P = < 0.0044$ (MS-CS vs MA-CA), *** $P = < 0.0007$ (MS-CA vs MA-CA), * $P = < 0.0213$ (MA-CS vs MA-CA), (n=6/grupo).

1.5 Identificación de TNF- α en el músculo iliococcígeo

La identificación de TNF- α se realizó en cortes histológicos del músculo iliococcígeo, mediante inmunohistoquímica en las regiones centrales del corte histológico. Se observó la expresión de la proteína TNF- α positivos en la fibra muscular (Figura 22).

La expresión de TNF- α en la fibra muscular del músculo iliococcígeo. Se aplicó la prueba estadística de ANOVA de 2 vías para cada rango, en el músculo iliococcígeo con cambios significativos por el factor de dieta materna ($F_{1,20}=10.89, p=0.0036$) y por el factor posnatal ($F_{1,20}=2.398, p=0.1371$), sin diferencia por la interacción entre ambos factores ($F_{1,20}=4678, p=0.5019$). En las pruebas pos-hoc de Bonferroni se observó un incremento significativo de la expresión de TNF- α del grupo del grupo MA-CA comparado al grupo MS-CS (Figura 21; ** < P 0.0044), del grupo MA-CA comparado al grupo MS-CA (Figura 23; * P= <0.0158, n=6/grupo).

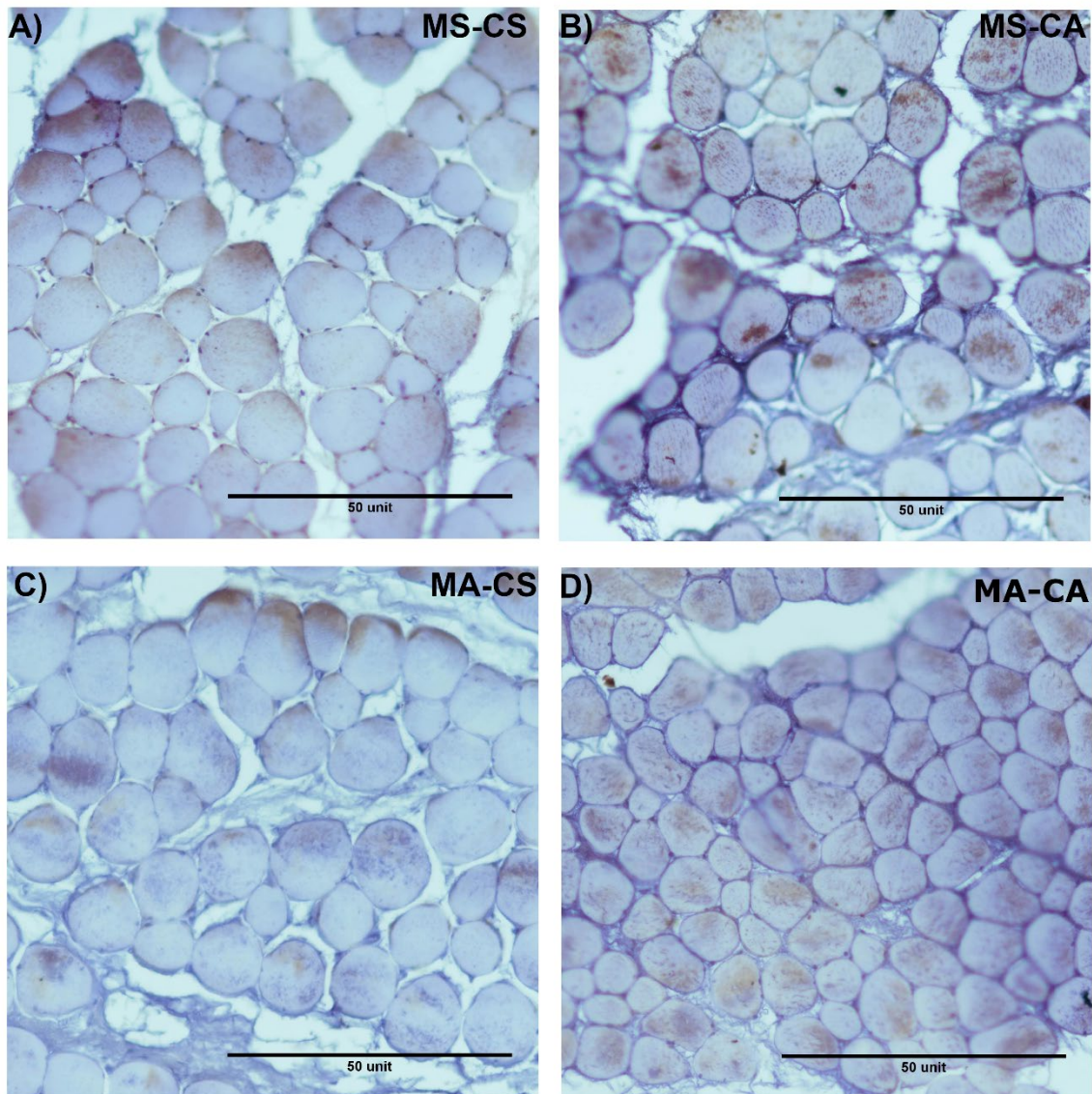


Figura 22. Microfotografías representativas del marcador contra $TNF-\alpha$ en las fibras del músculo estriado iliococcígeo. Madre simple-cría simple (MS-CS; A), Madre simple-cría azúcar (MS-CA; B), Madre azúcar-cría simple (MA-CS; C), Madre azúcar- cría azúcar (MA-CA; D). Las flechas señalan el marcaje para CD163, identificada por el color marrón. Amplificación 10X, escala 50 μ m. Tomadas de (NIKON ECLIPSE E600®).

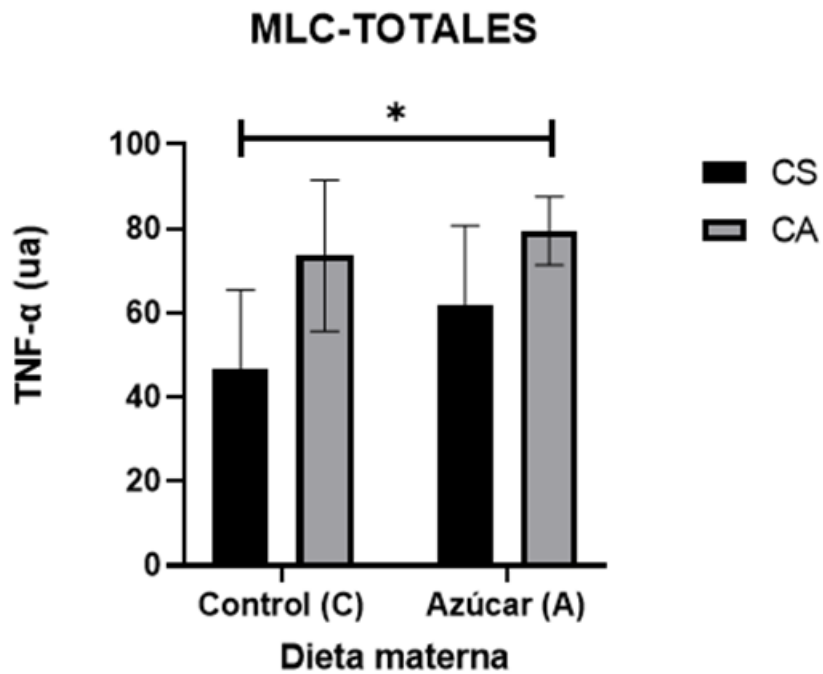


Figura 23. Análisis semicuantitativo de la expresión de TNF- α del músculo estriado iliococcígeo. Los resultados provienen de los grupos Madre simple-cría simple (MS-CS), Madre simple-cría azúcar (MS-CA), Madre azúcar-cría simple (MA-CS), Madre azúcar- cría azúcar (MA-CA). Los datos representan la media \pm e.e, la barra vertical los valores máximos y mínimos de la varianza. Diferencia significativa ANOVA de dos vías, pos hoc de Bonferroni $* < P 0.0158$ (MS-CS vs MA-CA (n=6/grupo)).

9. DISCUSIÓN

TNF- α

Estos últimos años se ha estudiado el importante vínculo de los 1000 días de vida, que representa una ventana crítica con relación al ambiente intrauterino y su asociación con enfermedades en la vida adulta (Martín y cols. 2019). Respecto a lo anterior la hipótesis de los orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad (DOHAD) nos muestra que modificaciones en su tipo de dieta durante la gestación, darán como resultados cambios permanentes en el desarrollo estructural y funcional del organismo, donde el feto se adapta a los desafíos que se le presenta en la etapa prenatal, que posteriormente se verán reflejados en la vida adulta (Peral-Sanchez y cols. 2022). Entre los cambios más susceptibles se encuentran, el aumento de tejido adiposo blanco y a su vez mayores niveles séricos de citoquinas como TNF- α , lo que lleva a un estado sistémico de inflamación con mayor riesgo a la enfermedad debido a la reducción de la flexibilidad metabólica, provocando mayor vulnerabilidad a desarrollar resistencia a la insulina (Saengnipanthkul y cols. 2021). La infiltración de células inmunitarias es una característica de patologías como la obesidad y diabetes, ya que estas citocinas son esenciales para el desarrollo de resistencia a la insulina, donde se involucra tanto a la inmunidad innata como adaptativa (Guzik y Cosentino 2018). En un estudio realizado, tras la ingesta alta en grasas y de un sustituto de azúcar, analizando el músculo soleo, reportaron una disminución de la hipertrofia de adipocitos, lo que podría suprimir la producción de citoquinas inflamatorias y a su vez la relación de aparición de las citocinas, dadas al consumo de una dieta alta en carbohidratos y grasa (Gou y cols. 2021).

Estudios previos demuestran que tener una alteración en cuanto a un combustible energético de manera crónica, como en el caso de un aumento de carbohidratos debido a las bebidas azucaradas, se activa la parte inflamatoria y con ella sus vías de señalización, la vía NF κ B, mediada en gran parte por el TNF- α , se vincula a su vez con la expresión de INOS; reducción de la respiración mitocondrial y la supresión de la activación de reguladores transcripcionales, que están encargados de promover la biogénesis mitocondrial y el cambio hacia un fenotipo oxidativo muscular y a su vez mantienen la inflamación, activando conjuntamente los macrófagos M1. Tras un daño muscular estos que expresaron INOS+, ahora se rigen por el

INOS- dado por los M2 (Nisr y cols. 2019). En un estudio se confirmó el aumento de la expresión de TNF- α , en el músculo cuádriceps de ratones tras una dieta rica en grasas, alterando las vías de captación de glucosa, cambios en el perfil redox muscular, aumentando el estrés oxidativo (Effting y cols. 2022). Así pues, diversos son los mecanismos que hacen persistir una inflamación crónica, En nuestros resultados, se esperaba un aumento en la infiltración de células inmunes (TNF- α) en el músculo pubococcígeo e iliococcígeo, relacionado a la dieta prenatal y posnatal dado al consumo de agua azucarada. Estos mostraron un aumento en la expresión de TNF- α en el músculo pubococcígeo en los grupos que toda su vida recibieron agua azucarada ya sea en la etapa prenatal o posnatal (MA-CA) (Figura 21). Y en el músculo iliococcígeo donde únicamente el grupo (MA-CA) en donde toda su vida recibieron tratamiento, aumentó su infiltración. (figura 23).

Sin embargo, se ha encontrado la expresión de TNF- α en músculo humano en estado de homeostasis, coincidiendo esto con nuestros resultados en el grupo (MS-CS) no obstante se encontró una mayor expresión en los grupos azúcar MA-CA tanto en el pubococcígeo e iliococcígeo, entre los efectos adversos en condiciones patológicas o de inflamación crónica se ha relacionado la alteración en la eliminación de la glucosa en el músculo esquelético (Steensberg y cols. 2002). TNF- α una citocina relacionada con el deterioro de la ultraestructura y funcionamiento del tejido muscular (Wu y Ballantyne 2017).

Acorde a diferentes estudios se conoce que el TNF- α mitiga la actuación de las células CD163 (Tidball et al., 2018b), esto comparado con nuestros resultados se obtuvo una relación proporcional de infiltración entre los grupos MS-CS vs MA-CA, donde el grupo de azúcar era el que tenía más presencia de esta citocina (figura 21 y23) (figura 24).

Sin embargo, estudios epigenéticos han demostrado que la maduración de células monocitárias en entornos de niveles elevados de glucosa, aumenta la acetilación de histonas en el locus TNF- α , lo que provoca un aumento en su expresión, así también se ha visto una elevada activación de NF-Kb, que podría ser activado bajo diversos estímulos, entre ellos un aumento de la glucemias y este a su vez la activación de citocinas inflamatorias, en donde coincide la memoria hiperglucémica provocando una elevada actividad transcripcional de dicho factor dada a la eliminación de marcas de metilo H3K9 y aumento de MCP-1 (Shanmugam y Sethi 2013). También se asocia el aumento de adiposidad con los niveles de TNF- α y la metilación de ADN con su regulación (Klimontov y cols. 2021). Coincidiendo con estudios anteriores donde se

muestra un aumento significativo en el tejido adiposo al hacer un cambio en la dieta (Cervantes-Rodríguez y cols. 2014).

CD163

Modificaciones en el suministro de alimentos, por una malnutrición ya sea por un déficit o exceso de macronutrientes en la dieta, puede traer consigo cambios en la homeostasis del organismo a nivel fisiológico, anatómico y funcional en diversos órganos y tejidos, como lo es en músculo esquelético. Entre las variaciones en la dieta se encuentra un aumento en el consumo de bebidas con alto índice de carbohidratos (azúcar)(figura 24). Los daños y repercusiones se vuelven mayores cuando tenemos dos exposiciones, las tempranas al desarrollo (prenatal) donde se realizarán reprogramaciones que se verán reflejadas en la vida adulta (posnatal), las cuales pueden hacer más susceptibles a desarrollar obesidad, metabolismo anormal de la glucosa y enfermedades crónico-degenerativas (Benetti y cols. 2013; Matuszewska y cols. 2021). Estudios con modificaciones en la dieta materna específicamente con bebidas azucaradas nos muestran cambios metabólicos y fisiológicos importantes, como es el aumento de peso y sus alteraciones en cantidad de tejido adiposo, modificando su actividad exacerbada inflamatoria que afectan a nivel sistémico a diversos órganos y tejidos blanco, como lo es el músculo esquelético por una infiltración de citocinas (Kereliuk y cols. 2017b) coincidiendo con nuestros resultados, en el caso del músculo pubococcígeo aumentó las células CD163 específicamente en el grupo que toda su vida recibieron azúcar al 5% (MA-CA) y (MS-CS), así como la entrada de esta citocina en el grupo (MA-CA) y (MS-CS), (MS-CA) y (MS-CS) (figura 14). En el músculo iliococcígeo, encontramos, similares resultados un aumento en las células CD163 en (MA-CA) vs (MS-CS), pero sin modificaciones dentro de la fibra muscular (figura 19).

Se conoce el papel importante que tiene el músculo esquelético en cuanto a la utilización de glucosa, con casi un 80% de ésta, así como la relación de su desequilibrio a nivel sistémico y las consecuencias en el metabolismo, propiciando inflamación en dicho tejido. En condiciones de homeostasis los macrófagos M2 se encuentran en el tejido adiposo, hígado y músculos ya que contienen células inmunitarias sanas como son los eosinófilos, las células iNKT y las

células Treg, que producen diversas interleucinas; IL-4, IL-13 e IL-10, contribuyendo al mantenimiento fenotípico de los macrófagos de tipo M2 (Xue y cols. 2022b), sin embargo, al sufrir alguna alteración por factores externos, pueden tener modificaciones en cuanto a su aumento cambiando a un fenotipo M1. Al hablar de esta desregularización, sabemos que tras un daño vendrán mecanismos de defensa donde habrá una mayor infiltración de células inflamatorias actuando como bucle cambiando la fenotipificación de macrófagos M2 a M1 y estos a su vez reproduciendo otras citocinas como TNF- α (Olefsky y Glass 2009). Entre sus funciones, se encuentra la remodelación de los tejidos, de acuerdo con los reportajes un aumento en la obesidad sería casi imposible, por el hecho de que no se ha mitigado la inflamación, pero algo pertinente al encontrar dicho aumento es la relación de que la inflamación sigue palpable y conectada a vías inflamatorias como lo es TNF- α (Ying y cols. 2021).

Diversos estudios en humanos y modelos animales han reportado alteraciones cuando se aumenta la ingesta calórica en las dietas modificando la cantidad de tejido adiposo visceral, actuando de forma autocrina y paracrina en la infiltración de macrófagos, propiciando un estado de inflamación (Matuszewska y cols 2021; Varma y cols. 2009). Lo que específicamente en los músculos puboccóigeo e iliocóigeo tendría una afectación una disfunción metabólica sistémica, en donde sus funciones y la susceptibilidad de no llevar a cabo sus funciones adecuadamente se verían afectadas. Sería pertinente de igual manera hacer un conteo de macrófagos M1 para poder hacer comparaciones, que porcentaje de M2 alcanza a mitigar la inflamación de M1. Sin embargo, en un estudio realizado en humanos con obesidad a los que se le sometió a cirugía bariátrica más dieta control y se evaluó el sCD163 y CD163 antes y después de la cirugía se le cambió el tipo de dieta, la citocina soluble está relacionada a un aumento en los niveles basales protector en la obesidad, sin embargo, CD163 a nivel celular no demostraron mejoras metabólicas tras la pérdida de peso (Cinkajzlová y cols. 2017).

Así que, sería pertinente, realizar estudios mediante Western-blot para definir conteos más específicos, para tener otros puntos de soporte y acotar más la investigación, como medir estrés oxidativo, ya que los resultados podrían definir el tipo de daño que se ha provocado la inflamación.

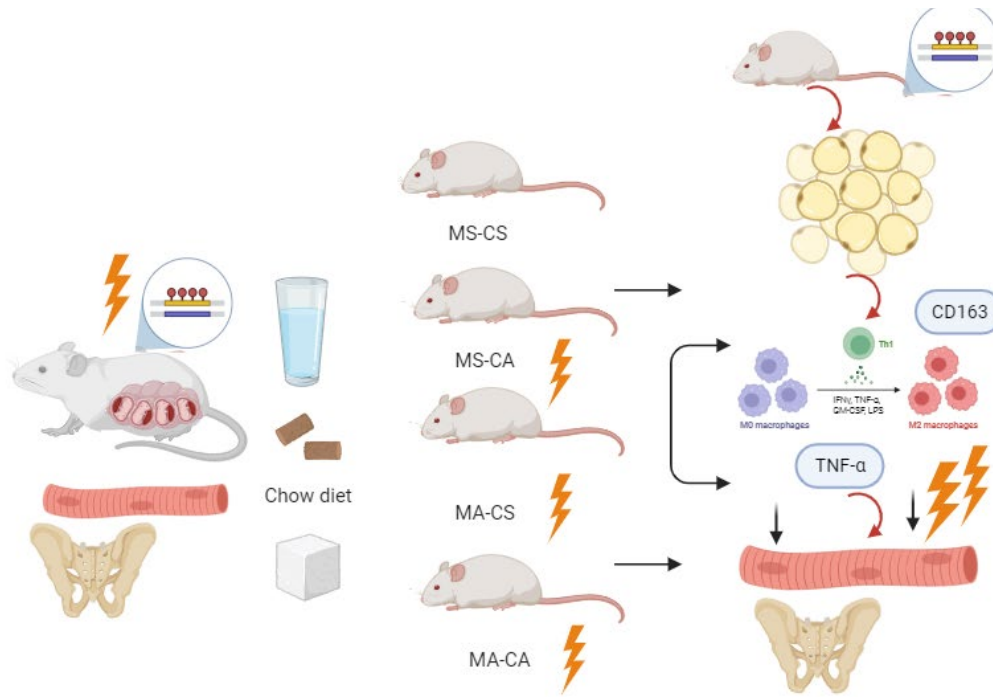


Figura 24. Mecanismo propuesto por el consumo de agua azucarada.

10. CONCLUSIÓN

Actualmente se conoce que una malnutrición, puede ocasionar efectos adversos en el organismo dado por modificaciones y daños en diversos órganos y tejidos como lo es el músculo esquelético, sin embargo, esta asociación podría estar vinculada desde tiempo atrás por cambios epigenéticos, que pudieron surgir por un aumento en tejido adiposo activando vías de señalización y a su vez la persistencia de un estado inflamatorio crónico de bajo grado y verse reflejan en la edad adulta.

El músculo pubococcígeo, mostro mayor presencia de TNF- α y macrófagos CD163 dentro de la fibra muscular (MS-CA). Mientras que en el músculo iliococcígeo solo se observan diferencias entre los grupos MA-CA vs MS-CS respecto a la expresión de TNF- α y macrófagos CD163. El consumo de agua azucarada pre y postnatal (MA-CA) aumenta la expresión de TNF- α y la infiltración de macrófagos CD163, en el músculo pubococcígeo e iliococcígeo en la rata macho adulta.

11.PERPECTIVAS

- El uso de un factor diferente en la dieta posnatal podría disminuir la cascada inflamatoria provocada en la etapa prenatal, como ejercicio o dieta rica en polifenoles y flavonoides los cuales se les ha vinculado efectos protectores a la inflamación, en las modificaciones epigenéticas, por lo cual sería importante ver su efecto benéfico y su impacto con la línea de investigación.
- Asociar los niveles circulantes de citoquinas con nuestros resultados encontrados ya que esto traerá una vista amplificada de la infiltración de células inflamatorias al músculo esquelético y la posible infiltración o daño a otros tejidos blancos. Sería oportuno tomar una medición en la etapa prenatal y otra en la etapa posnatal.
- Medir el estrés oxidativo, para asociar el nivel de daño dado celular (mitocondrial) y el dado por cambios en las vías de señalización.
- Para poder relacionar los cambios epigenéticos seria oportuna la medición de cambios de metilación de citoquinas en tejido adiposo.
- Realizar estudios mediante Western-blot para definir conteos más específicos, para tener otros puntos de soporte y acotar más la investigación.

12.REFERENCIAS

1. Abdel-Salam E, Abdel-Meguid I, Korraa SS. (2009) Markers of degeneration and regeneration in Duchenne muscular dystrophy. *Acta Myol.* 28(3):94-100.
2. Asghar A, Akhtar T, Batool T, Khawar MB, Nadeem S, Mehmood R, Sheikh N. (2021) High-fat diet-induced splenic, hepatic, and skeletal muscle architecture damage: cellular and molecular players. *Mol Cell Biochem.* 476(10):3671-3679.
3. Benetti E, Mastrocola R, Rogazzo M, Chiazza F, Aragno M, Fantozzi R, Collino M, Minetto MA. (2013) High sugar intake and development of skeletal muscle insulin resistance and inflammation in mice: a protective role for PPAR- δ agonism. *Mediators Inflamm.* 2013:509502.
4. Biswas SK, Mantovani A. (2012) Orchestration of metabolism by macrophages. *Cell Metab.* 15(4):432-7.
5. Blaauw B, Schiaffino S, Reggiani C. (2013) Mechanisms modulating skeletal muscle phenotype. *Compr Physiol.* 3(4):1645-87.
6. Bouredji Z, Argaw A, Frenette J. (2022) The inflammatory response, a mixed blessing for muscle homeostasis and plasticity. *Front Physiol.* 13:1032450.
7. Burhans MS, Hagman DK, Kuzma JN, Schmidt KA, Kratz M. (2018) Contribution of Adipose Tissue Inflammation to the Development of Type 2 Diabetes Mellitus. *Compr Physiol.* 9(1):1-58.
8. Cancellor R, Clément K. (2006) Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. *BJOG.* 113(10):1141-7.
9. Carrillo K, Sanguineti, M. (2013) Anatomía del piso pélvico. *Revista médica clínica Las condes.* 185-19,24(2).
10. Cervantes-Rodríguez M, Martínez-Gómez M, Cuevas E, Nicolás L, Castelán F, Nathanielsz PW, Zambrano E, 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. *Br J Nutr.* 111(4):616-24.
11. Courtney H. (1950) Anatomy of the pelvic diaphragm and anorectal musculature as related to sphincter preservation in anorectal surgery. *Am J Surg.* 79(1):155-73.
12. Chal J, Pourquoié O. (2017) Making muscle: skeletal myogenesis in vivo and in vitro. *Development.* 144(12):2104-2122.
13. Charrière G, Cousin B, Arnaud E, André M, Bacou F, Penicaud L, Casteilla L. (2003) Preadipocyte conversion to macrophage. Evidence of plasticity. *J Biol Chem.* Mar 14;278(11):9850-5.
14. Cinkajzlová A, Lacinová Z, Kloučková J, Kaválková P, Trachta P, Kosák M, Krátký J, Kasalický M, Doležalová K, Mráz M, Haluzík M. (2017) An alternatively activated macrophage marker CD163 in severely obese patients: the influence of very low-calorie diet and bariatric surgery. *Physiol Res.* 66(4):641-652.
15. Claycombe KJ, Brissette CA, Ghribi O. (2015) Epigenetics of inflammation, maternal infection, and nutrition. *J Nutr.* 145(5):1109S-1115S.
16. Cohen D, Gonzalez J, Goldstein I. (2016) The Role of Pelvic Floor Muscles in Male Sexual Dysfunction and Pelvic Pain. *Sex Med Rev.* 4(1):53-62
17. Collins KH, Hart DA, Smith IC, Issler AM, Reimer RA, Seerattan RA, Rios JL, Herzog

- W. (2017) Acute and chronic changes in rat soleus muscle after high-fat high-sucrose diet. *Physiol Rep.* 5(10): e13270.
18. Corona-Quintanilla DL, Velázquez-Orozco V, Xicohténcatl-Rugierio I, Lara-García O, Cuevas E, Martínez-Gómez M, Toledo LN, Rodríguez-Antolín J. (2022) Sucrose exposure during gestation lactation and postweaning periods increases the pubococcygeus muscle reflex activity in adult male rats. *Int J Impot Res.* 34(6):564-572.
 19. Damasceno DC, Sinzato YK, Bueno A, Netto AO, Dallaqua B, Gallego FQ, Iessi IL, Corvino SB, Serrano RG, Marini G, Piculo F, Calderon IM, Rudge MV. (2013) Mild diabetes models and their maternal-fetal repercussions. *J Diabetes Res.* 2013:473575.
 20. Dandona P, Aljada A, Bandyopadhyay A. (2004) Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends Immunol.* 25(1):4-7.
 21. Dargelos E, Renaud V, Decossas M, Bure C, Lambert O, Poussard S. (2018) Caveolae-mediated effects of TNF- α on human skeletal muscle cells. *Exp Cell Res.* Sep 15;370(2):623-631.
 22. DA. 2023. Modificaciones estructurales y funcionales de la musculatura estriada del piso pélvico en relación al consumo de agua azucarada materno y posnatal en la descendencia de ratas macho. Tesis de Doctorado en Biología de la Reproducción. Universidad Autónoma de Tlaxcala.
 23. Di Renzo L, Gualtieri P, Romano L, Marrone G, Noce A, Pujia A, Perrone MA, Aiello V, Colica C, De Lorenzo A. (2019) Role of Personalized Nutrition in Chronic-Degenerative Diseases. *Nutrients.* 11(8):1707.
 24. Dorey G, Speakman MJ, Feneley RC, Swinkels A, Dunn CD. (2005) Pelvic floor exercises for erectile dysfunction. *BJU Int.* 96(4):595-7.
 25. Du M, Tong J, Zhao J, Underwood KR, Zhu M, Ford SP, Nathanielsz PW. (2010) Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. *J Anim Sci.* 88(13 Suppl): E51-60.
 26. Du M, Yan X, Tong JF, Zhao J, Zhu MJ. (2010) Maternal obesity, inflammation, and fetal skeletal muscle development. *Biol Reprod.* 82(1):4-12.
 27. Effting PS, Thirupathi A, Müller AP, Pereira BC, Sepa-Kishi DM, Marqueze LFB, Vasconcellos FTF, Nesi RT, Pereira TCB, Kist LW, Bogo MR, Ceddia RB, Pinho RA. (2022) Resistance Exercise Training Improves Metabolic and Inflammatory Control in Adipose and Muscle Tissues in Mice Fed a High-Fat Diet. *Nutrients.* 14(11):2179.
 28. El Kasmi KC, Stenmark KR. (2015) Contribution of metabolic reprogramming to macrophage plasticity and function. *Semin Immunol.* 27(4):267-75.
 29. Etzerodt A, Moestrup SK. CD163 and inflammation: biological, diagnostic, and therapeutic aspects. (2013) *Antioxid Redox Signal.* 18(17):2352-63.
 30. Fahey AJ, Brameld JM, Parr T, Buttery PJ. (2005) The effect of maternal undernutrition before muscle differentiation on the muscle fiber development of the newborn lamb. *J Anim Sci.* 83(11):2564-71.
 31. Fjeldborg K, Christiansen T, Bennetzen M, J Møller H, Pedersen SB, Richelsen B. (2013) The macrophage-specific serum marker, soluble CD163, is increased in obesity and reduced after dietary-induced weight loss. *Obesity (Silver Spring).* 21(12):2437-43.
 32. Frontera WR, Ochala J. (2015) Skeletal muscle: a brief review of structure and function. *Calcif Tissue Int.* 96(3):183-95.
 33. Gabriela CS, Leticia NT, Margarita CR, Nicté XA, María de Lourdes AC, Elena Z, Estela CR, Jorge RA. (2022) Maternal and Offspring Sugar Consumption Increases

- Perigonadal Adipose Tissue Hypertrophy and Negatively Affects the Testis Histological Organization in Adult Rats. *Front Cell Dev Biol.* 10:893099.
34. Ghanem YM, Zahran ARM, Younan DN, Zeitoun MH, El Feky AY. (2021) Prevalence of erectile dysfunction among Egyptian male patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr.* 15(3):949-953.
 35. Gou Y, Liu B, Cheng M, Yamada T, Iida T, Wang S, Banno R, Koike T. (2021) d-Allulose Ameliorates Skeletal Muscle Insulin Resistance in High-Fat Diet-Fed Rats. *Molecules.*;26(20):6310.
 36. Grabowska I, Mazur MA, Kowalski K, Helinska A, Moraczewski J, Stremińska W, Hoser G, Kawiak J, Ciemerych MA, Brzoska E. (2015) Progression of inflammation during immunodeficient mouse skeletal muscle regeneration. *J Muscle Res Cell Motil.* 36(6):395-404.
 37. Guzik TJ, Cosentino F. (2018) Epigenetics and Immunometabolism in Diabetes and Aging. *Antioxid Redox Signal.* 29(3):257-274.
 38. Heinonen I, Nesterov SV, Kemppainen J, Fujimoto T, Knuuti J, Kalliokoski KK. (2012) Increasing exercise intensity reduces heterogeneity of glucose uptake in human skeletal muscles. *PLoS One.* 7(12): e52191.
 39. Hernández N, De Sanctis JB, Losada M, Torres SH, Sosa A, Rivas M. (2011) Estrés oxidativo en los músculos soleo y extensor digitorum longus (EDL) de ratas espontáneamente hipertensas [Oxidative stress in soleus and extensor digitorum longus (EDL) muscles of spontaneously hypertensive rats. *Invest Clin.* 52(3):239-51.
 40. Herschorn S. (2004) Female pelvic floor anatomy: the pelvic floor, supporting structures, and pelvic organs. *Rev Urol.* S2-S10.
 41. Hodges PW, Stafford RE, Hall L, Neumann P, Morrison S, Frawley H, Doorbar-Baptist S, Nahon I, Crow J, Thompson J, Cameron AP. (2020) Reconsideration of pelvic floor muscle training to prevent and treat incontinence after radical prostatectomy. *Urol Oncol.* 38(5):354-371.
 42. Hu TY, Lee SY, Shih CK, Chou MJ, Wu MC, Teng IC, Bai CH, Sabrina N, Tinkov AA, Skalny AV, Chang JS. (2019) Soluble CD163-Associated Dietary Patterns and the Risk of Metabolic Syndrome. *Nutrients.* 11(4):940.
 43. Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, Lee SR, Yang SH. (2021) The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in Autoimmune Disease and Current TNF- α Inhibitors in Therapeutics. *Int J Mol Sci.* 22(5):2719.
 44. Jorge J, Bustamante-López L. (2022) Pelvic floor anatomy. *Annals of Laparoscopic and Endoscopic Surgery.* 20-20.
 45. Kawarabayashi R, Motoyama K, Nakamura M, Yamazaki Y, Morioka T, Mori K, Fukumoto S, Imanishi Y, Shioi A, Shoji T, Emoto M, Inaba M. (2017) The Association between Monocyte Surface CD163 and Insulin Resistance in Patients with Type 2 Diabetes. *J Diabetes Res.* 6549242.
 46. Kereliuk SM, Brawerman GM, Dolinsky VW. (2017) Maternal Macronutrient Consumption and the Developmental Origins of Metabolic Disease in the Offspring. *Int J Mol Sci.* 18(7):1451.
 47. Kim JK, Lee YJ, Kim H, Song SH, Jeong SJ, Byun SS. (2021) A prospectively collected observational study of pelvic floor muscle strength and erectile function using a novel personalized extracorporeal perineometer. *Sci Rep.* 11(1):18389.
 48. Klimontov VV, Saik OV, Korbut AI. (2021) Glucose Variability: How Does It Work? *Int J Mol Sci.* 22(15):7783.

49. Lara-García O, Lara-García M, Nicolás-Toledo L, Sengelaub DR, Pacheco P. (2022) Reflex activity of the pubococcygeus muscle is modified throughout the estrous cycle in Wistar rats. *Neurosci Lett.* 768:136375.
50. Mackern-Oberti JP, Motrich RD, Breser ML, Sánchez LR, Cuffini C, Rivero VE. (2013) Chlamydia trachomatis infection of the male genital tract: an update. *J Reprod Immunol.* 100(1):37-53.
51. Mann CJ, Perdiguero E, Kharraz Y, Aguilar S, Pessina P, Serrano AL, Muñoz-Cánoves P. (2011) Aberrant repair and fibrosis development in skeletal muscle. *Skelet Muscle.* 1(1):21.
52. Manzo J, Vazquez MI, Cruz MR, Hernandez ME, Carrillo P, Pacheco P. (2000) Fertility ratio in male rats: effects after denervation of two pelvic floor muscles. *Physiol Behav.* 68(5):611-8.
53. Matuszewska J, Zalewski T, Klimaszuk A, Ziarniak K, Jurga S, Chmurzynska A, Sliwowska JH. (2021) Mothers' cafeteria diet induced sex-specific changes in fat content, metabolic profiles, and inflammation outcomes in rat offspring. *11(1):18573.*
54. Martin CL, Jima D, Sharp GC, McCullough LE, Park SS, Gowdy KM, Skaar D, Cowley M, Maguire RL, Fuemmeler B, Collier D, Relton CL, Murphy SK, Hoyo C. (2019) Maternal pre-pregnancy obesity, offspring cord blood DNA methylation, and offspring cardiometabolic health in early childhood: an epigenome-wide association study. *Epigenetics.* 14(4):325-340.
55. Meriño M, Briones L, Palma V, Herlitz K, Escudero C. (2017) Role of adenosine receptors in the adipocyte-macrophage interaction during obesity. *Endocrinol Diabetes Nutr.* 64(6):317-327.
56. Merz KE, Thurmond DC. (2020) Role of Skeletal Muscle in Insulin Resistance and Glucose Uptake. *Compr Physiol.* 10(3):785-809.
57. McCullough LE, Miller EE, Calderwood LE, Shivappa N, Steck SE, Forman MR, A Mendez M, Maguire R, Fuemmeler BF, Kollins SH, D Bilbo S, Huang Z, Murtha AP, Murphy SK, Hébert JR, Hoyo C. (2017) Maternal inflammatory diet and adverse pregnancy outcomes: ¿Circulating cytokines and genomic imprinting as potential regulators? *Epigenetics.* 12(8):688-697.
58. Mujkić R, Šnajder Mujkić D, Čekić N, Ilić I, Grgić A, Kačarević ŽP, Blažičević V. 2023. Alteration of Collagen Content and Macrophage Distribution in White Adipose Tissue under the Influence of Maternal and Postnatal Diet in Male Rat Offspring. *Medicina (Kaunas).* 59(5):888.
59. Mukund K, Subramaniam S. (2020) Skeletal muscle: A review of molecular structure and function, in health and disease. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med.* 12(1): e1462.
60. Nisr RB, Shah DS, Ganley IG, Hundal HS. (2019) Proinflammatory NFκB signalling promotes mitochondrial dysfunction in skeletal muscle in response to cellular fuel overloading. *Cell Mol Life Sci.* 76(24):4887-4904.
61. Norman K, Pichard C, Lochs H, Pirlich M. (2008) Prognostic impact of disease-related malnutrition. *Clin Nutr.* 27(1):5-15.
62. Olefsky JM, Glass CK. (2010) Macrophages, inflammation, and insulin resistance. *Annu Rev Physiol.* 72:219-46.
63. Osborn O, Olefsky JM. (2012) The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat Med.* 18(3):363-74.
64. Peral-Sanchez I, Hojeij B, Ojeda DA, Steegers-Theunissen RPM, Willaime-Morawek S. (2021) Epigenetics in the Uterine Environment: How Maternal Diet and ART May

- Influence the Epigenome in the Offspring with Long-Term Health Consequences. *Genes (Basel)*. 13(1):31.
65. Polfliet MM, Fabriek BO, Daniëls WP, Dijkstra CD, van den Berg TK. (2006) The rat macrophage scavenger receptor CD163: expression, regulation and role in inflammatory mediator production. *Immunobiology*. 211(6-8):419-25.
 66. Poortmans A, Wyndaele JJ. (1998) M. levator ani in the rat: ¿does it really lift the anus? *Anat Rec*. 251(1):20-7.
 67. Piculo F, Marini G, Barbosa AM, Damasceno DC, Matheus SM, Felisbino SL, Daneshgari F, Rudge MV. (2014) Urethral striated muscle and extracellular matrix morphological characteristics among mildly diabetic pregnant rats: translational approach. *Int Urogynecol J*. 25(3):403-15.
 68. Pischedda A, Fusco F, Curreli A, Grimaldi G, Pirozzi Farina F. (2013) Pelvic floor and sexual male dysfunction. *Arch Ital Urol Androl*. 85(1):1-7.
 69. Prasad V, Millay DP. (2021) Skeletal muscle fibers count on nuclear numbers for growth. *Semin Cell Dev Biol*. 119:3-10.
 70. Pullar J, Wickramasinghe K, Demaio AR, Roberts N, Perez-Blanco KM, Noonan K, Townsend N. (2019) The impact of maternal nutrition on offspring's risk of non-communicable diseases in adulthood: a systematic review. *J Glob Health*. 9(2):020405.
 71. Ramírez-López MT, Vázquez Berrios M, Arco González R, Blanco Velilla RN, Decara Del Olmo J, Suárez Pérez J, Rodríguez de Fonseca F, Gómez de Heras R. (2015) El papel de la dieta materna en la programación metabólica y conductual: revisión de los mecanismos biológicos implicados [The role of maternal diet in metabolic and behavioural programming: review of biologic mechanisms involved]. *Nutr Hosp*. 32(6):2433-45.
 72. Remels AH, Gosker HR, Verhees KJ, Langen RC, Schols AM. (2015) TNF- α -induced NF- κ B activation stimulates skeletal muscle glycolytic metabolism through activation of HIF-1 α . *Endocrinology*. 156(5):1770-81.
 73. Roberts CK, Barnard RJ, Sindhu RK, Jurczak M, Ehdaie A, Vaziri ND. (2005) A high-fat, refined-carbohydrate diet induces endothelial dysfunction and oxidant/antioxidant imbalance and depresses NOS protein expression. *J Appl Physiol* (1985). 98(1):203-10.
 74. Rocca Rossetti S. (2016) Functional anatomy of pelvic floor. *Arch Ital Urol Androl*. 88(1):28-37.
 75. Rotman JA, Kierans AS, Lo G, Gavlin A, Guniganti P. (2020) Imaging of chronic male pelvic pain: what the abdominal imager should know. *Abdom Radiol (NY)*. 45(7):1961-1972.
 76. Saengnipanthkul S, Noh HL, Friedline RH, Suk S, Choi S, Acosta NK, Tran DA, Hu X, Inashima K, Kim AM, Lee KW, Kim JK. (2021) Maternal exposure to high-fat diet during pregnancy and lactation predisposes normal weight offspring mice to develop hepatic inflammation and insulin resistance. *Physiol Rep*. 9(6): e14811.
 77. Salto R, Girón MD, Manzano M, Martín MJ, Vílchez JD, Bueno-Vargas P, Cabrera E, Pérez-Alegre M, Andujar E, Rueda R, Lopez-Pedrosa JM. (2020) Programming Skeletal Muscle Metabolic Flexibility in Offspring of Male Rats in Response to Maternal Consumption of Slow Digesting Carbohydrates during Pregnancy. *Nutrients*. 12(2):528.
 78. Sanglard LP, Nascimento M, Moriel P, Sommer J, Ashwell M, Poore MH, Duarte MS, Serão NVL. (2018) Impact of energy restriction during late gestation on the muscle and blood transcriptome of beef calves after preconditioning. *BMC Genomics*. 19(1):702.

79. Sayner A, Nahon I. (2020) Pelvic Floor Muscle Training in Radical Prostatectomy and Recent Understanding of the Male Continence Mechanism: A Review. *Semin Oncol Nurs.* 36(4):151050.
80. Sayer AA, Cooper C. (2005) Fetal programming of body composition and musculoskeletal development. *Early Hum Dev.* 81(9):735-44.
81. Schiaffino S, Reggiani C. (2011) Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiol Rev.* 91(4):1447-531.
82. Schmidt M, Schüler SC, Hüttner SS, von Eyss B, von Maltzahn J. (2019) Adult stem cells at work: regenerating skeletal muscle. *Cell Mol Life Sci.* 76(13):2559-2570.
83. Scicchitano BM, Pelosi L, Sica G, Musarò A. (2018) The physiopathologic role of oxidative stress in skeletal muscle. *Mech Ageing Dev.* 170:37-44.
84. Semnani-Azad Z, Connelly PW, Johnston LW, Retnakaran R, Harris SB, Zinman B, Hanley AJ. (2020) The Macrophage Activation Marker Soluble CD163 is Longitudinally Associated With Insulin Sensitivity and β -cell Function. *J Clin Endocrinol Metab.* 105(3): e285–94.
85. Shanmugam MK, Sethi G. (2013) Role of epigenetics in inflammation-associated diseases. *Subcell Biochem.* 61:627-57.
86. Shapouri-Moghaddam A, Mohammadian S, Vazini H, Taghadosi M, Esmaeili SA, Mardani F, Seifi B, Mohammadi A, Afshari JT, Sahebkar A. (2018) Macrophage plasticity, polarization, and function in health and disease. *J Cell Physiol.* 233(9):6425-6440.
87. Sharples AP, Polydorou I, Hughes DC, Owens DJ, Hughes TM, Stewart CE. (2016) Skeletal muscle cells possess a 'memory' of acute early life TNF- α exposure: role of epigenetic adaptation. *Biogerontology.* 17(3):603-17.
88. Sierra-Castrillo J, Gómez-Rave LJ. (2017) Asociación de los niveles de adiponectina y del factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α) con la albuminuria en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Med. Lab.* 23(5-6):257-70.
89. Skytthe MK, Graversen JH, Moestrup SK. (2020) Targeting of CD163+ Macrophages in Inflammatory and Malignant Diseases. *Int J Mol Sci.* 21(15):5497.
90. Sørensen LP, Parkner T, Søndergaard E, Bibby BM, Møller HJ, Nielsen S. (2015) Visceral obesity is associated with increased soluble CD163 concentration in men with type 2 diabetes mellitus. *Endocr Connect.* 4(1):27-36.
91. Stratos I, Behrendt AK, Anselm C, Gonzalez A, Mittlmeier T, Vollmar B. (2022) Inhibition of TNF- α Restores Muscle Force, Inhibits Inflammation, and Reduces Apoptosis of Traumatized Skeletal Muscles. *Cells.* 11(15):2397.
92. Suriyut J, Muro S, Baramée P, Harada M, Akita K. (2020) Various significant connections of the male pelvic floor muscles with special reference to the anal and urethral sphincter muscles. *Anat Sci Int.* 95(3):305-312.
93. Tallis J, James RS, Seebacher F. (2018) The effects of obesity on skeletal muscle contractile function. *J Exp Biol.* 221(Pt 13): jeb163840.
94. Tidball JG, Welc SS, Wehling-Henricks M. (2018) Immunobiology of Inherited Muscular Dystrophies. *Compr Physiol.* 8(4):1313-1356.
95. Thoma A, Lightfoot AP. (2018) NF- κ B and Inflammatory Cytokine Signalling: Role in Skeletal Muscle Atrophy. *Adv Exp Med Biol.* 1088:267-279.
96. Trollet C, Cheng AJ, Sylow L, Batista ML Jr, Pillon NJ. (2021) Editorial: Skeletal Muscle Immunometabolism. *Front Physiol.* 12:683088.
97. Varma V, Yao-Borengasser A, Rasouli N, Nolen GT, Phanavanh B, Starks T, Gurley

- C, Simpson P, McGehee RE Jr, Kern PA, Peterson CA. (2009) Muscle inflammatory response and insulin resistance: synergistic interaction between macrophages and fatty acids leads to impaired insulin action. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 296(6): E1300-10.
98. Wajant H, Pfizenmaier K, Scheurich P. (2003) Tumor necrosis factor signaling. *Cell Death Differ.* 10(1):45-65.
99. Wang X, Zhao D, Cui Y, Lu S, Gao D, Liu J. (2019) Proinflammatory macrophages impair skeletal muscle differentiation in obesity through secretion of tumor necrosis factor- α via sustained activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *J Cell Physiol.* 234(3):2566-2580.
100. Webb RC. (2003) Smooth muscle contraction and relaxation. *Adv Physiol Educ.* 27(1-4):201-6.
101. Wu H, Ballantyne CM. (2017) Skeletal muscle inflammation and insulin resistance in obesity. *J Clin Invest.* 127(1):43-54.
102. Xicohténcatl-Ruggerio I, Corona-Quintanilla DL, Nicolás L, Martínez-Gómez M, Cuevas E, Castelán F, Rodríguez-Antolín J. (2017) The role of the pubococcygeus muscle in the urethro-genital reflex of male rats. *Neurourol Urodyn.* 36(1):80-85.
103. Xue Y, Zeng X, Tu WJ, Zhao J. (2022) Tumor Necrosis Factor- α : The Next Marker of Stroke. *Dis Markers.* 2022:2395269.
104. Yao Y, Xu XH, Jin L. (2019) Macrophage Polarization in Physiological and Pathological Pregnancy. *Front Immunol.* 10:792.
105. Yates DT, Macko AR, Nearing M, Chen X, Rhoads RP, Limesand SW. (2012) Developmental programming in response to intrauterine growth restriction impairs myoblast function and skeletal muscle metabolism. *J Pregnancy.* 631038.
106. Ying W, Gao H, Dos Reis FCG, Bandyopadhyay G, Ofrecio JM, Luo Z, Ji Y, Jin Z, Ly C, Olefsky JM. (2021) MiR-690, an exosomal-derived miRNA from M2-polarized macrophages, improves insulin sensitivity in obese mice. *Cell Metab.* 33(4):781-790.e5.
107. Zelinka-Khobzey MM, Tarasenko KV, Mamontova TV. (2021) Assessment of endothelial dysfunction in pregnant women with obesity and preeclampsia. *Wiad Lek.* 74(8):1905-1909.
108. Zhao H, Wu L, Yan G, Chen Y, Zhou M, Wu Y, Li Y. (2021) Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduct Target Ther.* 6(1):263.
109. Zhou D, Huang C, Lin Z, Zhan S, Kong L, Fang C, Li J. (2014) Macrophage polarization and function with emphasis on the evolving roles of coordinated regulation of cellular signaling pathways. *Cell Signal.* 26(2):192-7.

13. GLOSARIO DE TÉRMINOS

Miogénesis: proceso de determinación y formación de las células del tejido muscular (Gilbert, 2000).

Miofibra: son células de los músculos que se organizan en paralelo para formar la estructura característica del interior de los músculos

Músculo pubococcígeo: músculo de la porción intermedia del músculo elevador del ano.

Músculo iliococcígeo: músculo que forma parte del diafragma en forma de cuenco que ayuda a sostener los contenidos viscerales de la pelvis.

Macrófagos: glóbulo blanco que rodea los microorganismos (fagocita) y los destruye, extrae las células muertas y estimula la acción de otras células del sistema inmune.

Inmunohistoquímica: Técnica de laboratorio que usan anticuerpos a fin de determinar si hay ciertos antígenos (marcadores) en una muestra de tejido.

TNF-a: citoquina proinflamatoria secretada en el sistema inmunitario.

CD163: receptor de la superficie de monocitos y macrófagos, encargado de captar el complejo haptoglobina-hemoglobina con el fin de metabolizar su capacidad oxidante, con cierto papel antiinflamatorio y propiedades antiaterogénicas.

14. PUBLICACIONES

ANEXOS PUBLICACIONES (ARTÍCULOS Y RESÚMENES EN CONGRESOS)

RESUMEN: SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS A.C -SEPTIEMBRE 2022

Marcadores de inflamación en músculos pubococcígeo e iliococcígeo por sacarosa en etapa gestacional/posgestacional en rata macho

Sánchez Rivas Adriana¹ (estudiante de maestría), Hernández Aragón Laura Guadalupe ², Cuevas Romero Estela ³, Rodríguez Antolín Jorge ³

¹ Posgrado en Ciencias Biológicas, Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala; ² Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla; ³ Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México

La programación fetal es un proceso de adaptación del desarrollo debida a la interacción de la genética y factores exógenos. La malnutrición materna dada por una dieta hipercalórica durante la etapa fetal puede promover el desarrollo de enfermedades en la vida adulta. Se ha sugerido que un exceso en el consumo de carbohidratos durante el periodo gestacional y postnatal mantiene un estado de inflamación crónico en diversos órganos y tejidos durante ambas etapas. Sin embargo, se desconoce si tejidos como la musculatura pélvica son afectados, al producirse un estado inflamatorio, lo cual impactaría sobre las funciones reproductivas en la adultez. Por lo cual, el objetivo de este trabajo es determinar si el consumo de agua azucarada aumenta la infiltración de CD163 y TNF- α en los músculos pubococcígeo e iliococcígeo en la etapa gestacional y postnatal en la rata macho. Para ello, se utilizaron 6 ratas gestantes que consumieron agua simple y 6 que consumieron agua con azúcar al 5%, posteriormente al destete se usaron las crías machos de su descendencia y se formaron 4 grupos experimentales, de acuerdo con el consumo de agua durante la gestación y postdestete: simple-simple (n=6);

simple-azúcar (n=6); azúcar-simple (n=6) y azúcar- azúcar (n=6). Después de las 14 semanas de tratamiento se extrajeron los músculos para identificar CD163 y TNF- α , mediante inmunohistoquímica. Los resultados preliminares sugieren que el consumo de agua azucarada en ambas etapas aumenta la presencia de CD163, marcador específico de macrófagos antiinflamatorios en ambos músculos. Los resultados sugieren que los individuos que fueron expuestos al consumo de agua azucarada (5%) sufren una activación de la respuesta inflamatoria durante el desarrollo, probablemente relacionada al incremento en tejido adiposo abdominal y pélvico; lo que propicia un incremento en la respuesta antiinflamatoria durante la etapa adulta.

Financiamiento: Beca CONACyT – 1142891

RESUMEN AIBIR -AGOSTO 2023

Infiltración de TNF- α y CD163 en los músculos pubococcígeo e iliococcígeo de ratas macho que consumieron agua azucarada durante la etapa gestacional y posnatal

Sánchez Rivas A¹, Hernández Aragón LG², Dávila Santacruz S^{3,4}, Cuevas Romero E³, Leticia Nicolás Toledo L³, Rodríguez Antolín J³.

¹ Maestría en Ciencias Biológicas, Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México; ² Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México ³ Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México, ⁴ Doctorado en Ciencias Biológicas, Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala.

En humanos, la disfunción sexual masculina se ha asociado con enfermedades metabólicas, las cuales pueden deberse a dietas hipercalóricas dadas al consumo de bebidas azucaradas. Su consumo crónico en etapas críticas del desarrollo puede conducir a un estado inflamatorio en la adultez, conocido como programación fetal. Nuestro grupo de trabajo ha demostrado que el consumo de agua azucarada durante la etapa pre y postnatal disminuye la actividad electromiografía del músculo pubococcígeo durante la activación del reflejo peneano. El consumo de agua azucarada (5%) durante el desarrollo gestacional y postnatal recambia el tipo de fibras, aumentando el número de fibras rápidas y glucolíticas, disminuyendo las oxidativas. Se desconoce el estado de inflamación por el consumo crónico de agua azucarada. Por lo que, el objetivo de este determinar si el consumo de agua azucarada, en la etapa gestacional y postnatal, aumenta la infiltración de macrófagos CD163 y TNF- α en los músculos pubococcígeo e iliococcígeo en la rata macho adulta. Se utilizaron seis ratas gestantes que consumieron agua simple y seis que consumieron agua con azúcar (5%), al destete, la descendencia de crías macho se distribuyó aleatoriamente en cuatro grupos experimentales. Conforme al consumo de agua durante la gestación, se categorizaron las crías: madre que consumió agua simple (MS) o azucarada (MA) y postdestete sí la cría que consumió agua simple (CS) o azucarada (CA), con una n de seis por grupo: simple-simple (MS-CS); simple-

azúcar (MS-CA); azúcar-simple (MA-CS) y azúcar- azúcar (MACA). Transcurridas las 14 semanas de tratamiento, se extrajeron los músculos pubococcígeo e ileococcígeo para identificar CD163 y TNF- α , mediante inmunohistoquímica. Se encontró que el consumo de agua azucarada pre y postnatal (MA-CA) aumenta la presencia de macrófagos CD163, en ambos músculos y de TNF- α . Ello sugiere que el consumo crónico de agua azucarada durante una etapa temprana del desarrollo activa la respuesta inflamatoria y antiinflamatoria que perdura en la adultez, probablemente relacionada al incremento en tejido adiposo abdominal y pélvico, así como a los cambios metabólicos que sufren los músculos.

Financiamiento: Beca CONACyT – 1142891ASR

Categoría del primer autor:M