


# Efectos de la obesidad materna sobre el patrón de apoptosis en la cardiogénesis tardía \*


## María Eleonora Tejada López

Magíster en Ciencias Biomédicas. Profesora Facultad de Ciencias de la Salud Universidad Libre, Cali. Profesor asistente, Departamento de Morfología. Universidad del Valle, Cali - Colombia maria.tejada@correounivalle.edu.co  
maria.tejada@unilibre.edu.co  orcid.org/0000-0003-4020-7092

## María Carolina Pustovrh

Doctora en Ciencias Biológicas. Profesor asistente, Departamento de Morfología. Universidad del Valle, Cali - Colombia maria.pustovrh@correounivalle.edu.co  orcid.org/0000-0002-2909-1941

## Liliana Salazar Monsalve

Magíster en Morfología. Profesor titular, Departamento de Morfología. Universidad del Valle, Cali - Colombia liliana.salazar@correounivalle.edu.co  orcid.org/0000-0002-7290-4581

## Mario Alejandro Ortiz

Magíster en Ciencias Biomédicas. Profesor asistente, Departamento de Morfología. Universidad del Valle, Cali - Colombia mario.ortiz@correounivalle.edu.co  orcid.org/0000-0003-2546-5165

## RESUMEN

**I:** La ganancia excesiva de peso durante la gestación contribuye a un desbalance en el aporte de nutrientes que influyen en la reprogramación de vías moleculares de la organogénesis, aumentando el riesgo de desarrollar anomalías congénitas en el corazón. **O:** Determinar el efecto de la obesidad materna sobre el patrón de apoptosis en la cardiogénesis tardía. **M:** Se estableció un modelo de obesidad materna adquirida por dieta de cafetería tipo snack, en ratas Wistar adultas. Las ratas del grupo obeso y del grupo control se aparearon con machos adultos sanos y fueron sacrificadas el día 16.5 de gestación. Los corazones fueron evaluados macroscópicamente y procesados para el estudio de la apoptosis cardíaca mediante la técnica de TUNEL. **R:** El 25 % de los corazones procedentes de madres obesas presentaron aumento en el tamaño de atrios, ventrículos y tracto de salida. La apoptosis fue menor en los ventrículos de los corazones fetales procedentes de madres obesas vs control ( $p < 0,05$ ). En el atrio derecho la apoptosis fue mayor en los corazones fetales del grupo obeso vs control ( $p < 0,05$ ). De manera importante se observó un aumento significativo en la cantidad de células en apoptosis presentes en el tabique interventricular del grupo control vs el grupo obeso ( $p \leq 0,0001$ ). **C:** El proceso de apoptosis se encontró alterado en los corazones fetales que fueron expuestos a condiciones de obesidad materna.

## PALABRAS CLAVE

Obesidad, gestación, apoptosis, cardiogénesis.

Recibido: 22/10/2017 Aceptado: 10/12/2017

\* Artículo de investigación en Ciencias Biomédicas, producto de los resultados obtenidos del proyecto "Consecuencias de la obesidad materna sobre el desarrollo cardíaco fetal" (código 1705) financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Valle.

<http://dx.doi.org/10.18041/entramado.2018v14n1.27148> Este es un artículo Open Access bajo la licencia BY-NC-SA (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>) Publicado por Universidad Libre - Cali, Colombia.

**Cómo citar este artículo:** TEJADA LÓPEZ, María Eleonora; PUSTOVRH, María Carolina; SALAZAR MONSALVE, Liliana; ORTIZ, Mario Alejandro. Efectos de la obesidad materna sobre el patrón de apoptosis en la cardiogénesis tardía. *En:* Entramado. Enero - Junio, 2018. vol. 14, no. 1, p. 292-301 <http://dx.doi.org/10.18041/entramado.2018v14n1.27148>

## Effects of maternal obesity on the apoptosis pattern in late cardiogenesis

### ABSTRACT

**I:** Excessive weight gain during pregnancy contributes to an imbalance in the contribution of nutrients that influences the reprogramming of molecular pathways of organogenesis, increasing the risk of developing congenital anomalies in the heart. **O:** To determine the effect of maternal obesity on the pattern of apoptosis in late cardiogenesis. **M:** A model of maternal obesity acquired by snack diet was established in adult Wistar rats. The rats of the obese group and the control group were mated with healthy adult males and were killed on day 16.5 of gestation. The hearts were evaluated macroscopically and processed for the study of cardiac apoptosis using the TUNEL technique. **R:** 25% of hearts from obese mothers had an increase in the size of atria, ventricles and outflow tract. Apoptosis was lower in the ventricles of fetal hearts from obese mothers vs control ( $p < 0.05$ ). In the right atrium, apoptosis was higher in the fetal hearts of the obese vs control group ( $p < 0.05$ ). Importantly, there was a significant increase in the number of cells in apoptosis present in the interventricular septum of the control group vs the obese group ( $p \leq 0.0001$ ). **C:** The process of apoptosis was found altered in fetal hearts that were exposed to conditions of maternal obesity.

### KEYWORDS

Obesity, pregnancy, apoptosis, cardiogenesis.

## Efeitos da obesidade materna sobre o padrão de apoptose na cardiogênese tardia

### RESUMO

**I:** o ganho excessivo de peso durante a gestação contribui a um desequilíbrio no aporte de nutrientes que influenciam a reprogramação das vias moleculares da organogênese, aumentando o risco de desenvolvimento de anomalias congênitas no coração. **O:** determinar o efeito da obesidade materna sobre o padrão de apoptose na cardiogênese tardia. **M:** estabeleceu-se um modelo de obesidade materna por meio de dieta de lanches tipo snack, em ratos Wistar adultos. Os ratos do grupo obeso e do grupo controle foram acasalados com machos adultos saudáveis, e sacrificados no dia 16.5 da gestação. Os corações avallaram-se macroscopicamente e processaram-se para o estudo da apoptose cardíaca utilizando a técnica do TUNEL. **R:** 25% dos corações de mães obesas apresentaram aumento do tamanho dos átrios, ventrículos e via de saída. A apoptose foi menor nos ventrículos dos corações fetais de mães obesas vs controle ( $p < 0,05$ ). No átrio direito, a apoptose foi maior nos corações fetais do grupo obeso vs controle ( $p < 0,05$ ). De uma maneira importante, houve um aumento significativo no número de células em apoptose presentes no septo interventricular do grupo controle vs o grupo obeso ( $p \leq 0,0001$ ). **C:** o processo de apoptose encontrou-se alterado em corações fetais que foram expostos a condições de obesidade materna

### PALAVRAS-CHAVE

Obesidade, gestação, apoptose, cardiogênese.

### Introducción

La obesidad se define como la acumulación excesiva de grasa en el organismo que conlleva a un aumento del peso corporal con respecto al que correspondería según la estatura, el sexo y la edad de la persona. Con base en el índice de masa corporal (IMC), la Organización Mundial de la Salud (OMS) define la siguiente categorización: peso normal, 18,5–24,9 kg/m<sup>2</sup>, sobrepeso, 25–29,9 kg/m<sup>2</sup>, obesidad tipo I, entre 30–34,9 kg/m<sup>2</sup>; obesidad tipo II, entre 35–39,9 kg/m<sup>2</sup> y obesidad tipo III, 40 kg/m<sup>2</sup> o más (Moreno, 2012).

Actualmente la obesidad y el sobrepeso, son considerados un problema de salud pública, es así que para el año 2000 la OMS le dio estatus de epidemia global categorizándola como la principal causa de comorbilidades, al igual que la

diabetes tipo II, enfermedades cardiovasculares, varios tipos de cáncer y otros problemas de salud (Gutiérrez, 2010), con una mayor prevalencia en las mujeres que en los hombres (OMS, 2015) y (Chan y Woo, 2010).

En la actualidad, las dietas altas en grasas e hipercalóricas, con ingesta de alimentos procesados de alto consumo y en ocasiones más económicos que las comidas frescas y compuestas de ingredientes ricos en nutrientes elementales han provocado un aumento en la tasa de obesidad (Afman y Müller, 2006) y se han convertido en factores que contribuyen a la creciente tasa de obesidad entre las mujeres en edad reproductiva y su descendencia (Chan y Woo, 2010) y (Klenov y Jungheim, 2014). Por otro lado, diferentes estudios clínicos y epidemiológicos, reportan que la obesidad y el sobrepeso previo al embarazo, así como la ganancia ex-

cesiva de peso durante la gestación son factores negativos que implican complicaciones para la embarazada, su feto y neonato (Tamara, 2007).

### I. Marco teórico

La obesidad materna provoca complicaciones durante el embarazo, entre ellas, diabetes gestacional, hipertensión y pre-eclampsia. A partir de modelos animales y estudios en humanos se ha sugerido que la obesidad materna también crea un efecto adverso en el medio ambiente intrauterino, alterando el desarrollo embrio/fetal; por lo tanto, los hijos de madres obesas están sujetos a un mayor riesgo de presentar muerte fetal, alteración en el patrón de crecimiento, anomalías congénitas y desarrollar enfermedades metabólicas a largo plazo (Tenenbaum, 2013). Entre las anomalías más frecuentes, se presentan defectos del tubo neural, orofaciales y defectos del corazón; en particular a nivel cardíaco se ha reportado hipoplasia izquierda del corazón, transposición de grandes vasos, defectos de cojines endocárdicos, Tetralogía de Fallot, defectos del septum ventricular, septum atrial y coartación de la aorta (Cedergren y Källén 2003).

El corazón es el primer órgano funcional cuya morfogénesis requiere del re-arreglo y la proliferación celular, cambios en la interacción célula-célula, célula-matriz extracelular y remodelación tisular. Durante su re-estructuración es necesario la supresión de estructuras vestigiales y el control del número de células, procesos dirigidos por la muerte celular programada; eventos regulados finamente en tiempo y espacio (Poelmann *et al.* 2000).

Con base en estos antecedentes se planteó como objetivo, determinar el efecto de la obesidad materna sobre el patrón de apoptosis en la cardiogénesis tardía de fetos de rata Wistar.

### 2. Materiales y Métodos

Se emplearon 12 Ratitas hembras de 60 días de edad, con un peso aproximado entre 190 a 210 gramos y seis machos adultos de dos meses de edad, con un peso aproximado de 300 gramos, pertenecientes a la especie *rattus norvegicus albinus*, cepa Wistar. Los animales fueron mantenidos en el bioterio de la Universidad del Valle, bajo condiciones controladas de luz-oscuridad (12-12 horas), temperatura (22-23°C) y humedad relativa (38%-66%).

El presente trabajo contó con el aval del Comité de Ética Animal de la Universidad del Valle, que cumple con la ley 84 de 1989 del Estatuto Nacional de Protección de los Animales y sigue la resolución N° 008430 de 1993. El bienestar de los biomodelos fue revisado de manera continua por los investigadores y los procedimientos se realizaron de

acuerdo a la normatividad de bioseguridad del bioterio de la Universidad del Valle. ACTA de aprobación N° 01-2012.

### 2.1. Establecimiento del modelo de obesidad adquirida por dieta

Doce (12) hembras adultas, fueron divididas en dos grupos; un grupo control y un grupo obeso; el grupo control (n=6), se alimentó con dieta estándar, correspondiente a la dieta comercial LAB DIET 5001 (LabChow Rodentia Purina; Estados Unidos). En su composición nutricional contiene: proteína cruda mínima 23,0%; grasa cruda mínima 4,5%; fibra cruda máxima 6,0%; ceniza máximo 8,0%, minerales agregados máximos 3,0%. El grupo obeso (n=6), fue alimentado con una dieta estándar complementada con una dieta hipercalórica altamente palatable, denominada dieta de cafetería, compuesta por 20 alimentos tipo snack debidamente codificados y con contenido nutricional establecido (Hidalgo, Pustovrh y Salazar, 2014). (Tabla 1).

Tabla 1. Alimentos suministrados a los biomodelos maternos durante la dieta de cafetería

	Alimento	K calorías
1	Maíz inflado	50
2	Queso	300
3	Tocineta	70
4	Maíz tostado	120
5	Papas fritas	547,2
6	Panecillos de mantequilla	380
7	Galletas	200
8	Chocolatina	200
9	Pastel de chocolate	300
10	Rosquillas	65
11	Cereal dulce	391,1
12	Maíz inflado sabor queso	220
13	Sandwich	146,5
14	Galletas Saladas	180
15	Brownie	100
16	Galletas de trigo	419
17	Palomitas de maíz	90
18	Jamón	60
19	Caramelos	240
20	Salchichas	130

Fuente: Elaboración de los autores

Durante un periodo de seis semanas, el alimento y el agua fueron ofrecidos en exceso a ambos grupos. La ingesta de alimento fue supervisada diariamente; los parámetros murino-morfométricos (peso, talla y circunferencia abdominal) fueron registrados semanalmente.

Para obtener el estadio gestacional de interés en el desarrollo cardíaco (E16.5), a partir de la sexta semana de alimentación, se realizó diariamente entre las 7:00 AM y 9:00 AM la toma de citología vaginal y visualización en fresco del extendido vaginal, para establecer el momento del celo y realizar el apareo con el macho; la presencia de espermatozoides en el extendido vaginal, se determinó como el día 0,5 de preñez (Pustovrh, 2017).

## 2.2. Obtención de las muestras

Finalizado el tiempo de gestación establecido, se procedió a la interrupción de la preñez de los biomodelos maternos y la obtención de los fetos en el estadio E16.5; bajo estereomicroscopio (Meiji RZT Techno) con cámara fotográfica acoplada (Infinity 1), se explantaron los corazones fetales. La morfología cardíaca externa, fue evaluada en 40 corazones procedentes del grupo control y 24 corazones procedentes del grupo obeso.

Posteriormente, los corazones fetales fueron fijados por inmersión en PLP (Paraformaldehído) al 4% durante dos horas, seguido de un cambio a alcohol al 70%; hasta el momento de procesarlos para detección de apoptosis.

## 2.3. Procesamiento histoquímico e inmunohistoquímico

Los corazones fetales fueron deshidratados con alcohol etílico en concentraciones crecientes, 70°, 80°, 95°, 100°, aclarados con xilol e incluidos en parafina. Se realizaron cortes histológicos seriados de 4µm de espesor utilizando un micrótopo de rotación (Leica RM 2245). Seguidamente los cortes fueron montados en portaobjetos cargados (Color Frost Plus Slide Export cat # 695 I plus 006E).

## 2.4. Técnica de TUNEL (dUTP nick end labeling)

La técnica de TUNEL permite evaluar la fragmentación del ADN nuclear, producto de la activación de los programas de muerte celular programada o apoptosis (Negoescu et al. 1997). El procedimiento requiere desparafinización, hidratación y desenmascaramiento antigénico por medio de calor, utilizando microondas a potencia de 10Watts y Buffer Citrato (pH 6.0), por un tiempo de 25 minutos. Para aplicar la técnica, se siguieron las indicaciones del proveedor del

kit (ApopTag Fluorescein in Situ), con un protocolo que se inicia con el bloqueo de la actividad de la peroxidasa endógena, continúa con una incubación en soluciones del kit, revelado final con diaminobencidina y contra tinción con hematoxilina, deshidratación y montaje de la muestra.

## 2.5. Cuantificación de células apoptóticas

Las células apoptóticas fueron evaluadas y cuantificadas con magnificación de 100X en los cortes de los corazones fetales en cinco (5) regiones: atrio derecho, ventrículo derecho, tabique interventricular, ventrículo izquierdo, atrio izquierdo (Figura 1), siguiendo el procedimiento previamente establecido por el autor (Tejada, 2017).

En cada una de las regiones, se seleccionó un área al azar en la que se realizó la cuantificación por triplicado. La visualización se realizó con microscopio óptico (Leica DM 750) adaptado a su respectiva cámara Leica DFC 295.

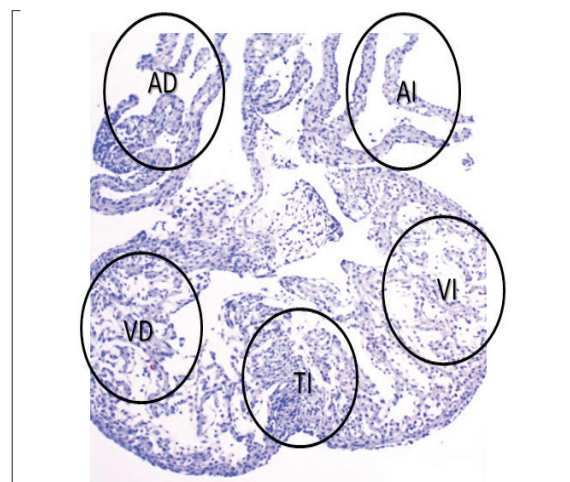


Figura 1. Regiones evaluadas en el corazón fetal. Se indican mediante círculos las regiones evaluadas para la detección de células TUNEL positivas en un corazón fetal en el día E16.5.

AD = atrio derecho. AI = atrio izquierdo. VD = ventrículo derecho. VI = ventrículo izquierdo. TI = tabique interventricular

Fuente: Tejada, (2017).

## 2.6. Análisis estadístico

Todos los valores se presentan como media  $\pm$  error estándar. Los análisis estadísticos fueron realizados con el programa GraphPad Prism 5.0 (GraphPAD software, San Diego, CA, USA). Se empleó la prueba de D'Agostino-Pearson para confirmar la normalidad de las poblaciones de datos.

Las comparaciones entre los grupos se realizaron empleando la prueba t de Student. Las diferencias entre los grupos experimentales se consideraron significativas cuando  $p \leq 0.05$ . Los resultados se presentan como la media  $\pm$  el error estándar.



### 3. Resultados

#### 3.1. Evaluación de la morfología cardíaca

La evaluación morfológica de los corazones fetales correspondió a la observación detallada del tamaño de las cámaras: atrio derecho e izquierdo, ventrículo derecho e izquierdo y tracto de salida (OFT), tamaño, bordes externos y diferenciación de la tabicación ventricular. Estos parámetros, se visualizaron completamente definidos en los corazones de los fetos procedentes del grupo control (Figura 2A). Sin embargo, el 25% de los corazones procedentes de madres obesas presentaron aumento en el tamaño de los atrios, ventrículos y mayor longitud del tracto de salida (Figura 2 B-E).

#### 3.2. Evaluación de células apoptóticas

La cuantificación de la fragmentación del ADN (apoptosis) en el ventrículo derecho, fue mayor en los corazones procedentes del grupo control, comparado con los del grupo obeso, siendo estas diferencias estadísticamente signi-

ficativas ( $p < 0,05$ ). A su vez, la cuantificación de las células apoptóticas a nivel del ventrículo izquierdo mostró un patrón similar, siendo mayor para los corazones procedentes del grupo control en comparación con el grupo obeso ( $P < 0,001$ ). (Figuras 3 y 4).

El número de células en apoptosis fue mayor en los atrios izquierdos, comparado con los atrios derechos de los corazones fetales del grupo control ( $p < 0,05$ ). De manera importante se observó un aumento significativo en la cantidad de células en apoptosis presentes en los atrios derechos de los corazones procedentes de madres obesas comparados con sus respectivos controles ( $p < 0,05$ ), sin cambios evidentes en el número de células TUNEL positivas por área cuando se comparó el atrio izquierdo de los corazones fetales entre ambos grupos. (Figura 5).

En la región del tabique interventricular para el día E16.5 la cantidad de células TUNEL positivas detectadas fue menor en los corazones procedentes del grupo control vs los del grupo obeso, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.0001$ ). (Figura 6).

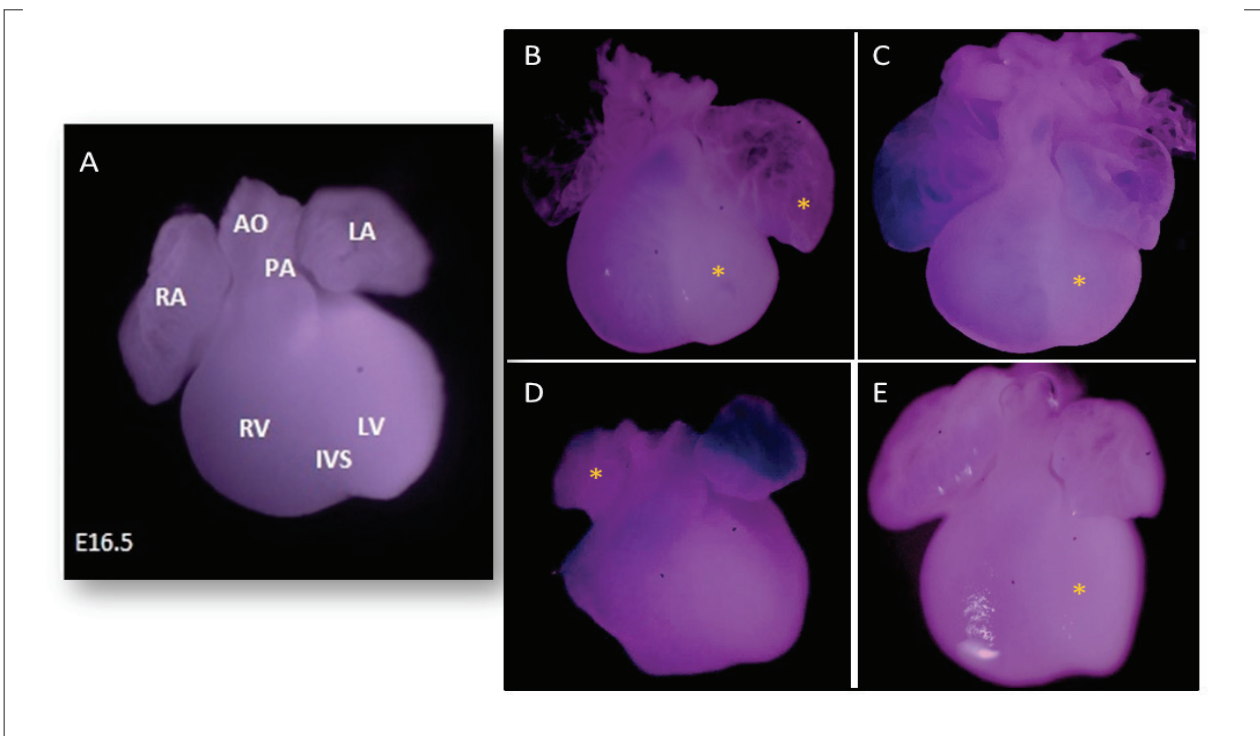


Figura 2. Corazones fetales de rata Wistar estadio E16.5. (0.55X)

A. Corazón fetal proveniente del grupo control con características externas normales.

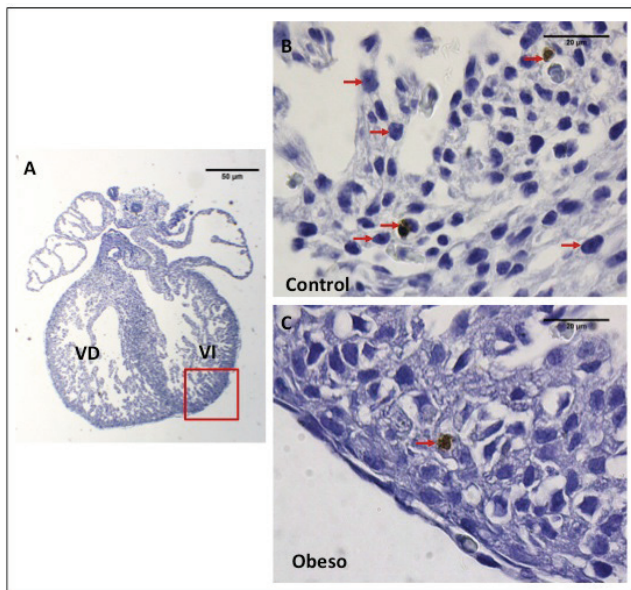
RA: atrio derecho. RV: ventrículo derecho. IVS: septum interventricular. LV: ventrículo izquierdo. LA: atrio izquierdo AO: arteria aorta. PA: arteria pulmonar.

B-E. Corazones fetales procedentes del grupo obesos con alteraciones marcadas mediante asterisco.

B-C-E. Alteraciones en el tamaño del ventrículo izquierdo (hipoplasia ventricular izquierda).

B. Hiperplasia del atrio izquierdo. D. Hipoplasia del atrio derecho.

Fuente: Elaboración de los autores



**Figura 3.** Microfotografías de cortes histológicos de corazón fetal E16.5 a nivel de los ventrículos técnica TUNEL a (100X)

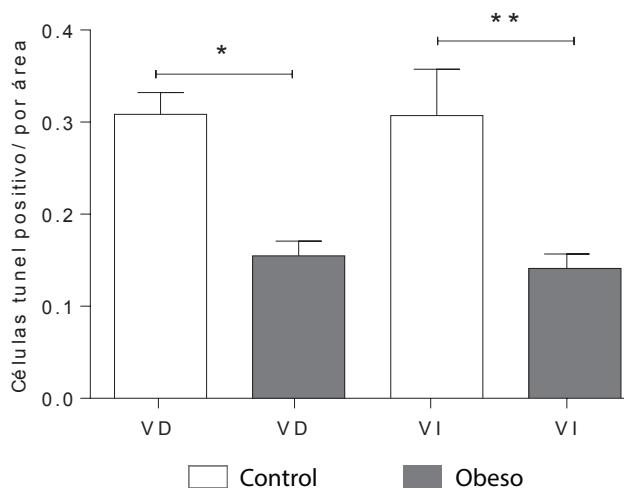
**A.** Corte completo de corazón fetal, con recuadro rojo se indica la región evaluada para la detección de células apoptóticas. Escala de la barra 50 micras.

**B.** Células inmunomarcadas TUNEL positivas, en ventrículo derecho de un corazón fetal del grupo control.

**C.** Células inmunomarcadas TUNEL positivas, en ventrículo derecho de un corazón fetal del grupo obeso. Las células TUNEL positivas con núcleo color marrón, indicativo del proceso de apoptosis, son señaladas con flechas rojas.

VD = ventrículo derecho;VI=Ventrículo izquierdo. Escala de la barra 20 micras.

Fuente: Elaboración de los autores.

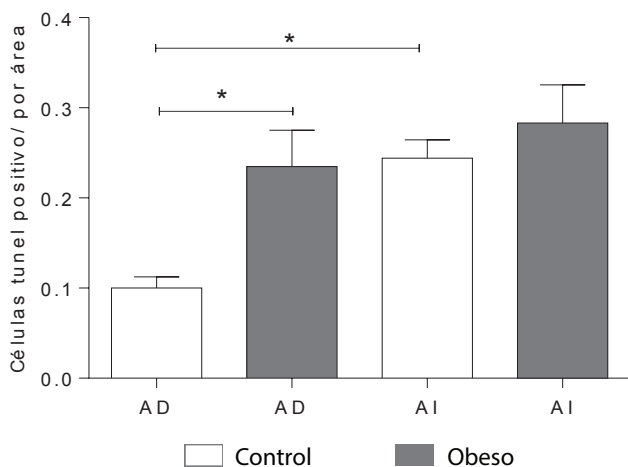


**Figura 4.** Cuantificación de células apoptóticas en los ventrículos de corazones fetales

VD=ventrículo derecho;VI= ventrículo izquierdo.

Los datos representan la media ± el error estándar. \*p<0,05 y \*\*p<0,001

Fuente: Elaboración de los autores.

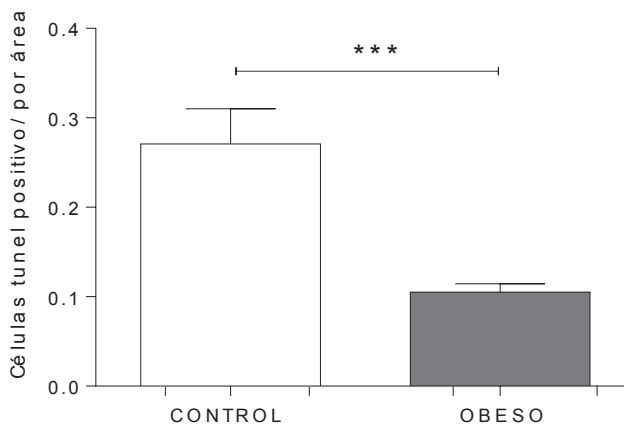


**Figura 5.** Cuantificación de células apoptóticas en los atrios de corazones fetales

AD=atrio derecho;AI=atrio izquierdo.

Los datos representan la media ± el error estándar. \*p<0,05

Fuente: Elaboración de los autores.



**Figura 6.** Cuantificación de células apoptóticas en el tabique interventricular

AD= atrio derecho;AI= atrio izquierdo. Los datos representan la media ± el error estándar. \*p<0,0001

Fuente: Elaboración de los autores.

#### 4. Discusión

La correlación entre sobrepeso y obesidad con las alteraciones cardíacas congénitas han sido demostradas por diversos autores como Cedergrén y Kallen (2003), Stothard, Tennan y Bell (2009) y Mills *et al.* (2010), quienes referenciaron y sugirieron que el sobrepeso y la obesidad contribuyen a una mayor incidencia de daños congénitos del corazón a nivel de los ventrículos, atrios, tabique, anomalías septales e hipertrofia ventricular, entre otros. Mills en 2010, mediante un estudio de base poblacional de casos y controles de 1.536.828 recién nacidos en Nueva York entre 1993-2003, analizaron aquellos niños nacidos con defectos cardíacos congénitos y determinaron como controles los niños no afectados nacidos en el mismo periodo de tiempo; con los datos del IMC de las madres y definieron como peso normal a las madres cuyo IMC estuvo entre 19,8 a 26 kg/m<sup>2</sup> y como madres obesas aquellas que presentaron un IMC igual o mayor a 30 kg/m<sup>2</sup>, encontraron que el mayor porcentaje de malformaciones cardíacas correspondieron a la descendencia proveniente del grupo de madres obesas; entre las anomalías evidenciaron Síndrome de hipoplasia de corazón izquierdo, presencia de ventrículo solo, atresia de la válvula tricúspide, atresia pulmonar, doble salida del ventrículo derecho, defectos de los cojines endocárdicos, Tetralogía de Fallot, defectos de septación ventricular y defectos septales a nivel atrial.

El estudio de Cedergrén y Kallen (2003) compara la descendencia de mujeres obesas vs la descendencia de mujeres con peso normal. Los datos analizados incluyeron 6.801 mujeres que tuvieron hijos con defectos cardiovasculares. Este estudio concluyó que la sobrenutrición materna, incrementa el riesgo de malformaciones cardíacas en su descendencia, siendo significativamente importantes los defectos de tracto de salida, septación ventricular y atrial.

Estos estudios epidemiológicos demuestran que la obesidad materna se asocia con un mayor riesgo de defectos congénitos del corazón; sin embargo, se debe tener en cuenta que la etiología de la obesidad es multifactorial e involucra interacciones complejas entre los antecedentes genéticos, hormonales, factores sociales y ambientales, como el sedentarismo y los hábitos alimenticios inadecuados.

Para dar apoyo a los resultados obtenidos en los estudios epidemiológicos, las ciencias biomédicas han incorporado la utilización de los animales de laboratorio como biomodelos naturales o inducidos con diversas enfermedades o procesos mórbidos, los cuales semejan lo sucedido en los humanos, con el fin de orientar y esclarecer los estados iniciales de diferentes enfermedades, ayudando así al estudio y a la comprensión de la patología, fisiología y posibilidades

de nuevos tratamientos (Hernandorena, Hugues y Rodríguez, 2001).

Arias-Díaz y Balibrea (2007), en una investigación sobre Diabetes mellitus tipo 2, clasificaron los principales biomodelos en espontáneos e inducidos, según su mecanismo de producción y distinguió dos categorías en cada uno de ellos: modelos análogos, que intentan imitar a la enfermedad humana, y modelos intrínsecos, con los que se pretende contestar preguntas concretas de aspectos específicos de la misma. En este sentido, el estudio se estableció un modelo murino de obesidad inducido y análogo en el que se utilizó una dieta de cafetería. Este modelo fue seleccionado dentro de un variado grupo de modelos de obesidad establecidos en roedores, entre los que se destacan: 1) Los modelos genéticos, que presentan defectos en el camino de señalización de la leptina, como son los ratones ob/ob y db/db y las ratas Zucker, que heredan la obesidad como una enfermedad autosómica presente en el gen "fatty" en el cromosoma 5; y 2) Los modelos de obesidad inducida por dieta, entre las cuales existen, las dietas altas en grasa, las dietas altas en carbohidratos y la dieta de cafetería (Kanasaki y Koya, 2001; Lutz, 2012).

La dieta de cafetería, se basa en la oferta de alimentos procesados de tipo "snack", e imita la llamada dieta occidental de los seres humanos. Bajo esta dieta los animales se vuelven obesos por comer en exceso alimentos de alto contenido calórico (Lutz, 2012). La ventaja de establecer y utilizar este biomodelo, es la obtención de animales obesos en corto tiempo, que semeja lo sucedido en los humanos que adquieren un aumento de peso corporal por el consumo dietario de alimentos procesados e hipercalóricos de fácil adquisición.

El biomodelo utilizado en la presente investigación, se orientó al estudio del impacto de la obesidad sobre la reproducción y el desarrollo embrio-fetal; las hembras iniciaron su gestación con valores normales de colesterol, triglicéridos, glucosa y proteína C reactiva (Muñoz *et al.* 2012) y (Bazzano *et al.* 2015). Los hallazgos que se presentan corresponden a la determinación de alteraciones cardíacas en un biomodelo de obesidad materna adquirida por dieta, después del análisis de las características macroscópicas de corazones fetales en estadio E16,5 de desarrollo, momento en el cual el corazón de la rata presenta completo desarrollo estructural (Salazar *et al.* 2012). Las alteraciones encontradas en los corazones fetales de ratas obesas se relacionan con lo reportado en los estudios epidemiológicos antes descritos (Cedergrén y Kallen 2003), (Mills *et al.* 2010) y (Stothard, Tennan y Bell, 2009). En los biomodelos prevalecieron las alteraciones en el tamaño de los atrios, ventrículos y formación del tracto de salida. Estos hallazgos cobran importancia al momento de relacionar la obesidad materna pre-gesta-

cional y la presencia de alteraciones cardíacas, demostrando que el biomodelo de obesidad establecido es una buena herramienta para el estudio de los efectos de la obesidad sobre la formación del corazón.

La apoptosis o muerte celular programada, modula temporalmente los diferentes procesos relacionados con la homeostasis tisular por medio de la eliminación de células no deseadas; igualmente regula interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular, las cuales rigen la formación y remodelado de las diferentes estructuras en desarrollo (Fisher, Langille, Srivastava, 2000), (Elmore, 2007) y (Rienks *et al.* 2014), de ahí que el grupo de investigación consideró importante evaluar este proceso en los corazones de los biomodelos obtenidos, con el objetivo de contribuir a dilucidar algunos de los mecanismos involucrados en el establecimiento de alteraciones cardíacas producto de la obesidad materna.

En el sistema cardiovascular, como en otros sistemas del organismo, este tipo de muerte es un fenómeno fisiológico durante el desarrollo embrionario y fisiopatológico en la vida adulta. En el primer caso permite la eliminación de estructuras vestigiales y en el segundo caso, su desregulación es un factor importante en la fisiopatología de diversas enfermedades cardíacas (Cheng, Wessels y Gourdie, 2002) y (Barbosky *et al.* 2006).

Estudios previos realizados en biomodelos obesos adultos mostraron que el incremento en la fibrosis cardíaca y fallas en la contractilidad del corazón sería producto de cambios en el proceso de apoptosis (Wang *et al.* 2010), (Kalpana y Wilson, 2010) y (Barouch *et al.* 2006).

Según Bialostozky y colaboradores, durante la cardiogénesis el proceso de apoptosis puede sufrir modificaciones por acción del medio ambiente uterino de la madre obesa, predisponiendo así a la presencia de alteraciones en las vías de señalización que pueden resultar en su desregulación, conduciendo a desordenes en la formación y maduración de las diferentes estructuras cardíacas (Bialostozky, Rodríguez y Zazueta, 2008).

La estimación de la apoptosis celular se puede realizar por la técnica de TUNEL o mediante técnica de Caspasa-3 activada.

La evaluación de la apoptosis por medio de la técnica de TUNEL, mostró un aumento del proceso en el atrio derecho y una disminución en los ventrículos y el tabique interventricular en los corazones fetales del grupo obeso. En estudio previo, el grupo evaluó las mismas regiones cardíacas utilizando la técnica de caspasa-3 activada, donde no se evidenciaron diferencias entre los grupos experimentales

(Tejada, 2017). Estas diferencias en los resultados se pueden explicar básicamente en el fundamento de las técnicas utilizadas; la caspasa-3 activada detecta el proceso en etapas iniciales mientras que TUNEL detecta la fase final (Bialostozky, *et al.* 2008) y (Gown, 2002).

Los trabajos realizados durante el desarrollo normal en murinos indican que los compartimentos ventriculares y atriales del corazón se agrandan sin mostrar altos niveles de apoptosis en los cardiomiocitos de estas cámaras, donde primarían los mecanismos de proliferación celular (Fisher, *et al.* 2000). Abdelwahid *et al.* 1999 identificaron con microscopía electrónica de transmisión y técnica de TUNEL algunos cardiomiocitos apoptóticos en la zona trabecular del ventrículo en el corazón de ratón en el día E11 a E16 (Abdelwahid *et al.* 1999); contrario a lo detectado en el crecimiento de las cámaras cardíacas, el proceso de apoptosis sería fundamental en el acortamiento y re-estructuración del tracto de salida, evento que se origina temprano en el desarrollo del corazón (Ya *et al.* 1998) y (Goor, Dische y Lillehei, 1972).

Con base en estos antecedentes, es claro que el proceso de apoptosis se encuentra alterado en los corazones fetales expuestos a condiciones obesogénicas maternas y que dicho proceso está regulado de forma espacio-temporal en el desarrollo cardíaco. Estos eventos cobran importancia dado que, la re-estructuración de las cámaras y de manera específica del septum interventricular es un proceso complicado que implica la división del ventrículo común en dos cámaras, una derecha y otra izquierda, y la separación de la parte distal del bulbo cardíaco para formar la aorta y la arteria pulmonar (Morris, 1957). Por lo tanto, defectos en estas estructuras se relacionan con Tetralogía de Fallot, defectos completos de la comunicación atrio ventricular y transposición de grandes vasos (Mills *et al.* 2010) y (Rascusin *et al.* 2012). En este biomodelo, la obesidad materna generó alteraciones en el proceso de apoptosis en los corazones fetales que son compatibles con malformaciones cardíacas descritas para los seres humanos.

## Conclusión

El proceso de apoptosis se encontró alterado en los corazones fetales que fueron expuestos a condiciones obesogénicas maternas; siendo este proceso regulado de forma espacio-temporal durante la cardiogénesis.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a Sirsa Hidalgo, profesional del bio-terio (LABBIO) de la Universidad del Valle, por el apoyo en



la ejecución de esta investigación. A la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Valle por financiar parte de este estudio.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

### Referencias bibliográficas

- ABDELWAHID Eltyeb; PELLINIEMI Lauri J; NIINIKOSKI Harri; SIMELL Olli; TUOMINEN Juhani; RAHKONEN Otto. Apoptosis in the pattern formation of the ventricular wall during mouse heart organogenesis. *In: The Anatomical Record*. June, 1999. vol 256 no. 2. p. 208–217. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(19991001\)256:2<208::AID-AR12>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(19991001)256:2<208::AID-AR12>3.0.CO;2-R)
- AFMAN Lydia; MÜLLER Michael. Nutrigenomics: From Molecular Nutrition to Prevention of Disease. *In: Journal of the American Dietetic Association*. April, 2006. vol. 106, no. 4. p. 569–576. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2006.01.001>
- ARIAS-DÍAZ Javier; BALIBREA JL. Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *In: Nutrición Hospitalaria*. 2007. vol 2, no. 2. p. 160-168. Available: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3869.pdf>
- BARBOSKY Laura; LAWRENCE David; KARUNAMUNI Ganga; WIKENHEISER Jamie C; DOUGHMAN Yong-Qui; VISCONTI Richard P. BURCH, John; WATANABE, Michiko. *In: Apoptosis in the Developing Mouse Heart*. 2006. vol 235, no. 9. p. 2592–2602. <https://doi.org/10.1002/dvdy.20885>
- BAROUCH Lili; GAO Daqing; CHEN Lei; MILLER Karen L; XU Wenhong; PHAN Alexander C, *et al.* *In: Cardiac myocyte apoptosis is associated with increased DNA damage and decreased survival in murine models of obesity*. 2006. *Circulation Research*. vol 98, no. 1. p. 19–24. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000199348.10580.1d>
- BAZZANO María V; TORELLI Carolina; PUSTOVRH María C; PAZ Dante; ELIA Evelin Mariel. *In: Obesity induced by cafeteria diet disrupts fertility in the rat by affecting multiple ovarian targets*. 2015. *Reprod Biomed Online*. vol. 31, no. 5. p. 655–67. <https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2015.08.004>
- BIALOSTOZKY David; RODRÍGUEZ-DIEZ Gerardo; ZAZUETA Cecilia. Detección de apoptosis en enfermedades cardiovasculares mediante las imágenes SPECT de cardiología nuclear. *In: Archivos de cardiología de México*. Julio, 2007. vol. 78, no. 1. p. 217–228. Available: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1405-99402008000200011](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-99402008000200011)
- CAI Guang-Ju; SUN Xin-Xin; ZHANG Lu; HONG Qian. Association between Maternal Body Mass Index and Congenital Heart Defects in Offspring: A Systematic In: Review. *In: American Journal of Obstetrics and Gynecology*. August, 2014. vol. 211. p. 91–117. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.03.028>
- CEDERGREN, Marie; KÄLLÉN Bengy A.J. Maternal obesity and infant heart defects. *In: Obesity research*. June, 2003. vol. 11, no. 9. p. 1065–71. <https://doi.org/10.1038/oby.2003.146>
- CHAN Ruth S.M; Woo Jean. Prevention of Overweight and Obesity: How Effective is the Current Public Health Approach. *In: International Journal Environmental Research and Public Health*. February, 2010. vol. 7, p. 765–783. <https://doi.org/10.3390/ijerph7030765>
- CHENG Gang; WESSELS Andy; GOURDIE Robert G; THOMPSON Robert P. Spatiotemporal and tissue specific distribution of apoptosis in the developing chick heart. *In: Development Dynamics*. October, 2001. vol. 223, no. 1. p. 119–133. <https://doi.org/10.3390/ijerph703076510.1002/dvdy.1244>
- ELMORE Susana. Apoptosis: a review of programmed cell death. *In: Toxicol Pathol*. 2007. vol. 35, no.4. p. 495–516. <https://doi.org/10.1080/01926230701320337>
- FISHER Steven A; LANGILLE Lowell; SRIVASTAVA Deepak. Apoptosis during cardiovascular development. *In: Circulation Research*. 2000. vol. 87, no. 10. p. 1–40 <https://doi.org/10.1161/res.87.10.856>
- GOOR Daniel A; DISCHE R; LILLEHEI Walton. The Conotruncus: I. Its Normal Inversion and Conus Absorption. *In: Circulation*. August, 1972. vol 46, no 2. p. 375–384. <https://www.semanticscholar.org/paper/The-conotruncus.-I.-Its-normal-inversion-and-conus-Goor-Dische/2682497e589388d6a6e88f0bb5239d861b5bb59f>
- GOWN Allen M; WILLINGHAM Mark C. Improved Detection of Apoptotic Cells in Archival Paraffin Sections: Immunohistochemistry Using Antibodies to Cleaved Caspase 3. *In: Journal Histochem Cytochem*. December, 2002. vol. 50, no. 4. p. 449–454. Available: <http://jhc.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/002215540205000401>
- GUTIÉRREZ Juan David; FORTICH Roberto. *En: Los determinantes de la obesidad en Colombia*. Noviembre, 2011. p. 155–182 Disponible en: <https://ideas.repec.org/a/col/000411/009184.html>
- HERNANDORENA Beatriz; RODRÍGUEZ Julio C; RODRIGUEZ Julio. Animales de laboratorio en la endocrinología: Biomodelos de la diabetes mellitus tipo 1. *En: Revista Cubana de Endocrinología*. 2001. vol. 12, no. 3. p. 168–77 Available: [scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-29532001000300006](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532001000300006)
- HIDALGO Sirsa; PUSTOVRH María C; SALAZAR Liliana. Análisis de la ganancia de peso en la Cepa Wistar del Bioterio de la Universidad del Valle-Cali Colombia S.A empleando como dieta estándar Lab Diet 5001. *En: Revista de Investigaciones de la Universidad del Quindío*. Diciembre, 2014. vol. 1, no. 26. p. 101.
- KALPANA Christopher R; WILSON Romain; HEINRICH Taegtmeier. Obesogenic high fat western diet induces oxidative stress and apoptosis in rat heart. *In: Molecular Cell Biochem*. November 2010. vol. 344. p.221–230 Available: <https://doi.org/10.1007/s11010-010-0546-y>
- KANASAKI Keizo; KOYA Daisuke. Biology of Obesity: Lessons from Animal Models of Obesity. *In: Journal Biomed Biotechnology*. December, 2010. p. 1–11 Available: <http://dx.doi.org/10.1155/2011/197636>
- KLENOV Violet E; JUNGHEIM Emily S. Obesity and reproductive function: a review of the evidence. *In: Current opinion in obstetrics & Gynecology*. 2014. p. 1–6. <http://dx.doi.org/10.1097/GCO.0000000000000113>
- LUTZ Thomas A; WOODS Stephen. Overview of Animal Models of Obesity. *In: Curr Protoc Pharmacology*. September, 2012. p. 1–22. <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0561s58>
- MILLS James L; TROENDLE James; CONLEY Mary R; ARTER Tonia; DRUSCHEL Charlotte M. Maternal obesity and congenital heart defects: a population-based study. *In: Am J Clin Nutr*. June, 2010. vol.9, no. 6. p. 1543–1549. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.28865>
- MORENO Manuel. Definición y clasificación de la obesidad. *En: Revista Médica Clínica Condes*. Enero, 2012. vol. 23, no. 2. p. 124–128. Available: [www.clc.cl/Dev\\_CLC/media/Imagenes/.../2012/2%20marzo/Dr\\_Moreno-4.pdf](http://www.clc.cl/Dev_CLC/media/Imagenes/.../2012/2%20marzo/Dr_Moreno-4.pdf)

25. MORRIS EWT. THE INTERVENTRICULAR SEPTUM. In: Thorax. 1957. vol. 12. p. 304-312. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/.../thorax00048-0038>
26. MUÑOZ Yhoiss S; HIDALGO Sirsa; MORENO David; PUSTOVRH María C, SALAZAR Liliana. Resúmenes xiv simposio de investigaciones de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle. Octubre 17-19, 2012. Cali, Colombia. En: Revista GASTROHNUP. 2014; Vol. 16: p. 138-161. <http://hdl.handle.net/10893/5947>
27. NEGUESCU Adrien; LORIMIER Philippe; LABAT-MOLEUR Françoise; AZOTI Laurent; ROBERT Catherine. TUNEL Apoptotic Cell Detection in Tissue Sections: Critical Evaluation and Improvement. In: Journal Histochem Cytochem. 1997. vol. 2, no. 2. p. 12-17. <https://doi.org/10.1177/002215549804600306>
28. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. OMS: Obesidad y sobrepeso. 2015. p. 1-4. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>.
29. POELMANN Robert E; MOLIN Daniel; WISSE Lambertus J; GITTEBERGER-DE GROOT Adriana C. Apoptosis in cardiac development. In: Cell Tissue Res. 2000. vol. 301, no. 1. p. 43-52. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10928280>
30. PUSTOVRH María C. Implementación de la citología vaginal en fresco para la identificación del ciclo estral y la determinación de la preñez en la rata de laboratorio. En: Revista GASTROHNUP. 2017. vol 19, no. 3. p. 34-40 <http://gastropediatria.org/a17v19n3/a17v19n3e34-e40.pdf>
31. RACUSIN Diana; STEVENS Blair; CAMPBELL Genevieve and AAGAARD-TILLERY Kjersti. OBESITY AND THE RISK AND DETECTION OF FETAL MALFORMATION. 2012. In: Semin Perinatol. June, 2012. vol. 36, no. 3. p. 213-221. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2012.05.001>
32. RIENKS Marieke; PAPAGEORGIOU Anna-Pia; FRANGOGIANNIS Nikolaos G; HEYMANS Stephane. Myocardial extracellular matrix: An ever-changing and diverse entity. In: Circulation Research. 2014. vol. 114: p. 882- 888. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.114.302533>
33. SALAZAR GARCIA Marcela; REVILLA MONSAVLE María C; PALOMINO GARIBAY Miguel Ángel; ARTEAGA MARTINEZ Manuel; DIAS-CINTRA Sofia et al. Chronological and morphological study of heart development in the rat. In: Anatomical record. June, 2007. vol. 295, no. 8. p. 1267-1290. <https://doi.org/10.1002/ar.22508>
34. STOTHARD Katherine J; TENNANT Peter W.G; BELL Ruth; RANKIN Judith. Maternal Overweight and Obesity and the Risk of Congenital Anomalies. In: A systematic Review and Meta-analysis. February, 2009. vol. 301, no. 6. p. 633-650. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.113>
35. TAMARA PUELLO, Rafael Edgardo. Efectos a corto y largo plazo de la obesidad durante el embarazo. En: UMAE HGO. 2007. vol. 40, no 3. p. 1-11 Available: [docplayer.es/15625672](http://docplayer.es/15625672)
36. TEJADA LÓPEZ, María E. Estandarización de un protocolo para la cuantificación de células inmunomarcadas en cortes de corazón fetal de rata Wistar día E16,5. En: Revista GASTROHNUP. Julio-Agosto, 2017 vol 19, no 3. p. 22- 28 Disponible en: <http://gastropediatria.org/a17v19n3/a17v19n3e22-e28.pdf>
37. TEJADA LÓPEZ, María E. Obesidad materna pre-gestacional en un biomodelo murino y su impacto en la cardiogénesis fetal. En: Revista GASTROHNUP. May-Junio. 2017. vol. 19, no. 2. p. 10-19. <http://gastropediatria.org/a17v19n2s3/a17v19n2s3e10-e19.pdf>
38. TENENBAUM-GAVISH, Kinneret Hod. Impact of maternal obesity on fetal health. In: Fetal Diagnosis and Therapy. June. 2013. vol. 34, no. 1. p. 1-7. <https://doi.org/10.1159/000350170>
39. THOMAIDOU Dimitra; MIONE Marina C; CAVANAGH John F.R; PARNAVELAS John G. Apoptosis and its relation to the cell cycle in the developing cerebral cortex. In: Journal of Neuroscience. February, 1997. vol. 17, no. 3 p. 1075-1085 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8994062>
40. WANG Jingying; MA Heng; TONG Chao; ZHANG Hanying; YUNDA Li et al. Overnutrition and maternal obesity in sheep pregnancy alter the JNK-IRS-1 signaling cascades and cardiac function in the fetal heart. In: FASEB Journal. 2010. vol. 24, no. 6. p. 2066-2076. <https://doi.org/10.1096/fj.09-142315>
41. YA Jing; VAND DEN HOFF Maurice JB; DE BOER Piet A.J; TE-SINK-TAEKEMA Sabina, et al. Normal development of the outflow tract in the rat. In: Circulation Research. November, 1998. vol. 82, no. 4. p. 464-472. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9506707>