



# Influencia de la obesidad visceral pregestacional en el desarrollo placentario y fetal

## Influence of visceral pregestational obesity on placental and fetal development

Catherina Capote Guitián<sup>1</sup> , Gipsis Suárez Román<sup>2\*</sup> , Nínive Núñez López<sup>2</sup> ,  
Gregorio Belo<sup>3</sup> , Manuel Francisco Da Costa<sup>3</sup> , Teresa C. Valdés Bacallao<sup>2</sup> , Yoneidis Borges Guilarte<sup>2</sup> ,  
Sonia Clapés Hernández<sup>1</sup> , Sebastián Andrés San Martín Henrique<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Facultad de Ciencias Médicas "Victoria de Girón", Departamento de Bioquímica. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Facultad de Ciencias Médicas "Victoria de Girón", Departamento de Embriología. La Habana, Cuba.

<sup>3</sup>Universidade Nacional de Timor Leste. Faculdade de Medicina e Ciências da Saúde, Departamento de Escola Superior de Medicina. Timor Leste.

<sup>4</sup>Universidad de Valparaíso. Valparaíso, Chile..

\*Autor para la correspondencia: [gsuarez@infomed.sld.cu](mailto:gsuarez@infomed.sld.cu)

### Cómo citar este artículo

Capote Guitián C, Suárez Román G, Núñez López N, Belo G, Da Costa MF, Valdés Bacallao TC, Borges Guilarte Y, Clapés Hernández S, San Martín Henrique SA: Influencia de la obesidad visceral pregestacional en el desarrollo placentario fetal. Rev haban cienc méd [Internet]. 2023 [citado ]; Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/5077>

Recibido: 07 de mayo de 2023  
Aprobado: 19 de agosto de 2023

### RESUMEN

### ABSTRACT

**Introducción:** La obesidad pregestacional, en especial la visceral, se asocia con el desarrollo de complicaciones para el feto, la madre y el neonato. El análisis de la placenta es clave para entender el desarrollo de estas complicaciones.

**Objetivo:** Evaluar la influencia de la obesidad visceral pregestacional sobre el desarrollo placentario y fetal en ratas.

**Material y Métodos:** Ratas Wistar hembras recibieron glutamato monosódico (4 mg/g de peso corporal) para inducir obesidad o NaCl 0,9 % (Controles) subcutáneamente en período neonatal. A los 90 días de vida se confirmó la obesidad, a los 120 fueron apareadas durante la noche con machos sanos de la misma cepa. Se consideró el día 0 de gestación, la mañana en que se confirma la cópula por la presencia de espermatozoides en el lavado vaginal. El día 20 de gestación se practicó eutanasia para obtención de placentas y fetos. Se determinaron variables placentarias bioquímicas y estructurales macroscópicas y microscópicas e indicadores de crecimiento y desarrollo fetales.

**Resultados:** En las ratas obesas, las placentas presentaron incremento de células de reserva de glucógeno, de TAG, del área del trofoblasto y disminución del área de sangre materna. También mostraron aumento del índice placentario. Los fetos de las obesas presentaron menor peso corporal, longitud de la cola, diámetros craneanos y puntos de ossificación.

**Conclusiones:** La obesidad pregestacional ejerció un efecto perjudicial sobre el desarrollo placentario, provocando restricción del crecimiento fetal. Lo anterior pudiera deberse a disminución del intercambio materno-fetal de nutrientes y oxígeno por acumulación ectópica de lípidos en la zona del laberinto.

**Introduction:** Pregestational obesity, especially visceral obesity, is associated with the development of complications for the fetus, the mother and the neonate. The analysis of the placenta is a key to understanding the development of these complications.

**Objective:** To evaluate the influence of visceral pre-gestational obesity on the placental and fetal development in rats.

**Material and Methods:** Female Wistar rats received subcutaneous injections of monosodium glutamate (4 mg/ g of body weight) during the neonatal period to induce obesity or NaCl 0.9 % (Controls). At 90 days of age, obesity was confirmed and at 120 days of life they were mated overnight with healthy males of the same substrain. Gestational day 0 was defined when sperms were found in vaginal smear. The day 20 of gestation, euthanasia was practiced for obtaining of placentas and fetuses. Placental biochemical, and structural variables and indicators of growth and fetal development were determined.

**Results:** In the placentas of obese rats, reserve cells of glycogen, triglycerides content and the area of the trophoblast were increased. The area of maternal blood was decreased. The obese group also showed an increased placental index. Fetuses of obese mothers had smaller tail length, cranial diameters and ossification sites numbers.

**Conclusions:** Pregestational obesity exerted a harmful effect on placental development, provoking fetal growth restriction. This may be due to a decrease in the maternal-fetal interchange of nutrients and oxygen because of ectopic accumulation of lipids in the labyrinthine zone.

### Palabras Claves:

Obesidad, placenta y crecimiento fetal, acumulación ectópica de lípidos.

### Keywords:

Obesity, placenta and fetal growth, ectopic accumulation of lipids.



## INTRODUCCIÓN

La obesidad constituye un problema principal de salud al nivel mundial. En Cuba la prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población total tiene un valor de 29,8 % y 13,7 %, respectivamente. La epidemia es especialmente pronunciada en mujeres en edad fértil. Se estima que dos o tres de cada cinco mujeres en edad reproductora están sobrepeso u obesas.<sup>(1,2)</sup>

La obesidad pregestacional debe ser considerada como de alto riesgo para la madre y su descendencia. Se asocia a infertilidad, abortos espontáneos, hipertensión inducida por la gestación, diabetes gestacional, nacimiento por cesárea y parto pretérmino.<sup>(3,4)</sup>

También trae consecuencias sobre el producto de la concepción: muerte fetal intrauterina sin causas aparentes, patrones de crecimiento alterados y anomalías congénitas. Por otra parte, los hijos de madres obesas tienen mayor riesgo de desarrollar en la adultez obesidad, Diabetes Mellitus tipo 2 y enfermedades cardiovasculares.<sup>(4)</sup>

Sin embargo, en la actualidad no se encuentran referencias de estudios que ilustren la proporción de obesidad pregestacional en embarazadas en Cuba.

La obesidad visceral es tan o más importante que la grasa corporal total para la predicción de las complicaciones que tradicionalmente han sido asociadas a la obesidad.<sup>(5)</sup>

El análisis de la placenta es clave para entender el desarrollo de estas complicaciones, pues es considerado el órgano regulador del ambiente intrauterino. La adecuada función placentaria representa un punto clave para el embarazo.<sup>(6)</sup> Se hace necesario fomentar las investigaciones con modelos animales, en las que se realice un análisis de la estructura y función placentaria en la obesidad.

La obesidad inducida por glutamato monosódico (GMS) constituye un modelo animal de obesidad visceral con las principales alteraciones metabólicas que se describen en la obesidad humana.<sup>(7)</sup> Se ha empleado muy poco en estudios sobre obesidad y preñez.

Por lo que el objetivo de este trabajo es evaluar la influencia de la obesidad visceral pregestacional sobre el desarrollo placentario y fetal en ratas.

## MATERIAL Y MÉTODO

Tipo de investigación, lugar y período: Se llevó a cabo una investigación longitudinal, prospectiva, explicativa, con diseño experimental, en el ICBP "Victoria de Girón", desde enero de 2019 hasta diciembre de 2020.

Inducción de Obesidad: Ratas Wistar hembras recién nacidas fueron divididas en dos grupos: ratas a las que se les administró glutamato monosódico (Sigma-Aldrich, 4 mg/g de peso corporal), vía subcutánea (sc), los días 2, 4, 6, 8 y 10 de vida (OBESAS, n=10) y ratas que recibieron NaCl 0,9 %, sc, en los mismos días (CONTROLES, n=10).<sup>(7)</sup>

Los animales se mantuvieron bajo condiciones controladas de temperatura ( $22 \pm 3^\circ\text{C}$ ), luz (ciclos de 12h luz/oscuridad) y humedad relativa ( $60 \pm 5\%$ ). A los 21 días fueron destetados y colocados 4 ó 5 animales por caja hasta los 90 días en que fueron ubicados en cajas independientes. Se les suministró agua y alimento (pienso granulado, Fórmula CMC 1000 producida por CENPALAB) a libre demanda durante todo el experimento.<sup>(8)</sup>

A los 90 días de vida, a los animales del grupo inyectado con GMS se les determinó el índice de Lee, mediante la raíz cúbica del peso corporal (g) dividido entre la longitud corporal (LC) (cm) como indicador de obesidad. Se consideraron obesas las ratas con  $IL > 0,300$ .<sup>(9)</sup>

Inducción de la preñez: a los 120 días de vida las ratas obesas y controles fueron apareadas durante la noche con machos sanos de la misma cepa, en las fases pro-estro y estro del ciclo estral. La mañana en que se confirmó la cópula por la presencia de espermatozoides en el lavado vaginal se consideró el día 0 (cero) de la gestación.<sup>(7)</sup>

Eutanasia y recogida de muestras: A los 20 días de gestación, se les realizó eutanasia por punción de la vena cava inferior y desangrado bajo anestesia con tiopental sódico (50-60 mg/kg). Seguidamente, se llevó a cabo perfusión transcardíaca con PBS 0,1 M, pH 7,4 para la eliminación de restos de la sangre de los tejidos.<sup>(10)</sup>

Se realizó la disección de los cuernos uterinos y se colocaron en una placa Petri (100 mm) a temperatura ambiente. Bajo estereoscopio (Motic SMZ-143), se eliminó el tejido periuterino, la pared del útero se abrió en toda su longitud y se retiraron cuidadosamente todas las membranas. Cada feto se colocó de forma independiente en una placa Petri con NaCl 0,9 % para la determinación de variables de crecimiento. A la placenta del feto más cercano al cérvix de cada cuerno uterino se les realizó un corte transversal por delante del cordón umbilical. El fragmento que contiene el cordón fue fijado en formalina tamponada a 10 % para estudios histológicos. Las placentas restantes fueron almacenadas a  $-80^\circ\text{C}$  para determinaciones bioquímicas.

Criterios de exclusión: ratas que no se preñaron a los 30 días de iniciar el apareamiento (150 días de vida). Durante 30 días, se producen entre 5 y 6 ciclos estrales, lo cual es suficiente para que una rata fértil quede gestada.<sup>(8)</sup>

#### Variables que se determinaron en placenta

- Bioquímicas

**Indicadores de estrés oxidativo:**<sup>(7)</sup> Fueron medidos mediante técnicas espectrofotométricas. Para la determinación del malondialdehído (MDA, indicador de daño oxidativo a lípidos), productos avanzados de oxidación a proteína (PAOP, indicador de daño oxidativo a proteínas), productos de la fragmentación de la 2-desoxirribosa (PFD, indicador de daño oxidativo al ADN) y glutatión reducido (GSH, indicador de capacidad antioxidante), las placentas se descongelaron y homogeneizaron en hielo [150 mg/ 0,5 mL de buffer Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 M con EDTA 0,1 mM, PMSF (fenilmetilsulfonil fluoruro) 0,5 mM, aprotinina 4 μM, leupeptina 4 μM pH 7,8], mediante homogeneizador eléctrico (HEIDOLPH) a 15000 rpm por 1-2 minutos, en ciclos de 15 segundos. Los sobrenadantes de las placentas de cada rata fueron recogidos y mezclados. De esta forma, se obtuvo una muestra de placentas por rata.

Contenido lipídico en sobrenadante de homogeneizado de placenta:<sup>(7)</sup> mediante métodos enzimáticos con juegos diagnósticos comerciales (HELFA Diagnósticos, QUIMEFA, E.P.B. "Carlos J. Finlay") se determinó Colesterol (mmol/mg de proteína) y Triacilgliceroles (mmol/mg de proteína).

- Estructurales macroscópicas<sup>(7)</sup>

Peso Placentario (g), mediante balanza digital Gibertini con sensibilidad 0,01g.

Índice placentario (indicador de eficiencia placentaria): peso placenta (g) / peso fetal (g)

- Estructurales microscópicas

**Descripción de las zonas de la placenta y los tipos celulares.** Se utilizaron 5 láminas del corte sagital de la placenta, teñidas con hematoxilina/eosina, por cada grupo de estudio. A cada lámina se le tomaron 10 fotomicrografías obtenidas con microscopio óptico con cámara acoplada (Motic modelo BA210), aumento de 40x, captando por separado cada una de las zonas. Se guardaron en formato digital (JPEG), con una configuración estándar de toma de fotografía para todas las imágenes obtenidas. En las imágenes de las secciones de placenta se determinó la localización de las zonas de la placenta (células gigantes, espongiotrofoblasto y laberinto) y sus características.

En las imágenes correspondientes a la zona del laberinto se midieron las áreas de los espacios de sangre materna y de trofoblasto.

**Áreas de sangre materna (micras<sup>2</sup>):** Se midió el área total que ocupan los sinusoides maternos en cada lámina y se sumaron las áreas de las láminas correspondientes a cada placenta.

**Área de trofoblasto (micras<sup>2</sup>):** Se midió el área total de la lámina y se le restó la ocupada por la sangre materna, sumándose las áreas totales de trofoblasto correspondientes a cada placenta.

#### Variables que se determinaron en los fetos:

- Crecimiento<sup>(7)</sup>

Peso corporal (g): mediante balanza digital Gibertini con sensibilidad 0,01g.

Longitud corporal (LC) (mm): distancia entre el hocico y la región anal, con el animal medido en decúbito ventral.

Diámetro craneano anteroposterior (DAP) (mm): longitud desde la cresta supranasal hasta el borde superior del agujero occipital, medida con un pie de rey.

Diámetro craneano biparietal (DBP) (mm): longitud entre los bordes superiores de las orejas, medida con un pie de rey.

Longitud de la cola (mm): distancia entre el ano y el extremo de la cola estirada, medida con el scapus del pie de rey.

Clasificación de los fetos según peso corporal: se tomaron los pesos de los fetos de las ratas controles y se halló el valor promedio ( $\bar{X}$ ). Se clasificó cada feto de las ratas obesas en:

Pequeños para su edad gestacional (PEG): si peso corporal  $\leq (\bar{X}-1DS)$ .

Adecuado para su edad gestacional (AEG): si peso corporal está dentro del rango:  $(\bar{X}-1DS) < \text{peso corporal} < (\bar{X}+1DS)$ .

Grande para su edad gestacional (GEG): si peso corporal  $\geq (\bar{X}+1DS)$ .

Se determinó el porcentaje de cada categoría.<sup>(11)</sup> DS: desviación estándar

- Desarrollo<sup>(7)</sup>

Conteo de los sitios de osificación (esternales, falángicos anteriores, metacarpianos, falángicos posteriores, metatarsianos y vertebras caudales): se llevó a cabo con la tinción rojo de alizarina de los tejidos óseos. El rojo de alizarina se fija en las zonas donde hubo deposición de calcio. La realización del conteo de los sitios de osificación se hizo bajo estereoscopio (Motic SMZ- 143).

#### Procesamiento estadístico

Se utilizaron el programa INFOSTAT y el paquete STATISTICA (versión 10.0). Los datos se reportan como valores de la media  $\pm$  la desviación estándar. Se empleó la prueba no paramétrica U de Mann-Withney para la comparación entre los grupos, debido a la no distribución normal de las variables. Las diferencias se consideraron significativas con valores de  $p < 0,05$ . Para realizar el análisis de las láminas se utilizó el software imagen J.

#### Consideraciones éticas

Los animales fueron obtenidos del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). El Comité de Ética para la investigación de nuestra institución aprobó los protocolos usados en este estudio. El trabajo con los animales tuvo en cuenta las regulaciones o pautas establecidas para el cuidado y uso de los mismos.

## RESULTADOS

En relación con los indicadores de crecimiento somático (Tabla 1), los descendientes ( $n=88$ ) de las ratas obesas presentaron una disminución significativa del peso corporal, del diámetro craneano anteroposterior y biparietal, así como de la longitud de la cola que los del grupo control ( $n=102$ ). No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la longitud corporal de los fetos de las ratas obesas y controles.

Tabla 1. Indicadores de crecimiento somático y desarrollo fetal		
Variables	Controles	Obesas
<b>Crecimiento fetal</b>		
Peso corporal (g)	3,85 $\pm$ 0,4	3,65 $\pm$ 0,4*
Longitud corporal (mm)	22,9 $\pm$ 1,7	23,3 $\pm$ 2,6
Longitud de la cola (mm)	13,4 $\pm$ 0,8	12,8 $\pm$ 0,7*
DAP (mm)	0,75 $\pm$ 0,1	0,72 $\pm$ 0,2*
DBP(mm)	0,52 $\pm$ 0,1	0,44 $\pm$ 0,1*
<b>Desarrollo fetal (Sitios de osificación)</b>		
Eternales	5,61 $\pm$ 0,77	5,24 $\pm$ 1,21
Falángicos anteriores	4,00 $\pm$ 0,00	0,86 $\pm$ 1,66*
Falángicos posteriores	5,00 $\pm$ 0,00	1,21 $\pm$ 2,17*
Metacarpianos	4,00 $\pm$ 0,00	3,05 $\pm$ 0,62*
Metatarsianos	5,00 $\pm$ 0,00	3,54 $\pm$ 0,83*

Se presenta el valor promedio  $\pm$  la desviación estándar de cada variable. DBP: diámetro craneano biparietal; DAP: diámetro craneano anteroposterior.

\* Diferencia significativa comparado con grupo control;  $p < 0,05$  (Prueba U de Mann-Whitney).

El porcentaje de fetos clasificados como pequeños para la edad gestacional del grupo de las ratas obesas fue significativamente superior respecto al control. (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación de los fetos según su peso corporal		
Variables	Controles (n=10)	Obesas (n=11)
PEG (%)	4,95	16,09 *
AEG (%)	73,27	77,01
GEG (%)	21,78	14,94

PEG: Pequeños para su edad gestacional, AEG: Adecuado para su edad gestacional y GEG: Grande para su edad gestacional

\* Diferencia significativa comparado con grupo control; p < 0,05

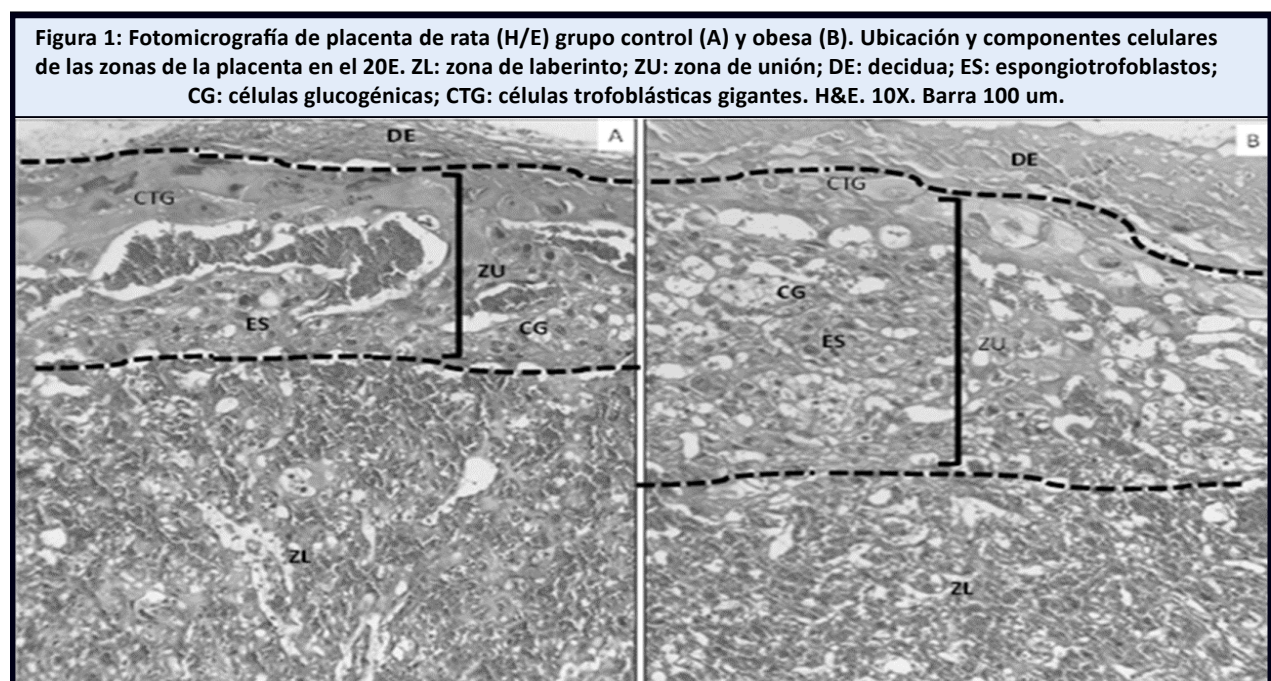
El conteo de los centros de osificación, que permite evaluar el desarrollo fetal, mostró que los fetos de las ratas obesas presentaron significativamente menor cantidad de sitios de osificación a nivel metatarsiano, metacarpiano y falángico. (Tabla 1).

No hubo diferencias significativas en el peso de las placentas. (Tabla 3). Sin embargo, cuando se calculó la relación entre el peso placentario y fetal para estimar la eficiencia de la placenta en el aporte nutricional al feto, el grupo de ratas obesas mostró mayor índice placentario con respecto al control.

Tabla 3. Variables determinadas en placentas de ratas controles y obesas		
Variables	Controles (n=10)	Obesas (n=11)
Peso (g)	0,56 ± 0,1	0,57 ± 0,1
Índice placentario	0,15 ± 0,03	0,16 ± 0,03*
Colesterol (mmol/mg de proteína)	0,12 ± 0,05	0,18 ± 0,09
Triacilglicérols (mmol/mg de proteína)	0,10 ± 0,08	0,18 ± 0,09*
PDF(nmol/mg de proteína)	3,8 ± 1,8	3,6 ± 2,9
MDA(umol/mg de proteína)	5,0 ± 2,3	5,9 ± 2,8
PAOP(umol/mg de proteína)	0,04 ± 0,03	0,08 ± 0,03
GSH (mmol/mg de proteína)	0,32 ± 0,2	0,40 ± 0,2

Se presenta el valor promedio ± la desviación estándar de cada variable. PDF: productos de la fragmentación de la 2-desoxirribosa, MDA: malonildialdehído, PAOP: productos avanzados de la oxidación de proteínas, GSH: glutatión reducido. \* Diferencia significativa comparado con grupo control; p < 0,05 (Prueba U de Mann-Whitney).

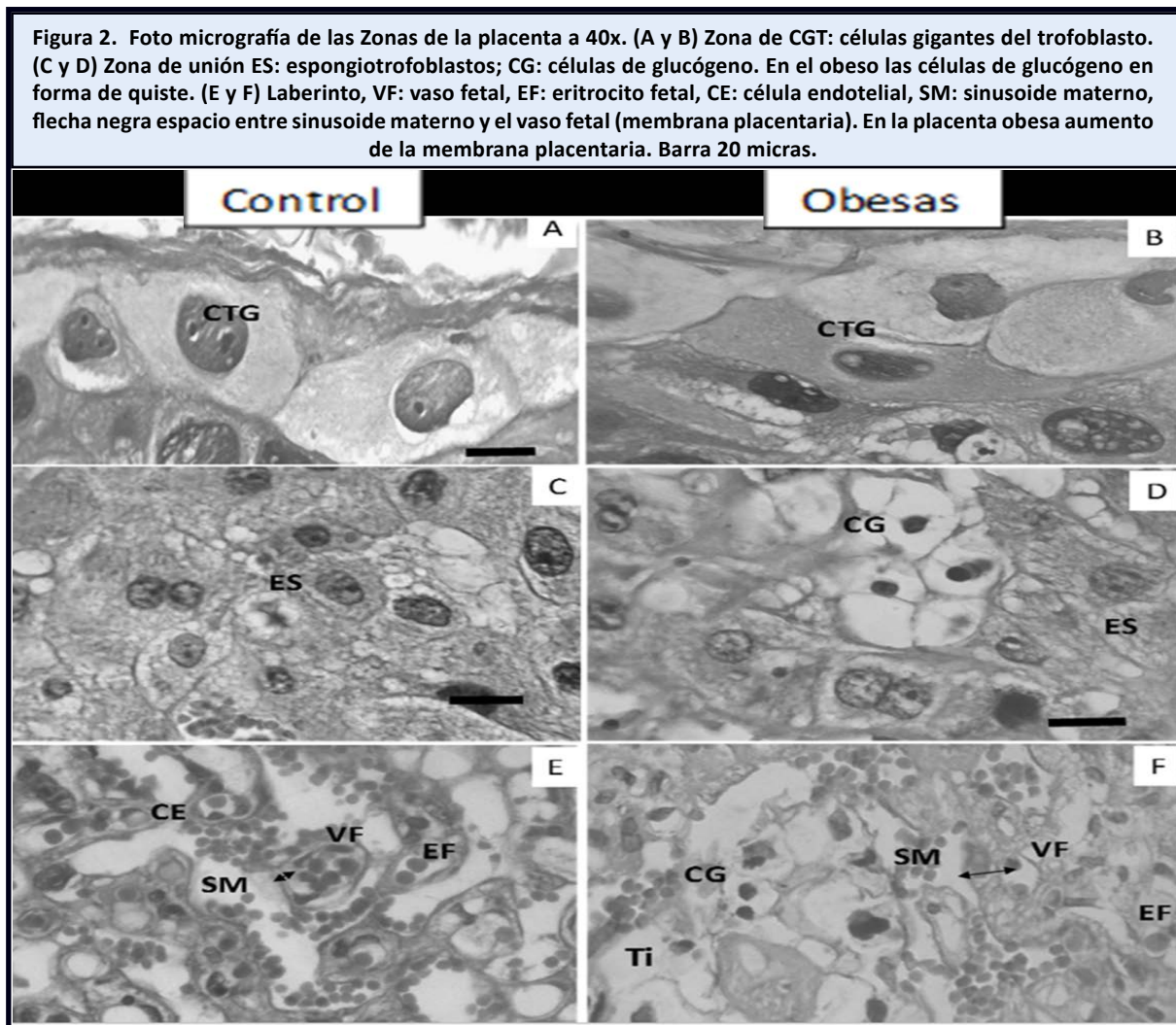
Desde el punto de vista microscópico en la fotomicrografía (Figura 1 A) se observa la disposición de las zonas placentarias en el grupo control.



Externamente, adyacentes a la decidua materna, se encuentran las células gigantes del trofoblasto, dispuestas en una capa de 1 a 2 células de espesor (Figura 2 A). Son de gran tamaño (aproximadamente de 30-50 µm de ancho y 50-100 µm de largo). Tienen citoplasma eosinófilo, un núcleo central, redondo, grande y basófilo que posee de 1 a 3 nucléolos. Además, se pueden observar núcleos hipo o hiper cromáticos con presencia o no de vacuolas.

La zona de unión, espongiotrofoblasto o trofoespongio (Figura 2 C) es la zona intermedia rodeada por las células gigantes. Donde se encuentran abundantes células pequeñas con citoplasma claro, eosinófilo, un núcleo redondo, central y basófilo con un nucléolo prominente. También se observan algunos vasos sanguíneos maternos. Hay escasas células ricas en glucógeno dispersas en la zona.

El laberinto (Figura 2 E) estructuralmente está muy organizado formando amplios lúmenes correspondientes a los sinusoides maternos y los capilares fetales, rodeados por capas de células trofoblásticas que conforman la delgada membrana placentaria.

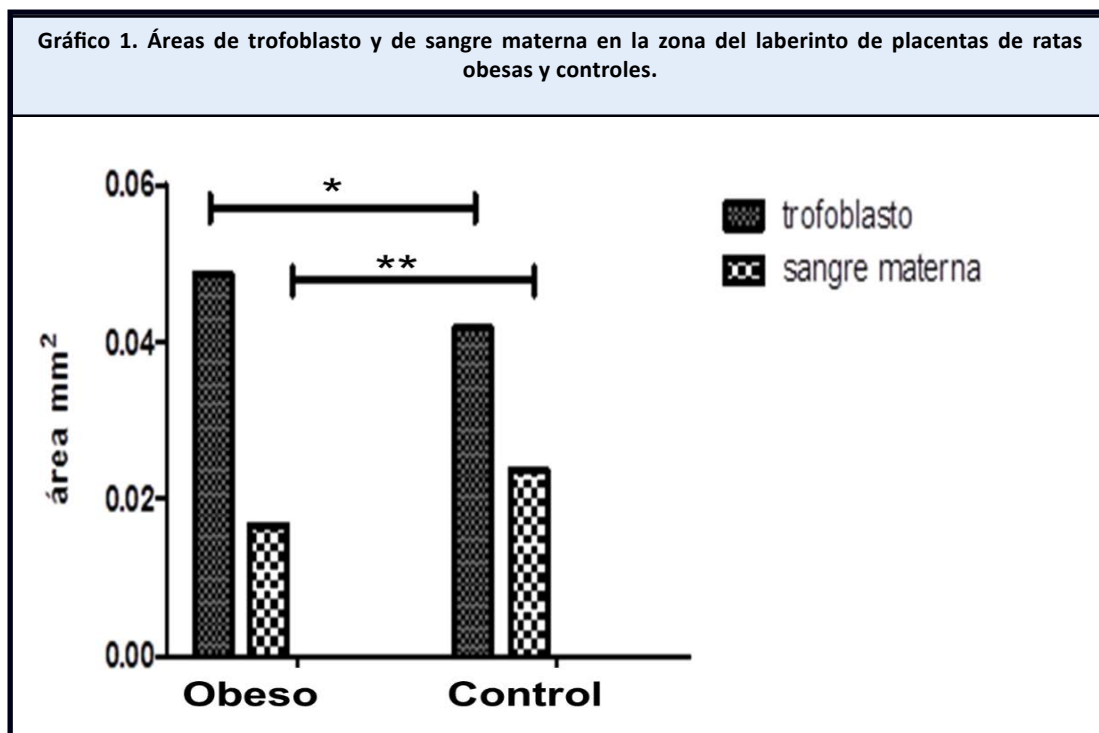


En la fotomicrografía 1 B se observa la disposición de las zonas placentarias en el grupo obesas. Las células gigantes (Figura 2 B) se alinearon en monocapa y raramente en 2 células de grosor. Los núcleos de estas células presentan forma redondeada haciéndose alargados, hipo o hiper cromáticos y con abundantes vacuolas. El citoplasma se mostró más alargado y angosto.

En la región del espongiotrofoblasto (Figura 2 D) se observa aumento de las células de reserva de glucógeno, lo cual no se corresponde para el día 20 de edad gestacional en la placenta de rata, estas células presentan un aspecto vacío en su citoplasma y se agrupan en forma de quistes. Las células del espongiotrofoblasto mantienen su estructura y la forma de sus núcleos, aunque se observa cierto aumento de esta zona con respecto al control.

En el laberinto (Figura 2 F) se visualiza desorganización en su arquitectura. En él se observan los sinusoides maternos (amplios espacios que contienen sangre materna) y un aumento de los espacios intersticiales. El espacio entre el vaso fetal y el sinusoide materno se encuentra engrosado; respecto al control óseo hay mayor número de células trofoblásticas (membrana placentaria) entre el vaso fetal y el sinusoide materno y se puede encontrar incremento de células de reserva de glucógeno formando también quistes en esta zona.

Al realizar la comparación entre el área de sangre materna en el laberinto de ambos grupos, encontramos que esta se encuentra incrementada en el grupo control con disminución en el grupo obesa. Mientras que el área correspondiente al trofoblasto se incrementó en el grupo obesa con respecto al control. (Gráfico 1).



(\*) Diferencias significativas entre el área de trofoblasto del laberinto en placentas de ratas controles y obesas.

(\*\*) Diferencias significativas entre el área de sangre materna del laberinto en placentas de ratas controles y obesas,  $p < 0,05$ .

En el análisis estadístico, como se observa en dicho gráfico, la determinación de dichas áreas en ambos grupos mostró diferencias significativas para las dos variables.

El contenido placentario de TAG fue significativamente superior en las ratas obesas con respecto a los controles. En cuanto al contenido placentario de colesterol no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Tampoco se observaron diferencias significativas en la capacidad antioxidante y en los marcadores de daño oxidativo a biomoléculas en las placentas entre ambos grupos. (Tabla 3).

## DISCUSIÓN

Los fetos de las ratas obesas mostraron menor crecimiento y desarrollo con respecto a los fetos de las ratas controles. (Tabla 2). En la descendencia de las obesas se vio afectado un número mayor de variables de crecimiento (Tabla 2), comparado con un estudio previo realizado por nuestro grupo de investigación con el mismo modelo pero con menor tiempo de evolución de la obesidad.<sup>(7,12)</sup> Esto indica que con mayor tiempo de evolución de la obesidad se desarrolla un fenotipo de crecimiento intrauterino retardado más severo. La restricción del crecimiento fetal también ha sido constatada por otros investigadores tanto en la obesidad humana como en otros modelos de obesidad en roedores.<sup>(13,14)</sup>

El crecimiento fetal es un proceso dinámico y complejo controlado por un amplio rango de factores maternos, placentarios y fetales.<sup>(15)</sup> Son varios los mecanismos fisiopatogénicos que pudieran estar involucrados en la disminución del crecimiento fetal en la obesidad inducida por GMS. En mamíferos, el crecimiento intrauterino depende del suministro de nutrientes desde la madre hacia el producto de la concepción, por lo cual la disminución en el crecimiento de la descendencia en las ratas obesas podría deberse, en parte a la disminución de la ingesta alimenticia y energética que experimentan estos animales. Lo anterior lleva a reducción en la ganancia de peso durante la gestación y menor peso fetal.<sup>(7)</sup>

El suministro placentario de nutrientes al feto, es un proceso que ocurre por mecanismos de difusión simple y de transporte pasivo. El exceso de glucocorticoides maternos, característico de este modelo<sup>(7)</sup> reduce el suministro de aminoácidos y glucosa hacia el embrión o feto. Los glucocorticoides incrementan la expresión de la proteína 1, regulada por el desarrollo y la respuesta al daño al ADN (Redd1) al nivel placentario, la cual disminuye la expresión de transportadores de nutrientes (glucosa o aminoácidos) o pudiera bloquear la translocación de transportadores de nutrientes hacia la membrana plasmática.<sup>(16)</sup> También la exposición a exceso de glucocorticoides conduce a desarrollo anormal del tejido trofoblástico.<sup>(17)</sup>

La regulación del transporte de nutrientes está estrechamente ligada al concepto de eficiencia placentaria. Otro de los resultados constatados en este trabajo es el aumento significativo del índice placentario en el grupo de las obesas, lo que indica falta de capacidad del órgano para garantizar el crecimiento y desarrollo adecuado del feto, ya que por gramos de placenta no se suministra la cantidad de nutrientes necesarios para un peso adecuado del feto. Este fenotipo se corresponde con un área de superficie de intercambio reducida con aumento del espesor asociado a restricción del crecimiento fetal.<sup>(18)</sup>

En las placentas estudiadas desde el punto de vista histológico se observó una completa definición estructural de las tres zonas: zona del laberinto, zona de unión y zona de decidua. Sin embargo, al nivel del laberinto se incrementó el espacio intersticial (Figura 1 B3) y el área ocupada por células trofoblásticas, así como disminuyó el área correspondiente a los sinusoides maternos en el grupo de las obesas. (Gráfico 2). Esto pudiera justificar el incremento del índice placentario encontrado.

La zona del laberinto es la de mayor grosor, ocupando las tres cuartas partes de la placenta y en ella ocurre el intercambio materno-fetal de nutrientes y sustancias de desecho. Por lo cual, estas alteraciones pudieran provocar el aumento del grosor de la membrana vasculosinicial que separa las circulaciones materna y fetal disminuyendo el traspaso de nutrientes de la madre al feto.<sup>(19)</sup>

También se observó en las placentas obesas mayor cantidad de células de reserva de glucógeno con citoplasmas de aspecto vacío, organizadas en forma quistes en el espongiotrofoblasto y presencia de estas con similar organización en la zona del laberinto. (Figura 1). El contenido de glucógeno (por consiguiente las células de reserva de glucógeno) en la gestación normal disminuye al finalizar la preñez al mismo tiempo que se adelgazan las células gigantes y se expande el compartimento laberíntico.<sup>(19)</sup> El aumento de las células de reserva de glucógeno en ambas zonas placentarias, así como el incremento del espacio intersticial pudiera ser consecuencia de la acumulación de lípidos, específicamente triacilgliceroles en la placenta de las ratas obesas. (Tabla 1).

La obesidad inducida por GMS se caracteriza por hiperlipemia y acumulación ectópica de lípidos.<sup>(20,21)</sup> En este estudio se constató un incremento significativo de los TAG en homogeneizado de placentas de las ratas obesas. (Tabla 1). El depósito de estos lípidos al nivel de la placenta pudiera estar relacionado con el aumento del espesor del área de intercambio, lo cual afecta el crecimiento del producto de la concepción.

La acumulación de TAG al nivel placentario pudiera estar relacionado con cambios asociados a la obesidad materna en la transcripción de genes en la placenta. Por ejemplo, la activación de genes STARD7. Los cuales se expresan en el tejido trofoblástico y están relacionados con proteínas que transportan lípidos hacia la placenta como la SLC27A1 (proteína 1 transportadora de ácidos grasos).<sup>(22,23)</sup> La obesidad también se asocia con una disminución de ANGPTL4 (angiopoyetin-like protein 4),<sup>(24,25)</sup> potente inhibidor de la lipasa de lipoproteína (LPL), por lo que en gestantes obesas se incrementa la actividad de dicha enzima.<sup>(26)</sup>

La LPL degrada los TAG contenidos en las VLDL y quilomicrones en ácidos grasos y glicerol. Los ácidos grasos son captados por la placenta y reesterificados al glicerol, formando los TAG dentro de estas células. Lo anterior favorece el aumento de las reservas grasas.<sup>(24)</sup>

El acúmulo de lípidos en la placenta también está relacionado con el incremento de CIDE-A (cell death-inducing DFF45-like effector) observado en placentas de gestantes obesas. CIDE-A regula negativamente los niveles de la proteína quinasa dependiente de AMP (AMPK) mediante la ubiquitinación y degradación de la misma. La AMPK fosforila a la enzima reguladora de la biosíntesis de ácidos grasos, la acetil CoA carboxilasa, bloqueando su polimerización e inactivándola. La inhibición de AMPK favorece entonces la síntesis de ácidos grasos, precursores de los TAG.<sup>(24)</sup>

Otro mecanismo pudiera ser la incorrecta morfogénesis de los vasos placentarios, la que induce alteraciones en el paso de sustancias al feto en desarrollo con efectos nocivos en su crecimiento. La obesidad materna está asociada a inflamación placentaria, la cual se caracteriza por un incremento en la infiltración y actividad de macrófagos, así como elevación de citocinas proinflamatorias.<sup>(27,28)</sup> En la literatura se reporta que la lipotoxicidad al nivel de la placenta aumenta la actividad de la vía de señalización JNK/NF- $\kappa$ B (proteína quinasa del dominio N-terminal de la proteína c-Jun /factor nuclear- kappa B). Ante esta respuesta proinflamatoria se activa la transcripción de factores Foxo4 (proteína O4 forkhead box). Indirectamente FOXO4 inhibe HIF1 (factor 1 inducible por hipoxia), el cual media la transcripción de genes relacionados con la angiogénesis en la placenta, dentro de los que se incluye el VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular). Por tanto, la obesidad genera alteraciones en la angiogénesis placentaria.<sup>(29)</sup>



También pudiera incidir en el menor crecimiento de la descendencia de las madres obesas la ocurrencia de apoptosis de un número limitado de células del blastocisto. La hiperlipemia materna pudiera inducir la apoptosis.<sup>(7)</sup>

El ambiente lipotóxico de la placenta también induce estrés oxidativo.<sup>(24)</sup> En el presente estudio se observó que no hay diferencias significativas en los marcadores de daño oxidativo a biomoléculas al nivel placentario al comparar las obesas con los controles. (Tabla 1). En la literatura se han reportado estudios donde se ha demostrado que la expresión de catalasa y superóxido dismutasa están considerablemente elevados en la zona del laberinto de placentas de ratas. Sugiriendo que el incremento de la capacidad antioxidante de la placenta puede enfrentar la alta actividad metabólica de esta zona en la gestación. También en la placenta a término de mujeres obesas se incrementa la actividad de enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa al comparar con mujeres normopeso.<sup>(30)</sup> Estos datos sugieren un mecanismo de adaptación protector que minimiza el daño oxidativo al nivel placentario.

Por otro lado, la obesidad inducida por GMS constituye un modelo de obesidad visceral, por lo que la acumulación de grasa intra-abdominal pudiera ser un factor mecánico que afecta el crecimiento intrauterino.<sup>(7)</sup>

**Limitación del estudio:** No se pudo realizar la tinción con aceite rojo para la identificación de lípidos al nivel placentario por falta de disponibilidad de recursos, con lo cual se enriquecerían los resultados de este estudio.

## CONCLUSIONES

La obesidad pregestacional ejerció un efecto perjudicial sobre el desarrollo placentario, lo cual ocasionó restricción del crecimiento fetal, probablemente mediado por la disminución de intercambio materno-fetal de nutrientes y oxígeno. Lo anterior pudiera deberse a la acumulación ectópica de lípidos en la zona del laberinto

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lim S, Harrison C, Callander E, Walker R, Teede H, Moran L. Addressing Obesity in Preconception, Pregnancy, and Postpartum: A Review of the Literature. *Curr Obes Rep* [Internet]. 2022 [Citado 10/09/2023];11(4):405-14. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1007/s13679-022-00485-x>
2. Yong W, Wang J, Leng Y, Li L, Wang H. Role of Obesity in Female Reproduction. *Int J Med Sci* [Internet]. 2023 [Citado 10/09/2023];20(3):366-75. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.7150/ijms.80189>
3. Kim J, Ayabe A. Obesity in Pregnancy [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [Citado 10/09/2023]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK572113>
4. Aleker N, Lim BH. Intrapartum care and management of complications in women with obesity. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* [Internet]. 2023 [Citado 10/09/2023];91:102404. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2023.102404>
5. Salmón-Gómez L, Catalán V, Frühbeck G, Gómez-Ambrosi J. Relevance of body composition in phenotyping the obesities. *Rev Endocr Metab Disord* [Internet]. 2023 [Citado 10/09/2023];24(5):809-23. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1007/s11154-023-09796-3>
6. Cindrova-Davies T, Sferruzzi-Perri AN. Human placental development and function. *Semin Cell Dev Biol* [Internet]. 2022 [Citado 10/09/2023];131:66-77. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1016/j.semcdb.2022.03.039>
7. Suárez G. Efecto de la obesidad inducida por glutamato monosódico en ratas Wistar y su descendencia [Tesis doctoral]. La Habana: Universidad de Ciencias Médicas de La Habana; 2017.
8. Krinke GJ, ed. *The laboratory rat: the handbook of experimental animals*. London: Academic Press; 2000.
9. Bernardis LL, Patterson BD. Correlation between Lee Index and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J Endocrinol*. 1968;40(4):527-8
10. American Veterinary Medical Association. AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals [Internet]. Schaumburg (IL): AVMA; 2020 [Citado 10/09/2023]. Disponible en: <https://www.avma.org/kb/policies/documents/euthanasia.pdf>
11. Corvino SB. Intrauterine Growth Restricted Rats Exercised at Pregnancy: Maternal-Fetal Repercussions. *Reprod Sci* [Internet]. 2015 [Citado 10/09/2023];22(8):991-9. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1177/1933719115570905>
12. Núñez N, Suaáez G, Calcedo Z, Laymit A, Joffre C, Fernández T, et al. Influence of Vitamin E on the Reproductive Capacity and Fetal Development in Obese Rats. *Annals of Diabetes Metabolic Disorders & Control*. 2019;2(1):122.

13. Tanner LD, Brock C, Chauhan SP. Severity of fetal growth restriction stratified according to maternal obesity. *J Matern Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2022 [Citado 10/09/2023];35(10):1886-90. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1080/14767058.2020.1773427>
14. Bedell S, Hutson J, de Vrijer B, Eastabrook G. Effects of Maternal Obesity and Gestational Diabetes Mellitus on the Placenta: Current Knowledge and Targets for Therapeutic Interventions. *Curr Vasc Pharmacol* [Internet]. 2021 [Citado 10/09/2023];19(2):176-92. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.2174/1570161118666200616144512>
15. López-Tello J, Sferruzzi-Perri AN. Characterization of placental endocrine function and fetal brain development in a mouse model of small for gestational age. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2023 [Citado 10/09/2023];14:1116770. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.3389/fendo.2023.1116770>
16. Vaughan OR, Fisher HM, Dionelis KN, Jefferies EC, Higgins JS, Musial B, et al. Corticosterone alters materno-fetal glucose partitioning and insulin signaling in pregnant mice. *J Physiol* [Internet]. 2015 [Citado 10/09/2023];593(5):1307-21. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2014.287177>
17. Rasool A, Mahmoud T, Mathyk B, Kaneko-Tarui T, Roncari D, White KO, et al. Obesity downregulates lipid metabolism genes in first trimester placenta. *Sci Rep* [Internet]. 2022 [Citado 10/09/2023];12(1):19368. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1038/s41598-022-24040-9>
18. Musa E, Salazar-Petres E, Arowolo A, Levitt N, Matjila M, Sferruzzi-Perri AN. Obesity and gestational diabetes independently and collectively induce specific effects on placental structure, inflammation and endocrine function in a cohort of South African women. *J Physiol* [Internet]. 2023 [Citado 10/09/2023];601(7):1287-306. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1113/JP284139>
19. Muñoz Y. Características morfológicas de placenta de 16.5 días de gestación proveniente de ratas con obesidad pregestacional [Tesis]. Santiago de Cali: Universidad del Valle; 2018.
20. Hernández RJ, Mahmoud AM, Königsberg M, López Díaz NE. Obesity: pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2019 [Citado 10/09/2023];111:503-16. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.108>
21. Suárez Román G, Capote Guitián C, Acosta Sánchez T, Fernández Romero T, Clapés Hernández S. Indicadores metabólicos y de estrés oxidativo en ratas con obesidad inducida con glutamato monosódico. *Rev haban cienc méd* [Internet]. 2021 [Citado 10/09/2023];20(4):e3642. Disponible en: <https://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/3642>
22. Belo G. Influencia de la obesidad visceral de larga evolución sobre la función placentaria en ratas Wistar [Tesis Especialidad]. La Habana: Universidad de Ciencias Médicas de La Habana; 2019.
23. Yang Z, Luo X, Huang B, Jia X, Luan X, Shan N. et al. Altered distribution of fatty acid exerting lipid metabolism and transport at the maternal-fetal interface in fetal growth restriction. *Placenta* [Internet]. 2023 [Citado 10/09/2023];139:159-71. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.placenta.2023.05.019>
24. Strakovsky R, Xiang-Pan Y. A Decrease in DKK1, a WNT inhibitor, contributes to placental lipid accumulation in an obesity-prone rat model. *Biol Reprod* [Internet]. 2012 [Citado 10/09/2023];86(3):81-92. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1095/biolreprod.111.094482>
25. Barja-Fernández S, Folgueira C, Castelao C, Pena-León V, González-Sáenz P, Vázquez-Cobela R, et al. ANGPTL-4 is Associated with Obesity and Lipid Profile in Children and Adolescents. *Nutrients* [Internet]. 2019 [Citado 10/09/2023];11(6):1340. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.3390/nu11061340>
26. Zuo Y, He Z, Chen Y, Dai L. Dual role of ANGPTL4 in inflammation. *Inflamm Res* [Internet]. 2023 [Citado 10/09/2023];72(6):1303-13. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00011-023-01753-9>
27. Miguel-Soca P, Feria-Díaz G, González-Benítez S, Leyva-Montero M. Obesidad, inflamación y embarazo, una tríada peligrosa. *Rev Cubana Obstet Ginecol* [Internet]. 2021 [Citado 10/09/2023];46(4). Disponible en: <https://revginecobstetricia.sld.cu/index.php/gin/article/view/605>
28. Denizli M, Capitano ML, Kua KL. Maternal obesity and the impact of associated early-life inflammation on long-term health of offspring. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 2022 [Citado 10/09/2023];12:940937. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2022.940937>
29. Basak S, Das RK, Banerjee A, Paul S, Pathak S, Duttaroy AK. Maternal Obesity and Gut Microbiota Are Associated with Fetal Brain Development. *Nutrients* [Internet]. 2022 [Citado 10/09/2023];14(21):4515. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.3390/nu14214515>

30. Santos-Rosendo C, Bugatto F, González-Domínguez A, Lechuga-Sancho AM, Mateos RM, Visiedo F. Placental Adaptive Changes to Protect Function and Decrease Oxidative Damage in Metabolically Healthy Maternal Obesity. *Antioxidants (Basel)* [Internet]. 2020 [Citado 10/09/2023];9(9):794. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.3390/antiox9090794>

#### **Financiamiento**

La investigación formó parte de un proyecto ramal del Ministerio de Salud Pública, aprobado por el Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (1901083).

#### **Conflicto de intereses**

Los autores declaran no tener conflictos de intereses en relación con la investigación presentada.

#### **Contribución de autoría**

Catherina Capote Guitian: llevó a cabo el experimento, participó en el procesamiento de muestras para estudios bioquímicos, escritura del artículo.

Gipsis Suárez Román: realizó el diseño experimental, el análisis de los resultados, escritura y revisión del artículo.

Nínive Núñez López: procesamiento, captura de imágenes y análisis histológicos de las placentas, revisión del artículo.

Gregorio Belo: llevó a cabo el experimento, participó en el procesamiento de muestras para estudios bioquímicos.

Manuel Francisco Da Costa: llevó a cabo el experimento, participó en el procesamiento de muestras para estudios bioquímicos.

Teresa C. Valdés Bacallao: llevó a cabo el experimento, procesamiento y captura de imágenes de láminas histológicas.

Yoneidis Borges Guilarte: llevó a cabo el experimento, procesamiento y captura de imágenes de láminas histológicas.

Sebastián Andrés San Martín Henrique: análisis histológicos de las placentas y revisión del artículo.

Sonia Clapés Hernández: supervisión de todas las etapas del experimento.

Todos los autores participamos en la discusión de los resultados y hemos leído, revisado y aprobado el texto final.