

Fecha de presentación del Informe: Día Mes Año **1. Datos generales del Proyecto**

Código del proyecto: 1705			
Título del proyecto: CONSECUENCIAS DE LA OBESIDAD MATERNA SOBRE EL DESARROLLO CARDIACO FETAL			
Facultad o Instituto Académico: Salud			
Departamento o Escuela: escuela de Ciencias Básicas- Depto de morfología			
Grupo (s) de investigación: Tejidos Blandos y Mineralizados			
Entidades:			
Palabras claves: Metaloproteasas(MMPs), defectos cardíacos, Inmunohistoquímica, obesidad materna			
Investigadores ¹	Nombre	Tiempo asignado	Tiempo dedicado
Investigador Principal	Liliana Salazar M.	8 horas/semana	4 horas/semana
Coinvestigadores	María Carolina Pustovrh	10 horas/semana	10 hrs/semana
	Blanca Salazar	2 horas/semana	2 hrs/ semana
	María Eleonora Tejada	4 horas/semana	4 horas/semana
	Farah El-Sharkawy	15/horas/semana	15/horas/semana
Otros participantes	Carlos Andrés Muñoz		

2. Resumen ejecutivo:

Se espera que describa el proyecto, planteamiento del problema, objetivos, metodología, principales resultados obtenidos y las conclusiones. La extensión debe ser de máximo de 500 palabras (en español y en inglés).

La ganancia excesiva de peso durante la gestación contribuye a un desbalance en el aporte de nutrientes que puede actuar en las fases tempranas de la vida, reprogramando los caminos

¹ Todas las personas relacionadas en el informe y que participen en el proyecto deben haber suscrito el acta de propiedad intelectual de acuerdo con los formatos establecidos.

moleculares de la organogénesis y por lo tanto, aumentando el riesgo de desarrollo de anomalías congénitas, particularmente en los sistemas cardiovascular y nervioso.

Durante el desarrollo embrio-fetal, las proteínas de la matriz extracelular (MMPs) y sus inhibidores (TIMPs) regulan la formación del corazón, y se relacionan con cambios en la muerte de células individuales sin afectar el tejido que las rodea. Eventos fisiológicos regulados en tiempo y espacio que inducen la supresión de estructuras vestigiales y dan la forma definitiva al corazón.

Con base en estos antecedentes, el objetivo principal de este estudio fue Determinar si existen anomalías en la expresión en el sistema de MMPs y TIMPs durante la cardiogénesis en un modelo experimental de obesidad. Para lo cual se plantearon los siguientes objetivos específicos: 1). Establecer un modelo de obesidad adquirida por dieta para estudios sobre consecuencias de la obesidad materna en el desarrollo embrionario. 2). Caracterizar en feto de rata normopeso y obesa, en los días 10.5, 13.5 y 18.5 de preñez la morfología cardíaca. 3). Caracterizar en feto de rata normopeso y obesa, en los días 10.5, 13.5 y 18.5 de preñez el patrón de expresión de MMP2, MMP9, TIMP2 y TIMP3 y la relación existente entre la expresión de MMPs y TIMPs y el fenómeno de apoptosis.

Metodología: 18 ratas Wistar hembras adultas fueron divididas en dos grupos de alimentación: dieta estandar (Lab Diet 5001) y dieta de cafetería (alimentos procesados). Luego de las semanas de alimentación los animales fueron puestos en apareo y se procedió a realizar el estudio del corazón fetal. Las características macroscópicas fueron evaluadas bajo estereomicroscopio y los procesos de inmunohistoquímica se realizaron en cortes de tejido cardíaco fetal parafinado.

Resultados: Se implementó un biomodelo de obesidad experimental por medio de la administración de la dieta de cafetería. Se encontró una disminución significativa en el patrón de expresión de MMP-2 en los atrios y ventrículos de los corazones fetales obesos con respecto al grupo control ($p=0,0005$). También se observó una expresión disminuida de MMP-9 en el grupo obeso en los atrios ($p=0,0002$) y en las valvas atrioventriculares ($p=0,0033$). Por el contrario, la inmunomarcación de TIMP-2 fue mayor en el grupo obeso en los atrios ($p=0,002$) y ventrículos ($p=0,0001$). Adicionalmente, la relación MMP-2/TIMP-2 se encontró disminuida en el grupo obeso. Se encontró una expresión aumentada de TIMP-3 en el grupo obeso a nivel de las valvas atrioventriculares ($p=0,0261$).

Los niveles de apoptosis se encuentran alterados en los corazones de fetos de madres obesas en relación al control.

Este estudio reveló alteraciones en el patrón de expresión proteica de MMP-2, MMP-9, TIMP-2, TIMP-3 y niveles de apoptosis relacionado con la obesidad, pudiendo ser una clave en la presencia de alteraciones cardíacas fetales producidas por esta patología.

Abstract

Excessive weight during gestation contributes to an imbalance in the supply of nutrients that can act in the early stages of life, reprogramming molecular pathways of organogenesis and thereby increasing the risk of developing congenital anomalies, particularly in the cardiovascular and nervous systems.

During embryo-fetal development, extracellular matrix proteins (MMPs) and their inhibitors (TIMPs) regulate heart formation, and could be implicated in the death of individual cells, without affecting the tissue surrounding them. These physiological events are regulated in time and space and define the final form of heart.

Based on this background, the primary objective of this study was to determine whether there are abnormalities in the expression of MMPs and TIMPs during cardiogenesis in an experimental model of obesity. For which the following specific objectives were proposed: 1). To establish a model of obesity acquired by diet for studies on the consequences of maternal obesity in embryonic development. 2). To characterize normal and obese rat fetuses, on days 10.5, 13.5 and 18.5 of pregnancy, cardiac morphology. 3). To characterize the expression pattern of MMP2, MMP9, TIMP2 and TIMP3 in normal and obese rat fetuses at pregnancy days 10.5, 13.5 and 18.5 and the relationship between MMPs and TIMPs expression and apoptosis.

Methodology: 18 adult female Wistar rats were divided into two feeding groups: standard diet (Lab Diet 5001) and cafeteria diet (processed foods). After feeding weeks, the animals were mated with control male and fetal heart was studied. The macroscopic characteristics were evaluated under stereomicroscope and the immunohistochemical processes were performed in parafined fetal heart sections.

Results: A biomodel of experimental obesity was implemented through the administration of the

cafeteria diet. A significant decrease in the expression pattern of MMP-2 in the atria and ventricles of obese fetal hearts was found with respect to the control group ($p = 0.0005$). There was also a decreased expression of MMP-9 in the obese group in the atria ($p = 0.0002$) and in the atrioventricular valves ($p = 0.0033$). In contrast, the TIMP-2 immunostaining was higher in the obese group in the atria ($p = 0.002$) and ventricles ($p = 0.0001$). Additionally, the MMP-2 / TIMP-2 ratio was found to be decreased in the obese group. An increased TIMP-3 expression was found in the obese group at the level of the atrioventricular valves ($p = 0.0261$).

The levels of apoptosis are altered in the hearts of fetuses of obese mothers in relation to the control.

This study revealed alterations in the protein expression pattern of MMP-2, MMP-9, TIMP-2, TIMP-3 and levels of apoptosis related to obesity, being a key in the presence of fetal cardiac alterations produced by this pathology.

3. Síntesis del proyecto:

En una extensión máxima de 5 páginas, se debe mostrar el cumplimiento de los objetivos del proyecto y debe incluir:

Tema

Obesidad y su impacto sobre el desarrollo cardíaco fetal

Objetivo general

Determinar si existen anomalías en la expresión en el sistema de MMPs y TIMPs durante la cardiogénesis en un modelo experimental de obesidad.

Objetivos específicos

1. Establecer un modelo de obesidad adquirida por dieta para estudios sobre consecuencias de la obesidad materna en el desarrollo embrionario.
2. Caracterizar en feto de rata normopeso y obesa, en los días 10.5, 13.5 y 18.5 de preñez la morfología cardíaca.

3. Caracterizar en feto de rata normopeso y obesa, en los días 10.5, 13.5 y 18.5 de preñez el patrón de expresión de MMP2, MMP9, TIMP2 y TIMP3 y la relación existente entre la expresión de MMPs y TIMPs y el fenómeno de apoptosis.

Metodología

Primer objetivo específico

Se emplearon 18 ratas *Wistar* hembras adultas distribuidas aleatoriamente en grupo dieta estándar (DE) con ocho (8) biomodelos y grupo dieta de cafetería (DC) con 10 biomodelos.

El grupo DE se alimentó con pellet extrudizado correspondiente a la dieta estándar LAB DIET 5001 (Lab Chow Rodentia Purina), con composición nutricional: Proteína cruda mínimo 23,0%, grasa cruda mínimo 4,5%, fibra cruda máximo 6,0%, cenizas máximo 8,0%, minerales agregados máximo 3,0%.

El grupo dieta de cafetería (DC) se alimentó con dieta estándar combinada con los alimentos empacados seleccionados. Para este proceso se emplearon 17 alimentos los cuales se eligieron al azar en los supermercados de cadena (yupis, queso crema, tocinetas, trocillos, papas fritas, pan, galletas de chocolate, chocolatina, chocoramo, rosquillas, cereal multigrano, chessetris, galletas saladas, Brownie, galletas trigo-maíz, snacky y salchicha).

El alimento fue administrado diariamente, en exceso con peso controlado durante un periodo de seis semanas. Se consideró al final de las seis semanas de alimentación, que un biomodelo era obeso, si presentaba un peso mayor al 20% del peso promedio del grupo control.

La ingesta de alimento fue monitoreada diariamente, el peso, talla y circunferencia abdominal fue evaluado semanalmente.

Se estableció el IMC de la población en estudio, lo mismo que los niveles de glicemia, triglicéridos y colesterol total.

Metodología para el objetivo específico Dos:

Como resultado de los ensayos preliminares para la estandarización de los procesos, el grupo de investigación encontró necesario cambiar los días de análisis cardíaco fetal, los cuales se establecieron para los estadíos embrionarios 13.5 y 16.5.

La obtención de los embriones implicaba las fases de evaluación del ciclo estral y establecimiento de la preñez en el grupo de ratas hembras.

A partir de la sexta semana de alimentación, se determinó el ciclo estral de los biomodelos mediante citología vaginal y en la noche del proestro ambos grupos se aparearon con machos sanos. Se confirmó la preñez a la mañana siguiente mediante la presencia de espermatozoides en el extendido vaginal, denominándose día 0,5 de la gestación. Ambos grupos continuaron con su dieta establecida hasta los días de gestación 13.5 y 16.5, momento en el cual se realizó la eutanasia por medio de sobredosis de isoflurano según el protocolo previamente establecido.

Se obtuvieron 40 fetos provenientes del grupo alimentado con dieta estandar (GC) y 28 alimentados con dieta de cafetería (GO), a los cuales se les explantó el corazón. La morfología de atrios, ventrículos, tracto de salida (OFT) y diferenciación de tabicación ventricular se observó bajo estereomicroscopio.

Metodología utilizada para el objetivo específico Tres:

Los corazones fetales se fijaron en PLP (periodato-lisina-paraformaldehído) durante dos horas y posteriormente en etanol al 70%; fueron incluidos en parafina y cortadas a 4 μ m. Finalmente, se desparafinaron en xilol y rehidrataron en series descendentes de etanol.

La detección de MMP-2, MMP-9, TIMP-2 y TIMP-3 se realizó mediante técnica de inmunohistoquímica; Se aplicaron los anticuerpos primarios: MMP-2 monoclonal de ratón, MMP-9 monoclonal de ratón, TIMP-2 policlonal de cabra, TIMP-3 policlonal de cabra (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA), a una concentración de 4 μ g/ml en suero de bloqueo (PBS, albúmina de suero bovino, suero de caballo, azida sódica y Tween 20). Se dejaron incubar durante toda la noche. Los controles negativos para cada placa se desarrollaron omitiendo los anticuerpos primarios. Las placas marcadas para MMP-2 y MMP-9, previo lavado, se les aplicó el Value Primary Antibody Enhancer del Kit Lab Vision™ UltraVision™ LP Detection System: HRP Polymer/DAB Plus Chromogen (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA); posteriormente se incubaron con HRP Polymer del mismo kit. Las placas marcadas para TIMP-2 y TIMP-3, se les aplicó el anticuerpo secundario policlonal conejo anti-cabra (Dako, Glostrup, Dinamarca) a una concentración de 2 μ g/ml; posteriormente, se incubaron con el complejo avidina-biotina-

peroxidasa del kit ImmunoCruz™ Rabbit ABC Staining System (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA).

Todas las preparaciones fueron reveladas con 0.02% diaminobenzidina. La contratinción se realizó con hematoxilina de Harris; fueron deshidratadas y montadas con medio de montaje permanente.

Para detectar apoptosis se utilizaron las técnicas de Caspasa-3 activada y TUNEL.

Para la detección de la caspasa 3 activada, posterior a desparafinar, hidratar, desenmascaramiento antigénico y bloqueo de peroxidasa endógena, se procedió a la inmunomarcación mediante incubación durante toda la noche con el anticuerpo primario monoclonal anti caspasa-3 activado (SC22171) y posteriormente el anticuerpo secundario Rabbit-antigoat IgG-B (SC Biotinilado 2774), seguido por incubación con Avidina-Biotina y revelado con DAB (Diaminobencidina). Finalmente se realizó el montaje de las muestras.

Para la técnica de TUNEL, las secciones de corazones fetales también fueron desparafinadas, rehidratadas, aplicación de recuperación antigénica y aplicación del protocolo siguiendo las indicaciones del proveedor del kit utilizado (ApopTag Fluorescein *in Situ*); se revelaron con diaminobenzidina y contra tiñeron con hematoxilina.

Resultados obtenidos

Los alimentos empleados en la dieta de cafetería presentaron alto contenido graso, siendo los de mayor concentración grasa las papas fritas con 0,41 g, la chocolatina y los Chonticos (0,36 g, respectivamente) con una palatibilidad variable entre el 78 al 43 %.

Los alimentos de menor contenido graso fueron Fruty-boli (0,03 g), la dieta estandar Lab diet 5001 (0,05 g) y el pan (0,06 g). Estos alimentos presentaron una palatabilidad variable entre el 76 % para el pan, al 24 % para la dieta estándar Lab diet 5001. El contenido de carbohidratos para los alimentos empleados en la dieta de cafetería varió desde 0,87 g (Fruty-boli) hasta 0,35 g (papas fritas), siendo el queso crema (0 g) y las salchichas (0,07 g) los de menor contenido de carbohidratos. En relación a la palatabilidad los alimentos se distribuyeron entre el 86 al 24 %, siendo los de menor contenido de carbohidratos equivalentes en palatabilidad al resto de los alimentos.

Con respecto al contenido proteico, la dieta estándar Lab diet 5001 y las papas fritas presentaron los mayores contenidos de proteínas 0,23 g y 0,18 g, respectivamente. Mientras que para el resto de los alimentos administrados el contenido proteico fue muy bajo, llegando a cero gramos de proteínas para los alimentos de mayor palatabilidad Snaky y Yupi.

Tanto el consumo de alimento promedio como el de kilocalorías y grasas durante el tiempo experimental fue significativamente mayor en el grupo correspondiente a la dieta de cafetería comparado con el grupo que recibió dieta estándar; el consumo de hidratos de Carbono fue variable según las semanas, sin encontrar diferencias significativas entre ambos grupos. El consumo de proteínas fue significativamente menor en el grupo de dieta de cafetería.

En cuanto a las medidas murinomorfométricas, se observó aumento del peso corporal significativo en el grupo de dieta de cafetería a partir de la segunda semana de alimentación; al finalizar el tiempo establecido, el grupo DC obtuvo el doble de ganancia de peso comparado con el grupo DE.

La talla no presentó variaciones en ambos grupos durante las mediciones semanales.

La circunferencia abdominal aumentó semanalmente en el grupo DC a partir de la cuarta semana de alimentación; a la sexta semana el grupo DC aumentó un cm. Comparado con el grupo DE; el IMC fue mayor en DC comparado con el grupo DE.

Los valores de glicemia de ambos grupos, se encontraron dentro de los parámetros normales durante todo el periodo de alimentación. Los rangos promedio de la glicemia se encontraron entre $89,9 \pm 15,3$ mg/dl para el grupo DE y $90,8 \pm 16,9$ mg/dl para el grupo DC.

Los rangos promedio de los triglicéridos se encontraron entre $56,2 \pm 26,8$ mg/dl para el grupo DE y $66,8 \pm 26,7$ mg/dl para el grupo DC, durante las semanas establecidas permanecieron en rangos normales.

Los valores de colesterol se encontraron en el límite superior de la normalidad para ambos grupos, DE y DC, durante todo el periodo de alimentación. Los rangos promedio del colesterol fueron de $59,5 \pm 10,8$ mg/dl para el grupo DE y $56,6 \pm 13,5$ mg/dl para el grupo DC.

Al día E16,5 el corazón fetal de la rata presenta sus características finales de formación, se observan macroscópicamente la presencia de las cuatro cámaras cardíacas, y el acortamiento y septación del tracto de salida (68). Por lo cual resultó de interés realizar una evaluación macroscópica de la formación de las estructuras y cámaras cardíacas, así como también del grosor del miocardio ventricular, para esta edad gestacional.

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 (n=40). Sin embargo, seis (6) corazones (25%) procedentes de madres obesas presentaron aumento en el tamaño de atrios, ventrículos y mayor longitud del tracto de salida.

En cuanto al grosor de las paredes, se encontró mayor grosor en la pared del ventrículo derecho en los corazones fetales de madres obesas comparado con el grupo control, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas valor $p = 9,6$

Expresión de MMP-2

La expresión de MMP-2 tuvo un patrón ubicuo en los corazones fetales, observándose en el septo interventricular, las valvas atrioventriculares, los grandes vasos, el endocardio, el epicardio y principalmente en el miocardio de los atrios y ventrículos. La inmunomarcación en los atrios y los ventrículos fue menor en el grupo obeso comparado con el grupo control ($p=0,0005$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,6155$) en la inmunomarcación de las valvas atrioventricuales entre los dos grupos.

Expresión de MMP-9

La expresión de MMP-9 tuvo un patrón de expresión similar al de MMP-2, ubicándose predominantemente en el miocardio atrial y ventricular, endocardio, epicardio y grandes vasos, y con menor intensidad en las valvas atrioventriculares y en el septo interventricular. La inmunomarcación fue menor en el grupo obeso a nivel de los atrios ($p=0,0002$) y en las valvas atrioventricuales ($p= 0,0033$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la inmunomarcación de los ventrículos ($p=0,8351$) entre los dos grupos.

Expresión de TIMP-2

La expresión de TIMP-2 se visualizó principalmente en el miocardio de atrios y ventrículos, fue prácticamente nula en el endocardio, valvas y septo interventricular. Al comparar la intensidad de la marcación, ésta fue menor en el grupo obeso con respecto al grupo control en los atrios y en los ventrículos ($p < 0,0001$). Sin embargo, no hubo una diferencia estadísticamente significativa en la zona de las valvas atrioventriculares ($p = 0,4502$).

Al comparar la relación MMP-2/TIMP-2 se encontró que ésta fue significativamente menor, tanto en los atrios como en los ventrículos, de los corazones fetales provenientes del grupo obeso comparado con el control ($p = 0,0001$).

Expresión de TIMP-3

TIMP-3 se expresó de manera ubicua en los corazones fetales, principalmente en el miocardio atrial y ventricular, en el septo interventricular y grandes vasos, y con menor intensidad en las valvas atrioventriculares. La inmunomarcación fue mayor en las valvas atrioventriculares ($p = 0,0261$) del grupo obeso con respecto al grupo control. No hubo diferencias significativas en la inmunomarcación de los atrios ($p = 0,8656$) ni en los ventrículos ($p = 0,3133$) entre los dos grupos.

Los resultados obtenidos muestran que MMP-2, MMP-9, TIMP-2 y TIMP-3 se expresan de manera diferencial en las estructuras cardíacas fetales, evidenciando una delicada regulación espacial de estas enzimas.

La obesidad materna se muestra como agente inductor de alteraciones en la actividad de MMP-2 y MMP-9, las cuales regulan procesos de importancia en el curso de la formación y maduración cardíaca. En este caso, la disminución de MMP-2 y MMP-9 y el incremento de TIMP-2 y TIMP-3 implican un desbalance en la actividad proteolítica, originando posiblemente una inadecuada remodelación de las estructuras cardíacas, especialmente a nivel de la vasculatura del miocardio y las valvas atrioventriculares. Estos mecanismos podrían facilitar el establecimiento de una condición anómala tanto a nivel estructural como funcional del corazón y evidenciar alteraciones muy tempranas en la vida postnatal.

Evaluación en corazones de E13.5

La cuantificación de las células inmunomarcadas positivas para la caspasa 3 activada en el atrio

derecho, fue del 15.3% para el grupo control vs el 19.3% para el atrio derecho de corazones provenientes del grupo obeso.

Al evaluar y cuantificar en la región del atrio izquierdo, el porcentaje de inmunomarcación, fue menor en los biomodelos del grupo obeso en comparación con los biomodelos del grupo control 23.8% y 15.7% respectivamente. Siendo estas diferencias significativas ($p \leq 0.04$)

En cuanto a la evaluación y cuantificación del porcentaje de núcleos fragmentados por medio de la técnica de TUNEL en la región del atrio derecho, fue mayor el porcentaje en los corazones provenientes del grupo obeso (45.1%) respecto al grupo control con un porcentaje del 33.6%. Detectándose diferencias significativas entre los grupos experimentales ($p \leq 0.003$). Por el contrario, en el atrio izquierdo el porcentaje de células positivas fue similar en ambos grupos (36.5% y 35.6%).

Evaluación en corazones de E16.5

Se obtuvo un porcentaje de células inmunomarcadas del 16% en los corazones de biomodelos del grupo control. Para los corazones del grupo obeso, este porcentaje fue menor, alcanzando un 14.1%, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos experimentales

En el atrio izquierdo el porcentaje de células marcadas fue del 16.3% en corazones procedentes del grupo obeso vs el porcentaje obtenido en la cuantificación para los biomodelos del grupo normopeso con un porcentaje del 25.4 %, sin ser estas diferencias estadísticamente significativas.

El porcentaje de células TUNEL positivas en el atrio derecho fue menor (10.2%) para los corazones de los biomodelos procedentes del grupo control comparados a los del grupo obeso (19.5%), siendo estas diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control vs el grupo obeso.

El porcentaje de células caspasa 3 positivas que se detectaron en el ventrículo derecho, fue mayor en los corazones provenientes del grupo control (22.5%) en comparación al grupo obeso (15.5%). Las diferencias no fueron significativas al comparar entre los grupos experimentales. Un resultado similar se presentó en la región del ventrículo izquierdo de los corazones fetales donde los corazones controles presentaron mayor inmuno marcación de caspasa 3 activada en comparación a los ventrículos derechos evaluados para los corazones procedentes de madres obesas (18,2% vs 14,3 %, respectivamente). Sin ser las diferencias significativas estadísticamente. Para la región del ventrículo derecho e izquierdo, se encontró que entre los

grupos experimentales (normopeso y obeso) el porcentaje de núcleos TUNEL positivos en el ventrículo derecho fue mayor (28.6%) en el grupo normopeso en comparación con los del grupo obeso (15.6%). Sin ser estas diferencias significativas. A su vez, la cuantificación de TUNEL para el ventrículo izquierdo de los corazones del grupo obeso se presentó disminuida (16%) en comparación con el grupo control (30%). No siendo estas diferencias estadísticamente significativas.

Los hallazgos permitieron establecer en el estadio E13.5, que la actividad de la caspasa 3 fue menor a nivel del atrio izquierdo y ambos ventrículos, en los corazones de los fetos del grupo obeso. Las mismas regiones evaluadas por la técnica de TUNEL, en general, no mostraron diferencias con los corazones del grupo control.

Principales conclusiones

El biomodelo de sobrepeso y obesidad establecido con este trabajo empleando dieta de cafetería constituye un modelo adecuado que se aproxima a la dieta empleada en los humanos y simula los hábitos alimenticios de países industrializados y países latinoamericanos, de tal forma que creemos puede apoyar a corto plazo el desarrollo de trabajos de investigación relacionados con el impacto que esta condición, actualmente considerada la epidemia del siglo XXI, tiene sobre los órganos no solo de la madre gestante, sino sobre el desarrollo embrionario y fetal.

Como uno de los productos de esta investigación, se organizó un banco de órganos provenientes tanto de madres obesas como de embriones y fetos, el cual está disponible para el desarrollo de futuras investigaciones.

La presente investigación permitió un acercamiento en la identificación, evaluación e interpretación de cambios histológicos ocurridos durante el proceso de cardiogénesis y la importancia que tienen las metaloproteinasas y sus inhibidores sobre las etapas de remodelación y diferenciación de las cámaras cardíacas, así como la alteración que se produce en los eventos de muerte celular programada y su relación con la obesidad pregestacional; si bien no pudimos ligar de manera directa estos cambios con la anatomía macroscópica, si podemos relacionar la obesidad materna con el incremento de alteraciones en las cámaras cardíacas fetales.

Recomendaciones

Continuar el estudio, ampliando la evaluación macroscópica y la utilización de técnicas de biología molecular.

4. Impactos actual o potencial:

Académico

Formación de recurso humano

Maestría en Ciencias biomédicas

El desarrollo de esta investigación permitió la formación de dos estudiantes de maestría en ciencias biomédicas:

1. Sirsa Aleyda Hidalgo, quien desarrolló el trabajo de investigación “Establecimiento de un biomodelo experimental de obesidad adquirida por dieta en ratas Wistar”, pendiente de sustentación en el primer semestre del año 2017. (Adjunto informe final)
2. María Eleonora Tejada, el título del trabajo de investigación “Efectos de la obesidad materna sobre el patrón de apoptosis en la cardiogénesis tardía de la rata *wistar*” (Adjunto informe final y acta de sustentación)

Formación en pregrado

1. La estudiante Yhoiss Smiht Muñoz, desarrolló durante el semestre de pasantía en el programa de bacteriología y laboratorio clínico, con el trabajo titulado “configuración interna del corazón de *mus musculus* en estadios embrionarios E15, E17 y E18”
2. Dos estudiantes en internado especial, modalidad investigativo, Carlos Andrés Muñoz y Farah El-Sharkawy, participaron en el desarrollo del proyecto como semilleros de investigación.

Impacto investigativo

A partir de este estudio se continuó trabajando en Obesidad y su importancia durante el proceso reproductivo, es así que se desarrollaron y presentaron a diversas convocatorias los proyectos que a continuación se enumeran:

1. “Estudio de la palatogénesis en un biomodelo de obesidad materna inducida por dieta de cafetería” Código 1720. Convocatoria Interna Vicerrectoría de Investigaciones Universidad del Valle 2013.
2. “Epigenética nutricional y daño cardíaco fetal efecto de la obesidad materna sobre el patrón de apoptosis en la cardiogénesis de la rata” Banco de la República Fecha- con respuesta de no elegible el 04/02/2015
3. Expression pattern of MMP-2, MMP-9, TIMP-2 and TIMP-3 during late cardiogenesis in an experimental model of maternal obesity. SIGMA Xi 2016- No elegible
4. Convocatoria Interna Universidad Santiago de Cali 2016. Estudio de la histología renal materna durante la gestación en un biomodelo de obesidad. Duración: 12 meses
5. Colciencias Convocatoria 744 Transporte y metabolismo de las hormonas tiroideas en la placenta de gestante obesa. Biomarcadores de Salud Materno-Perinatal- No elegible
6. Convocatoria Interna Univesidad Libre 2016. Centro de Investigaciones en Medicina. Trasporte y metabolismo de las hormonas tiroideas en la placenta de gestante obesa. Biomarcadores de Salud Materno-Perinatal. Duración: 18 meses

Además, se desarrollaron dos proyectos para formación de estudiantes del programa de maestría en ciencias biomédicas, cuyos títulos fueron relacionados en el párrafo de impacto académico.

Desarrollos futuros

El establecimiento de un biomodelo experimental de obesidad establece las bases para desarrollar en nuestro medio estudios de esta creciente patología, con énfasis en el impacto del exceso de peso sobre la formación de la unidad feto-placentaria. En este estudio pudimos establecer que la obesidad materna provoca alteraciones cardíacas fetales tanto a nivel macroscópico como en los marcadores moleculares evaluados, denotando una clara influencia del ambiente obesogénico sobre el desarrollo cardíaco. Estos resultados son un paso importante para entender como esta condición afecta el proceso de formación del corazón en desarrollo y establecer marcadores tempranos de daño cardíaco que puedan predecir y prevenir

el desarrollo de patologías cardiovasculares en el adulto hijo de madre obesa. Es así, que continuamos de manera activa investigando los mecanismos de daño placentario, como pieza clave en el establecimiento de daños en el embrión; proyectamos trasladar estas evaluaciones a la clínica de la gestante obesa.

5. Productos:

Tabla No. 1. **Cantidad y tipo de productos pactados en el *Acta de Trabajo y Compromiso* y productos finalmente presentados**

Tipo de productos	Cantidad	
Productos de nuevos conocimientos		
Tipo A	2 (para los artículos o libros mínimo enviados para publicación)	
Formación de recursos humanos		
Estudiantes	2 trabajos de grado ¹	
	1 proyecto de investigación de maestría o su equivalente o 1 estudiante de doctorado vinculado	
Estudiantes vinculados al programa de semilleros de investigación	2	
Productos de divulgación	No. de ponencias Nacionales	No. de ponencias internacionales
Ponencias presentadas en eventos (congresos, seminarios, coloquios, foros)	1	1
Presentación de resultados en eventos de orden institucional	1	
Propuestas de investigación	No. De propuestas	
Propuestas para ser presentadas a convocatorias externas 2013-2014	1	

TIPO DE PRODUCTOS	No. de PRODUCTOS PACTADOS		No. de PRODUCTOS PRESENTADOS	
Productos de nuevos conocimientos				
Tipo A	2		2	
Formación de recursos humanos	No. de estudiantes vinculados	No. de tesis	No. De estudiantes Vinculados	No. De tesis
Estudiantes de pregrado			1	
Semillero de Investigación	2		2	
Estudiantes de maestría	1		2	2
Productos de divulgación				
Publicaciones en revistas no indexadas				
Ponencias presentadas en eventos (congresos, seminarios, coloquios, foros)	No. de ponencias nacionales 1	No. de ponencias internacionales 1	No. de ponencias nacionales 4	No. de ponencias internacionales 3
Presentación de resultados en eventos de orden institucional	1		1	
Propuesta de investigación				
Propuestas presentadas en convocatorias externas para búsqueda de financiación.	1		5	

Tabla No. 2. Detalle de productos

Tipo de producto	Tesis Maestría en ciencias biomédicas- María Eleonora Tejada
Nombre	Efectos de la obesidad materna sobre el patrón de apoptosis en la cardiogénesis tardía de la rata <i>wistar</i>
Ciudad y fecha	Cali, año 2016
Participantes	María Eleonora Tejada, María Carolina Pustovrh, Mario Alejandro Ortiz
Sitio de información	Biblioteca Central
Formas organizativas	Grupo de Tejidos Blandos y Mineralizados

Tipo de producto	Tesis Maestría en ciencias biomédicas- Sirsa Aleyda Hidalgo
Nombre	Establecimiento de un biomodelo experimental de obesidad adquirida por dieta en ratas Wistar
Ciudad y fecha	Cali, año 2017
Participantes	Sirsa Aleyda Hidalgo, María Carolina Pustovrh, Liliana Salazar
Sitio de información	Biblioteca Central
Formas organizativas	Grupo de Tejidos Blandos y Mineralizados

Tipo de producto:	Presentación internacional
Nombre General:	XXVII CONGRESO CIENTÍFICO INTERNACIONAL FELSOCM Obtuvo el segundo lugar en el Concurso Científico de Proyectos de Investigación
Nombre Particular:	Consecuencias de la obesidad materna sobre el desarrollo cardiaco
Ciudad y fechas:	Santiago de Chile en septiembre de 2012
Participantes:	Carlos Andrés Muñoz Z, Farah El-Sharkawy, estudiantes semillero de investigación
Sitio de información:	Memorias del congreso
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo de producto:	Presentación internacional
Nombre General:	XXIX CONGRESO CIENTÍFICO INTERNACIONAL FELSOCM
Nombre Particular:	Modelo Murino de obesidad materna adquirida por dieta de cafetería para estudios de alteraciones en el desarrollo embrionario
Ciudad y fechas:	Córdoba (Argentina) septiembre 9- 13 de 2014
Participantes:	Carlos Andrés Muñoz Z, , estudiantes semillero de investigación, Sirsa Aleyda Hidalgo, María Eleonora Tejada, Estefanía Cuéllar, Liliana Salazar, María Carolina Pustovrh
Sitio de información:	Memorias del congreso- Separata de la revista CIMEL (Ciencia e investigación médica Estudiantil Latinoamericana) ISSN electrónico 1992-4240—página 67
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo de producto:	Presentación internacional
Nombre General:	XXIV Reunión Bienal de la Asociación Latinoamericana de investigadores en Reproducción Humana
Nombre Particular:	Obesidad materna inducida por dieta en un modelo murino y su impacto en el patrón de apoptosis en la cardiogénesis tardía
Ciudad y fechas:	Lima (Perú) Noviembre 19- 22 de 2015
Participantes:	María Eleonora Tejada, María Carolina Pustovrh, Liliana Salazar
Sitio de información:	Memorias del congreso
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo de producto:	Presentación Nacional
Nombre General:	VIII Congreso Colombiano de Morfología
Nombre Particular:	Obesidad materna inducida por dieta en un modelo murino y su impacto en el patrón de apoptosis en la cardiogénesis tardía Propuesta investigación. Modalidad Poster
Ciudad y fechas:	Tunja Noviembre 2012
Participantes:	María Eleonora Tejada, María Carolina Pustovrh, Liliana Salazar
Sitio de información:	Memorias del congreso "Visiones de la morfología Contemporánea"
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo de producto:	Presentación Nacional
Nombre General:	X Congreso Colombiano de Morfología
Nombre Particular:	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
Ciudad y fechas:	Universidad del Quindío, Armenia - Diciembre 2014
Participantes:	Sirsa Aleyda Hidalgo, María Carolina Pustovrh, Liliana Salazar
Sitio de información:	Publicado en la revista de investigaciones –Universidad del Quindío
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo de producto:	Presentación Nacional
Nombre General:	Segundo encuentro Nacional de Semilleros de investigación- Facultades de medicina
Nombre Particular:	Características normales del corazón embrionario como patrón para estudios comparativos relacionados con defectos cardíacos congénitos
Ciudad y fechas:	Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud- Bogota – julio 23- 25 /2013
Participantes:	Farah El-Sharkawy, Yhoiss Smiht Muñoz, María Carolina Pustovrh
Sitio de información:	Memorias del encuentro
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo producto:	de	Presentación Nacional
Nombre General:		XI Congreso Colombiano de Morfología
Nombre Particular:		Establecimiento de un biomodelo de obesidad adquirido por dieta en ratas Wistar
Ciudad fechas:	y	Universidad de Antioquia, Medellín – agosto 13-15 de 2015
Participantes:		Sirsa Aleyda Hidalgo, María Carolina Pustovrh, Liliana Salazar
Sitio de información:		Publicado en las memorias del congreso
Formas organizativas:		Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo producto:	de	Presentación de orden institucional
Nombre General:		XVI Simposio de investigaciones “Ciudad Saludable”
Nombre Particular:		Perfil bioquímico de un modelo de obesidad inducido por dieta
Ciudad fechas:	y	Cali - Noviembre 2015
Participantes:		Yhoiss Smiht Muñoz, Sirsa Aleyda Hidalgo, David Moreno, María Carolina Pustovrh, Liliana Salazar

Sitio de información:	Memorias del evento – Publicación en la revista Gastronuhp
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados
Tipo de producto:	Artículo A1
Nombre General:	Placenta 36 pag. 469 -521
Nombre Particular:	Reproductive profile of a murine model of diet-induced obesity
Ciudad y fechas:	Placenta año 2015
Participantes:	María Eleonora Tejada, María Carolina Pustovrh, Liliana Salazar
Sitio de información:	Revista Placenta
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo de producto:	Artículo A1
Nombre General:	Reprod Biomed Online. 2015 Nov;31(5):655-67. doi: 10.1016/j.rbmo.2015.08.004.
Nombre Particular:	Obesity induced by cafeteria diet disrupts fertility in the rat by affecting multiple ovarian targets
Ciudad y fechas:	Reproductive Biomedicine Online año 2015
Participantes:	Bazzano MV, Torelli C, Pustovrh MC, Paz DA, Elia EM.
Sitio de información:	Revista Reproductive Biomedicine Online



Formas organizativas:	Colaboración Laboratorio de Biología del Desarrollo- UBA y Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados- Univalle
-----------------------	---

Tipo de producto:	Artículo
Nombre General:	Revista GASTROHNUP, Volumen 16 Numero 3 pag 141-142
Nombre Particular:	Perfil bioquímico de un modelo de obesidad inducido por dieta
Ciudad y fechas:	(septiembre-diciembre) Año 2014
Participantes:	Yhoiss Smiht Muñoz, Sirsa Aleyda Hidalgo, David Moreno, María Carolina Pustovrh, Liliana Salazar
Sitio de información:	Revista GASTROHNUP
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados
Tipo de producto:	Artículo
Nombre General:	Revista GASTROHNUP, Volumen 15 Numero 3 Páginas 168
Nombre Particular:	Descripción histológica de la cardiogénesis tardía en ratón Mus musculus
Ciudad y fechas:	Julio- diciembre- año 2013
Participantes:	María Eleonora Tejada, María Carolina Pustovrh, Liliana Salazar
Sitio de información:	Revista GASTROHNUP

Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados
-----------------------	--

Tipo producto:	de	Premio
Nombre General:		CECIM XXVI – Congreso estudiantil Colombiano de investigación Médica
Nombre Particular:		Patrón de expresión de MMP-2 durante la cardiogénesis tardía en un modelo experimental de obesidad PRIMER PUESTO- categoría trabajo de investigación
Ciudad y fechas:		Cali- año 2015
Participantes:		Farah El-Sharkawy, David Moreno, María Carolina Pustovrh, Liliana Salazar
Sitio de información:		Memorias del evento
Formas organizativas:		Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo producto:	de	Premio
Nombre General:		XI Congreso Colombiano de Morfología
Nombre Particular:		Obesidad materna inducida por dieta y su impacto en el desarrollo embrionario Segundo lugar – Modalidad Poster



Ciudad y fechas:	Medellín agosto - año 2015
Participantes:	María Eleonora Tejada, María Carolina Pustovrh, Liliana Salazar
Sitio de información:	Memorias del evento
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo de producto:	Propuestas de investigación
Nombre General:	Convocatoria Interna Vicerrectoría de Investigaciones Universidad del Valle 2013.
Nombre Particular:	Estudio de la palatogénesis en un biomodelo de obesidad materna inducida por dieta de cafetería” Código 1720
Ciudad y fechas:	Cali- año 2013
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo de producto:	Propuestas de investigación
-------------------	-----------------------------



Nombre General:	Banco de la República
Nombre Particular:	Epigenética nutricional y daño cardíaco fetal efecto de la obesidad materna sobre el patrón de apoptosis en la cardiogénesis de la rata”
Ciudad y fechas:	con respuesta de no elegible el 04/02/2015
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo de producto:	Propuestas de investigación
Nombre General:	Convocatoria SIGMA Xi 2016
Nombre Particular:	Expression pattern of MMP-2, MMP-9, TIMP-2 and TIMP-3 during late cardiogenesis in an experimental model of maternal obesity
Ciudad y fechas:	No elegible
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo de producto:	Propuestas de investigación
-------------------	-----------------------------

Nombre General:	Convocatoria Interna Universidad Santiago de Cali 2016.
Nombre Particular:	Estudio de la histología renal materna durante la gestación en un biomodelo de obesidad
Ciudad y fechas:	Cali 2016, aprobado. Duración: 12 meses
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo de producto:	Propuestas de investigación
Nombre General:	Colciencias Convocatoria 744
Nombre Particular:	Transporte y metabolismo de las hormonas tiroideas en la placenta de gestante obesa. Biomarcadores de Salud Materno-Perinatal
Ciudad y fechas:	No elegible. Respuesta del 28/oct/2016
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados

Tipo de producto:	Propuestas de investigación
Nombre General:	Convocatoria Interna Univesidad Libre 2016. Centro de Investigaciones en Medicina
Nombre Particular:	Transporte y metabolismo de las hormonas tiroideas en la placenta de gestante obesa. Biomarcadores de Salud Materno-Perinatal
Ciudad y fechas:	Aprobado. Duración: 18 meses
Formas organizativas:	Grupo de investigación Tejidos Blandos y mineralizados



La presente versión del informe contiene las observaciones de los evaluadores:

Firma del investigador principal

VoBo. Vicedecano de Investigaciones

*Por favor presente su informe impreso y en formato digital en hoja tamaño carta, letra arial 11,
con espacios de 1 1/2*