



**ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS
DE LA REGIÓN DE MURCIA**

**EL ORIGEN PRENATAL DE LA OBESIDAD Y
LAS ALTERACIONES METABÓLICAS ASOCIADAS;
APORTACIONES DE LOS ANIMALES DE PRODUCCIÓN,
Y PRINCIPALMENTE DEL CERDO IBÉRICO,
COMO MODELOS DE ESTUDIO**

DISCURSO DE INGRESO
COMO ACADÉMICO CORRESPONDIENTE DEL

ILMO. SR. D. ANTONIO GONZÁLEZ DE BULNES LÓPEZ

Y

DISCURSO DE PRESENTACIÓN
A CARGO DEL ACADÉMICO CORRESPONDIENTE

ILMO. SR. D. ALBERTO ÁLVAREZ DE BENITO

Murcia, 21 de mayo de 2026



ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS
DE LA REGIÓN DE MURCIA

**EL ORIGEN PRENATAL DE LA OBESIDAD Y
LAS ALTERACIONES METABÓLICAS ASOCIADAS;
APORTACIONES DE LOS ANIMALES DE PRODUCCIÓN,
Y PRINCIPALMENTE DEL CERDO IBÉRICO,
COMO MODELOS DE ESTUDIO**

DISCURSO DE INGRESO
COMO ACADÉMICO CORRESPONDIENTE DEL

ILMO. SR. D. ANTONIO GONZÁLEZ DE BULNES LÓPEZ

Y

DISCURSO DE PRESENTACIÓN
A CARGO DEL ACADÉMICO CORRESPONDIENTE

ILMO. SR. D. ALBERTO ÁLVAREZ DE BENITO

Murcia, 21 de mayo de 2026

EDITA:



ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS DE LA REGIÓN DE MURCIA

El texto de este volumen se corresponde con el original y correcciones efectuadas por los autores

ISBN: 978-84-09-86343-3

Depósito legal: MU 752-2026

Impreso en España - *Printed in Spain*

Imprime: Stampacos

ÍNDICE

Discurso de Presentación a cargo del Ilmo. Sr. D. Alberto Álvarez de Benito	7
Discurso de Ingreso como Académico Correspondiente del Dr. D. Antonio González de Bulnes López.....	13
I. Introducción	19
II. Obesidad y Síndrome Metabólico	27
III. Disruptores Endocrinos en la Aparición de Obesidad y Trastornos Metabólicos.....	37
IV. Consecuencias de la Obesidad sobre la Función Reproductiva y la Descendencia.....	41
V. Origen Prenatal de la Obesidad y el Síndrome Metabólico; Programación Prenatal.....	57
VI. Cuestiones Prácticas en el Uso de Modelos Animales para la Investigación; Utilidad del Cerdo Ibérico	65
VII. Futuras Áreas de Desarrollo en Modelos Animales de Obesidad y Alteraciones Metabólicas Asociadas.....	79
VIII. Referencias Bibliográficas.....	81

**DISCURSO DE PRESENTACIÓN DEL
DR. D. ANTONIO GONZÁLEZ DE BULNES LÓPEZ
A CARGO DEL ACADÉMICO CORRESPONDIENTE
ILMO. SR. D. ALBERTO ÁLVAREZ DE BENITO**

Excmo. Sr. Presidente de la Academia de Ciencias Veterinarias,
Excmos. e Ilmos. Sres. Académicos.
Excmas. e Ilmas. Autoridades.
Compañeros, Amigos.
Señoras y Señoras.

Es para mí un honor y un orgullo poder presentar ante ustedes a D. Antonio González Bulnes, con motivo de su discurso de ingreso en esta Academia de Ciencias Veterinarias de la Región de Murcia, la cual se va a ver enriquecida, dada la personalidad, profesionalidad y los conocimientos albergados en el presente recipiendario.

Espero estar a la altura de las circunstancias y agradecer, a los miembros de la Academia, el honroso encargo que me han confiado, para glosar la personalidad del nuevo Académico Correspondiente.

Quiero felicitar al Sr. González Bulnes por su nombramiento y agradecerle su esfuerzo y deferencia con esta Academia, por aceptar vincularse activamente a la misma salvando la cortapisa de la distancia, con el entusiasmo que le caracteriza.

Antonio Gonzalez de Bulnes López obtiene el título de Licenciado en Veterinaria en 1991 y el título de Doctor en Veterinaria en 1997, ambos en la Universidad Complutense de Madrid. Entre 1997 y 1999, desarrolla estancias postdoctorales en Asturias, Edimburgo y Nottingham. En 2001, en la primera convocatoria del Programa Ramón y Cajal, se incorpora como investigador en el Instituto Nacional de Investigación Agrícola y Alimentaria (INIA). Pertenece al INIA como funcionario de plantilla, en el puesto de Investigador Titular entre 2006 y 2011, Científico Titular entre 2011 y 2017 y, hasta 2021.

La investigación realizada por D. Antonio González Bulnes, ha sido financiada por distintos proyectos nacionales e internacionales y su impacto está determinado por 302 publicaciones SCI (221 desde 2009 en que se establece el sistema de cuartiles) un índice H de 36 y la dirección de 22 Tesis Doctorales.

Sin embargo, lo que a mi entender supera sus méritos académicos e investigadores, es su decisión a principios de 2021 de desarrollar su trayectoria profesional en la empresa privada, y más concretamente en el Grupo Jorge, empresa aragonesa con desarrollos productivos en porcino y avicultura, en diversas zonas de la geografía nacional, incluyendo granjas e industria cárnica, como Director de Biotecnología e I+D, aplicando su experiencia investigadora en el sector privado, confirmado la necesidad de transferencia del conocimiento del sector público a la empresa privada, para la mejora de los resultados productivos y económicos.

Hoy la Academia de Ciencias Veterinarias de la Región de Murcia recibe a un a un gran profesional veterinario que, debido a méritos propios a través de su formación y trayectoria profesional, le hacen acreedor a esta distinción, y espero que contribuya con su conocimiento y aportaciones, al desarrollo de nuestra Academia. Basta leer su “curriculum vitae” para valorar la intensidad, dedicación y compromiso de este gran veterinario en el desarrollo de la producción animal.

Conocí a D. Antonio González Bulnes en 2017, cuando era Investigador Científico de INIA, y estaba trabajando sobre el uso de proteína anti-Gnrh (Improvac) para medir la mejora cárnica en cerdas ibéricas de desvieje. Cuál fue mi sorpresa cuando comprobé el nivel de los estudios que se estaban realizando, y la aplicabilidad de estos en la producción porcina, ya que muchos de los estudios realizados en el sector público, apenas suele tener aplicación en el sector privado, excepto pocas excepciones. A partir de ahí coincidimos en diversos Congresos nacionales e Internacionales, y pude seguir su trayectoria investigadora, siempre aplicada a la realidad y necesidades de la producción porcina.

En 2019, convocado por esta Academia y el Grupo Fuertes, le fue concedido el Premio Nacional Grupo Fuertes por su trabajo “Patrones de engrasamiento y calidad de la carne en cerdas ibéricas multíparas con supresión inmunológica de la actividad ovárica”, que en la actualidad se aplica en empresas del sector ibérico.

En la actualidad, desempeña los puestos de Profesor Catedrático del Departamento de Producción y Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Cardenal Herrera CEU y Responsable de Prospectiva e Innovación en Mensoft.

Hoy D. Antonio nos va a hablar de la obesidad y alteraciones metabólicas asociadas que, desde los estudios y observaciones realizadas durante años en humanos, pueden ser válidos para su aplicación a la dinámica de crecimiento en cerdos ibéricos que tiene condiciones evolutivas similares a humanos, bajo el título:

“EL ORIGEN PRENATAL DE LA OBESIDAD Y LAS ALTERACIONES METABÓLICAS ASOCIADAS; APORTACIONES DE LOS ANIMALES DE PRODUCCIÓN, Y PRINCIPALMENTE DEL CERDO IBÉRICO, COMO MODELOS DE ESTUDIO”

Para finalizar, quisiera destacar la vertiente humana de Antonio, persona cercana, humilde, afable, buen conversador, agradecido, y amigo de sus amigos, que demuestra estar siempre a disposición cuando se le necesita, valores de los que nuestra Sociedad actual anda escasa y necesitada. Todo ello, junto a sus méritos, más que sobrados, hacen que nuestra Academia pueda sentirse orgullosa y estar de enhorabuena al recibir a D. Antonio González Bulnes como uno de sus miembros, lo que, sin duda redundará en el desarrollo y mayor prestigio de nuestra Institución.

He dicho.

**DISCURSO DE INGRESO COMO
ACADÉMICO CORRESPONDIENTE DEL
DR. D. ANTONIO GONZÁLEZ DE BULNES LÓPEZ**

EL ORIGEN PRENATAL DE LA OBESIDAD Y LAS ALTERACIONES METABÓLICAS ASOCIADAS; APORTACIONES DE LOS ANIMALES DE PRODUCCIÓN, Y PRINCIPALMENTE DEL CERDO IBÉRICO, COMO MODELOS DE ESTUDIO

Excmo. Sr. Presidente de la Academia de Ciencias Veterinarias de la Región de Murcia.

Ilmo. Sr. Secretario General.

Excmos. e Ilmos. Sres. Académicos.

Ilustrísimas y Dignísimas Autoridades.

Compañeros, amigos.

Sras. y Sres.

En primer lugar quisiera expresar mi más profundo agradecimiento a los miembros de esta Academia de Ciencias Veterinarias de la Región de Murcia, y especialmente quienes integran el Pleno de esta dicha Academia, por el honor y la oportunidad que me brindan de pertenecer a tan insigne Institución; agradecimiento personalizado en su Presidente, el **Excmo. Sr. Dr. D. Cándido Gutiérrez Panizo**, y en los **Ilmos. Sres. D. Miguel Motas Guzmán, D. Juan Sotillo Mesanza y D. Antonio Rouco Yáñez**, que avalaron mi propuesta. Y no quiero dejar pasar la circunstancia de que esta mi incorporación se corresponda con el año de la “mayoría de edad” de esta Academia; que nació, teniendo a gala representar los valores de una profesión tan amada y respetada por todos nosotros como es la de Veterinario, un 29 de septiembre de 2008 en la sede del Ilustre Colegio Oficial de Veterinarios de la Región de Murcia; siendo su primera Comisión Gestora, a la quiero aquí agradecer su iniciativa y labor, la constituida por **D. Cándi-**

do Gutiérrez Panizo, D. Fulgencio Fernández Buendía, D. Francisco Alonso de Vega, D. Juan Antonio Carrizosa Durán, D. Fernando Crespo León (q.e.p.d.), D. Juan Bautista Lobera Lössel y Dña. Ana María Montes Cepeda.

Asimismo, y de manera muy significativa, quisiera agradecer a mi querido amigo, el **Ilmo. Sr. D. Alberto Álvarez de Benito**, Académico Correspondiente de esta Academia, no sólo por su apoyo e iniciativa desde los primeros pasos de mi propuesta como nuevo Académico sino por su apoyo e iniciativa, durante ya casi veinte años, en todas aquellas cuestiones, profesionales y personales, en que podía beneficiarme; haciendo verdad aquella frase de *amistades dar sin esperar nada a cambio*. Hoy quiero agradecer, además su discurso de presentación en este Acto de Toma de Posesión como Académico Correspondiente, como ejemplo de esto a que me refiero.

Y no quiero extenderme en estos agradecimientos para no desvirtuarlos. Agradezco y reconozco el apoyo de las diferentes Administraciones, centros de investigación, empresas, asociaciones de ganaderos y ganaderos, compañeros de trabajo y amigos que han permitido y posibilitado que yo pudiese desempeñar mi trabajo y desarrollarme como profesional y persona. Un camino que, dicen, inició mi abuelo Leopoldo leyéndome el periódico, él en su silla, para que yo fuese cogiendo “entendimiento” cuando era bebé y me dejaban a su cargo; un camino que continuaron mis abuelos Germán y Damiana convirtiéndose en mis ángeles protectores durante mi niñez y juventud; un camino en que siempre tuve el estímulo y ejemplo de mis padres Antonio e Isabel y el apoyo de mis hermanos Paco e Isabela; un camino que nunca se hubiese consolidado sin la aparición de “los políticos”, esa panda de cuñados que Dios me ha dado; aparición consecutiva obviamente a la aparición de mi compañera de viaje María Ángeles, cuya implicación y entrega, desde que éramos estudiantes de Veterinaria, ha permitido que yo cumpliera mis sueños e inquietudes. Y no es hacerla de menos, pues ella lo sabe, si reconozco el gran papel que tuvo su padre en ello, mi suegro, el Dr. D. Juan Herreros Mediavilla.

Finalmente, estos agradecimientos se han convertido en profunda añoranza de aquellos que me gustaría estuviesen hoy. Y, curiosamente, me he acor-

dato de un libro que leía y releía de pequeño; “Solitario” de Jaime de Foxá... *sintió la lluvia en sus pezuñas, miró al cielo y estaba iluminado de estrellas. No entendió nada. Al “Anteojos”, su abuelo y maestro, se le había olvidado explicarle que existían las lágrimas.*

I

INTRODUCCIÓN

En 1643, Sir Thomas Browne escribió, en su libro *Religio Medici*:

Algunos teólogos consideran que Adán tenía 30 años en el momento de su creación, porque suponen que fue creado en la edad y estatura perfectas del hombre; y seguramente todos estamos fuera del cómputo de nuestra edad, y cada hombre es algunos meses mayor de lo que cree; porque vivimos, nos movemos, tenemos un ser y estamos sujetos a la acción de los elementos y a la malicia de las enfermedades en ese otro mundo, el más verdadero Microcosmos, el Vientre de nuestra Madre... En ese Mundo oscuro, nuestro tiempo es breve, calculado por la Luna, pero más largo que los días de muchas criaturas que contemplan el Sol; no carecemos de vida, sentido y razón; aunque para la manifestación de nuestras acciones, aguardamos la oportunidad... Al entrar después en la escena del Mundo, nos levantamos y nos convertimos en otra criatura...

Tradicionalmente, los esfuerzos por comprender y controlar los factores exógenos se han centrado, generación tras generación, en el período de la vida que transcurre desde el nacimiento hasta la senectud y la muerte (vida post-natal) y se ha prestado poca atención al periodo desde la concepción hasta el nacimiento (vida prenatal). De hecho, hasta finales del siglo XVIII, las creencias más extendidas se basaban en teorías preformacionistas que defendían que, desde la Creación, los organismos se desarrollan a partir de versiones en miniatura de sí mismos (*animálculos* o, en el caso de los humanos, *homúnculos*) contenidos en el interior del espermatozoide o del óvulo (conceptos de *espermismo* y *ovismo*, respectivamente). Por ello, *Religio Medici* fue incluido en el *Index Librorum Prohibitorum*.

La *acción de los elementos y la malicia de las enfermedades* moldean a todos los seres vivos. El destino de todos los organismos vivos está determinado por el entorno que los rodea. Los principales factores exógenos limitantes son las condiciones climáticas, la accesibilidad a agua y alimentos, y la disponibilidad de oxígeno en el caso de las regiones de gran altitud. La capacidad de gestionar y adaptarse a estas características determina la viabilidad y el potencial de los individuos y las poblaciones. Esta capacidad se ha desarrollado mediante la evolución genética y los patrones de comportamiento adaptativos a lo largo de las generaciones.

La influencia del entorno fue abordada ya por Ortega y Gasset en las *Meditaciones sobre el Quijote*; publicadas en 1914. Ortega y Gasset defendía que el ser humano, desde un punto de vista racional, no sólo posee *naturaleza*, sino también *historia* (las situaciones que condicionan la vida en el pasado y en el presente; las *circunstancias*). Este pensamiento le llevó a enunciar su famosa máxima “*Yo soy yo y mi circunstancia*”. La interacción entre naturaleza e historia determina la lógica del ser humano para afrontar y adaptarse a las circunstancias actuales.

La relación entre naturaleza, historia y circunstancia también está presente en la biología de sistemas. El éxito de un organismo en desarrollo depende de su capacidad (innata, *natural*, o adquirida, *histórica*) para adaptarse a entornos cambiantes, su *circunstancia*. El éxito de las especies depende de la capacidad de sus individuos para transmitir las señales, los genes, que permiten la adaptación de sus descendientes al entorno, sin limitar su capacidad de adaptación a futuros desafíos ambientales. Por lo tanto, el estado adecuado o inadecuado (es decir, el riesgo de salud o enfermedad) de un individuo es resultado de complejas interacciones entre genes y ambiente.

El clima y la alimentación son los principales factores limitantes relacionados con el medio ambiente; los principales factores exógenos. Y, en base a ello, todos los organismos, incluidos los seres humanos, han tenido que hacer frente y adaptarse a periodos de abundancia y escasez durante su evolución. En el caso de los humanos, las primeras poblaciones del Paleolítico eran cazadoras-recolectoras. La obtención de alimentos y el estilo de vida estaban asociados a una intensa actividad física, mediante la caza y la caminata, y la disponibilidad de alimentos se veía afectada por condicionantes locales y

estacionales; es decir, por el medio ambiente. Los humanos, como otras especies, han lidiado con estos ciclos de abundancia y escasez, desarrollando mecanismos adaptativos al entorno cambiante; principalmente, la preferencia por alimentos altamente energéticos, como azúcar y grasa, y la capacidad de almacenar, en forma de grasa corporal, el exceso de energía obtenido durante la abundancia de alimentos para permitir la supervivencia durante los periodos de hambruna; lo que constituye el *genotipo ahorrador*. Estos patrones se han encontrado en humanos, pero también en otras especies animales, principalmente carnívoras y omnívoras.

Posteriormente, se produjo un cambio enorme en los patrones alimentarios de los seres humanos, pasando de la caza y recolección a la producción intensiva de alimentos, lo que marcó el inicio del Neolítico hace 12.000 años. La domesticación de plantas y animales modificó los hábitos alimentarios y favoreció la subsistencia humana mediante una mayor disponibilidad de recursos. Sin embargo, la disponibilidad de alimentos energéticos (azúcares y grasas) seguía siendo limitada y las poblaciones se veían afectadas por ciclos de abundancia y escasez; al mismo tiempo, la producción de alimentos y el estilo de vida seguían estando asociados a una actividad física intensa y regular. Además, los cambios en los patrones alimentarios fueron lentos y permitieron soluciones evolutivas, *adaptaciones epigenéticas*, a las diferencias en la abundancia de alimentos y las vías metabólicas relacionadas con ellos.

Sin embargo, la evolución de la agricultura y la ganadería, lenta a lo largo de la historia de la humanidad, ha cambiado rápidamente en las últimas décadas, dando lugar a la alta disponibilidad actual de alimentos altamente energéticos sin necesidad de ejercicio físico intenso. La discordancia entre la herencia genética, el exceso de alimentos y la falta de ejercicio se ha convertido en la piedra angular de los trastornos metabólicos asociados al estilo de vida, como la obesidad y alteraciones metabólicas (con su máxima expresión en el síndrome metabólico). Este panorama se ve acentuado, además, por su interacción con otros factores concomitantes (estrés, patrones de sueño alterados, educación, cultura, ubicación rural versus urbana, y xenobióticos, entre otros); con la *circunstancia* de Ortega y Gasset. La consecuencia más habitual de la obesidad y las alteraciones metabólicas es el desarrollo de trastornos como la diabetes tipo 2 y las enfermedades cardiovasculares, pero existen evidencias

de su relación con otras afecciones adversas para la salud (cáncer, trastornos reproductivos, inmunitarios y neurológicos).

Así, actualmente, los cambios en el estilo de vida y el entorno han provocado cambios en los patrones epidemiológicos de la obesidad y los trastornos metabólicos, aumentando su incidencia a niveles epidémicos. En este sentido, la obesidad y las alteraciones metabólicas asociadas son problemas cada vez más preocupantes y que, de hecho, se consideran pandemias globales desde 2005, cuando la Organización Mundial de la Salud (OMS) informó que 400 millones de personas en todo el mundo eran obesas y 346 millones tenían diabetes. En 2022, se estimó que más de 2.500 millones de adultos mayores de 18 años (43% de la población mundial) presentaban sobrepeso y, de ellos, 890 millones presentaban obesidad (16% de la población mundial); es decir, 1 de cada 8 adultos tenían obesidad clínica. En ese año, se alcanzan los 830 millones de adultos diagnosticados de diabetes.

Tradicionalmente, la incidencia de obesidad y diabetes era mayor en los países desarrollados, pero los cambios sociodemográficos que se producen en la actualidad están provocando su propagación a zonas en rápido desarrollo como India, Brasil, China y países de Oriente Medio. En realidad, las mayores incidencias en porcentajes relativos se encuentran en países de Medio Oriente; así, la alarma se dispara hace 15 años, cuando más del 20% de los adultos de Qatar, Arabia Saudita y Emiratos Árabes padecen diabetes.

Por otro lado, tradicionalmente también, la incidencia de obesidad y diabetes era mayor en hombres adultos, pero actualmente está aumentando a un ritmo más elevado en mujeres y durante la infancia y la juventud. Así, a los datos anteriores deben sumarse 390 millones de niños y adolescentes (entre 5-19 años de edad) que presentaban sobrepeso en 2022; 160 millones de ellos presentaban obesidad. La pandemia se ve agravada por el rápido aumento de la incidencia de la obesidad infantil en los últimos años. El número de niños menores de cinco años con sobrepeso supera los 42 millones; entre ellos, cerca de 35 millones viven en países en desarrollo y 22 millones viven concretamente en Asia. La obesidad infantil es una causa bien conocida del desarrollo de trastornos metabólicos y diabetes en la edad adulta y cada vez hay más pruebas de su papel en la aparición de otras enfermedades no transmisibles, como alteraciones cardiovasculares, inmunitarias y reproductivas, y cáncer.

Esta pandemia de obesidad y trastornos asociados no transmisibles constituye un importante desafío socioeconómico, ya que afecta a la calidad de vida y el bienestar de muchas personas y, además, amenaza a la sostenibilidad de los sistemas de salud pública e incluso el desarrollo económico mundial. Por lo tanto, existe una urgente necesidad de abordar este problema de salud y social mediante la aplicación de estrategias de prevención y tratamientos específicos basados en evidencias derivadas de investigación a nivel básico, translacional y comunitario.

En realidad, estos cambios en la presentación de la patología están modificando nuestra percepción y conciencia de la propia enfermedad. El escenario para las interacciones entre los rasgos genéticos (*naturaleza*) y el estilo de vida se ha identificado clásicamente con los períodos juvenil y adulto. Actualmente, la importancia primordial de las circunstancias de la vida temprana (*crianza*) es plenamente reconocida; en realidad, es muy descriptiva su acepción en inglés (*nature and nurture*). En las primeras épocas de vida, los organismos son altamente susceptibles a las condiciones ambientales y capaces de modificar las expresiones de su genoma mediante cambios epigenéticos para ajustarse a dichas condiciones. Así, se sabe que los cambios en el ambiente intrauterino durante la vida prenatal modifican el estado metabólico del feto; este fenómeno se conoce como *programación prenatal*. En la vida postnatal temprana, los cambios en la dieta y otros factores ambientales también modifican el estado metabólico del individuo. Las modificaciones epigenéticas en respuesta a tales circunstancias en ambos periodos juegan un papel clave en el crecimiento juvenil, la aptitud física y la salud a lo largo de la vida, y la probabilidad de aparición de obesidad y/o trastornos metabólicos en la etapa adulta.

En el caso específico de las mujeres embarazadas, situaciones de malnutrición y trastornos metabólicos, tanto por exceso como por defecto, afectan tanto a la homeostasis materna como al intercambio placentario de oxígeno y nutrientes. En consecuencia, el entorno intrauterino en el que se desarrolla el feto se modifica y el feto expuesto a estas condiciones, además de nacer con bajo peso, es altamente propenso al desarrollo de trastornos metabólicos, incluido el síndrome metabólico, durante la vida postnatal. Es decir, situaciones de malnutrición y trastornos metabólicos en mujeres embarazadas son espe-

cialmente preocupantes, ya que afectan no sólo a la salud y el bienestar de la madre y el bebé a corto plazo, sino también a largo plazo.

A largo plazo se refiere no solo a la vida juvenil y adulta de ese bebé, sino también a la de sus descendientes y generaciones posteriores, dado que cada vez hay más evidencia que prueba la existencia de una herencia transgeneracional de los trastornos metabólicos. Además, en los últimos años, el concepto de crianza ya no se relaciona únicamente con los períodos fetal y postnatal temprano; las condiciones de crianza también afectan a las células germinales que originan al individuo y, posteriormente, a las células germinales de este individuo (espermatozoides u ovocitos) que darán lugar a la siguiente generación. Por lo tanto, el estado de salud/enfermedad y, por consiguiente, el riesgo de enfermedad se establecen antes del nacimiento e incluso antes de la concepción.

Es decir, los cambios epigenéticos en estos individuos y su adecuación a los desafíos ambientales condicionan el riesgo de enfermedad durante generaciones. En este sentido, se habla de *fenotipo ahorrador*, que une *genotipo ahorrador* y *programación prenatal*: la privación prenatal de nutrientes unida a la exposición postnatal a una vida rica en calorías y con poco ejercicio, conlleva el desarrollo de obesidad y alteraciones metabólicas asociadas. Actualmente, este fenotipo ahorrador se relaciona con la rápida expansión de obesidad y diabetes en las zonas en rápido desarrollo citadas anteriormente; especialmente, en la India, donde se presenta un alto consumo de alimentos altamente energéticos que se relacionan con una incidencia de diabetes del 10,7% (un cuarto de la población mundial) y donde actualmente el 20% de los nacimientos presentan bajo peso al nacimiento; la coincidencia de ambas circunstancias indica que la incidencia de la enfermedad puede doblarse para el año 2050. Si bien las cifras no son tan altas, los números son también preocupantes para otros países asiáticos y africanos.

Por lo tanto, existe una necesidad urgente de abordar la situación mediante el desarrollo de estrategias específicas y adecuadas para la prevención y el tratamiento de la obesidad y trastornos metabólicos asociados; principalmente, para la prevención y la modulación de sus efectos adversos. Es necesario, en primer lugar, comprender completamente la biología subyacente de la enfermedad, lo que permitiría mejorar tanto la atención médica individualizada como las estrategias de diagnóstico y prevención a nivel poblacional. Este

objetivo exige investigación intervencionista, la cual no puede realizarse en humanos por cuestiones éticas, por lo que debe ser translacional; debe realizarse en modelos animales y, específicamente, en modelos animales adecuados para una aplicación rápida y directa a la medicina humana.

Entre los diversos modelos animales, merece especial atención el cerdo y, especialmente, el cerdo de raza ibérica. El cerdo ibérico bajo crianza tradicional en extensivo tiene condiciones evolutivas similares a las previamente citadas en humanos; es decir, especificidades epigenéticas adaptadas para un contexto de exposición a ambientes hostiles y escasez de alimentos (con desarrollo de un *genotipo ahorrador*). Por lo tanto, el cerdo ibérico es muy sensible a cambios nutricionales y metabólicos, mucho más que las razas magras, y es propenso a aparición de obesidad y enfermedades metabólicas en caso de exceso de nutrientes. Estas características, intrínsecas a la raza, se ven exacerbadas en caso de *programación prenatal*, que se produce mayoritariamente por deficiencias en la nutrición intrauterina de embriones y fetos, y posterior desarrollo de un *fenotipo ahorrador*. Y, en este sentido, la intensificación actual de la producción de cerdo ibérico conlleva un significativo aumento del número de lechones y, con ello, un significativo aumento de casos de deficiencias en la función placentaria y la nutrición de los fetos.

La evidencia actual indica que los desequilibrios metabólicos maternos y sus efectos sobre la salud de la descendencia pueden prevenirse o modularse mediante un estilo de vida adecuado, que incluya una ingesta alimentaria controlada y la oportunidad de realizar ejercicio físico. Sin embargo, un estilo de vida adecuado también debe incluir estrategias para mitigar los efectos de otros factores ambientales perjudiciales (estrés, patrones de sueño, educación, cultura, ubicación rural *versus* urbana y xenobióticos), con el fin de mejorar las condiciones de vida del ser humano. Esto es extensivo a los animales, tanto de compañía (en que la incidencia de obesidad y alteraciones metabólicas aumenta de forma paralela a la que se produce en sus dueños) como de producción (en concreto, en razas tradicionales como el cerdo ibérico, debido a la intensificación de la producción).

En realidad, la máxima completa de Ortega y Gasset en 1914, hace 112 años, es “*Yo soy yo y mi circunstancia, y yo no me salvo si no salvo mi circunstancia*”.

II

OBESIDAD Y SÍNDROME METABÓLICO

La obesidad se caracteriza por el aumento patológico del tejido adiposo corporal, debido tanto a la hipertrofia como a la hiperplasia de los adipocitos; células especializadas, cuya función principal es almacenar energía en forma de triglicéridos (grasa) para liberarla cuando el cuerpo la necesita. En la obesidad, la acumulación excesiva de tejido adiposo es el resultado de un desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético; que conduce al almacenamiento excesivo de triglicéridos en el tejido adiposo blanco, lo que provoca la expansión de la grasa. La obesidad no solo es problemática en sí misma, sino que también provoca alteraciones estructurales y metabólicas en otros tejidos, como el músculo y el hígado, debido a la acumulación excesiva de grasa. Esto es debido a que el tejido adiposo funciona también como un órgano endocrino que produce hormonas (principalmente, leptina) y participa en diferentes mecanismos de la inflamación y el metabolismo. Así, esta acumulación de grasa predispone al desarrollo de anomalías metabólicas, que se han agrupado en el término síndrome metabólico, una enfermedad con una prevalencia creciente [1].

El síndrome metabólico, descrito por primera vez por Reaven en 1988 [2], es objeto de intensa investigación y debate. Aunque es aún controvertido [3-7], se asume que se caracteriza por la presencia de al menos tres de cinco síntomas: obesidad abdominal o central, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, dislipidemia (aumento de la trigliceridemia y niveles bajos de lipoproteínas plasmáticas de alta densidad, [HDL-c]) e hipertensión. Estas alteraciones pueden evolucionar hacia el desarrollo de otros trastornos, como diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares, cáncer, demencia y otras numerosas afecciones adversas para la salud [4, 5, 7-12]. Sin embargo, la gran cantidad de estudios desarrollados en los últimos años en este campo ha iden-

tificado otros factores concurrentes o predisponentes, como un estado inflamatorio sistémico de bajo grado, disfunción del tejido adiposo, alteraciones en el sistema antioxidante/oxidativo y estrés retículo endoplásmico [13-19].

En realidad, el tejido adiposo no es sólo un depósito para el almacenamiento de energía, sino también un órgano endocrino altamente activo que libera al torrente sanguíneo diferentes moléculas, como leptina y otras adipocinas (citocinas y factores de crecimiento). Las adipocinas modulan la función de otros tejidos, regulando varios procesos fisiológicos como el balance energético, la ingesta de alimentos y el apetito, la inmunidad, la sensibilidad a la insulina, la presión arterial y la reproducción [20, 21]. Es decir, la alteración de la función del tejido adiposo puede conducir a la expresión y secreción disfuncional de adipocinas que, a su vez, está estrechamente relacionado con la patogénesis de varios trastornos metabólicos.

El exceso de tejido adiposo y la disfunción de los adipocitos, eventos asociados con la obesidad, están vinculados a una regulación anormal de la adipogénesis. La masa de tejido adiposo está estrechamente regulada tanto por el tamaño como por el número de los adipocitos y este último, a su vez, está regulado por el reclutamiento de preadipocitos y por la posterior diferenciación y apoptosis de los adipocitos. El gran esfuerzo de investigación realizado en las últimas décadas ha demostrado que la adipogénesis está regulada por una elaborada red de factores de transcripción, incluyendo activadores transcripcionales, coactivadores y correpresores [22].

Los adipocitos derivan de células madre mesenquimales. Inicialmente, la activación de la adipogénesis se desencadena por la presencia de diferentes factores (insulina, glucocorticoides, hormonas tiroideas o vitaminas) necesarios para la activación del programa adipogénico. Una vez activadas las células madre, los dos principales factores adipogénicos son las familias de genes *CCAAT-enhancer Binding Protein (C/EBP)* y los *receptores activados del proliferador de peroxisomas (PPAR)*, que modulan todo el proceso de diferenciación terminal y coordinan la red de factores de transcripción y la expresión de cientos de proteínas responsables del establecimiento del fenotipo de la célula grasa madura [23]. Especialmente *PPAR*, que es esencial para la diferenciación de los adipocitos [24]; en realidad, no se conoce otro factor que pueda promover la adipogénesis en ausencia de *PPAR* [25]. Ambos factores,

además, activan la transcripción de genes implicados en muchos procesos diferentes, incluyendo el metabolismo de lípidos y glucosa [26].

El principal control de la homeostasis energética de todo el cuerpo se localiza en el sistema nervioso central (SNC), a nivel hipotalámico. Los núcleos del hipotálamo responden a los cambios en el estado energético alterando la expresión de determinados neuropéptidos específicos; lo que provoca cambios en la ingesta y el gasto energético. En realidad, este sistema es un mecanismo de retroalimentación controlado principalmente por el tejido adiposo y el SNC, donde la hormona leptina desempeña un papel fundamental.

La leptina es una proteína producida en los adipocitos [27], que comunica los niveles de energía de las reservas de grasa corporal al SNC, y, por lo tanto, regula la saciedad, la homeostasis energética y el metabolismo de las grasas. Después de la liberación de leptina por los depósitos de grasa corporal y su posterior interacción con el receptor de leptina (LEPR) ubicado en la superficie de las neuronas del núcleo arqueado, se activa la vía hipotalámica leptina/melanocortina. El receptor de leptina es un miembro de la superfamilia de receptores de citocinas de clase I y se manifiesta en isoformas que se distinguen por las longitudes relativas de sus regiones citoplasmáticas; así, presenta una forma larga, presente en el hipotálamo, y varias formas cortas con funciones menos conocidas, que se encuentran en otros muchos órganos y tejidos [28]. La forma larga es crucial para la acción de la leptina, ya que media en una amplia gama de efectos que afectan el sistema inmunológico, la vascularización, la homeostasis de la glucosa y la ingesta de alimentos [29].

La señalización de la leptina en el *nucleus arquatus* hipotalámico está particularmente bien caracterizada. Aquí, la señal se propaga a través de dos poblaciones neuronales separadas. Primero, en respuesta a la señalización de la leptina, son estimuladas las neuronas que coexpresan proopiomelanocortina (POMC) y el transcritto regulado por cocaína y anfetamina (TRCA; [30]). La POMC se procesa para producir el péptido alfa de la hormona estimulante de melanocitos (MSH), que señala la anorexia (disminución del apetito) activando el receptor de melanocortina 4 (MC4R) y el receptor de melanocortina 3 (MC3R). Un segundo grupo de neuronas arqueadas expresa el neuropéptido orexigénico Y (NPY) y la proteína relacionada con agutí (AgRP). Estos péptidos orexigénicos son regulados negativamente por la señalización de la leptina

neuronales específicos con respecto al balance energético está comenzando a evaluarse críticamente. Los resultados respaldan la presencia de otras vías reguladas por la leptina (diferentes de las neuronas POMC y NPY; [33, 34]), en consonancia con un modelo “distribuido” de redes neuronales que procesan e integran las entradas relacionadas con la adiposidad y la saciedad. Una disfunción de cualquier componente de estas vías podría influir o alterar la homeostasis energética y afectar el desarrollo de la obesidad. En realidad, la obesidad, y posteriormente el síndrome metabólico, se deben a diferentes disfunciones en las vías reguladoras del apetito y el equilibrio energético; lo que provoca la desregulación de diversos procesos (apetito, recambio de nutrientes, termogénesis o reparto energético). Estos procesos están influenciados por factores genéticos y ambientales, con complejas interacciones entre ellos, lo que convierte a esta enfermedad en un problema multifactorial [35].

Por todo ello, las causas principales del aumento actual en la prevalencia de la obesidad y el síndrome metabólico siguen sin estar claras; sin embargo, se acepta que está relacionado con cambios en el estilo de vida, con una fácil disponibilidad de fuentes de alimentos y actividades más sedentarias que resultan en una reducción general de la actividad física. Estos cambios en el comportamiento y la ingesta de energía pueden conducir a la obesidad cuando se presentan con un trasfondo genético ahorrador. El *genotipo ahorrador*, que se estima se desarrolló durante las etapas de cazadores-recolectores de la evolución humana como un mecanismo adaptativo al entorno, permite la adaptación a los ciclos estacionales de abundancia y hambruna; la capacidad de almacenar grasa en exceso durante épocas de abundancia permite la supervivencia durante los períodos de escasez [36]. La hipótesis del *genotipo ahorrador* se basó en la observación de un grupo étnico (los indios Pima en el suroeste de los Estados Unidos), que eran tradicionalmente delgados y activos pero que, actualmente, como consecuencia de la exposición a la inactividad y la alimentación moderna, son el grupo humano con mayor incidencia de obesidad y diabetes tipo 2 en el mundo. El *genotipo ahorrador* también se ha encontrado en animales salvajes, semidomesticados y rústicos y explica la tendencia a la obesidad de las especies depredadoras (perros y gatos) y omnívoras (cerdos y roedores) cuando la comida es en exceso y el ejercicio no es suficiente [37-38].

Por otro lado, teorías recientes respaldan que la base genética del *genotipo ahorrador* se modula por la interacción entre la composición corporal materna (principalmente el nivel de grasa), los desafíos nutricionales durante la gestación y la posterior movilización de los tejidos maternos. Actualmente, la hipótesis del genotipo ahorrador se ha ampliado con el concepto de *fenotipo ahorrador*; los fetos expuestos a un desequilibrio nutricional (ya sea por exceso o defecto; [39, 40]) modificarían su composición corporal, su conducta ingestiva y sus niveles de apetito/saciedad mediante cambios epigenéticos (es decir, en realidad, constituirían un *epigenotipo ahorrador*).

El *epigenotipo ahorrador* se relaciona principalmente con una severa disfunción en la regulación de la homeostasis energética y el peso corporal. El cerebro, y en particular el hipotálamo, es fundamental para la regulación del apetito y cada vez se reconoce más que el circuito neuronal crítico para la regulación integrada de la conducta alimentaria está presente antes del nacimiento y es extremadamente sensible al entorno nutricional, tanto antes como inmediatamente después del nacimiento [41-43].

Aunque los mecanismos subyacentes para la programación del apetito aún no se comprenden completamente, está clara la implicación de la leptina y la insulina como reguladores clave de estas adaptaciones [44, 45]. La leptina regularía la red del apetito no solo en adultos, sino también antes del nacimiento [46]. Otros factores susceptibles a la programación intrauterina y críticos para determinar la función del tejido adiposo y la adiposidad posterior incluyen el receptor de glucocorticoides y las enzimas 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (HSD11B) tipos 1 y 2, así como la proteína desacopladora 2 (UCP2) y el receptor activado por el proliferador de peroxisomas [47-50].

El reconocimiento de una base genética para la obesidad humana ha impulsado a identificar genes causales putativos para comprender las vías que controlan la masa corporal y la deposición de grasa en humanos, así como para proporcionar tratamientos personalizados y estrategias de prevención para luchar contra la enfermedad. Una vez descubierta la hormona leptina y su receptor LEPR, el complejo sistema que regula la composición corporal está siendo explorado intensivamente y se están desarrollando diferentes enfoques para identificar los componentes genéticos que afectan el desarrollo de la obesidad [51]. Entre estos enfoques se incluyen los estudios de genes candidatos, prin-

principalmente relacionados con la vía leptina/melanocortina, de ligamiento y de asociación del genoma completo (*genome-wide association studies* o GWAS por sus iniciales en inglés). El enfoque del gen candidato tiene como objetivo identificar genes basándose en el conocimiento sobre su función biológica, mientras que los estudios de ligamiento y GWAS se basan en el estudio ciego de todo el genoma. Los estudios GWAS tienen un gran poder para la detección de genes/alelos para trastornos complejos [52, 53] y ahora se están aplicando cada vez más debido a las importantes mejoras en las tecnologías de genotipado de alto rendimiento (chips SNP), que permiten el análisis de cientos de miles de polimorfismos a bajo coste.

En este sentido, ahora se conoce que la obesidad puede ser de origen monogénico o poligénico. Se encontró que los primeros determinantes genéticos confirmados de la obesidad en ratones y humanos eran conferidos por genes mayores únicos que producen obesidad monogénica o sindrómica, que se caracteriza por obesidad severa de inicio temprano debido a hiperfagia y a menudo asociada con trastornos adicionales del comportamiento, del desarrollo y endocrinos. Estas variantes tienen un efecto claro y drástico en el fenotipo, pero son muy infrecuentes (representan el 5% de la obesidad humana mórbida; [54], y se encuentran en un pequeño número de genes). Las variantes genéticas más abundantes que producen obesidad monogénica incluyen *LEP* [55], *LEPR* [56], *MC4R* [57, 58] *POMC* [59] y otras como la prohormona convertasa-1 (*PCSK1*; [60]), el homólogo 1 de mente única (*SIM1*; [61, 62], el factor neurotrópico derivado del cerebro (BDNF; [63]) y el receptor neurotrópico de tirosina quinasa (TRKB; [64]).

Por otro lado, junto con estas formas “puras” de obesidad, existe una clara evidencia de predisposición oligogénica o poligénica [65]. Las variantes poligénicas explican la mayor parte de la variación genética relevante para la regulación del peso corporal humano. En este modelo, el fenotipo obeso es el resultado de una combinación de varios alelos poligénicos predisponentes, cada uno con un efecto pequeño, y su interacción con el entorno. Por lo tanto, debido a un entorno favorable para el aumento de peso (abundancia de alimentos y falta de actividad física), esta forma de obesidad común se ha convertido en la principal epidemia que actualmente afecta a las sociedades modernas.

A diferencia de la obesidad monogénica, la obesidad común está determinada por muchos genes y regiones cromosómicas, involucradas en diferentes procesos como la regulación de la ingesta de alimentos, el gasto energético, el metabolismo de lípidos y glucosa y el desarrollo del tejido adiposo [66]. Así, el Mapa Genético de la Obesidad Humana resumió la situación en el campo de la obesidad poligénica común [67]. Al menos 127 genes candidatos se han asociado con fenotipos relacionados con la obesidad, más de 250 *loci* de rasgos cuantitativos (QTL) se han identificado en diferentes escaneos de todo el genoma, y más de 50 regiones genómicas contienen QTL respaldados por dos o más estudios. Como en cualquier enfermedad genética compleja, hay muchas asociaciones sin confirmar; ello se debe a que la diversidad genética y ambiental en los seres humanos dificulta la validación e interpretación de los resultados; así, actualmente solo hay 22 asociaciones genéticas respaldadas por al menos cinco estudios positivos. Estos genes incluyen miembros de la vía leptina-melanocortina, citocinas proinflamatorias y proteínas desacopladoras.

En este contexto, se espera que futuros estudios permitan confirmar sistemáticamente los hallazgos iniciales y proporcionen la información necesaria para la realización de metaanálisis, que son de suma importancia para la confirmación de variantes de riesgo de obesidad. La cantidad de evidencia necesaria para concluir que un alelo en particular es verdaderamente relevante para el fenotipo es otro aspecto relevante que aún no está claro. Un mayor número de estudios de gran escala (GWAS), estudios epidemiológicos y metaanálisis de todos los estudios disponibles, junto con el conocimiento biológico funcional, serán probablemente las mejores herramientas para tomar tales decisiones. La identificación definitiva de los *loci* genéticos responsables de las variaciones en el riesgo de desarrollar obesidad mejorará la comprensión de los mecanismos de etiología y patogénesis de la enfermedad. Así, se espera que este conocimiento abra nuevas posibilidades para el diagnóstico de genes de obesidad y, con ello, para intervenciones terapéuticas específicas.

En el caso del síndrome metabólico, las causas son también complejas e involucran interacciones metabólicas, hormonales, genéticas y de estilo de vida. Si bien la influencia de los cambios ambientales en el síndrome metabólico es evidente, los factores genéticos también son importantes al contribuir

a la amplia variación en la susceptibilidad a las diferentes características del síndrome metabólico. De hecho, los estudios de segregación y herencia respaldan una base genética para el síndrome metabólico y sus componentes [68]. La heredabilidad genética estimada varía entre los componentes individuales del síndrome, pero se propone una influencia genética subyacente significativa para todos ellos y también para el síndrome en sí [69]. La teoría del *genotipo ahorrador* afirma que los genes humanos ancestrales evolucionaron gradualmente para permitir la supervivencia en períodos de hambruna y dietas bajas en energía, al favorecer el aumento de peso y el almacenamiento de grasa. En la actualidad, estos genes ancestrales no coinciden con los estilos de vida actuales, caracterizados por baja actividad física y alimentos ricos en energía, lo que resulta en la epidemia global del síndrome metabólico.

Sin embargo, se observan diferencias en la susceptibilidad entre y dentro de los grupos étnicos y, por lo tanto, la identificación de variantes genéticas que afectan la susceptibilidad ha sido un campo de investigación activo en las últimas décadas. Los estudios sobre la base genética de este trastorno son especialmente desafiantes debido a dos razones principales. Primero, la falta de una definición estándar para el síndrome y las múltiples combinaciones posibles de fenotipos pueden llevar al descubrimiento de muchos *loci* diferentes que podrían ser específicos de un rasgo metabólico particular. Segundo, el síndrome metabólico es un rasgo complejo que probablemente resulta de la interacción entre múltiples genes en diferentes cromosomas, cada uno con pequeños efectos y con interacciones entre ellos, oscureciendo la detección de factores genéticos discretos y únicos. A pesar de estas limitaciones, los estudios han identificado varias regiones y genes de susceptibilidad para los rasgos del síndrome metabólico. Diferentes enfoques de genes candidatos han relacionado factores genéticos con el fenotipo del síndrome metabólico mediante estudios de casos y controles o basados en familias. Estos estudios han permitido la asociación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en genes de vías específicas con el fenotipo. Estos incluyen genes de adipocinas, como *ADIPOQ*, *ADIPOR1/R2*, *RSTN* o *PPAR* [70-74]; genes de lipoproteínas, como *APOC3* o *APOA5* [75-77]; genes de inflamación, como *IL6* o *TNFA* [78-81]; genes de distribución adiposa, como *LMNA* [82, 83]; y genes de glucosa y metabolismo energético, como *NOS3*, *ADRB3* o *UCP2* [84-87].

Como complemento a estudios del gen candidato, se han empleado enfoques de todo el genoma. Los análisis de ligamiento permiten detectar *loci* de rasgos cuantitativos, que son secciones de ADN estrechamente vinculadas a los genes que subyacen a los componentes cuantitativos del síndrome metabólico. La identificación de los *loci* genéticos responsables de las variaciones en el riesgo de desarrollar síndrome metabólico mejoraría la comprensión de los mecanismos de etiología y patogénesis de la enfermedad, y también facilitaría el diagnóstico y los enfoques terapéuticos personalizados.

Actualmente, la disponibilidad de potentes plataformas moleculares que permiten la genotipificación de millones de SNP ha abierto las posibilidades para el desarrollo de GWAS. Los estudios de GWAS implican el empleo de un número extremadamente alto de SNP, que cubren todo el genoma, en grandes poblaciones. Los GWAS son una herramienta poderosa para la identificación de variantes genéticas que predisponen a la enfermedad, pero los resultados encontrados hasta la fecha muestran tamaños de efecto modestos y una replicación reducida en diferentes poblaciones. Además, muchos estudios han reportado *loci* genómicos que influyen por separado en los fenotipos metabólicos individuales [88]. Estas asociaciones generalmente afectan una pequeña parte de los síntomas del síndrome metabólico y explican una pequeña parte de su heredabilidad. Estos resultados contrastan con los estudios genéticos que muestran una base genética común para la agrupación de los componentes del síndrome metabólico. Por lo tanto, aún no hay evidencia de datos biológicos que conecten los genes de susceptibilidad con vías relevantes para todo el síndrome [89], y una posible explicación debería ser que la predisposición genética al síndrome metabólico puede resultar de pequeños efectos de variantes genéticas que afectan principalmente al metabolismo lipídico (dislipidemia y obesidad) y la posible influencia epigenética.

Así, a pesar de la alta potencia de los GWAS y el potencial de futuros metaanálisis, los estudios genéticos se ven limitados por una clara falta de replicación. Esta falta de replicación en diferentes poblaciones puede deberse a la etnia, a la definición poco clara del síndrome o a resultados falsos positivos en numerosos estudios. Además, la compleja interacción entre genes y entorno, necesaria para la expresión de este fenotipo, es probablemente la principal limitación para el estudio de la base genética del síndrome metabólico.

III

DISRUPTORES ENDOCRINOS EN LA APARICIÓN DE OBESIDAD Y TRASTORNOS METABÓLICOS

Unida a la teoría del *genotipo ahorrador*, en el principio de la década de 1990 se plantea la hipótesis de los contaminantes o sustancias químicas disruptoras endocrinas; esta hipótesis se refiere a la existencia de algunos contaminantes químicos ambientales con efectos nocivos sobre la homeostasis y diferentes procesos fisiológicos en humanos y animales, mediante una acción similar a la endocrina [90]. Así, diferentes autores sugirieron que diversas sustancias químicas xenobióticas (es decir, liberadas en el medio ambiente, los alimentos y el agua potable por la actividad humana), en concentraciones ecológicamente relevantes, tenían el potencial de alterar el sistema endocrino de la fauna silvestre, doméstica y los humanos. Por lo tanto, en los años siguientes surgió una gran preocupación, a nivel mundial, sobre la posible asociación de problemas de salud humana con la exposición a disruptores endocrinos [91-93]; su influencia perjudicial es bien conocida actualmente.

Los disruptores endocrinos se relacionaron inicialmente con trastornos del desarrollo y la reproducción, pero poco después se describieron evidencias de anomalías metabólicas [94, 95] y, posteriormente, se vincularon con la obesidad, el síndrome metabólico y la diabetes tipo 2 [96]; lo que da paso a la hipótesis del *obesógeno ambiental*.

El concepto de *obesógeno ambiental* establece que algunos disruptores pueden promover la obesidad; ya sea afectando directamente la diferenciación de los adipocitos, induciendo hiperplasia e hipertrofia en ellos, o sensibilizando a las personas expuestas a la obesidad y trastornos metabólicos relacionados en caso de una nutrición y un estilo de vida inadecuados [97]. Los mecanismos que parecen desencadenar estos efectos son alteraciones de la regulación metabólica, los mecanismos de control del apetito, la homeostasis lipídica y/o las vías adipogénicas [98].

En la actualidad, los disruptores endocrinos son un grupo heterogéneo de compuestos que incluyen sustancias industriales (alquilfenoles, éteres de bifenilo policlorados, ftalatos, parabenos y bisfenol A), pesticidas (organoclorados, organofosforados y carbamatos), derivados de procesos industriales (dioxinas y furanos), algunos metales (arsénico, cadmio, plomo y mercurio) y compuestos naturales (fitoestrógenos y micotoxinas). Sin embargo, incesantemente, nuevos compuestos se agregan a la lista día tras día, y su presencia en el medio ambiente aumenta constantemente debido a las actividades industriales. En concreto, los plásticos son uno de los principales productos de las actividades industriales. El uso de plásticos ha cambiado y ha facilitado nuestra vida cotidiana, por lo que la producción de compuestos sintéticos ha aumentado notablemente [99]; de 0,5 millones de toneladas al año en 1950 a 300 millones de toneladas al año en 2010 y 430 millones de toneladas en 2024. Las ventajas de los plásticos son indiscutibles, pero su fabricación requiere el uso de diversos productos químicos, como plastificantes, estabilizantes y suavizantes; los más utilizados son el bisfenol A (BPA) y el di(2-etilhexil)ftalato (DEHP).

El plastificante BPA se emplea abundantemente para fabricar resinas epoxi y plásticos de policarbonato, ya que los plásticos y las resinas a base de BPA son transparentes; por lo tanto, el BPA se ha utilizado para biberones y biberones, equipos deportivos, CDs y DVDs, conductos de agua y para el revestimiento interior de latas de alimentos y bebidas [100]. La exposición al BPA se produce principalmente a través de la ingestión de alimentos y agua contaminados [101], ya que el BPA se filtra del revestimiento interior de botellas y latas; principalmente, cuando los alimentos y líquidos son ácidos, se cocinan o calientan en la lata, o cuando las latas se limpian con detergentes fuertes. La exposición materna al BPA también afecta a la descendencia en el útero, ya que el BPA atraviesa la placenta humana [102] y los fetos no pueden metabolizarlo adecuadamente [103].

El plastificante DEHP se utiliza para producir cloruro de polivinilo (PVC), pero actúa como disruptor con efectos tóxicos en los procesos reproductivos y de desarrollo [104-106]. El DEHP se puede encontrar en diferentes juguetes, dispositivos (incluidos dispositivos médicos) y artículos de PVC [107, 108] e incluso en el polvo que rodea los objetos [109]. El DEHP es un compuesto li-

poifílico y, por lo tanto, no se combina químicamente con el PVC; por lo tanto, el DEHP puede liberarse del plástico [110, 111]. El DEHP suele ser incorporado por los humanos en la vida diaria [112, 113] y, por lo tanto, el estudio de la exposición al DEHP se ha analizado abundantemente en modelos animales experimentales [114-117].

El uso de PVC también requiere el uso de estabilizadores para evitar su degradación; los principales estabilizadores son compuestos de estaño tetraavalente con grupos funcionales orgánicos (organoestánicos), ampliamente utilizados desde la década de 1960. El tributilestaño (TBT) se ha utilizado además como biocida industrial (específicamente, como compuesto antifúngico) en textiles y papel, sistemas de pulpa de madera y papel, cervecerías y sistemas de refrigeración industrial, así como en pinturas antifúngicas, fungicidas agrícolas y acaricidas. Los compuestos de TBT también se han utilizado como agentes anti-incrustantes marinos en pinturas de buques. Por lo tanto, la exposición a los organoestánicos se produce a través de fuentes alimentarias contaminadas, así como a través de la madera y los textiles en el hogar [97].

Actualmente se sabe que estos tres compuestos modifican el proceso de diferenciación de los adipocitos y causan el desarrollo de obesidad; así, tanto en el periodo prenatal como durante las primeras etapas de la vida postnatal, la exposición de fetos y bebés a ellos puede programar el desarrollo de obesidad [118-123]. El problema más preocupante es que, al igual que los problemas nutricionales y de estilo de vida, los disruptores también presentan efectos transgeneracionales debido a interferencias con los mecanismos epigenéticos [123-125].

Estos compuestos mencionados son los obesógenos más estudiados, pero existen otros disruptores que también pueden tener efectos sobre el desarrollo fetal; principalmente, pesticidas y metales pesados. Así diferentes pesticidas utilizados en agricultura (por ejemplo, organoclorados, organofosforados y carbamatos) se han descrito como xenoestrógenos [126-130], al igual que el BPA. La ingesta crónica de pesticidas a través del consumo de alimentos tiene un impacto negativo en la salud reproductiva femenina [131], especialmente si la exposición se produce durante períodos vulnerables del desarrollo. En el caso de los metales pesados, la exposición al cadmio en mujeres embarazadas se ha relacionado con una reducción en la duración del embarazo y el peso

del neonato, así como con trastornos del sistema endocrino e inmunitario de los niños [132]. La exposición al plomo se ha relacionado principalmente con el retraso del desarrollo neuroconductual [133]. Igual ocurre con el metilmercurio, que perjudica el desarrollo neurológico y causa diferentes efectos que van desde la muerte fetal hasta el retraso en el desarrollo y cambios cognitivos [134]. Los metales pesados son contaminantes emitidos al medio ambiente por las actividades industriales que se acumulan en los sedimentos acuáticos de lagos y océanos, persistiendo durante años y, posteriormente, acumulándose en los organismos acuáticos. Por lo tanto, la exposición a estos metales depende de los hábitos alimentarios y la ubicación geográfica, siendo especialmente expuestas las poblaciones humanas con hábitos de consumo basados en pescado, mariscos y mamíferos marinos [135].

IV

CONSECUENCIAS DE LA OBESIDAD SOBRE LA FUNCIÓN REPRODUCTIVA Y LA DESCENDENCIA

La obesidad y el síndrome metabólico han sido tradicionalmente más prevalentes y estudiados en hombres; sin embargo, su incidencia en mujeres ha aumentado drásticamente en los últimos años, debido a un aumento del 24% en comparación con tan solo el 2% en hombres desde finales de la década de 1990 [136, 137]. Además, reforzando su importancia para la salud y aunque también se describen en hombres, la obesidad y el síndrome metabólico en mujeres se relacionan con la patogénesis de trastornos reproductivos. Hace casi setenta y cinco años, Rogers y Mitchell [138] acreditaban que la obesidad está presente en aproximadamente el 40% de las mujeres con trastornos reproductivos. Estos trastornos pueden variar, en mujeres en edad reproductiva, desde irregularidades menstruales y oligoanovulación crónica hasta bajas tasas de embarazos y partos, e incluso infertilidad [139-141]. Si se logra el embarazo, la obesidad materna es una condición de alto riesgo; un hecho destacado por primera vez por Cochrane [142] y confirmado posteriormente [139, 143, 144], y que se ha relacionado con un crecimiento fetal aberrante (feto más pequeño o más grande de lo normal; el primero conduce a mortalidad perinatal, el segundo a parto por cesárea) y una maduración fetal aberrante (defectos del tubo neural, maduración tardía de órganos, parto prematuro, muerte fetal y programación de enfermedades metabólicas en la vida adulta). A partir de estas evidencias, se desarrollan una cantidad enorme y creciente de estudios, tanto observacionales como intervencionistas, sobre la relación entre la obesidad y la disfunción reproductiva.

Aunque muchas mujeres obesas son multíparas, la obesidad se ha relacionado en gran medida con la patogénesis de trastornos reproductivos; ello se debe a que los efectos varían con la edad y el estado reproductivo [138]. Las adolescentes obesas, debido a la mayor cantidad de grasa corporal y al aumento de

la secreción de leptina, pueden mostrar un inicio precoz de la actividad cíclica ovulatoria (menarquía) en comparación con las adolescentes de peso normal. Posteriormente, las mujeres en edad fértil pueden verse afectadas por alteraciones menstruales (desde irregularidades ovulatorias hasta anovulación crónica), síndromes de ovario poliquístico y, por lo tanto, tasas de embarazo reducidas e incluso infertilidad. Además, las mujeres embarazadas obesas pueden verse afectadas por un mayor riesgo de aborto, aborto espontáneo y parto prematuro; en caso de descendencia, esta puede ser más propensa a diferentes enfermedades.

El principal control de la función reproductiva, al igual que en el caso de la homeostasis energética, se produce a nivel hipotalámico y mediante un sistema de retroalimentación, el eje hipotálamo-hipofisario-ovario. El decapeptido GnRH (por sus iniciales en inglés, hormona liberadora de gonadotropinas) es sintetizado por las neuronas del área preóptica del hipotálamo y liberado de forma pulsátil, aproximadamente cada 60 min, dentro del sistema portal que conecta con la hipófisis. La GnRH se une a su receptor de alta afinidad (GnRH-R) y, a través de la proteína quinasa-C, induce la síntesis y secreción de las gonadotropinas FSH y LH (hormona folículo estimulante y hormona luteinizante, respectivamente); en la mujer, las gonadotropinas promueven la maduración del folículo ovárico, la ovulación y la secreción de esteroides, la ovulación y la función lútea. La expresión de GnRH-R está regulada por la propia GnRH y los esteroides gonadales [145].

A su vez, la función reproductiva está modulada por factores ambientales; principalmente por el fotoperiodo, el termoperiodo y la nutrición. El estado metabólico y la disponibilidad de nutrientes influyen en la homeostasis energética corporal que, a su vez, afecta al eje hipotálamo-hipófisis-ovario. La GnRH es el mensajero primario involucrado en la función reproductiva. Sin embargo, la actividad del sistema neuronal que produce GnRH y gonadotropinas está controlada por diferentes factores de crecimiento (factores de crecimiento transformantes, $TGF\alpha$ y $TGF\beta$ -1, factores de crecimiento similares a la insulina, IGF-I y II, factor de crecimiento de fibroblastos, FGF, factor de crecimiento epidérmico, EGF, y diferentes neurotransmisores; principalmente, serotonina, 5-HT, ácido gamma amino butírico, GABA, catecolaminas, CA; [146, 147]). Otros factores involucrados son el neuropéptido-Y orexigénico (NPY), aminoácidos opioides y neuroexcitadores (glutamato en particular).

El péptido NPY actúa sobre los procesos de homeostasis energética y está regulado por la señalización de leptina y glucosa/insulina; esto establece un escenario común para la reproducción, la nutrición y los factores metabólicos, con la hormona leptina como protagonista. De hecho, el descubrimiento de la hormona leptina [30] y su receptor ([54] marcó el inicio de una nueva era en el conocimiento de la fisiología de muchos órganos y sistemas, ya que recordemos que la leptina no sólo participa en la regulación de la ingesta/gasto energético y la composición corporal, sino que también afecta a los sistemas inmunitario, cardiovascular y reproductivo [148].

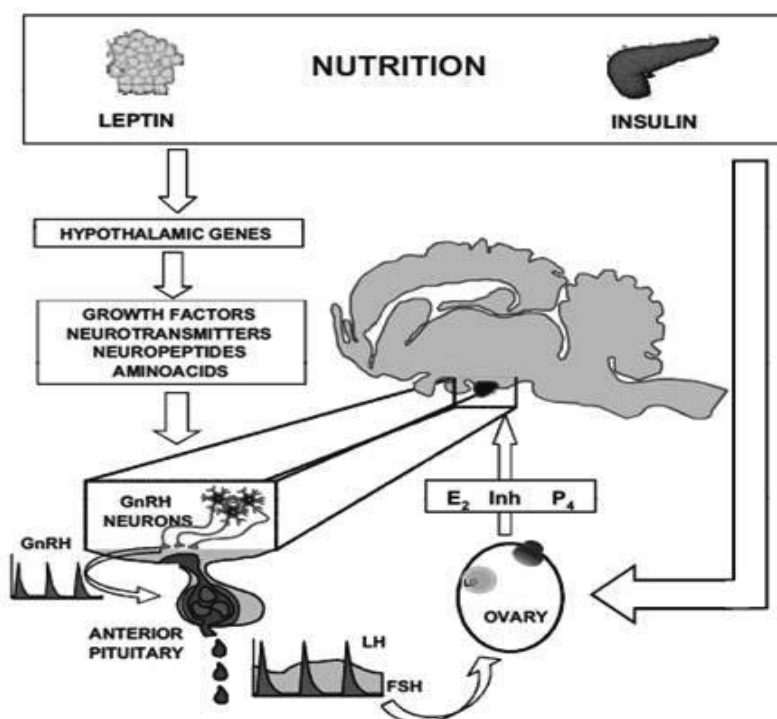
En el sistema reproductivo, la señalización del estado nutricional proviene principalmente de leptina, a largo plazo, y de glucosa/insulina, a corto plazo. Estos factores metabólicos actúan sobre el apetito y los centros reproductivos del hipotálamo activando o desactivando diferentes conjuntos de genes hipotalámicos. El principal implicado en la función reproductiva es el gen *Kiss1*. *Kiss1* se ha considerado el integrador esencial de las señales internas (esteroides gonadales) y externas (estado nutricional) para la regulación de la secreción de GnRH. La acción de *Kiss1* se ejerce, sobre los factores de crecimiento y neurotransmisores mencionados anteriormente, a través de su producto, la kisspeptina, y su receptor GPR54 acoplado a la proteína G [149, 150].

Sin embargo, la leptina actúa no solo a nivel hipotalámico, sino también a través de receptores ubicados en otros tejidos; el endometrio uterino, el ovario, el folículo y el propio ovocito, las células endometriales, el trofoblasto, el embrión preimplantacional y el feto [147-157]. Por lo tanto, la leptina está directamente asociada con mecanismos que regulan la consecución de la pubertad, la fertilidad y la gestación en varias especies [58, 158,159], teniendo un papel principal, como se demostró en el modelo de ratones obesos, en la secreción de gonadotropinas [160], en la esteroidogénesis ovárica [161, 162] y en la regulación del desarrollo e implantación del embrión [163, 164].

Además, la leptina fue pronto identificada como un potente modulador de la respuesta inmune [165-167], regulando positivamente la respuesta inflamatoria; que, en caso de exceso, puede estar participando en la patogénesis de varias complicaciones en individuos obesos [168]. A nivel del sistema reproductivo, la secreción excesiva de leptina por el tejido adiposo puede inducir altos niveles circulantes de mediadores pro-inflamatorios que pueden compli-

car la fertilidad [169]. Estos compuestos inhiben la esteroidogénesis modulada por las gonadotropinas, estimulan la síntesis de prostaglandinas por las células lúteas y promueven la apoptosis [170]. Además, localmente, la leptina estimula la secreción de citocinas proinflamatorias TNF, IL-1, IL-6 y prostaglandinas PGE_2 y PGF_α de la placenta [171] y las etapas inflamatorias modifican la receptividad endometrial y afectan las interacciones trofoblasto-endometrio [172].

Estas complejas interacciones provoca que los efectos de la obesidad varíen con la edad y el estado reproductivo [139, 143, 144], desde la menarquía precoz en adolescentes hasta alteraciones menstruales (oligoamenorrea o anovulación crónica), mayor incidencia del síndrome de ovario poliquístico y tasas reducidas de embarazo, e incluso infertilidad, en mujeres en edad reproductiva; posteriormente, las mujeres embarazadas pueden verse afectadas por abortos, morbilidad y mortalidad fetal y partos prematuros [42, 139, 146].



Representación esquemática de los factores neuroendocrinos y metabólicos que regulan la función reproductiva femenina (Tomado de *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, 2011, 11, 285-301).

4.1. Influencia de la obesidad en el inicio de la actividad ovulatoria cíclica (menarquía)

Es bien sabido que la menarquía está precedida por cambios en la forma y composición corporal de las niñas, lo que implica un aumento significativo de la grasa corporal, tanto absoluta como relativa [173]. Estudios previos indicaban que la relación peso corporal magro/grasa cambia de 5:1 a 3:1 en el período previo a la pubertad [174]. Las teorías más actuales (teoría lipostática) plantean que, de hecho, la actividad endocrina del eje hipotálamo-hipófisis-ovario en las hembras jóvenes de todas las especies de mamíferos se detiene hasta que alcanzan un peso y composición corporales críticos, lo que permite el inicio de la pubertad y el posterior mantenimiento de la función reproductiva [175].

La señal endocrina que vincula la edad, el peso corporal, las reservas de grasa y la pubertad, es la hormona leptina. La relación entre la leptina y el inicio de la pubertad se ha demostrado en varios modelos animales y humanos. Primero, en ratones ob/ob, que permanecen prepúberes [106, 176]; más tarde en animales grandes. En novillas y cerdas jóvenes prepúberes, las concentraciones de leptina y la expresión de sus receptores aumentan en paralelo con la edad y la adiposidad, hasta que se alcanza la pubertad [177, 178]. Estudios tanto en roedores como en humanos indican que la leptina puede ser el vínculo crítico entre la grasa corporal y la pubertad; desempeñando un papel permisivo en lugar de actuar como la señal metabólica crítica que inicia la pubertad [179, 180], de acuerdo con la teoría lipostática.

Así, el aumento de la cantidad de grasa corporal y la mayor secreción de leptina en las niñas obesas indujeron una edad de menarquía más temprana que en las adolescentes de peso normal [181].

El aspecto más preocupante al considerar los efectos de la obesidad en las niñas, además de una menarquía precoz, es la existencia de complicaciones reproductivas posteriores cuando la obesidad se presenta durante la infancia y la etapa prepuberal. La prevalencia de trastornos menstruales y el desarrollo del síndrome de ovario poliquístico aumentan significativamente [182-184], y la menopausia puede presentarse varios años antes [185].

4.2. Influencia de la obesidad y el síndrome metabólico en la ciclicidad reproductiva y la ovulación

Actualmente, la sobrenutrición y la obesidad en mujeres adultas están claramente relacionadas con deficiencias en el desarrollo folicular y la ovulación, llegando incluso a provocar subfertilidad e infertilidad anovulatoria [139]. Estas alteraciones se acentúan cuando la obesidad se inicia en la infancia y la juventud, y las niñas obesas con menarquía temprana presentan una mayor prevalencia de trastornos menstruales [184] y, además, una menopausia más temprana [186]. Las causas de deficiencias en el desarrollo folicular y la ovulación pueden encontrarse tanto a nivel sistémico como local. A nivel sistémico, la obesidad se ha relacionado con la hipersecreción de las gonadotropina FSH y LH y el desequilibrio en la proporción entre ellas [187]. A nivel local, se ha hipotetizado que las alteraciones en el crecimiento y desarrollo folicular están relacionadas con la hiperleptinemia/resistencia a la leptina y la hiperinsulinemia/resistencia a la insulina; ambas características, presentes en mujeres obesas.

La hormona leptina tiene un efecto directo sobre el ovario a través de sus receptores en el ovario, el folículo y el ovocito. Unos niveles circulantes adecuados de leptina son esenciales para la función ovárica, mientras que concentraciones elevadas de la hormona se han asociado con efectos adversos sobre las células de la granulosa y la teca, afectando el desarrollo folicular, la maduración ovocitaria y la ovulación [188]. Además, la leptina también tiene un efecto indirecto: concentraciones elevadas de la hormona inducen la formación de especies reactivas de oxígeno y daño oxidativo en las células endoteliales [162]. Esta condición puede afectar el aporte de oxígeno al folículo y, por tanto, la maduración folicular y ovocitaria [189].

El exceso de insulina afecta indirectamente la función ovárica, principalmente al inhibir la producción hepática de globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG, por sus iniciales en inglés); esta situación constituye el primer paso de un proceso que causa hiperandrogenismo. La disminución de la secreción de SHBG aumenta las concentraciones de esteroides libres circulantes (testosterona, dihidrotestosterona y androstenodiol). Inmediatamente, este aumento de esteroides libres circulantes se compensa con un mayor acla-

ramiento metabólico de estas hormonas; lo que, a su vez, provoca un aumento compensatorio de la síntesis de andrógenos, induciendo hiperandrogenismo [190].

El hiperandrogenismo se agrava en mujeres obesas [191], ya que el tejido adiposo tiene un papel destacado en la producción, el almacenamiento y el metabolismo de esteroides. El hiperandrogenismo tiene efectos deletéreos en la función reproductiva, tanto a nivel hipofisario (aumento de la retroalimentación negativa que disminuye la secreción de gonadotropinas) como ovárico (aumento de la apoptosis en las células de la granulosa y efectos negativos en el ovocito), que contribuyen a alteraciones en la ciclicidad ovárica y la ovulación [190]. Además, la combinación de hiperinsulinemia e hiperandrogenismo en mujeres obesas está implicada en la aparición de ovario poliquístico.

El ovario poliquístico es un trastorno reproductivo caracterizado por diferentes componentes neuroendocrinos, celulares y metabólicos que causan hiperandrogenismo y, por consiguiente, oligonovulación o anovulación e infertilidad. El ovario poliquístico se ha asociado con obesidad, resistencia a la insulina y dislipidemia y, así, se ha descrito que su prevalencia es cuatro veces mayor en mujeres con sobrepeso [192] y, lo que es más alarmante, en mujeres que tuvieron una menarquía temprana por condición obesa. Así, las altas concentraciones sanguíneas de insulina y leptina o los síndromes de resistencia a la leptina y la insulina, que inducen disfunción del eje hipotálamo-hipofisario-ovárico, se han descrito como factores predisponentes [193]; destaca la hiperinsulinemia. La hiperinsulinemia puede causar hiperandrogenemia y, a su vez, la hiperandrogenemia causa ovario poliquístico. Esta hipótesis se ve reforzada por el hecho de que las pérdidas de peso en mujeres obesas con ovario poliquístico mejoran la condición de resistencia a la insulina y permiten la restauración de la ovulación y la fertilidad. Además, los tratamientos sensibilizadores a la insulina pueden reducir los niveles de andrógenos en la sangre y mejorar tanto la función ovulatoria como la ciclicidad, así como las tasas de fertilidad, independientemente de la pérdida de peso [194].

La aparición de ovario poliquístico también se relaciona con alteraciones concomitantes que actúan a nivel hipotalámico y que conllevan alteraciones de la secreción de GnRH. Un factor regulador principal de la secreción de GnRH es el NPY, también secretado por neuronas hipotalámicas, y cuya secreción

está regulada por la señalización de leptina y glucosa/insulina. En mujeres obesas, la alteración de los niveles circulantes de insulina y leptina provoca cambios en la secreción de NPY y, por consiguiente, de GnRH [195-196].

Estas dificultades en la función reproductiva provocan que la mayoría de las mujeres obesas afectadas se sometan a tratamientos de reproducción asistida. Sin embargo, si persisten los factores deletéreos, la disfunción reproductiva persistirá y el éxito de los ciclos inducidos también se verá comprometido [197], ya que los protocolos de reproducción asistida consisten en una secuencia de acciones, cada una de las cuales constituye un punto crítico que compromete el éxito final del tratamiento. En mujeres obesas, al igual que en mujeres no obesas, el primer punto crítico es la respuesta ovárica al tratamiento con hormonas exógena. Como ya se mencionó, el crecimiento folicular se altera en mujeres obesas; por lo tanto, una causa principal del fracaso de los ciclos asistidos es una baja respuesta ovárica a las hormonas exógenas [198]. En mujeres obesas con baja respuesta, al igual que en personas no obesas, un bajo crecimiento folicular suele provocar la cancelación del ciclo de reproducción asistida. Si el tratamiento continúa, el éxito del mismo se ve comprometido por la obtención de menos ovocitos y de menor calidad [199]. La primera opción para la baja respuesta ovárica sería la administración de dosis más altas de gonadotropinas exógenas; sin embargo, debe tenerse en cuenta el mayor riesgo de hiperestimulación ovárica.

4.3. Influencia de la obesidad y el síndrome metabólico en la gestación

La fertilidad de las mujeres obesas se ve afectada, además de por alteraciones en la función ovárica, por alteraciones en la implantación y la placentación; lo que aumenta el riesgo de pérdida gestacional durante el primer trimestre del embarazo [200]. Los trastornos en la implantación y la placentación pueden deberse a una menor competencia para el desarrollo embrionario o a una alteración del entorno oviductal/uterino durante las primeras etapas del desarrollo [201], con deficiencias en la receptividad endometrial y, posteriormente, en la función del trofoblasto. Los factores primarios que causan fallos en la implantación, el desarrollo embrionario temprano y la placentación son relativamente desconocidos, pero la mayoría de las evidencias apuntan a con-

diciones de resistencia a la insulina y la leptina, así como a alteraciones en la acción de las adipocinas.

La insulina participa activamente en el crecimiento, el ciclo y la función endometrial; por lo tanto, la resistencia a la insulina puede afectar la implantación y el desarrollo temprano. Los efectos nocivos de la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina durante la obesidad se han relacionado, al igual que en las alteraciones ovulatorias, con el aumento de los niveles de estrógenos circulantes. La hiperestrogenemia puede tener efectos nocivos sobre la receptividad endometrial, ya sea directamente o al reducir la proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGFBP1) y la producción de glicodelina, lo que puede alterar la adhesión en la interfaz materno-fetal y causar pérdidas embrionarias espontáneas [202]. La fertilidad en mujeres obesas con resistencia a la insulina puede verse incluso agravada por alteraciones en el transporte de glucosa a nivel endometrial, debido a una expresión disminuida del transportador de glucosa tipo 4 (GLUT4; 155].

Por otro lado, existe una creciente evidencia sobre el papel principal de la leptina y su receptor en la implantación y la receptividad uterina. Ambos se expresan en el oviducto y el endometrio [157]; sin embargo, la expresión del gen *LEPR* se regula de forma diferencial en los sitios de implantación y no implantación en el endometrio, lo que sugiere una interacción reguladora con el embrión. El impacto de la leptina en la implantación se ha relacionado con un efecto angiogénico directo, ya que las células endoteliales responden con neovascularización a la estimulación del receptor de leptina. La hormona leptina también tiene una actividad angiogénica indirecta, ya que modula otros factores angiogénicos [203]; principalmente, el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y la óxido nítrico sintasa endotelial tipo 3 (NOS3). Posibles alteraciones en la vía LEP/LEPR-NOS3-VEGF podrían estar relacionadas con alteraciones en la implantación y la placentación posterior.

Por otro lado, cada vez es más reconocido el papel de diferentes adipocinas, ya que el embarazo en mujeres obesas se asocia con niveles más altos de proteínas de fase aguda y citocinas pro-inflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), diferentes interleucinas (IL-1, IL-6 y IL-8) y la proteína C reactiva [204-205]. En este sentido, un estado pro-inflamatorio,

como sucede en las madres obesas, puede afectar negativamente el éxito del embarazo [206, 207].

Posteriormente, los efectos de la obesidad persisten durante el embarazo, ya que afecta al metabolismo y a los patrones de desarrollo de embriones y fetos. Los embriones y fetos de una mujer obesa están expuestos a la hiperglucemia e hiperlipidemia maternas. Al nacer, la descendencia presenta un tamaño y peso corporales alterados, dependiendo del estado metabólico de su madre. Por lo general, los recién nacidos presentan macrosomía y son grandes para la edad gestacional y obesos, con altas cantidades de grasa corporal; además, pueden manifestar visceromegalia (principalmente en corazón, hígado y bazo). Sin embargo, aunque en menor medida, las madres obesas pueden tener descendencia con peso corporal reducido; algunos de ellos nacidos de forma prematura y otros nacidos a término, pero ambos afectados por retraso del crecimiento intrauterino. Las características de los recién nacidos están influenciadas no sólo por la obesidad materna, sino también por el metabolismo materno; los hijos de madres obesas diabéticas son frecuentemente obesos, mientras que los hijos de madres obesas no diabéticas no suelen tener sobrepeso. Sin embargo, en la edad adulta, ambos fenotipos tienen un mayor riesgo de tener sobrepeso debido a programación prenatal. Otras consecuencias de la obesidad materna durante la gestación son un mayor porcentaje de cesáreas debido al sobrepeso y el tamaño excesivo de los hijos, así como el aumento de las tasas de parto prematuro y muerte fetal. Finalmente, la incidencia de defectos del tubo neural y retraso en la maduración de órganos también aumenta en madres obesas.

Glucosa, ácidos grasos libres (AGL), lípidos y aminoácidos son esenciales para un desarrollo fetal adecuado; el feto los obtiene del aporte materno. El principio de la gestación se caracteriza por hiperfagia y aumento de la lipogénesis, lo que causa acumulación de grasa, mientras que el final de la gestación se caracteriza por una ingesta reducida pero una descomposición acelerada de los depósitos de grasa previamente acumulados, que se denomina lipólisis [208]. La lipólisis materna durante el último trimestre del embarazo es importante para el desarrollo fetal, ya que produce AGL y glicerol, que, en el hígado materno, se convierten en triglicéridos, cuerpos cetónicos y glucosa que se transfieren al feto [209]. Por lo tanto, los biomarcadores comunes del emba-

razo y el desarrollo fetal son la glucemia materna en ayunas, los triglicéridos, el colesterol total, el colesterol VLDL, el colesterol LDL, el colesterol HDL y la proteína A asociada al embarazo (PAPP-A) [210]. Otros biomarcadores son los transportadores placentarios que median la transferencia de aminoácidos, glucosa (GLUT) y ácidos grasos (FATP) [211].

Un buen ejemplo es la captación fetal de aminoácidos, que debe realizarse mediante dos procesos de transporte activos. El primero, conocido como transportador del sistema A (SNAT1, SNAT2 y SNAT4), facilita la captación de aminoácidos neutros pequeños no esenciales (p. ej., alanina, glicina y serina) en contra de su gradiente de concentración, transportando simultáneamente sodio al interior de la célula [212, 213]. El segundo, conocido como transportador del sistema L (LAT1 y LAT2), facilita el intercambio de aminoácidos no esenciales por aminoácidos esenciales (p. ej., leucina y fenilalanina) en contra de su gradiente de concentración, independientemente del sodio [214].

La glucosa atraviesa la placenta mediante transporte facilitado, principalmente por GLUT1 [215], y generalmente se considera la principal fuente de energía para los fetos en desarrollo [216]. Un cierto grado de resistencia a la insulina materna es un estado fisiológico normal durante el embarazo para facilitar el suministro de glucosa a la unidad fetoplacentaria, ya que favorece el adecuado desarrollo fetal. Sin embargo, en el caso de mujeres afectadas por resistencia a la insulina severa e hiperglucemia (ya sea por diabetes o prediabetes preexistentes o por diabetes gestacional), los fetos están expuestos a altas concentraciones intrauterinas de glucosa; como consecuencia, su desarrollo se acelera y el resultado es macrosomía. La diabetes también altera la expresión y la actividad del transportador de glucosa GLUT1 placentario, lo que aumenta el transporte de glucosa placentaria incluso en ausencia de hiperglucemia materna y contribuye a la macrosomía fetal y otras consecuencias [217].

El colesterol y los triglicéridos aumentan también en el plasma materno durante la gestación. El colesterol es esencial para la proliferación celular, el desarrollo tisular y la homeostasis endocrina del feto en crecimiento, y los triglicéridos son una fuente clave de energía para su crecimiento y desarrollo. Los ácidos grasos libres (AGL) captados por la placenta y transportados al feto provienen principalmente de los ácidos grasos no esterificados maternos y de los ácidos grasos esterificados presentes en los triglicéridos transportados

por lipoproteínas. Los AGL, tras oxidarse en el hígado materno como cuerpos cetónicos, representan una fuente alternativa de energía para el feto. Se ha sugerido que los triglicéridos maternos son una fuente primaria de ácidos grasos debido a su aumento sustancial al final de la gestación en comparación con los ácidos grasos no esterificados [218].

Algunos ácidos grasos esenciales deben obtenerse de los alimentos, ya que los humanos y otros mamíferos no pueden sintetizarlos debido a la falta de las enzimas desaturasas requeridas. Entre ellos, son muy importantes dos ácidos grasos poliinsaturados de cadena corta (PUFA): ácido alfa-linolénico (ALA; con un doble enlace de tres átomos de carbono, también llamado ácido graso omega-3) y ácido linoleico (LA; con un doble enlace de seis átomos de carbono, también llamado ácido graso omega-6). Algunos PUFA de cadena larga (LC-PUFA) de tipo omega-3 (ácido eicosapentaenoico, EPA, y ácido docosahexaenoico, DHA) y omega-6 (ácido gamma-linolénico, GLA, y ácido araquidónico, AA) son condicionalmente esenciales; por ejemplo, durante el embarazo [219]. Los mamíferos tienen una capacidad limitada para sintetizarlos y, en caso de una mayor necesidad durante la gestación, tienen que obtenerlos de los alimentos.

En gestación, los LC-PUFA maternos se transfieren al feto, ya sea asociados a triglicéridos o, en menor proporción, como AGL. La captación placentaria selectiva de LC-PUFA a través de las proteínas de unión a ácidos grasos de la membrana plasmática resulta en mayores concentraciones de LC-PUFA en el feto que en la circulación materna. Durante el último tercio del embarazo, el AA y el DHA son los principales LC-PUFA maternos. El AA determina el crecimiento y desarrollo fetal adecuado, pero también el metabolismo postnatal, mientras que el DHA es indispensable para el desarrollo del sistema nervioso central y esencial para las funciones cognitivas y visuales. Tanto el DHA como el EPA son importantes para las funciones inmunitarias. El suministro adecuado de LC-PUFA también es necesario durante el desarrollo postnatal temprano; es decir, durante la lactancia [220].

En caso de embarazos afectados por obesidad y/o trastornos metabólicos que causan hiperlipidemia, y usualmente dislipidemia, los fetos están expuestos a altas concentraciones intrauterinas de AGL y lípidos, que también inducen un desarrollo fetal acelerado. Durante los últimos años, ha aumentado

en popularidad la suplementación dietética de mujeres embarazadas obesas con PUFAs, principalmente omega-3, especialmente si desarrollan cualquier componente del síndrome metabólico o sus complicaciones, [219, 221]. Sin embargo, la relación beneficio-riesgo de aumentar la ingesta de PUFAs durante el embarazo no se ha establecido completamente. Se sabe que el exceso de PUFAs en la dieta puede, especialmente en embarazos con síndrome metabólico o diabetes, tener efectos inhibidores sobre las enzimas desaturasas y elongasas, disminuyendo la síntesis de LC-PUFA. El exceso de PUFAs en la dieta también puede aumentar la peroxidación y puede reducir la capacidad antioxidante de feto y placenta, deteriorando la homeostasis fetal [221]. Además, la información sobre la adaptación del metabolismo placentario de los AGPI-CL en respuesta al síndrome metabólico es limitada y contradictoria. No obstante, debido a la creciente prevalencia de enfermedades relacionadas con la nutrición (obesidad, síndrome metabólico y diabetes), la suplementación dietética con AGPI-CL se utiliza cada vez más, aunque los riesgos podrían superar los beneficios, dado que la evaluación aún es escasa.

El aporte adecuado de nutrientes y oxígeno al feto depende de una adecuada disponibilidad materna, pero también de una adecuada transferencia placentaria. Por lo tanto, el desarrollo fetal depende de una función placentaria eficiente. La eficiencia placentaria está determinada principalmente por su amplio desarrollo (adecuada interdigitación de la placenta y el endometrio para aumentar la superficie de intercambio, la dilatación vascular y la angiogénesis; [222]), lo que favorece el flujo sanguíneo y el intercambio de nutrientes y oxígeno con el feto. La insuficiencia placentaria se considera actualmente un factor principal de complicaciones del embarazo [223]. En caso de alteración de la función placentaria, diversas proteínas, hormonas, ARNm y miARN secretados por la placenta que atraviesan la barrera materno-fetal pueden utilizarse como biomarcadores específicos, ya que son medibles en la circulación materna [224-226].

En gestaciones normales, la dilatación vascular y la neoangiogénesis son señalizadas por factores proangiogénicos secretados por la placenta; principalmente, por el factor de crecimiento placentario (PlGF) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Estos procesos son impulsados principalmente por el óxido nítrico (NO) y su sintasa constitutiva endotelial (eNOS o NOS3) que son un potente estimulador de la vasodilatación y la angiogénesis. Especí-

ficamente, la disfunción endotelial atribuible a NOS3 se puede encontrar tanto en el trofoblasto, las células que se adhieren y penetran el endometrio uterino en el momento de la implantación, como en el trofoblasto extraveloso, induciendo vasodilatación y angiogénesis en las células maternas durante el proceso de implantación [227-229]. Durante el período posterior a la implantación y el desarrollo placentario temprano, se plantea la hipótesis de que NO y NOS3 están involucrados en la remodelación tisular, la inmunosupresión y la vaso-regulación [230]. En consecuencia, se reconoce que una biodisponibilidad reducida de NO está involucrada en la patogénesis de la restricción intrauterina del crecimiento fetal [231]. Al mismo tiempo, el desequilibrio en los niveles de reguladores angiogénicos, que provoca un flujo sanguíneo placentario y fetal insuficiente, compromete el suministro de oxígeno. Un suministro insuficiente de oxígeno causa hipoxia y estrés oxidativo en la unidad fetoplacentaria [232]. Estos factores también predisponen a trastornos cardiovasculares en etapas juveniles y adultas, situaciones que resaltan la necesidad de biomarcadores adecuados. Entre los diferentes biomarcadores, diversos autores están abordando la utilidad de la dimetilarginina asimétrica (ADMA), un aminoácido endógeno derivado de la degradación proteolítica de proteínas metiladas con arginina [233], que, al competir con la arginina, sustrato de la NOS, antagoniza la producción de NO. La ADMA se utiliza en adultos con riesgo cardiovascular y se propone como un marcador fiable para identificar a fetos y neonatos con mayor riesgo de trastornos de salud [234].

Este conocimiento también proporciona dianas terapéuticas específicas. Existen varios aminoácidos precursores del NO; principalmente la arginina, sino también la ornitina, la leucina, la glutamina y la prolina. Estos aminoácidos también regulan la síntesis de poliaminas y proteínas; por lo tanto, además de favorecer el desarrollo placentario y la transferencia de nutrientes, contribuyen al desarrollo del embrión. Los resultados obtenidos en condiciones experimentales en cerdos, aunque algunos hallazgos han sido contradictorios, sugieren que la suplementación con aminoácidos puede ser una estrategia prometedora para reducir la incidencia de restricción del crecimiento intrauterino en la descendencia [235-238].

Los fetos con restricción del crecimiento pueden modificar su regulación metabólica para asegurar un mejor uso de los escasos nutrientes que tienen.

El mecanismo se basa en mostrar resistencia a la insulina, lo que les permite aprovechar el exíguo suministro de glucosa que reciben. Sin embargo, por otro lado, los altos niveles de insulina aumentan la síntesis de inhibidores de NO [239], perjudicando el flujo sanguíneo útero-placentario y reduciendo el suministro de oxígeno y nutrientes a los fetos [240]. De hecho, los fetos con restricción presentan un estado de inflamación de bajo grado que afecta la proliferación de células inmunes y las citocinas séricas, así como una mayor susceptibilidad a las infecciones [241]. En consecuencia, el uso de marcadores de inflamación sistémica, como el factor de necrosis tumoral α (TNF α) y la interleucina-6 (IL-6), es un campo de estudio prometedor [242].

Finalmente, debemos considerar la existencia de una herencia transgeneracional del síndrome metabólico, que se relaciona con el hecho de que las mujeres embarazadas con síndrome metabólico suelen caracterizarse por resistencia a la insulina e hiperglucemia (ya sea por diabetes preexistente, o prediabetes o diabetes gestacional), así como dislipidemia con hipertrigliceridemia [243]. En consecuencia, sus fetos están expuestos a altas concentraciones de glucosa y lípidos [208], desarrollan macrosomía y, al nacer, los neonatos suelen ser grandes para la edad gestacional y obesos. Las mujeres con síndrome metabólico también pueden desarrollar trastornos hipertensivos de diversa gravedad (desde hipertensión hasta preeclampsia y eclampsia). Estos trastornos inducen alteraciones vasculares de la placenta (dilatación vascular inadecuada y angiogénesis [244]) y reducen el aporte de oxígeno y nutrientes al feto provocando un mayor estrés oxidativo y un estado inflamatorio de bajo grado debido a la hipoxia [245]. Por lo tanto, la situación provoca restricción del crecimiento intrauterino, parto prematuro e incluso mortalidad materna y/o de la descendencia en caso de complicaciones graves [246]. En todos los casos, el resultado es el desarrollo de alteraciones metabólicas en la descendencia. En consecuencia, los trastornos metabólicos se propagan a la progenie posterior, poniendo en peligro la supervivencia de generación en generación.

V

ORIGEN PRENATAL DE LA OBESIDAD Y EL SÍNDROME METABÓLICO; PROGRAMACIÓN PRENATAL

Clásicamente, se consideraba que el trasfondo genético era el responsable del fenotipo de un individuo, con modificaciones limitadas por la influencia de factores ambientales. Este concepto comenzó a cambiar en 1976, cuando Ravelli y sus colaboradores informaron sobre la aparición de obesidad en individuos nacidos treinta años antes, durante el evento conocido como la *Hambruna Holandesa* o el *Invierno del Hambre Holandés* [247].

La *Hambruna Holandesa* tuvo lugar durante la Segunda Guerra Mundial, de octubre de 1944 a mayo de 1945, cuando las fuerzas alemanas ocuparon los Países Bajos occidentales, alrededor de Ámsterdam. Las fuerzas alemanas impusieron un embargo de transporte sobre los alimentos, y la comida se limitó a poco más que pan y patatas. La energía de las raciones decayó de alrededor de 2.000 kcal/día a menos de 900 kcal/día en noviembre de 1944 y menos de 500 kcal/día en abril de 1945 [248]. La hambruna cesó con la liberación en mayo de 1945 y fue seguida por una época de abundante suministro de alimentos por parte de los Aliados en el período de posguerra. Las gestaciones expuestas a la hambruna durante el embargo mostraron un peso y tamaño placentario y neonatal reducido en comparación con las gestaciones antes y después del período de hambruna [249, 250]; es decir, esos individuos estuvieron expuestos a desnutrición materna e insuficiencia placentaria, y los fetos se vieron afectados por retraso del crecimiento intrauterino (RCIU). El RCIU es la incapacidad de los fetos para alcanzar la tasa de crecimiento genéticamente establecida para su raza o etnia. Puede clasificarse como «simétrico» o «asimétrico», con diferentes grados de gravedad. El RCIU simétrico se caracteriza por una reducción uniforme del tamaño del feto y sus órganos desde las primeras etapas del embarazo, y está asociado a factores genéticos e infecciosos.

El RCIU asimétrico se caracteriza por una reducción del tamaño de algunos órganos, mientras que otros permanecen normales. Se asocia principalmente a un aporte nutricional insuficiente al feto debido a factores maternos o placentarios durante la última etapa de la gestación, cuando las necesidades fetales son máximas.

Estudios posteriores indicaron que las personas nacidas durante la *Hambruna Holandesa* no solo presentaban obesidad en la edad adulta, sino también dislipidemia aterogénica, resistencia a la insulina, diabetes y enfermedades cardiovasculares [248, 251-253]. Estos datos constituyeron la primera evidencia de un factor ambiental (desnutrición materna o insuficiencia placentaria) que afectaba los patrones de desarrollo prenatal y postnatal, así como el estado de salud en la edad adulta. Poco después se reportaron otras evidencias; en las décadas de 1980 y 1990, Barker y sus colegas publicaron un amplio conjunto de estudios epidemiológicos que relacionaban el RCIU consecutivo a la desnutrición materna con diabetes, enfermedades vasculares e hipertensión en la edad adulta [248, 254]. A partir de estos registros, se desarrolló la hipótesis de Barker, que sostiene que los entornos intrauterinos alterados modifican el crecimiento fetal y comprometen el crecimiento y el rendimiento postnatal [255].

Estas evidencias dieron lugar a los conceptos de *programación prenatal* y de una modulación prenatal de la salud y la enfermedad en la edad adulta [256]. Durante el desarrollo prenatal, la descendencia atraviesa períodos críticos de proliferación y diferenciación celular y necesita un suministro adecuado de oxígeno y nutrientes para un desarrollo adecuado. El suministro de oxígeno y nutrientes puede verse afectado por déficits maternos o placentarios. La placenta impulsa el suministro de oxígeno y nutrientes de la madre al feto, pero, al mismo tiempo, también es una fuente importante de señales metabólicas y hormonales que impulsan la homeostasis fetal.

En caso de escasez de nutrientes y/u oxígeno, la diferenciación y proliferación celular pueden verse afectadas; los cambios en la diferenciación celular afectan la señalización hormonal y la actividad metabólica y, por tanto, resultan en una funcionalidad reducida de los órganos, mientras que los cambios en la proliferación celular suelen estar relacionados con una reducción del número de células en los órganos en desarrollo [257]. En consecuencia, la estructura y

la función futura de dichos órganos se ven alteradas. Estos cambios apuntan, de hecho, a ser positivos para el desarrollo y la viabilidad del embrión. Los embriones y fetos se caracterizan por una alta plasticidad del desarrollo, una alta capacidad para cambiar la estructura y función de diferentes órganos en respuesta a señales provenientes del entorno materno (el concepto de *programación prenatal*). En caso de un entorno adverso, los embriones y fetos son capaces de modificar su metabolismo como una estrategia adaptativa para mejorar el uso de los recursos y, por lo tanto, poder sobrevivir en condiciones uterinas adversas durante la vida prenatal y, por extrapolación, en las condiciones ambientales adversas esperadas después del nacimiento, durante la vida postnatal.

Sin embargo, la programación fetal puede resultar perjudicial (disruptiva) en caso de desajuste entre la disponibilidad de nutrientes pre y postnatal; en caso de predicción incorrecta del entorno postnatal (es decir: en caso de dieta postnatal adecuada en nutrientes y aún más en caso de acceso a dietas hipercalóricas o altamente palatables; [256, 258, 259]). Las crías expuestas a la desnutrición prenatal están programadas para un mejor uso de los escasos recursos esperados también después del nacimiento y, así, aumentar sus posibilidades de supervivencia. En caso de exposición a la abundancia de alimentos, la programación prenatal será perjudicial, causando predisposición a la obesidad y trastornos cardiometabólicos asociados [260-263]. De hecho, en el ejemplo clásico de la *Hambruna Holandesa*, los individuos expuestos a la hambruna durante el embarazo estuvieron expuestos a la abundancia de alimentos e incluso al exceso durante la primera infancia. Estos desajustes entre la programación prenatal y las circunstancias postnatales causan obesidad, alteraciones metabólicas o enfermedad cardiovascular.

El principal factor que afecta el entorno intrauterino donde se desarrolla el feto es el suministro de nutrientes y oxígeno (influido por el estado nutricional materno y la función placentaria). Sin embargo, existen otros factores impuestos por la vida moderna que modifican el entorno intrauterino. Estos son, principalmente, el envejecimiento materno, el estilo de vida y el estrés. Sin embargo, en los últimos años, existe creciente evidencia de otro factor importante: la exposición a ciertos contaminantes conocidos como disruptores endocrinos (DE o EDC; fitoestrógenos, pesticidas, metales pesados, plastificantes y lacas, entre otros), que hemos considerado anteriormente.

5.1. Cambios Epigenéticos inducidos por el Medio Ambiente

Abundantes datos epidemiológicos en humanos y evidencias experimentales en modelos animales respaldan los efectos del ambiente intrauterino en el desarrollo de enfermedades en adultos, y especialmente del síndrome metabólico [264]. Se sabe que esta programación prenatal del síndrome metabólico y otras enfermedades está mediada por mecanismos epigenéticos [265-267].

La epigenética se define como alteraciones estables y hereditarias de la expresión génica sin cambios en la secuencia de ADN. Los mecanismos moleculares que median los efectos epigenéticos son: la metilación del ADN en residuos de citosina dentro de dinucleótidos CpG, modificaciones de histonas y mecanismos basados en ARN (ARN pequeños no codificantes o inhibidores). El epigenoma (conjunto de marcas epigenéticas de un genoma determinado) varía entre los diferentes tipos celulares y experimenta cambios coordinados a lo largo de la vida, siendo esencial durante el desarrollo y la diferenciación. Además, el epigenoma tiene la función de proporcionar plasticidad al genoma, para adaptar su función a los factores ambientales modificando la expresión génica sin alterar la información de la secuencia genética. De esta forma, estos mecanismos dan la posibilidad a las futuras generaciones de readaptarse de acuerdo a sus propias condiciones ambientales.

La metilación del ADN es probablemente el mecanismo epigenético más estudiado. Este proceso, catalizado por las ADN metiltransferasas, implica la adición de un grupo metilo a la posición 5' de un nucleótido de citosina adyacente a un nucleótido de guanina (CpG). Las regiones ricas en dinucleótidos CpG se conocen como islas CpG y se ubican en regiones reguladoras de genes. El estado de metilación de las islas CpG influye en la transcripción génica, facilitando (hipometilación) o inhibiendo (hipermetilación) la expresión del gen.

Las histonas son proteínas implicadas en el empaquetamiento del ADN y la regulación de la expresión génica. Diferentes histonas se ensamblan para formar el núcleo octamérico de la histona, y el ADN se enrolla a su alrededor para formar la unidad estructural denominada nucleosoma. Las modificaciones postraduccionales en las colas N-terminales de las histonas (fosforilación, metilación, acetilación, ubiquitinación, sumoilación o glicosilación) alteran la estructura y las propiedades de la cromatina. Estos cambios bioquímicos mo-

dulan la expresión génica, al influir en la accesibilidad de la maquinaria transcripcional al ADN y la unión de elementos reguladores; y al afectar la replicación, la recombinación y la organización cromosómica del ADN. Diferentes modificaciones de las histonas en distintos tipos celulares y en residuos específicos pueden provocar la represión o activación transcripcional. Por ejemplo, la acetilación de las histonas suele asociarse con la activación de la expresión génica [268].

La regulación epigenética mediante silenciamiento asociado al ARN puede ocurrir a nivel transcripcional, postranscripcional y de cromatina [269]. Estos mecanismos están mediados por pequeños ARN interferentes o pequeños ARN no codificantes que actúan a través de sus respectivas vías para degradar ARNm específicos, inducir la metilación del ADN o inducir modificaciones de histonas para silenciar la expresión génica.

Como se mencionó anteriormente, el epigenoma es dinámico y cambia en respuesta a diferentes estímulos, como la disponibilidad de nutrientes, el ejercicio físico, la pérdida de peso o el envejecimiento, entre otros, especialmente durante la vida prenatal. De hecho, la nutrición y el estrés prenatales son los principales factores que pueden alterar permanentemente la expresión génica de la descendencia a través de mecanismos epigenéticos, alterando así la función de células y órganos y provocando anomalías metabólicas en la vida postnatal.

Todos los tipos de modificaciones epigenéticas pueden tener un papel en el desarrollo de los fenotipos del síndrome metabólico. La reducción en la ingesta materna de nutrientes altera la disponibilidad de los donantes de grupos metilo y el estado global de metilación, produciendo así cambios en la expresión génica asociados con la obesidad o la diabetes [270]. Por ejemplo, se sabe que los desafíos nutricionales prenatales afectan el estado de metilación del ADN de genes clave que están involucrados en el metabolismo energético, como aquellos que regulan la adipogénesis, la homeostasis de la glucosa, la inflamación y/o la señalización de la insulina. Esto incluye genes que codifican hormonas, receptores nucleares, enzimas gluconeogénicas y proteínas transmembrana, como *PPAR γ* , *PPAR α* , *PEPCK*, *UCP1*, *IGF2*, *INSIGF*, *LEP* o *ABCA1* [271-273]. También se sabe que las modificaciones anormales de las proteínas histonas contribuyen a los trastornos metabólicos [274], por ejem-

plo, la desacetilación de las colas de histonas colocalizadas con el gen *GLUT4* altera su expresión, influyendo en el transporte de glucosa y la sensibilidad a la insulina [275]. Además, estudios recientes destacan el importante papel de las modificaciones de las histonas en la regulación de la secreción de insulina, las reacciones antioxidantes y la señalización celular. Finalmente, la expresión desregulada de miRNA se ha vinculado con la obesidad, la resistencia a la insulina, la diabetes y los problemas cardiovasculares [276, 277]. Por ejemplo, los miRNA se han vinculado a la regulación del factor de transcripción adipogénico principal (PPAR) y sus genes diana, lo que resulta en obesidad, hiperfagia e hiperlipidemia [278].

En la actualidad, se están identificando diferentes procesos epigenéticos como mecanismos moleculares que intervienen en la programación prenatal de la susceptibilidad a enfermedades postnatales [279]. Estos mecanismos apoyan la hipótesis del epigenotipo ahorrador [40], considerando que las variantes genéticas desempeñan un papel modesto en la etiología de las enfermedades metabólicas y, en cambio, la susceptibilidad a las enfermedades está determinada predominantemente por cambios epigenéticos. Si bien se ha observado un gran progreso en los últimos años, se necesita mucha investigación, preferentemente con modelos animales, para comprender el papel de nutrientes específicos en la programación fetal y neonatal, así como los mecanismos de transmisión transgeneracional de la obesidad y la disfunción metabólica. Este conocimiento es crucial para el desarrollo de nuevas estrategias de detección temprana y prevención del síndrome metabólico programado.

5.2. Orígenes del Síndrome Metabólico en la Vida Temprana

La influencia de los cambios en el entorno uterino sobre el desarrollo fetal, el fenotipo del recién nacido y la posterior aparición de obesidad y enfermedades asociadas depende de la naturaleza y magnitud de dichos cambios, pero también de su momento y duración. Los intervalos de tiempo en los que estructuras y órganos fetales específicos pueden verse afectados por el entorno se conocen como ventanas de programación del desarrollo. Existen diferentes ventanas, ya que diferentes estructuras, órganos y sistemas se desarrollan en distintos momentos durante la vida prenatal.

En las primeras etapas de la gestación (preimplantacional y postimplantacional temprana), la exposición a un entorno uterino inadecuado induce fuertes respuestas adaptativas [280]. Los embriones preimplantacionales (mórulas y blastocistos) son extremadamente sensibles a los cambios en el entorno uterino [281, 282] y pueden modificar sus patrones de desarrollo para adaptarse a condiciones inadecuadas. En el caso específico de desafíos nutricionales durante estas etapas, relacionados con la sobrenutrición o desnutrición materna, la descendencia nace con un peso y tamaño corporales similares a los de los individuos no expuestos [261]. Sin embargo, posteriormente, existe una fuerte predisposición a padecer enfermedades metabólicas.

En gestaciones más avanzadas, las deficiencias nutricionales maternas (por escasez o exceso) y la desnutrición por insuficiencia placentaria tienen efectos más profundos en el tamaño y el peso del recién nacido. Al nacer, en caso de sobrenutrición materna, los neonatos suelen ser grandes para la edad gestacional (GEG) y obesos, con altas cantidades de grasa corporal; además, pueden manifestar visceromegalia, con agrandamiento severo del corazón, el hígado y el bazo [257]. En caso de desnutrición materna o insuficiencia placentaria, los neonatos suelen ser pequeños para la edad gestacional (PEG), con peso corporal reducido al nacer debido al RCIU [283-285]. Ambos fenotipos están relacionados con complicaciones de salud durante la edad adulta, como obesidad, patologías metabólicas y cardiovasculares [286].

Clásicamente, la aparición de obesidad y trastornos cardiometabólicos se ha vinculado al nacimiento de hijos obesos en países desarrollados, caracterizados por un continuo exceso de alimentos. Actualmente, la incidencia de estos trastornos es drásticamente alta en países en rápido desarrollo como India, Brasil, China y países de Oriente Medio [287]. La causa de esta situación se ha relacionado con la discordancia genética (las personas de países en desarrollo se caracterizan por rasgos étnicos intrínsecos, con ancestros adaptados a la escasez de alimentos), la desnutrición del feto durante el embarazo (causante de RCIU) y la exposición postnatal a un exceso de alimentos altamente calóricos y a una escasa actividad física [288, 289], que causan obesidad infantil y, por lo tanto, un mayor riesgo metabólico [290, 291].

El RCIU es un trastorno en aumento; se estima que alrededor del 6-7% de los embarazos se ven afectados por este trastorno [292, 293]. La etiología

del RCIU es multifactorial y poco conocida, y se sabe que el estado nutricional y la dieta materna son posiblemente los principales factores que afectan el desarrollo fetal adecuado [394, 295].

El estado de oxigenación también es un factor fundamental para el desarrollo del RCIU, ya que los embarazos a gran altitud se caracterizan por hipoxia hipobárica materna y, por lo tanto, fetal, lo que conlleva un mayor riesgo de RCIU, de recién nacidos PEG y de mortalidad infantil [296-300]. La incidencia del RCIU en la gran altitud, independientemente de otros factores sociales y económicos concomitantes [301, 302], se ha estimado en torno al 17%; un porcentaje significativamente mayor que el 6-7% observado en baja altitud. La escasez de oxígeno, al igual que la escasez de nutrientes, también puede perjudicar el crecimiento fetal al afectar la vascularización placentaria y, por tanto, alterar el suministro de nutrientes al feto [303], lo que perjudica su correcto desarrollo y, por ende, su tamaño neonatal [304].

En las primeras etapas de la infancia y la edad adulta, tanto los individuos PEG como los GEG se ven igualmente afectados por enfermedades metabólicas [305-308]. Esto se debe a que tanto los recién nacidos PEG como los GEG presentan un perfil metabólico muy similar, con resistencia a la insulina y, en caso de abundancia de nutrientes postnatal, tendencia significativa a desarrollar obesidad y síndrome metabólico [309-313].

VI

CUESTIONES PRÁCTICAS EN EL USO DE MODELOS ANIMALES PARA LA INVESTIGACIÓN; UTILIDAD DEL CERDO IBÉRICO

Los datos obtenidos en estudios en medicina humana se basan en investigación observacional, la cual suele estar sesgada por factores concurrentes relacionados con el empobrecimiento económico y la desnutrición, así como por factores conductuales y socioculturales específicos de las poblaciones humanas. Sin embargo, los métodos de investigación deben aislar las causas fisiológicas de estos factores concurrentes. Este objetivo solo puede lograrse mediante estudios intervencionistas en condiciones bien definidas. Sin embargo, la investigación intervencionista no puede llevarse a cabo en humanos debido a cuestiones éticas; por lo tanto, debe realizarse en modelos animales.

Los principales modelos animales en estudios experimentales sobre obesidad y trastornos metabólicos se basan en roedores de laboratorio; especialmente ratas y ratones, pero también hámsteres y cobayas. Estos roedores requieren poco espacio, son relativamente económicos de mantener, fáciles de manejar y tienen un ciclo de vida corto. Además, los ratones tienen un genoma completamente secuenciado y se modifican fácilmente mediante ingeniería genética [314, 315]. Así, actualmente, la mayoría de los estudios sobre la programación prenatal del fenotipo adulto se realizan en ratones y, en menor medida, en ratas [316-319].

Sin embargo, los roedores pueden ser el modelo de elección para estudios mecanicistas en obesidad y trastornos asociados, pero también presentan diversas limitaciones. Las principales restricciones son las marcadas diferencias con los humanos en la biología celular y tisular, las rutas metabólicas y endocrinas, y los patrones de desarrollo y la fisiología de órganos y sistemas. Por lo tanto, en muchas áreas de la enfermedad, los hallazgos en

roedores son muy diferentes a los de pacientes humanos [320, 321]. Un segundo problema crucial es el pequeño tamaño corporal de los roedores, que impide la aplicación translacional de técnicas de imagen e impide el muestreo seriado de grandes cantidades de sangre y tejidos. Además, la fisiología del desarrollo, el metabolismo lipídico y muchos parámetros fisiológicos difieren en gran medida de los de los humanos, aunque los roedores han sido preferidos en los últimos años debido a su bajo coste y la posibilidad de manipular su expresión génica [316, 322].

Por el contrario, el uso de animales domésticos grandes ofrece numerosas ventajas. En primer lugar, el alojamiento y el manejo son sencillos y no demasiado costosos; los patrones de comportamiento son diurnos y el tamaño corporal permite la aplicación de técnicas de imagen [323] y el muestreo seriado de sangre y tejidos. Además, las vías que regulan el apetito, el balance energético y la adipogénesis en animales grandes son más similares a las de los humanos que a las de los roedores [324, 325]. Finalmente, en los últimos años, el análisis genómico ha avanzado considerablemente y es posible obtener mutaciones genéticas específicas para modelos específicos [326].

6.1. Conejo

Los conejos son más grandes que los ratones y las ratas, lo que permite realizar estudios fisiológicos no letales mediante muestreos seriados de sangre y tejidos y, principalmente, mediante la aplicación de técnicas de imagen. Además, la necesidad de espacio y los costes económicos son menores que en otras especies como las ovejas o los cerdos.

Desde el descubrimiento de la teratogenicidad de la talidomida en humanos, que no se pudo detectar en modelos de roedores, pero que podría haberse demostrado utilizando un modelo de conejo, éste se ha utilizado como modelo estándar en biomedicina [327]. El conejo es un modelo reconocido para enfermedades metabólicas y cardiovasculares debido a las similitudes en el metabolismo de las lipoproteínas con el humano [328, 329]. La obesidad, la diabetes, la dislipidemia y las enfermedades cardiovasculares pueden ser inducidas por dietas con alto contenido de grasa y energía, por tratamientos farmacológicos y, más recientemente, por transgénesis. Actualmente, la secuenciación del ge-

noma es comparable a la de la rata y la aplicación de técnicas de mutaciones genéticas dirigidas es eficiente [326, 330].

Además, el conejo es un modelo emergente para la experimentación sobre los orígenes del desarrollo de las enfermedades humanas [331] y, en particular, para el estudio de los efectos de las dietas ricas en grasas durante la gestación y el período postnatal, debido a sus mayores similitudes fisiológicas con los seres humanos que en el caso de los roedores [332, 333]. En el período de preimplantación, se demostró que los mecanismos epigenéticos de la inactivación del cromosoma X son similares en conejos y humanos, a diferencia de los ratones [334], lo que podría aplicarse a otros mecanismos epigenéticos tempranos. Además, el inicio de la actividad del genoma tiene lugar, como en otros grandes mamíferos, incluidos los humanos, en la etapa de 8 a 16 células [335]; a diferencia de los ratones, donde tiene lugar muy temprano, en la etapa de 2 células, lo cual es un factor importante para los estudios sobre la programación periconcepcional. Otros aspectos del desarrollo embrionario del conejo, como el metabolismo de la glucosa y la gastrulación, también son más similares a los humanos que a los ratones [333]. Al igual que en roedores y humanos, la placenta del conejo es hemodiducial (es decir, el trofoblasto invade el endometrio materno para entrar en contacto directo con la sangre materna, con dos capas celulares entre la sangre materna y la sangre fetal; [336]). Sin embargo, la placenta de los ratones se desarrolla primero como una placenta coriovitelina y sólo se vuelve hemotricorial (tres capas de células entre la sangre materna y la fetal) después de la mitad de la gestación; a diferencia de los humanos y los conejos, donde la estructura hemocorial se desarrolla temprano después de la implantación [337].

El metabolismo de las lipoproteínas en conejos, a diferencia de los roedores, también es similar al de los humanos [322] y, por lo tanto, son un modelo útil para el estudio del efecto de las dietas altas en grasas durante la gestación [331, 338-340]. Las crías de conejo solo maman una vez al día, lo que facilita mucho el estudio de los efectos del desarrollo de la dieta materna durante la nutrición. Además, su desarrollo mamario se ve claramente afectado por el exceso de ingesta de grasa y azúcar con el desarrollo temprano de la glándula mamaria en las madres [341, 342], lo que es más cercano a lo observado en humanos que en ratones donde una alimentación obesogénica durante el embarazo perjudican el desarrollo mamario [343].

6.2. Oveja

Las ovejas tienen un tamaño y temperamento muy convenientes para su alojamiento, manejo y muestreo; además, su manejo y crianza están bien desarrollados tras siglos de uso en ganadería. Por lo tanto, las ovejas se han utilizado tradicionalmente en la investigación biomédica y, específicamente, se consideran un modelo excepcional en medicina reproductiva. En estudios de gestación, el cribado del desarrollo fetal y postnatal temprano mediante técnicas no invasivas, principalmente ecografía en modo B y Doppler, está bien establecido [323, 344, 345]. Además, la oveja es especialmente interesante para estudios de programación del desarrollo porque, a pesar de su placentación epitelial, los intercambios fetoplacentarios son muy similares a los de la placenta humana [346-348] y porque la gestación monotoca y las trayectorias de desarrollo fetal son similares a las de los seres humanos [349].

En las ovejas, al igual que en otros rumiantes, el intercambio feto-materno se realiza a través de placentomas, estructuras compuestas por componentes fetales y maternos (cotiledones y carúnculas, respectivamente); aunque la placenta humana y la ovina son filogenéticamente divergentes, ambas presentan el mismo tipo de vellosidades y similitudes en el desarrollo vascular y la morfología [346, 350]. Por lo tanto, y también debido a la capacidad de gestar un feto único, o gemelos de peso y tamaño similares a los de un feto humano, las ovejas se han utilizado tradicionalmente para estudios sobre la transferencia placentaria de oxígeno y nutrientes y el RCIU inducido por insuficiencia placentaria [351-354].

Las ovejas se utilizan también en estudios de programación prenatal, debido a que el desarrollo del tejido adiposo y de la red neuronal hipotalámica que regulan el apetito y el balance energético ocurre en un período equivalente al de los humanos [324, 355]. Específicamente, la inducción de obesidad durante la gestación en ovejas está relacionada con aumentos en el peso placentario y fetal, seguidos de una reducción del desarrollo placentario en las últimas etapas de la gestación, lo que compromete el suministro de oxígeno y nutrientes al feto de manera similar a lo que ocurre en los humanos [356]. Las gestaciones hiperglucémicas en ovejas, al igual que en los humanos, causan



Imagen ecográfica (derecha) de un feto de oveja

hiperglucemia e hiperinsulinemia fetal, hipoxia fetal y, finalmente, mortinatos y neonatos de baja viabilidad [357]. Además, como en los humanos, la desnutrición prenatal tiene efectos a largo plazo sobre la homeostasis y los sistemas endocrino y cardiovascular [358, 359].

Los estudios sobre la influencia de la hipoxia en el desarrollo fetal también incluyen los efectos de la exposición a condiciones de gran altitud (hipoxia hipobárica); que es de hecho la principal causa de hipoxia fetal [360], ya que alrededor de 140 millones de personas viven a altitudes superiores a 2500 m sobre el nivel del mar y otros 40 millones visitan estas regiones anualmente [361]. Además, los resultados de estos estudios también pueden extrapolarse como un modelo para gestaciones con insuficiencia placentaria en poblaciones que viven a altitudes más bajas. La exposición a la hipoxia hipobárica aumenta el riesgo de RCIU, parto prematuro, bajo peso al nacer y mortalidad infantil en humanos [362, 363]. Los efectos de la hipoxia en las ovejas coinciden con observaciones realizadas en poblaciones humanas como una fertilidad reducida de origen ovárico y uterino [364, 365], una mayor incidencia de RCIU y un menor peso al nacer y crecimiento postnatal [366], a pesar de los cambios adaptativos en la placenta [367].

Finalmente, la oveja también se utiliza ampliamente en el estudio del efecto de los disruptores endocrinos ambientales en el desarrollo fetal [368, 369]. Así, se utiliza principalmente para el estudio de los esteroides exógenos [370-372] por su papel en la programación de disfunciones reproductivas como el síndrome de ovario poliquístico [373].

6.3. Cerdo

El cerdo se considera un modelo animal excepcional para estudios biomédicos desde hace mucho tiempo y su uso está creciendo actualmente a un ritmo aún mayor. Las ventajas de los modelos porcinos se han visto impulsadas por la disponibilidad de datos genómicos, lo que facilita la modificación genética y la creación de cepas genéticamente modificadas para aplicaciones específicas en la investigación translacional [374, 375]. De hecho, estas herramientas aumentan la utilidad de los cerdos como modelos de salud y enfermedad humanas y permiten el desarrollo de modelos más específicos.

Los cerdos comparten muchas más similitudes con los humanos, tanto anatómicas (incluyendo tamaños proporcionales de los órganos) como fisiológicas (incluyendo estilo de vida: ritmos diurnos, hábitos omnívoros y propensión al comportamiento sedentario), que cualquier otra especie animal [326, 376].

En consecuencia, los cerdos son modelos muy adecuados para biomedicina; principalmente con respecto a la piel, el sistema cardiovascular, el tracto gastrointestinal, los riñones y el bazo. Específicamente, desde hace mucho tiempo, el cerdo se considera un modelo animal único para estudios que vinculan la nutrición, el metabolismo, la reproducción y el desarrollo [377], aunque la estructura y función placentarias difieren en gran medida de las de los humanos.

Las ventajas adicionales son un tamaño y naturaleza convenientes para el alojamiento y características adecuadas para la cría y el mantenimiento de las estirpes en cualquier momento durante el año (pubertad temprana, cría no estacional, intervalo corto entre el destete y el apareamiento y alta prolificidad).

Además, la información y los productos comerciales para el alojamiento, la alimentación y la cría son enormes debido a la importancia de esta especie en la producción animal; lo mismo puede decirse del uso de técnicas de imagen no invasivas, como la ecografía. Específicamente para estudios sobre la gestación y el desarrollo fetal, el uso de la ecografía Doppler ha permitido la medición de los flujos sanguíneos uterino y umbilical y la hemodinámica útero-placentaria [323].



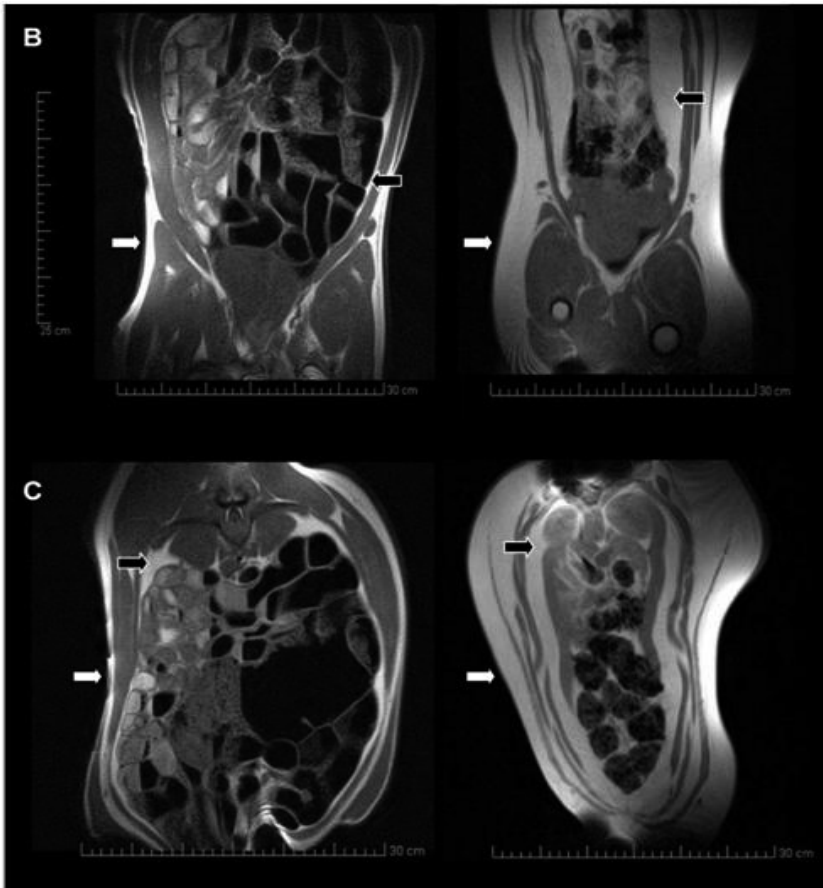
Imagen del panel inferior de la portada de la edición de la Junta de 1541 de las Obras de Galeno. Representa a Galeno (Pérgamo, 129 - Roma, c. 201/216), en una demostración médica ante Adriano.

Los cerdos proporcionan razas y estirpes adecuadas para diferentes objetivos de investigación biomédica, que pueden ser de raza comercial o específica. Los cerdos de raza comercial suelen ser cerdos de granja (por ejemplo, Landrace o Large White), donde la selección genética se centra en los parámetros de producción. Los cerdos de razas específicas provienen de una colonia cerrada con una selección para un fenotipo específico; los cerdos más utilizados para la investigación sobre la obesidad y enfermedades asociadas son los Göttingen minipigs [378, 379] y los cerdos de Yucatán y de la isla de Ossabaw [380-381].

Sin embargo, hemos de considerar que los cerdos de razas específicas, utilizados como modelos de obesidad, descienden de ancestros de razas comerciales. De hecho, los cerdos Yucatán y Ossabaw provienen directamente de un acervo genético primario -los cerdos ibéricos introducidos por los colonizadores españoles y portugueses en el Nuevo Mundo- y han permanecido aislados sin la introducción posterior de material genético de otras razas. Los Göttingen minipigs se originaron mediante el cruzamiento de tres razas diferentes: cerdos de Minnesota, cerdos vietnamitas y cerdos blancos; los cerdos de Minnesota también descienden de los cerdos ibéricos introducidos por los primeros colonizadores.

Es decir, estos modelos provienen de la raza ibérica. La raza ibérica es el tipo más abundante y representativo del cerdo mediterráneo (*Sus scrofa meridionalis*), que es genéticamente diferente de las razas comerciales modernas (*Sus scrofa ferus*) [382]. Los cerdos mediterráneos se han criado en condiciones semisalvajes durante siglos y han desarrollado un genotipo ahorrador para adaptarse a los ciclos estacionales de abundancia y escasez a los que están expuestos en su entorno. Por lo tanto, los animales tienen una ingesta voluntaria de alimento mucho mayor que otras razas [383] y una fuerte tendencia a almacenar un exceso de grasa durante la abundancia de alimento, lo que les permite sobrevivir durante los períodos de escasez [384]. La abundancia de grasa provoca una alta secreción de leptina [385], lo que debería disminuir la ingesta de alimento. Sin embargo, el cerdo ibérico presenta un polimorfismo genético para el receptor de leptina que afecta la ingesta de alimento, el peso corporal y la deposición de grasa [386, 387]; como consecuencia, aumenta la voracidad y los cerdos se vuelven cada vez más obesos con el exceso de alimento. Por lo tanto, los cerdos ibéricos constituyen un buen modelo para el estudio de la obesidad, pero también de las enfermedades asociadas. En caso de exceso de alimento mantenido durante la etapa juvenil, los animales desarrollan pródromos de síndrome metabólico con alteraciones de la regulación de la glucosa [388]. En caso de exceso de alimento mantenido durante la edad adulta, los cerdos ibéricos presentan los cinco componentes del síndrome metabólico (obesidad central, dislipidemia, resistencia a la insulina y tolerancia alterada a la glucosa, y presión arterial elevada) e incluso el pródromo de diabetes tipo 2 [389]; no existe otro modelo animal que desarrolle más de tres componentes al mismo tiempo.

Por otro lado, la raza ibérica bajo crianza tradicional tiene condiciones evolutivas similares a las previamente citadas para humanos que viven en países en desarrollo; es decir: especificidades genéticas adaptadas para un contexto de exposición a ambientes hostiles y escasez de alimentos (con desarrollo de un genotipo ahorrador). Por lo tanto, como señalábamos anteriormente, el cerdo ibérico también es propenso a la obesidad y enfermedades cardiometabólicas en caso de exceso de nutrientes; ya sea en el desarrollo juvenil [388] o en la edad adulta [389]. Las primerizas expuestas a un exceso de alimento

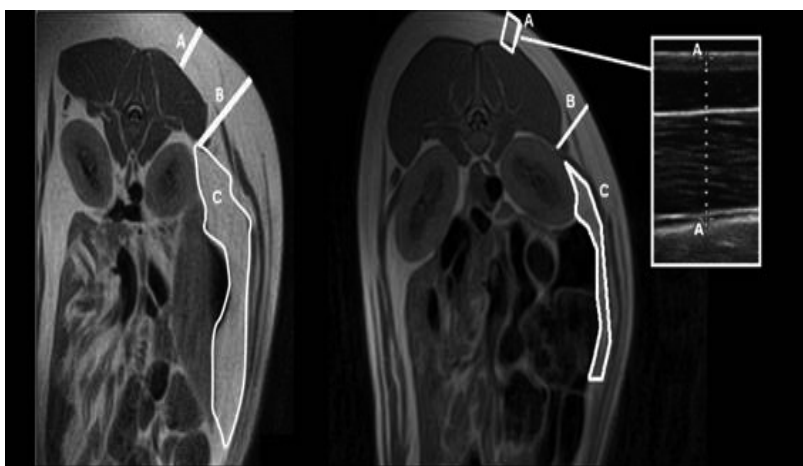


Imágenes obtenidas por resonancia magnética en los planos longitudinal (B) y transversal (C) de cerdos Large White (izquierda) e ibéricos (derecha). Las flechas blancas y negras indican la grasa subcutánea y visceral, respectivamente.

y que desarrollan adiposidad juvenil son, al igual que las niñas con sobrepeso, propensas a la pubertad precoz [390, 391]. Posteriormente, la gestación de estas primerizas se caracteriza por una mayor incidencia de pérdidas embrionarias y RCIU, con cambios sustanciales en la disponibilidad de triglicéridos y colesterol y en la actividad esteroidogénica de los fetos [392]. Así, las características de genotipo ahorrador, intrínsecas a la raza, se ven exacerbadas por la programación prenatal.



Cerdos ibéricos recién destetados de la variedad pelón guadianés o guadyervas con normopeso y bajo peso al nacimiento (RCIU).



Imágenes obtenidas por resonancia magnética, en el plano transversal, de cerdos ibéricos, individuos jóvenes con bajo peso al nacimiento (RCIU) a la izquierda y normopeso a la derecha; puede observarse el mayor engrasamiento en el individuo de la izquierda.

Las cerdas ibéricas reproductoras son muy sensibles a los cambios nutricionales y metabólicos, mucho más que las razas magras. Las cerdas ibéricas, por ejemplo, están predispuestas con la edad a desarrollar resistencia a la insulina y dislipidemia en respuesta a desafíos nutricionales, como la lactación [393]. Esta situación afecta a su rendimiento productivo, provocando fallos o

retrasos en la reanudación del comportamiento estral y la actividad ovulatoria tras el destete [394]. Si se logra la gestación, la dislipidemia materna afecta la viabilidad del embrión o feto, la eficiencia placentaria, el metabolismo y los patrones de crecimiento fetales; incluso con una nutrición adecuada [395]. La exposición de las cerdas ibéricas a la sobrenutrición o desnutrición durante la gestación modifica los patrones de crecimiento de las crías, y este efecto se ve claramente modulado por el momento de la exposición a la desnutrición.

En el cerdo ibérico, como en humanos, las crías expuestas a desnutrición durante toda la gestación, ya sea por deficiencia o exceso, presentan un tamaño similar al nacer que las crías desarrolladas en condiciones nutricionales adecuadas [396, 397]. Sin embargo, en caso de exposición a dietas obesogénicas durante el desarrollo juvenil, los individuos programados por desnutrición prenatal presentan un aumento notable de la corpulencia corporal y la acumulación de grasa en exceso en comparación con las crías de gestaciones con una dieta adecuada. Además, estos individuos programados son propensos al síndrome metabólico en etapas muy tempranas de la vida (etapas juveniles), y estas alteraciones se agravan, incluso alcanzando el pródromo de la diabetes tipo 2, en crías de gestaciones sobrealimentadas [396].

También existe un notable efecto relacionado con el sexo en dichos patrones de desarrollo. Durante la lactación, como se observa en razas magras, los lechones machos de gestaciones con condiciones nutricionales adecuadas o expuestos a desnutrición durante toda la gestación se mantienen más grandes y pesados que las hembras [396, 397]. Durante el desarrollo juvenil y la edad adulta, los machos de gestaciones con nutrición adecuada continúan siendo más pesados y grandes que las hembras. Sin embargo, por el contrario, las lechonas nacidas en camadas tanto sobrealimentadas como desnutridas, muestran patrones de crecimiento acelerados y, por lo tanto, alcanzan un peso corporal, corpulencia y adiposidad similares a los de sus compañeros de camada [397].

La exposición tanto a la sobrenutrición como a la desnutrición durante la gestación también tiene un efecto significativo en las características reproductivas femeninas, con un inicio de la pubertad más temprano que en las hembras nacidas de gestaciones con dietas adecuadas. En la edad adulta, las hembras expuestas a la desnutrición prenatal muestran una menor prolificidad, mien-

tras que no se observan efectos en las hembras expuestas a la sobrenutrición prenatal [390, 391, 398].

Además, existen evidencias de que los efectos de la programación del desarrollo podrían no limitarse solo a la primera generación de descendientes, sino también a las generaciones posteriores debido a efectos transgeneracionales. Así, la segunda generación de lechones, descendientes de cerdas expuestas a la desnutrición o la sobrenutrición durante su etapa fetal, muestra aumentos tempranos de la adiposidad, alteraciones en los perfiles lipídicos y evidencia de hepatopatía pediátrica [399].

Por otro lado, los patrones de desarrollo son bastante diferentes en las crías expuestas a desnutrición materna durante los dos últimos tercios de la gestación. En este caso, el crecimiento fetal se ve afectado por RCIU y, en consecuencia, los recién nacidos son mayoritariamente PEG [397, 400, 401]. Los fetos machos expuestas a desnutrición durante los dos últimos tercios de la gestación presentan un crecimiento postnatal comprometido y permanecen más pequeños que los machos no expuestos a desnutrición materna. Sin embargo, sus hermanas muestran crecimiento compensador y alcanzan un peso y tamaño similares a las hembras normales, incluso durante la lactación [400].

Este crecimiento compensador de las hembras se vería favorecido por las diferencias en el desarrollo fetal, priorizando el crecimiento de órganos vitales (cerebro, hígado e intestino; [402]), y favoreciendo cambios en la expresión hipotalámica de genes, principalmente en genes que impulsan péptidos anorexígenos (*LEPR* y *POMC*; [401]). Además, también se modifica la función de algunos genes que regulan el desarrollo postnatal (*IGF-1*, *IGF-2* y *MSTN*) [403]. Después del nacimiento, tales cambios en la expresión génica pueden inducir una mayor ingesta voluntaria de alimento, una mejor absorción de alimentos, un mayor anabolismo y, por tanto, propensión a un mayor crecimiento y adiposidad. Así, el fenotipo adulto después de tales cambios en la expresión génica dependería en gran medida de la dieta durante el desarrollo infantil y juvenil; en caso de una ingesta controlada de alimentos y la oportunidad de ejercicio físico, las hembras de gestaciones restringidas serán más pesadas y corpulentas que las cerdas de control, pero no obesas [403]; en caso de dietas obesogénicas, estas hembras se volverán más pesadas y engrasadas [397, 401].

El principal determinante es el ambiente postnatal, y más concretamente, la dieta postnatal. En general, independientemente de sus condiciones prenatales, las hembras con dietas obesogénicas postnatales presentan mayor tamaño corporal, peso y adiposidad que las hembras con alimentación controlada. Sin embargo, las hembras de gestaciones restringidas son más pesadas y corpulentas que las hembras de gestaciones con dietas adecuadas, tanto con dietas postnatales controladas como con dietas obesogénicas, mostrando un nivel similar de deposición de grasa subcutánea, pero una mayor cantidad de grasa visceral. Por lo tanto, en general, estos resultados indican una fuerte interacción, modulada por el sexo, entre las condiciones prenatales y postnatales en el desarrollo del fenotipo adulto de los individuos.

La prolificidad también está relacionada con la aparición de restricción de RCIU en algunos de los componentes de las camadas [404-406], ya que el crecimiento placentario se ve comprometido en caso de espacio limitado en los úteros con un alto número de embriones en desarrollo [407, 408]. Las deficiencias en el crecimiento placentario afectan el desarrollo de los fetos por deficiencias en el suministro de nutrientes y oxígeno, causando mortalidad en algunos fetos de la camada y RCIU en otros. La incidencia de RCIU también puede verse aumentada por deficiencias nutricionales maternas [409], lo que perjudica el aporte nutricional de los fetos. En lechones con RCIU extremo, la viabilidad se ve gravemente comprometida y causa muerte perinatal, mientras que en lechones con RCIU menos crítico no se produce la muerte pero la salud y la supervivencia se ven comprometidas por disfunciones gastrointestinales, metabólicas, respiratorias e inmunitarias. Posteriormente, estas deficiencias tienen efectos a largo plazo sobre el fenotipo adulto provocando, además de problemas de salud, una reducción del potencial de crecimiento y un aumento de la grasa [410-413].

Los efectos de la malnutrición y la obesidad en la programación prenatal se pueden reproducir con precisión en cerdos, ya que los primeros estudios sobre la obesidad y la gestación han demostrado que la concentración de triglicéridos y la distribución del colesterol entre las fracciones de lipoproteínas se modificaron de manera similar en adultos (es decir, en hembras preñadas) y fetos de humanos y cerdos [414]. Estudios en hembras ibéricas gestantes obesas han demostrado que la disponibilidad de diferentes nutrientes y sustra-

tos metabólicos (principalmente triglicéridos y colesterol) se ve fuertemente afectada en la unidad feto-placentaria; aún más en casos de dislipidemia [395]. En consecuencia, la viabilidad y trayectoria de desarrollo de los fetos se ven severamente alteradas, con aparición de RCIU [392]. Al nacer, los lechones afectados por RCIU, tanto por excesos como por deficiencias en la ingesta materna, están predispuestos a altas tasas de morbilidad y mortalidad neonatal (como se encuentra en humanos) y las crías supervivientes son propensas a la obesidad tanto en etapas postnatales tempranas como durante la lactación. Las diferencias en el desarrollo fetal y los cambios metabólicos son incluso más graves que en los genotipos delgados, lo que parece estar relacionado con diferencias en la disponibilidad fetal de triglicéridos, colesterol e IL-6 [402]. En caso de ingesta de dietas obesogénicas en etapas juveniles, los animales presentan mayor adiposidad, evidencia de síndrome metabólico y diabetes tipo 2, y una pubertad precoz [397, 415]. Sin embargo, estas alteraciones pueden ser moduladas por una dieta adecuada y ejercicio [403], como en humanos. Además, existen evidencias de herencia transgeneracional de estos trastornos [399].

VII

FUTURAS ÁREAS DE DESARROLLO EN MODELOS ANIMALES DE OBESIDAD Y ALTERACIONES METABÓLICAS ASOCIADAS

La epidemia actual de obesidad y enfermedades asociadas representa un importante desafío socioeconómico, ya que afecta directamente la calidad de vida y el bienestar de las personas y amenaza la sostenibilidad de los sistemas de salud pública. Para abordar este desafío, es necesario comprender completamente la biología subyacente de las enfermedades, lo que hace necesaria la investigación translacional intervencionista en modelos animales.

El uso de roedores de laboratorio para la investigación translacional ha supuesto avances impresionantes, y los roedores son esenciales para el estudio de mecanismos concretos. El uso de conejos, ovejas y cerdos ofrece numerosas características beneficiosas para la investigación translacional, ya que se caracterizan por un tamaño corporal adecuado, facilidad de manejo y rentabilidad. Su uso en estudios sobre la programación del desarrollo de la obesidad y enfermedades asociadas se ve favorecido por el hecho de que las vías que regulan el apetito, el balance energético y la adipogénesis son más similares en humanos que en roedores.

La investigación futura sobre los orígenes del desarrollo de la obesidad y los trastornos asociados debe ser integradora. Los investigadores deben trabajar con diferentes especies animales, seleccionando el modelo adecuado para comprender mejor los desafíos, mecanismos y resultados involucrados en la programación del desarrollo. Las herramientas de investigación no solo incluirían modelos *in vivo*, sino también *in vitro* e *in silico*, ya que, además, el uso de modelos animales implica cuestiones éticas y repudio social que deben considerarse. En consecuencia, es necesario llevar a cabo una explicación activa y promover la experimentación ética en la sociedad.

He dicho.

VIII

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cameron, A.J.; Shaw, J.E. and Zimmet, P.Z. (2004) The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.*, 33, 351-375.
2. Reaven, G.M. (1988) Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 37, 1595-1607.
3. Grundy, S.M.; Brewer, H.B.Jr.; Cleeman, J.I.; Smith, S.C.Jr.; Lenfant, C.; American Heart Association and National Heart, Lung, and Blood Institute. (2004) Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation*, 109, 433-438.
4. Kahn, R.; Buse, J.; Ferrannini, E.; Stern, M.; American Diabetes Association and European Association for the Study of Diabetes. (2005) The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care*, 28, 2289-2304.
5. Olufadi, R. and Byrne, C.D. (2008) Clinical and laboratory diagnosis of the metabolic syndrome. *J. Clin Pathol.*, 61, 697-706.
6. Reaven, G.M. (2009) Is diagnosing metabolic syndrome a uniquely simple way to predict incident type 2 diabetes mellitus?. *Can. Med. Ass. J.*, 180, 601-602.
7. Rocha, E. (2008) Metabolic syndrome. An entity that lacks a clear definition but which is useful to identify in clinical practice. *Port. J. Cardiol.*, 27, 1531-1537.
8. Church, T.S.; Thompson, A.M.; Katzmarzyk, P.T.; Sui, X.; Johannsen, N.; Earnest, C.P. and Blair, S.N. (2009) Metabolic syndrome and diabetes;

- alone and in combination; as predictors of cardiovascular disease mortality among men. *Diabetes Care*, 32, 1289-1294.
9. Aschner, P. (2010) Metabolic syndrome as a risk factor for diabetes. *Expert. Rev. Cardiovasc. Ther.*, 8, 407-412.
 10. Reaven, G. M.; Chen, Y. D., Role of insulin in regulation of lipoprotein metabolism in diabetes. *Diabetes/metabolism reviews* 1988, 4 (7), 639-52.
 11. Grundy, S. M.; Brewer, H. B., Jr.; Cleeman, J. I.; Smith, S. C., Jr.; Lenfant, C.; National Heart, L.; Blood, I.; American Heart, A., Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2004, 24 (2), e13-8.
 12. Eckel, R. H.; Grundy, S. M.; Zimmet, P. Z., The metabolic syndrome. *Lancet* 2005, 365 (9468), 1415-28.
 13. Elks, C. M.; Francis, J., Central adiposity, systemic inflammation, and the metabolic syndrome. *Current hypertension reports* 2010, 12 (2), 99-104.
 14. Tangvarasittichai, S., Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World journal of diabetes* 2015, 6 (3), 456-80.
 15. Ceriello, A.; Motz, E., Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2004, 24 (5), 816-23.
 16. Bremer, A. A.; Jialal, I., Adipose tissue dysfunction in nascent metabolic syndrome. *Journal of obesity* 2013, 2013, 393192.
 17. Camera, A.; Hopps, E.; Caimi, G., Metabolic syndrome: from insulin resistance to adipose tissue dysfunction]. *Minerva medica* 2008, 99 (3), 307-21.
 18. Bonnefont-Rousselot, D., Obesity and oxidative stress: potential roles of melatonin as antioxidant and metabolic regulator. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets* 2014, 14 (3), 159-68.
 19. Christian, P.; Su, Q., MicroRNA regulation of mitochondrial and ER stress signaling pathways: implications for lipoprotein metabolism in metabolic syndrome. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 2014, 307 (9), E729-37.

20. Ahima, R.S. and Flier, J.S. (2000) Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocrinol. Metab.*, 11, 327-332.
21. Caprio, M.; Fabbri, E.; Isidori, A.M.; Aversa, A. and Fabbri, A. (2001) Leptin in reproduction. *Trends Endocrinol. Metab.*, 12, 65-72.
22. Farmer, S. (2006) Transcriptional control of adipocyte formation. *Cell Metabolism*, 4, 263-273.
23. Birsoy, K.; Chen, Z. and Friedman, J. (2008) Transcriptional regulation of adipogenesis by KLF4. *Cell Metabolism*, 7, 339-347.
24. Rosen, E.D. and Spiegelman, B.M. (2000) Molecular regulation of adipogenesis. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, 16, 145-171.
25. Rosen, E.D. and MacDougald, O.A. (2006) Adipocyte differentiation from the inside out. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 7, 885-896.
26. Patsouris, D.; Reddy, J.; Muller, M. and Kersten S. (2006) Peroxisome Proliferator activated Receptor mediates the effects of high fat diet on hepatic gene expression. *Endocrinology*, 147, 1508-1516.
27. Zhang, Y.; Proenca, R.; Maffei, M.; Barone, M.; Leopold, L. and Friedman, J.M. (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372, 425-432.
28. Bjorbaek, C. and Kahn, B.B. (2004) Leptin signaling in the central nervous system and the periphery. *Recent Prog. Horm. Res.*, 59, 305-331.
29. Myers, M.G.; Cowley, M.A. and Münzberg, H. (2008) Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annu. Rev. Physiol.*, 70, 537-556.
30. Harrold, J.A. and Williams, G. (2006) Melanocortin 4 receptors; beta-MSH and leptin: Key elements in the satiety pathway. *Peptides*, 27, 365-371.
31. Wardlaw, S.L. (2001) Obesity as a neuroendocrine disease: Lessons to be learned from proopiomelanocortin and melanocortin receptor mutations in mice and men. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 86, 1442-1446.
32. Dhillon, H.; Zigman, J.L.; Ye, C.; Lee, C.E. and McGovern, R.A. (2006) Leptin directly activates SF1 neurons in the VMH; and this action by leptin is required for normal body weight homeostasis. *Neuron.*, 49, 191-203.
33. Balthasar, N. (2006) Genetic dissection of neuronal pathways controlling energy homeostasis. *Obesity*, 14, 222S-227S.
34. Van de Wall, E.; Leshan, R.; Xu, A.W.; Balthasar, N.; Coppari, R.; Liu, S.M.; Jo, Y.H.; MacKenzie, R.G.; Allison, D.B.; Dun, N.J.; Elmquist, J.;

- Lowell, B.B.; Barsh, G.S.; de Luca, C.; Myers, M.G.; Schwartz, G.J. and Chua, S.C. (2008) Collective and individual functions of leptin receptor modulated neurons controlling metabolism and ingestion. *Endocrinology*, 149, 1773-1785.
35. Marti, A.; Martínez-González, M.A. and Martínez, J.A. (2008) Interaction between genes and lifestyle factor son obesity. *Proc. Nutr. Soc.*, 67, 1-8.
36. Neel, J.V. (1962) Diabetes mellitus: a “thrifty” genotype rendered detrimental by “progress”? *Am. J. Hum. Gen.*, 14, 353-362.
37. Clarke, I.J. (2008) Models of “obesity” in large animals and birds. *Frontiers Horm. Res.*, 36, 107-117.
38. Speakman, J.; Hambly, C.; Mitchell, S. and Król, E. (2008) The contribution of animal models to the study of obesity. *Lab. Anim.*, 42, 413-432.
39. Higgins, L.; Greenwood, S.L.; Wareing, M.; Sibley, C.P. and Mills, TA. (2011) Obesity and the placenta: A consideration of nutrient exchange mechanisms in relation to aberrant fetal growth. *Placenta*, 32, 1-7.
40. Stoger, R. (2008) Epigenetics and obesity. *Pharmacogenomics*, 9, 1851-1860.
41. McMillen, I.C.; Adam, C.L. and Muhlhausler, B.S. (2005). Early origins of obesity: programming the appetite regulatory system. *J. Physiol.*, 565, 9-17.
42. Page, K.C.; Malik, R.E.; Ripple, J.A. and Anday, E.K. (2009) Maternal and postweaning diet interaction alters hypothalamic gene expression and modulates response to a high-fat diet in male offspring. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 297, R1049-1057.
43. Mühlhäusler, B.S.; Adam, C.L. and McMillen, I.C. (2008) Maternal nutrition and the programming of obesity: The brain. *Organogenesis*, 4, 144-152.
44. Plagemann, A.; Harder, T.; Rake, A.; Melchior, K.; Rohde, W. and Dorner, G. (2000) Hypothalamic nuclei are malformed in weanling offspring of low protein malnourished rat dams. *J. Nutr.*, 130, 2582-2589.
45. Bouret, S.G.; Draper, S.J. and Simerly, R.B. (2004) Trophic action of leptin on hypothalamic neurons that regulate feeding. *Science*, 304, 108-110.
46. Forhead, A.J. and Fowden, A.L. (2009) The hungry fetus? Role of leptin as a nutritional signal before birth. *J. Physiol.*, 587, 1145-1152.

47. Whorwood, C.B.; Firth, K.M.; Budge, H.; Symonds, M.E. (2001) Maternal Undernutrition during Early to Midgestation Programs Tissue-Specific Alterations in the Expression of the Glucocorticoid Receptor, 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Isoforms, and Type 1 Angiotensin II Receptor in Neonatal Sheep. *Endocrinology*, 142, 2854-2864.
48. Bispham, J.; Gardner, D.S.; Gnanalingham, M.G.; Stephenson, T.; Symonds, M.E. and Budge, H. (2005) Maternal Nutritional Programming of Fetal Adipose Tissue Development: Differential Effects on Messenger Ribonucleic Acid Abundance for Uncoupling Proteins and Peroxisome Proliferator-Activated and Prolactin Receptors. *Endocrinology*, 146, 3943-3949.
49. Gnanalingham, M.G.; Mostyn, A.; Webb, R.; Keisler, D.H.; Raver, N.; Alves-Guerra, M.C.; Pecqueur, C.; Miroux, M.; Symonds, M.E. and Stephenson, T. (2005) Differential effects of leptin administration on the abundance of UCP2 and glucocorticoids action during neonatal development *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 289, E1093-E1100.
50. Cleasby, M.E.; Kelly, P.A.; Walker, B.R.; Seckl, J.R. (2003) Programming of rat muscle and fat metabolism by in utero overexposure to glucocorticoids. *Endocrinology*, 144(3), 999-1007.
51. Tartaglia, L.A.; Dembski, M.; Weng, X.; Deng, N.; Culpepper, J.; Devos, R.; Richards, G.J.; Campfield, L.A.; Clark, F.T.; Deeds, J.; Muir, C.; Sanker, S.; Moriarty, A.; Moore, K.J.; Smutko, J.S.; Mays, G.G.; Wool, E.A.; Monroe, C.A. and Tepper, R.I. (1995) Identification and expression cloning of a leptin receptor; OB-R. *Cell*, 83, 1263-1271.
52. Wellcome Trust Case Control Consortium (2007) Genome-wide association study of 14000 cases of seven common diseases and 3000 shared controls. *Nature*, 447, 661-678.
53. Stranger, B.E.; Stahl, E.A.; Raj, T. (2011) Progress and promise of genome-wide association studies for human complex trait genetics. *Genetics*, 187, 367-383.
54. Ranadive, S.A. and Vaisse, C. (2008) Lessons from extreme human obesity: monogenic disorders. *Endocrinol. Metabol. Clin. North Am.*, 37, 733-751.
55. Montague, C.T.; Farooqi, I.S.; Whitehead, J.P.; Soos, M.A.; Rau, H.; Wareham, N.J.; Sewter, C.P.; Digby, J.E.; Mohammed, S.N.; Hurst, J.A.;

- Cheetham, C.H.; Earley, A.R.; Barnett, A.H.; Prins, J.B. and O'Rahilly, S. (1997) Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*, 387, 903-908.
56. Clement, K.; Vaisse, C.; Lahlou, N.; Cabrol, S.; Pelloux, V.; Cassuto, D.; Gourmelen, M.; Dina, C.; Chambaz, J.; Lacorte, J.M.; Basdevant, A.; Bougnères, P.; Lebouc, Y.; Froguel, P. and Guy-Grand, B. (1998) A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*, 392, 398-401.
57. Vaisse, C.; Clement, K.; Guy-Grand, B. and Froguel, P. (1998) A frame shift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nat. Genet.*, 20, 113-114.
58. Yeo, G.S.; Farooqi, I.S.; Aminian, S.; Halsall, D.J.; Stanhope, R.G. and O'Rahilly, S. (1998) A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. *Nat. Genet.*, 20, 111-112.
59. Krude, H.; Biebermann, H.; Luck, W.; Horn, R.; Brabant, G. and Gruters, A. (1998) Severe early-onset obesity; adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat. Genet.*, 19, 155-157.
60. Jackson, R.S.; Creemers, J.W.; Ohagi, S.; Raffin-Sanson, M.L.; Sanders, L.; Montague, C.T.; Hutton, J.C. and O'Rahilly, S. (1997) Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene. *Nat. Genet.*, 16, 303-306.
61. Holder, J.L.Jr; Butte, N.F. and Zinn, A.R. (2000) Profound obesity associated with a balanced translocation that disrupts the SIM1 gene. *Hum. Mol. Genet.*, 9, 101-108.
62. Kublaoui, B.M.; Holder, J.L.Jr; Gemelli, T. and Zinn, A.R. (2006) Sim1 haploinsufficiency impairs melanocortin-mediated anorexia and activation of paraventricular nucleus neurons. *Mol. Endocrinol.*, 20, 2483-2492.
63. Kernie, S.G.; Liebl, D.J.; Parada, L.F. (2000) BDNF regulates eating behaviour and locomotor activity in mice. *EMBO J.*, 19, 1290-1300.
64. Gray, J.; Yeo, G.; Hung, C.; Keogh, J.; Clayton, P.; Banerjee, K., McAulay, A.; O'Rahilly, S. and Farooqi, I.S. (2006) Functional characterization of human NTRK2 mutations identified in patients with severe early onset obesity. *Int. J. Obes. (Lond.)*, 31, 359-364.

65. Hinney, A. and Hebebrand, J. (2008) Polygenic obesity in humans. *Obesity Facts*, 1, 35-42.
66. Mutch, D.M. and Clement, K. (2006) Unraveling the genetics of human obesity. *PLOS Genetics*, 2, 1956-1963.
67. Rankinen, T.; Zuberi, A.; Chagnon, Y.C.; Weisnagel, S.J.; Argyropoulos, G.; Walts, B.; Pérusse, L. and Bouchard, C. (2006) The Human Obesity Gene Map: The 2005 Update. *Obesity*, 14, 529-644.
68. Lin, H. F.; Boden-Albala, B.; Juo, S. H.; Park, N.; Rundek, T.; Sacco, R. L., Heritabilities of the metabolic syndrome and its components in the Northern Manhattan Family Study. *Diabetologia* 2005, 48 (10), 2006-12.
69. Monda, K. L.; North, K. E.; Hunt, S. C.; Rao, D. C.; Province, M. A.; Kraja, A. T., The genetics of obesity and the metabolic syndrome. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets* 2010, 10 (2), 86-108.
70. Rhee, E. J.; Oh, K. W.; Lee, W. Y.; Kim, S. Y.; Oh, E. S.; Baek, K. H.; Kang, M. I.; Kim, S. W., Effects of two common polymorphisms of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma gene on metabolic syndrome. *Archives of medical research* 2006, 37 (1), 86-94.
71. Tonjes, A.; Scholz, M.; Loeffler, M.; Stumvoll, M., Association of Pro12A-la polymorphism in peroxisome proliferator-activated receptor gamma with Pre-diabetic phenotypes: meta-analysis of 57 studies on nondiabetic individuals. *Diabetes care* 2006, 29 (11), 2489-97.
72. Yang, W. S.; Yang, Y. C.; Chen, C. L.; Wu, I. L.; Lu, J. Y.; Lu, F. H.; Tai, T. Y.; Chang, C. J., Adiponectin SNP276 is associated with obesity, the metabolic syndrome, and diabetes in the elderly. *The American journal of clinical nutrition* 2007, 86 (2), 509-13.
73. Norata, G. D.; Ongari, M.; Garlaschelli, K.; Tibolla, G.; Grigore, L.; Raselli, S.; Vettoretti, S.; Baragetti, I.; Noto, D.; Cefalu, A. B.; Buccianti, G.; Averna, M.; Catapano, A. L., Effect of the -420C/G variant of the resistin gene promoter on metabolic syndrome, obesity, myocardial infarction and kidney dysfunction. *Journal of internal medicine* 2007, 262 (1), 104-12.
74. Peters, K. E.; Beilby, J.; Cadby, G.; Warrington, N. M.; Bruce, D. G.; Davis, W. A.; Davis, T. M.; Wiltshire, S.; Knuiman, M.; McQuillan, B. M.; Palmer, L. J.; Thompson, P. L.; Hung, J., A comprehensive investigation of variants in genes encoding adiponectin (ADIPOQ) and its receptors (ADIPOR1/R2),

- and their association with serum adiponectin, type 2 diabetes, insulin resistance and the metabolic syndrome. *BMC medical genetics* 2013, 14, 15.
75. Miller, M.; Rhyne, J.; Chen, H.; Beach, V.; Ericson, R.; Luthra, K.; Dwivedi, M.; Misra, A., APOC3 promoter polymorphisms C-482T and T-455C are associated with the metabolic syndrome. *Archives of medical research* 2007, 38 (4), 444-51.
 76. Grallert, H.; Sedlmeier, E. M.; Huth, C.; Kolz, M.; Heid, I. M.; Meisinger, C.; Herder, C.; Strassburger, K.; Gehringer, A.; Haak, M.; Giani, G.; Kronenberg, F.; Wichmann, H. E.; Adamski, J.; Paulweber, B.; Illig, T.; Rathmann, W., APOA5 variants and metabolic syndrome in Caucasians. *Journal of lipid research* 2007, 48 (12), 2614-21.
 77. Xu, C.; Bai, R.; Zhang, D.; Li, Z.; Zhu, H.; Lai, M.; Zhu, Y., Effects of APOA5 -1131T>C (rs662799) on fasting plasma lipids and risk of metabolic syndrome: evidence from a case-control study in China and a meta-analysis. *PloS one* 2013, 8 (2), e56216.
 78. Hamid, Y. H.; Rose, C. S.; Urhammer, S. A.; Glumer, C.; Nolsoe, R.; Kristiansen, O. P.; Mandrup-Poulsen, T.; Borch-Johnsen, K.; Jorgensen, T.; Hansen, T.; Pedersen, O., Variations of the interleukin-6 promoter are associated with features of the metabolic syndrome in Caucasian Danes. *Diabetologia* 2005, 48 (2), 251-60.
 79. Sookoian, S. C.; Gonzalez, C.; Pirola, C. J., Meta-analysis on the G-308A tumor necrosis factor alpha gene variant and phenotypes associated with the metabolic syndrome. *Obesity research* 2005, 13 (12), 2122-31.
 80. Faloia, E.; Michetti, G.; De Robertis, M.; Luconi, M.P.; Furlani, G.; Boscaro, M., Inflammation as a Link between Obesity and Metabolic Syndrome. *Journal of nutrition and metabolism* 2012, 2012, Article ID 476380.
 81. Weiss, T. W.; Arnesen, H.; Seljeflot, I., Components of the interleukin-6 transsignalling system are associated with the metabolic syndrome, endothelial dysfunction and arterial stiffness. *Metabolism: clinical and experimental* 2013, 62 (7), 1008-13.
 82. Hegele, R. A.; Anderson, C. M.; Wang, J.; Jones, D. C.; Cao, H., Association between nuclear lamin A/C R482Q mutation and partial lipodystrophy with hyperinsulinemia, dyslipidemia, hypertension, and diabetes. *Genome research* 2000, 10 (5), 652-8.

83. Mesa, J. L.; Loos, R. J.; Franks, P. W.; Ong, K. K.; Luan, J.; O'Rahilly, S.; Wareham, N. J.; Barroso, I., Lamin A/C polymorphisms, type 2 diabetes, and the metabolic syndrome: case-control and quantitative trait studies. *Diabetes* 2007, 56 (3), 884-9.
84. Gonzalez-Sanchez, J. L.; Martinez-Larrad, M. T.; Saez, M. E.; Zabena, C.; Martinez-Calatrava, M. J.; Serrano-Rios, M., Endothelial nitric oxide synthase haplotypes are associated with features of metabolic syndrome. *Clinical chemistry* 2007, 53 (1), 91-7.
85. Tamaki, S.; Nakamura, Y.; Tabara, Y.; Okamura, T.; Kita, Y.; Kadowaki, T.; Tsujita, Y.; Horie, M.; Miki, T.; Ueshima, H., Relationship between metabolic syndrome and Trp64arg polymorphism of the beta-adrenergic receptor gene in a general sample: the Shigaraki study. *Hypertension research : official journal of the Japanese Society of Hypertension* 2006, 29 (11), 891-6.
86. Fleury, C.; Neverova, M.; Collins, S.; Raimbault, S.; Champigny, O.; Levi-Meyrueis, C.; Bouillaud, F.; Seldin, M. F.; Surwit, R. S.; Ricquier, D.; Warden, C. H., Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nature genetics* 1997, 15 (3), 269-72.
87. Fisler, J. S.; Warden, C. H., Uncoupling proteins, dietary fat and the metabolic syndrome. *Nutrition & metabolism* 2006, 3, 38.
88. Kraja, A. T.; Vaidya, D.; Pankow, J. S.; Goodarzi, M. O.; Assimes, T. L.; Kullo, I. J.; Sovio, U.; Mathias, R. A.; Sun, Y. V.; Franceschini, N.; Absher, D.; Li, G.; Zhang, Q.; Feitosa, M. F.; Glazer, N. L.; Haritunians, T.; Hartikainen, A. L.; Knowles, J. W.; North, K. E.; Iribarren, C.; Kral, B.; Yanek, L.; O'Reilly, P. F.; McCarthy, M. I.; Jaquish, C.; Couper, D. J.; Chakravarti, A.; Psaty, B. M.; Becker, L. C.; Province, M. A.; Boerwinkle, E.; Quertermous, T.; Palotie, L.; Jarvelin, M. R.; Becker, D. M.; Kardia, S. L.; Rotter, J. I.; Chen, Y. D.; Borecki, I. B., A bivariate genome-wide approach to metabolic syndrome: STAMPEED consortium. *Diabetes* 2011, 60 (4), 1329-39.
89. Kristiansson, K.; Perola, M.; Tikkanen, E.; Kettunen, J.; Surakka, I.; Havulinna, A. S.; Stancakova, A.; Barnes, C.; Widen, E.; Kajantie, E.; Eriksson, J. G.; Viikari, J.; Kahonen, M.; Lehtimäki, T.; Raitakari, O. T.; Hartikainen, A. L.; Ruukonen, A.; Pouta, A.; Jula, A.; Kangas, A. J.; Soininen, P.; Ala-Korpela, M.; Mannisto, S.; Jousilahti, P.; Bonnycastle, L. L.; Jarvelin,

- M. R.; Kuusisto, J.; Collins, F. S.; Laakso, M.; Hurles, M. E.; Palotie, A.; Peltonen, L.; Ripatti, S.; Salomaa, V., Genome-wide screen for metabolic syndrome susceptibility Loci reveals strong lipid gene contribution but no evidence for common genetic basis for clustering of metabolic syndrome traits. *Circulation. Cardiovascular genetics* 2012, 5 (2), 242-9.
90. Colborn, T.; Clement, C. Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The wildlife/human connection. Princeton Scientific Publishing. Princeton, NJ. 1992.
91. US Environmental Protection Agency (1997). Special report on environmental endocrine disruption: An effect assessment and analysis (p. 6). US-EPA, ORD, EPA/630/r-96/012.
92. EU Commission (1997). Report on endocrine disruptors and food. European Commission, Scientific Committee for Foods. Fortieth Series. <http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_40.pdf>.
93. EU Commission (1999). Opinion on human and wildlife health effects of endocrine disrupting chemicals, with emphasis on wildlife and on ecotoxicology test methods. European Commission, Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment. <http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/sct/documents/out37_en.pdf>.
94. Baillie-Hamilton, P. F., Chemical toxins: a hypothesis to explain the global obesity epidemic. *Journal of alternative and complementary medicine* 2002, 8 (2), 185-92.
95. Heindel, J. J., Endocrine disruptors and the obesity epidemic. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 2003, 76 (2), 247-9.
96. Casals-Casas, C.; Desvergne, B., Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. *Annual review of physiology* 2011, 73, 135-62.
97. Grun, F.; Blumberg, B., Environmental obesogens: organotins and endocrine disruption via nuclear receptor signaling. *Endocrinology* 2006, 147 (6 Suppl), S50-5.
98. Grun, F., Obesogens. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity* 2010, 17 (5), 453-9.
99. Thompson, R. C.; Moore, C. J.; vom Saal, F. S.; Swan, S. H., Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends.

- Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences 2009, 364 (1526), 2153-66.
100. Fiege, H.; Voges, H.W.; Hamamoto, T.; Umemura, S.; Iwata, T.; Miki, H.; Fujita, Y.; Buysch, H.J.; Garbe, D.; Paulus, W., Phenol Derivatives. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry (Weinheim: Wiley-VCH). 1992
 101. Kang, J. H.; Kondo, F.; Katayama, Y., Human exposure to bisphenol A. Toxicology 2006, 226 (2-3), 79-89.
 102. Balakrishnan, B.; Henare, K.; Thorstensen, E. B.; Ponnampalam, A. P.; Mitchell, M. D., Transfer of bisphenol A across the human placenta. American journal of obstetrics and gynecology 2010, 202 (4), 393 e1-7.
 103. Nahar, M. S.; Liao, C.; Kannan, K.; Dolinoy, D. C., Fetal liver bisphenol A concentrations and biotransformation gene expression reveal variable exposure and altered capacity for metabolism in humans. Journal of biochemical and molecular toxicology 2013, 27 (2), 116-23.
 104. Akingbemi, B. T.; Ge, R.; Klinefelter, G. R.; Zirkin, B. R.; Hardy, M. P., Phthalate-induced Leydig cell hyperplasia is associated with multiple endocrine disturbances. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2004, 101 (3), 775-80.
 105. Ljungvall, K.; Karlsson, P.; Hulten, F.; Madej, A.; Norrgren, L.; Einarsson, S.; Rodriguez-Martinez, H.; Magnusson, U., Delayed effects on plasma concentration of testosterone and testicular morphology by intramuscular low-dose di(2-ethylhexyl)phthalate or oestradiol benzoate in the prepubertal boar. Theriogenology 2005, 64 (5), 1170-84.
 106. Crain, D. A.; Janssen, S. J.; Edwards, T. M.; Heindel, J.; Ho, S. M.; Hunt, P.; Iguchi, T.; Juul, A.; McLachlan, J. A.; Schwartz, J.; Skakkebaek, N.; Soto, A. M.; Swan, S.; Walker, C.; Woodruff, T. K.; Woodruff, T. J.; Giudice, L. C.; Guillette, L. J., Jr., Female reproductive disorders: the roles of endocrine-disrupting compounds and developmental timing. Fertility and sterility 2008, 90 (4), 911-40.
 107. Nassberger, L.; Arbin, A.; Ostelius, J., Exposure of patients to phthalates from polyvinyl chloride tubes and bags during dialysis. Nephron 1987, 45 (4), 286-90.

108. Tickner, J. A.; Schettler, T.; Guidotti, T.; McCally, M.; Rossi, M., Health risks posed by use of Di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in PVC medical devices: a critical review. *American journal of industrial medicine* 2001, 39 (1), 100-11.
109. Becker, K.; Seiwert, M.; Angerer, J.; Heger, W.; Koch, H. M.; Nagorka, R.; Rosskamp, E.; Schluter, C.; Seifert, B.; Ullrich, D., DEHP metabolites in urine of children and DEHP in house dust. *International journal of hygiene and environmental health* 2004, 207 (5), 409-17.
110. Hanawa, T.; Muramatsu, E.; Asakawa, K.; Suzuki, M.; Tanaka, M.; Kawano, K.; Seki, T.; Juni, K.; Nakajima, S., Investigation of the release behavior of diethylhexyl phthalate from the polyvinyl-chloride tubing for intravenous administration. *International journal of pharmaceutics* 2000, 210 (1-2), 109-15.
111. Takehisa, H.; Naoko, E.; Masahiko, S.; Katsuhide, T.; Moriyuki, O.; Keizoh, S.; Mutsuko, T.; Kenji, K.; Shin'ichiro, N.; Toshio, O., Release behavior of diethylhexyl phthalate from the polyvinyl-chloride tubing used for intravenous administration and the plasticized PVC membrane. *International journal of pharmaceutics* 2005, 297 (1-2), 30-7.
112. Blount, B. C.; Silva, M. J.; Caudill, S. P.; Needham, L. L.; Pirkle, J. L.; Sampson, E. J.; Lucier, G. W.; Jackson, R. J.; Brock, J. W., Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population. *Environmental health perspectives* 2000, 108 (10), 979-82.
113. Heudorf, U.; Mersch-Sundermann, V.; Angerer, J., Phthalates: toxicology and exposure. *International journal of hygiene and environmental health* 2007, 210 (5), 623-34.
114. Calafat, A. M.; Brock, J. W.; Silva, M. J.; Gray, L. E., Jr.; Reidy, J. A.; Barr, D. B.; Needham, L. L., Urinary and amniotic fluid levels of phthalate monoesters in rats after the oral administration of di(2-ethylhexyl) phthalate and di-n-butyl phthalate. *Toxicology* 2006, 217 (1), 22-30.
115. Herreros, M. A.; Encinas, T.; Torres-Rovira, L.; Garcia-Fernandez, R. A.; Flores, J. M.; Ros, J. M.; Gonzalez-Bulnes, A., Exposure to the endocrine disruptor di(2-ethylhexyl)phthalate affects female reproductive features by altering pulsatile LH secretion. *Environmental toxicology and pharmacology* 2013, 36 (3), 1141-9.

116. Herreros, M. A.; Gonzalez-Bulnes, A.; Inigo-Nunez, S.; Contreras-Solis, I.; Ros, J. M.; Encinas, T., Toxicokinetics of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) and its effects on luteal function in sheep. *Reproductive biology* 2013, 13 (1), 66-74.
117. Herreros, M. A.; Gonzalez-Bulnes, A.; Inigo-Nunez, S.; Letelier, C.; Contreras-Solis, I.; Ros-Rodriguez, J. M.; Encinas, T., Pregnancy-associated changes in plasma concentration of the endocrine disruptor di(2-ethylhexyl) phthalate in a sheep model. *Theriogenology* 2010, 73 (2), 141-6.
118. Masuno, H.; Iwanami, J.; Kidani, T.; Sakayama, K.; Honda, K., Bisphenol a accelerates terminal differentiation of 3T3-L1 cells into adipocytes through the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology* 2005, 84 (2), 319-27.
119. Heindel, J. J.; vom Saal, F. S., Role of nutrition and environmental endocrine disrupting chemicals during the perinatal period on the aetiology of obesity. *Molecular and cellular endocrinology* 2009, 304 (1-2), 90-6.
120. Biemann, R.; Navarrete Santos, A.; Navarrete Santos, A.; Riemann, D.; Knelangen, J.; Bluher, M.; Koch, H.; Fischer, B., Endocrine disrupting chemicals affect the adipogenic differentiation of mesenchymal stem cells in distinct ontogenetic windows. *Biochemical and biophysical research communications* 2012, 417 (2), 747-52.
121. Biemann, R.; Fischer, B.; Navarrete Santos, A., Adipogenic effects of a combination of the endocrine-disrupting compounds bisphenol A, diethylhexylphthalate, and tributyltin. *Obesity facts* 2014, 7 (1), 48-56.
122. Schmidt, J. S.; Schaedlich, K.; Fiandanese, N.; Pocar, P.; Fischer, B., Effects of di(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on female fertility and adipogenesis in C3H/N mice. *Environmental health perspectives* 2012, 120 (8), 1123-9.
123. Chamorro-Garcia, R.; Sahu, M.; Abbey, R. J.; Laude, J.; Pham, N.; Blumberg, B., Transgenerational inheritance of increased fat depot size, stem cell reprogramming, and hepatic steatosis elicited by prenatal exposure to the obesogen tributyltin in mice. *Environmental health perspectives* 2013, 121 (3), 359-66.
124. Dolinoy, D. C.; Huang, D.; Jirtle, R. L., Maternal nutrient supplementation counteracts bisphenol A-induced DNA hypomethylation in early

- development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007, 104 (32), 13056-61.
125. Bernal, A. J.; Jirtle, R. L., Epigenomic disruption: the effects of early developmental exposures. *Birth defects research. Part A, Clinical and molecular teratology* 2010, 88 (10), 938-44.
 126. Andersen, H. R.; Vinggaard, A. M.; Rasmussen, T. H.; Gjermansen, I. M.; Bonefeld-Jorgensen, E. C., Effects of currently used pesticides in assays for estrogenicity, androgenicity, and aromatase activity in vitro. *Toxicology and applied pharmacology* 2002, 179 (1), 1-12.
 127. Singleton, D. W.; Khan, S. A., Xenoestrogen exposure and mechanisms of endocrine disruption. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library* 2003, 8, s110-8.
 128. Kojima, H.; Katsura, E.; Takeuchi, S.; Niiyama, K.; Kobayashi, K., Screening for estrogen and androgen receptor activities in 200 pesticides by in vitro reporter gene assays using Chinese hamster ovary cells. *Environmental health perspectives* 2004, 112 (5), 524-31.
 129. Kojima, M.; Fukunaga, K.; Sasaki, M.; Nakamura, M.; Tsuji, M.; Nishiyama, T., Evaluation of estrogenic activities of pesticides using an in vitro reporter gene assay. *International journal of environmental health research* 2005, 15 (4), 271-80.
 130. Fenichel, P.; Brucker-Davis, F., [Environmental endocrine disruptors and breast cancer: new risk factors?]. *Gynecologie, obstetrique & fertilité* 2008, 36 (10), 969-77.
 131. Zumbado, M.; Goethals, M.; Alvarez-Leon, E. E.; Luzardo, O. P.; Cabrera, F.; Serra-Majem, L.; Dominguez-Boada, L., Inadvertent exposure to organochlorine pesticides DDT and derivatives in people from the Canary Islands (Spain). *The Science of the total environment* 2005, 339 (1-3), 49-62.
 132. Schoeters, G.; Den Hond, E.; Zuurbier, M.; Naginiene, R.; van den Hazel, P.; Stilianakis, N.; Ronchetti, R.; Koppe, J. G., Cadmium and children: exposure and health effects. *Acta Paediatr Suppl* 2006, 95 (453), 50-4.
 133. Lidsky, T. I.; Schneider, J. S., Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates. *Brain : a journal of neurology* 2003, 126 (Pt 1), 5-19.

134. Castoldi, A. F.; Coccini, T.; Manzo, L., Neurotoxic and molecular effects of methylmercury in humans. *Reviews on environmental health* 2003, 18 (1), 19-31.
135. Herreros, M. A.; Inigo-Nunez, S.; Sanchez-Perez, E.; Encinas, T.; Gonzalez-Bulnes, A., Contribution of fish consumption to heavy metals exposure in women of childbearing age from a Mediterranean country (Spain). *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 2008, 46 (5), 1591-5.
136. Bays, H.E. (2009) "Sick fat;" metabolic disease; and atherosclerosis. *Am. J. Med.*, 122, S26-S37.
137. Ford, E.S.; Giles, W.H. and Mokdad, A.H. (2004) Increasing prevalence of the metabolic syndrome among U.S. adults. *Diabetes Care*, 27, 2444-2449.
138. Rogers, J. and Mitchell, G.W., 1952 The relation of obesity to menstrual disturbances. *New Engl. J. Med.*, 247, 53-56.
139. Metwally, M.; Li, T.C. and Ledger, W.L. (2007) The impact of obesity on female reproductive function. *Obes. Rev.*, 8, 515-523.
140. Pasquali, R.; Patton, L. and Gambineri, A. (2007) Obesity and infertility. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.*, 14, 482-487.
141. Loret de Mola, J.R. (2009) Obesity and its relationship to infertility in men and women. *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.*, 36, 333-346.
142. Cochrane WA., 1965 Overnutrition in prenatal and neonatal life: a problem? *Canadian Medical Association Journal* 93, 893-899.
143. Satpathy, H.K.; Fleming, A.; Frey, D.; Barsoom, M.; Satpathy, C. and Khandalavala, J. Maternal obesity and pregnancy. *Postgrad. Med.*, 120, E01-E09.
144. Higgins, L.; Greenwood, S.L.; Wareing, M.; Sibley, C.P. and Mills, TA. (2011) Obesity and the placenta: A consideration of nutrient exchange mechanisms in relation to aberrant fetal growth. *Placenta*, 32, 1-7.
145. Apter, D. (1997) Development of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 816, 9-21.
146. Moguilevsky, J.A. and Wuttke, W. (2001) Changes in the control of gonadotrophin secretion by neurotransmitters during sexual development in rats. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 109, 188-195.

147. Garcia-Segura, L.M. and McCarthy, M.M. (2004). Minireview: role of glia in neuroendocrine function. *Endocrinology*, 145, 1082-1086.
148. Lindström, P. (2007) The Physiology of Obese-Hyperglycaemic Mice [ob/ob Mice]. *Sci. World J.*, 7, 666-685.
149. Tena-Sempere, M. (2006) KISS-1 and reproduction: focus on its role in the metabolic regulation of fertility. *Neuroendocrinol.*, 83, 275-281.
150. Tena-Sempere, M. (2006) GPR54 and kisspeptin in reproduction. *Hum Reprod. Update*, 12, 631-639.
151. Cioffi, J.A.; Van Blerkom, J.; Antczak, M.; Shafer, A.; Wittmer, S. and Snodgrass, H.R. (1997) The expression of leptin and its receptors in pre-ovulatory human follicles. *Mol. Human Reprod.*, 3, 467-472.
152. Karlsson, C.; Lindell, K.; Svensson, E.; Bergh, C.; Lind, P.; Billig, H.; Carlsson, L.M. and Carlsson, B. (1997) Expression of functional leptin receptors in the human ovary. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 82, 4144-4148.
153. Alfer, J.; Muller-Schottle, F.; Classen-Linke, I.; von Rango, U.; Happel, L.; Beier-Hellwig, K.; Rath, W. and Beier, H.M. (2000) The endometrium as a novel target for leptin: differences in fertility and subfertility. *Mol. Human Reprod.*, 6, 595-601.
154. Gonzalez, R.R.; Caballero-Campo, P.; Jasper, M.; Mercader, A.; Devoto, L.; Pellicer, A. and Simon, C. (2000) Leptin and leptin receptor are expressed in the human endometrium and endometrial leptin secretion is regulated by the human blastocyst. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.*, 85, 4883-4888.
155. Duggal, P.S.; Weitsman, S.R.; Magoffin, D.A. and Norman, R.J. (2002) Expression of the long (OB-RB) and short (OB-RA) forms of the leptin receptor throughout the oestrous cycle in the mature rat ovary. *Reproduction*, 123, 899-905.
156. Kawamura, K.; Sato, N.; Fukuda, J.; Kodama, H.; Kumagai, J.; Tanikawa, H.; Nakamura, A. and Tanaka, T. (2002) Leptin promotes the development of mouse preimplantation embryos in vitro. *Endocrinology*, 143, 1922-1931.
157. Craig, J.A.; Zhu, H.; Dyce, P.W.; Wen, L. and Li, J. (2005) Leptin enhances porcine preimplantation embryo development in vitro. *Mol. Cell Endocrinol.*, 229, 141-147.

158. Pallares, P.; Garcia-Fernandez, R.A.; Criado, L.M.; Letelier, C.A.; Fernandez-Toro, J.M.; Esteban, D.; Flores, J.M. and Gonzalez-Bulnes, A. (2010) Substantiation of ovarian effects of leptin by challenging a mouse model of obesity/type 2 diabetes. *Theriogenology*, 73, 1088-1095.
159. Meza-Herrera, C.A.; Gonzalez-Bulnes, A.; Kridli, R.T.; Mellado, M.; Arechiga-Flores, C.F.; Salinas, H. and Luginbuhl, J.M. (2011) Neuroendocrine, metabolic and genomic cues signalling the onset of puberty in females. *Reprod. Dom. Anim.* doi: 10.1111/j.1439-0531.2009.01355.x
160. Moschos, S.; Chan, J.L. and Mantzoros, C.S. (2002) Leptin and reproduction: a review. *Fertil. Steril.*, 77, 433-444.
161. Zachow, R.J. and Magoffin, D.A. (1997) Direct intraovarian effects of leptin: impairment of the synergistic action of insulin-like growth factor-I on follicle-stimulating hormone-dependent estradiol-17 β production by rat ovarian granulosa cells. *Endocrinology*, 138, 847-850.
162. Brannian, J.D. and Hansen, K.A. (2002) Leptin and ovarian folliculogenesis: implications for ovulation induction and ART outcomes. *Seminars Reprod. Med.*, 20, 103-112.
163. Castellucci, M.; De Matteis, R.; Meisser, A.; Canello, R.; Monsurrò, V.; Islami, D.; Sarzani, R.; Marzioni, D.; Cinti, S. and Bischof, P. (2000) Leptin modulates extracellular matrix molecules and metalloproteinases: possible implications for trophoblast invasion. *Mol. Human Reprod.*, 10, 951-958.
164. Cervero, A.; Horcajadas, J.A.; Dominguez, F.; Pellicer, A. and Simon, C. (2005) Leptin system in embryo development and implantation: a protein in search of a function. *Reprod. Biomed. Online*, 10, 217-223.
165. Takahashi, Y.; Okimura, Y.; Mizuno, I.; Iida, K.; Takahashi, T.; Kaji, H.; Abe, H. and Chihara, K. (1997) Leptin induces mitogen activated protein kinase-dependent proliferation of C3H10T1/2 cells. *J. Biol. Chem.*, 272, 12897-12900
166. Martí, A.; Berraondo, B. and Martínez, J.A. (1999) Leptin: physiological actions. *J. Physiol. Biochem.*, 55, 43-49.
167. Fernández-Riejos, P.; Najib, S.; Santos-Alvarez, J.; Martín-Romero, C.; Pérez-Pérez, A.; González-Yanes, C. and Sánchez-Margalet, V. (2010) Role of leptin in the activation of immune cells. *Mediators Inflamm.*, 2010, 568343.

168. Loffreda, S.; Yang, S.Q.; Lin, H.Z.; Karp, C.L.; Brengman, M.L.; Wang, D.J.; Klein, A.S.; Bulkley, G.B.; Bao, C.; Noble, P.W.; Lane, M.D. and Diehl, A.M. (1998) Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FA-SEB J.*, 12, 57-65.
169. Fulghesu, A.M.; Sanna, F.; Uda, S.; Magnini, R.; Portoghese, E. and Battetta, B. (2011) IL-6 serum levels and production is related to an altered immune response in polycystic ovary syndrome girls with insulin resistance. *Mediators Inflamm.*, 2011, 389317.
170. Pate, J.L.; Toyokawa, K.; Walusimbi, S. and Brzezicka, E. (2010) The interface of the immune and reproductive systems in the ovary: lessons learned from the corpus luteum of domestic animal models. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 64, 275-286.
171. Lappas, M.; Permezel, M. and Rice, G.E. (2005) Leptin and adiponectin stimulate the release of proinflammatory cytokines and prostaglandins from human placenta and maternal adipose tissue via nuclear factor-kappaB, peroxisomal proliferator-activated receptor-gamma and extracellularly regulated kinase 1/2. *Endocrinology*, 146, 3334-3342.
172. Weiss, G.; Goldsmith, L.T.; Taylor, R.N.; Bellet, D. and Taylor, H.S. (2009) Inflammation in reproductive disorders. *Reprod Sci.*, 16, 216-229.
173. Frisch, R.E. (1984) Body fat; puberty and fertility. *Biol. Rev.*, 59, 161-188.
174. Frisch, R.E.; Revelle, R. and Cook, S. (1973) Components of weight at menarche and the initiation of the adolescent growth spurt in girls: estimated total water; lean body weight and fat. *Human Biol.*, 45, 469-483.
175. Rawlings, N.C.; Evans, A.C.; Hoaramooz, A. and Bartlewski, P.M. (2003) Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle; sheep and goats. *Anim. Reprod. Sci.*, 78, 259-270.
176. O'Rahilly, S. (1998) Life without leptin. *Nature*, 392, 330-331.
177. Barb, C.R.; Kraeling, R.R. and Rampacek, G.B. (2002) Metabolic regulation of the neuroendocrine axis in pigs. *Reprod. Suppl.*, 59, 203-
178. Barb, C.R. and Kraeling, R.R. (2004) Role of leptin in the regulation of gonadotropin secretion in farm animals. *Anim. Reprod. Sci.*, 82-83, 155-167.
179. Popovic, V. and Casanueva, F.F. (2002) Leptin; nutrition and reproduction: new insights. *Hormones*, 1, 204-220.

180. Kaplowitz, P.B. (2008) Link between body fat and the timing of puberty. *Pediatrics*, 121, S208-S217.
181. Pelusi, C. and Pasquali, R. (2003) Polycystic ovary syndrome in adolescents. Pathophysiology and treatment implication. *Treat Endocrinol.*, 2, 215-230.
182. Pasquali, R. and Casimirri, F. (1993) The impact of obesity on hyperandrogenism and polycystic ovary syndrome in premenopausal women. *Clin. Endocrinol.*, 39, 1-16.
183. Lake, J.K.; Power, C. and Cole, T.J. (1997) Women's reproductive health: the role of body mass index in early and adult life. *Intern. J. Obes. Rel. Metabol. Dis.*, 21, 432-438.
184. McCartney, C.R.; Prendergast, K.A.; Chhabra, S.; Eagleson, C.A.; Yoo, R.; Chang, R.J.; Foster, C.M. and Marshall, J.C. (2006) The association of obesity and hyperandrogenemia during the pubertal transition in girls: obesity as a potential factor in the genesis of postpubertal hyperandrogenism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 91, 1714-1722.
185. Norman, R.J. and Clark, A.M. (1998) Obesity and reproductive disorders: a review. *Reprod. Fertil. Dev.*, 10, 55-63.
186. Butzow, T.L., Lehtovirta, M., Siegborg, R., Hovatta, O., Koistinen, R., Sepala, M. and Apter, D., 2000 The decrease in luteinizing hormone secretion in response to weight reduction is inversely related to the severity of insulin resistance in overweight women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 85, 3271-3275.
187. Duggal, P.S., Van Der Hoek, K.H., Milner, C.R., Ryan, N.K., Armstrong, D.T., Magoffin, D.A. and Norman, R.J., 2000 The in vivo and in vitro effects of exogenous leptin on ovulation in the rat. *Endocrinology* 141, 1971-1976.
188. Bouloumié, A., Drexler, H.C., Lafontan, M. and Busse, R., 1998 Leptin; the product of Ob gene; promotes angiogenesis. *Circulation Research* 83, 1059-1066.
189. Brewer, C.J. and Balen, A.H., 2010 The adverse effects of obesity on conception and implantation. *Reproduction* 140, 347-364.
190. Gambineri, A.; Pelusi, C.; Vicennati, V.; Pagotto, U. and Pasquali, R., 2002 Obesity and the polycystic ovary syndrome. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Diseases* 26, 883-896

191. Pasquali, R., 2006 Obesity; fat distribution and infertility. *Maturitas* 54, 363–371
192. Balen, A., Homburg, R. and Franks, S., 2009 Defining polycystic ovary syndrome. *British Medical Journal* 338:a2968
193. Shi D, Dyck MK., Uwiera RRE, Russell J.C., Proctor SD., and Vine DF. , 2009 A Unique Rodent Model of Cardiometabolic Risk Associated with the Metabolic Syndrome and Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrinology* 150, 4425–4436.
194. Baranowska, B., Radzikowska, M., Wasilewska-Dziubinska, E., Kaplinski, A., Roguski, K. and Plonowski, A., 1999 Neuropeptide Y; leptin; galanin and insulin in women with polycystic ovary syndrome. *Gynaecology and Endocrinology* 13, 344–351,
195. Messinis, I.E. and Milingos, S.D., 1999 Leptin in human reproduction. *Human Reproduction Update* 5, 52–63.
196. Lintsen, A.M., Pasker-de Jong, P.C., de Boer, E.J., Burger, C.W., Jansen, C.A., Braat, D.D. and van Leeuwen FE., 2005 Effects of subfertility cause; smoking and body weight on the success rate of IVF. *Human Reproduction* 20, 1867–1875,
197. Lashen, H., Ledger, W., Bernal, A.L. and Barlow, D., 1999 Extremes of body mass do not adversely affect the outcome of superovulation and in-vitro fertilization. *Human Reproduction* 14, 712–715
198. Fedorcsak, P., Dale, P.O.; Storeng, R.; Ertzeid, G.; Bjørcke, S.; Oldereid, N.; Omland, A.K.; Abyholm, T. and Tanbo, T., 2004 Impact of overweight and underweight on assisted reproduction treatment. *Human Reproduction* 19, 2523–2528.
199. Lashen, H., Fear, K. and Sturdee, D.W., 2004 Obesity is associated with increased risk of first trimester and recurrent miscarriage: matched case-control study. *Human Reproduction* 19, 1644–1646.
200. Bellver, J., Ayllón, Y., Ferrando, M., Melo, M., Goyri, E., Pellicer, A., Remohí, J. and Meseguer, M., 2010 Female obesity impairs in vitro fertilization outcome without affecting embryo quality. *Fertility and Sterility* 93, 447–454
201. Levens, E.D. and Skarulis, M.C., 2008 Assessing the role of endometrial alteration among obese patients undergoing assisted reproduction. *Fertility and Sterility* 89, 1606–1608.

202. Mozzanega, B., Mioni, R., Granzotto, M., Chiarelli, S., Xamin, N., Zuliani, L., Sicolo, N., Marchesoni, D. and Vettor, R., 2004 Obesity reduces the expression of GLUT4 in the endometrium of normoinsulinemic women affected by the polycystic ovary syndrome. *Annales of the New York Academy of Science* 1034, 364–374.
203. Ramsay, J.E., Ferrell, W.R., Crawford, L., Wallace, A.M., Greer, I.A. and Sattar, N., 2002 Maternal obesity is associated with dysregulation of metabolic; vascular; and inflammatory pathways. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 87, 4231-4237;
204. Challier, J.C., Basu, S., Bintein, T., Minium, J., Hotmire, K., Catalano, P.M. and Hauguel-de-Mouzon, S., 2008 Obesity in pregnancy stimulates macrophage accumulation and inflammation in the placenta. *Placenta* 29, 274-281
205. Founds, S.A.; Powers, R.W.; Patrick, T.E.; Ren, D.; Harger, G.F.; Markovic, N. and Roberts, J.M. (2008) A comparison of circulating TNF-alpha in obese and lean women with and without preeclampsia. *Hypertension and Pregnancy* 27, 39-48.
206. Zhu, M.J., Dua, M., Nathanielsz, P.W. and Ford, S.P., 2010 Maternal obesity up-regulates inflammatory signaling pathways and enhances cytokine expression in the mid-gestation sheep placenta. *Placenta* 31, 387-391.
207. Denison, F.C.; Roberts, K.A.; Barr, S.M. and Norman, J.E., 2010 Obesity, pregnancy, inflammation and vascular function. *Reproduction* 140, 373-385
208. Herrera E, Ortega-Senovilla H. Disturbances in lipid metabolism in diabetic pregnancy-are these the cause of the problem?. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2010; 24 (4): 515-25.
209. Herrera E, Ortega-Senovilla H. Lipid metabolism during pregnancy and its implications for fetal growth. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2014; 15(1): 24-31.
210. Parlakgumus HA, Aytac PC, Kalaycı H, Tarim E. First trimester maternal lipid levels and serum markers of small-and large-for-gestational age infants. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2014; 27(1): 48-51.
211. Lager S, Powell TL. Regulation of Nutrient Transport across the Placenta. *Journal of Pregnancy*. 2012, 179827.

212. Jansson T. Amino acid transporters in the human placenta. *Pediatric Research*. 2001; 49 (2): 141–7.
213. Desforges M, Mynett KJ, Jones RL, Greenwood SL, Westwood M, Sibley CP, Glazier JD. The SNAT4 isoform of the system A amino acid transporter is functional in human placental microvillous plasma membrane. *The Journal of Physiology*. 2009; 587: 61–72.
214. Verrey F. System L. Heteromeric exchangers of large, neutral amino acids involved in directional transport. *Pflugers Archives* 2003; 445(5): 529-.
215. Jansson T, Wennergren M, Illsley NP. Glucose transporter protein expression in human placenta throughout gestation and in intrauterine growth retardation. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1993; 77 (6): 1554–62.
216. Shelley HJ, Bassett JM, Milner RD. Control of carbohydrate metabolism in the fetus and newborn. *British Medical Bulletin*. 1975; 31: 37–43.
217. Gaither K, Quraishi AN, Illsley NP. Diabetes alters the expression and activity of the human placental GLUT1 glucose transporter. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1999; 84 (2): 695–701.
218. Haggarty P. Fatty acid supply to the human fetus. *Annual Review of Nutrition*. 2010; 30: 237–55.
219. Greenberg JA, Bell SJ, Ausdal WV. Omega-3 fatty acid supplementation during pregnancy. *Reviews of Obstetrics and Gynecology*. 2008; 1:162–9.
220. Hachey DL. Benefits and risks of modifying maternal fat intake in pregnancy and lactation. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1994; 59 (2): 454S-63S.
221. Jones ML, Mark PJ, Waddell BJ. Maternal dietary omega-3 fatty acids and placental function. *Reproduction*. 2014; 147 (5): R143-R152.
222. Wu G, Bazer FW, Wallace JM, Spencer TE. Board-invited review: intrauterine growth retardation: implications for the animal sciences. *Journal of Animal Science*. 2006; 84(9): 2316-37,
223. Saffery R. Epigenetic change as the major mediator of fetal programming in humans: are we there yet?. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 2014; 64 (3-4): 203-7.

224. Anderson UD, Olsson MG, Kristensen KH, Åkerström B, Hansson SR. Review: Biochemical markers to predict preeclampsia. *Placenta*. 2012; 33: S42–7.
225. Morales-Prieto DM, Ospina-Prieto S, Schmidt A, Chaiwangyen W, Markert UR. Elsevier Trophoblast Research Award Lecture: origin, evolution and future of placenta miRNAs. *Placenta*. 2014; 35: S39–45.
226. Staff AC, Benton SJ, von Dadelszen P, Roberts JM, Taylor RN, Powers RW, Redman CW. Redefining preeclampsia using placenta-derived biomarkers. *Hypertension*. 2013; 61 (5): 932–42.
227. Nanaev A, Chwalisz K, Frank HG, Kohnen G, Hegele-Hartung C, Kaufmann P. Physiological dilation of uteroplacental arteries in the guinea pig depends on nitric oxide synthase activity of extravillous trophoblast. *Cell and tissue research*. 1995; 282 (3): 407–21.
228. Gouge RC, Marshburn P, Gordon BE, Nunley W, Huet-Hudson YM. Nitric oxide as a regulator of embryonic development. *Biology of Reproduction*. 1998; 58 (4): 875–9.
229. Gaglioti S, Scavone C, Bevilacqua E. Participation of the mouse implanting trophoblast in nitric oxide production during pregnancy. *Biology of Reproduction* 2000; 62: 260–8.
230. Purcell TL, Given R, Chwalisz K, Garfield RE. Nitric oxide synthase distribution during implantation in the mouse. *Molecular human reproduction*. 1999; 5 (5): 467–75.
231. Serrano NC, Casas JP, Díaz LA, Páez C, Mesa CM, Cifuentes R, López-Jaramillo P. Endothelial NO Synthase Genotype and Risk of Preeclampsia A Multicenter Case-Control Study. *Hypertension*. 2004, 44 (5): 702–7.
232. Schneider D, Hernández C, Farías M, Uauy R, Krause BJ, Casanella P. Oxidative stress as common trait of endothelial dysfunction in chorionic arteries from fetuses with IUGR and LGA. *Placenta*. 2015; 36 (5): 552–8.
233. Böger RH. Asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, explains the “L-arginine paradox” and acts as a novel cardiovascular risk factor. *The Journal of Nutrition*. 2004; 134: 2842S–7S.
234. Chiavaroli V, Desses L, de Giorgis T, Giannini C, Marcovecchio ML, Chiarelli F, Mohn A. Is asymmetric dimethylarginine associated with

- being born small and large for gestational age?. *Antioxidant and Redox Signaling*. 2014; 20 (15): 2317-22.
235. Mateo RD, Wu G, Bazer FW, Park JC, Shinzato I, Kim SW. Dietary L-arginine supplementation enhances the reproductive performance of gilts. *The Journal of Nutrition*, 2007; 137 (3): 652-6.
 236. Wu G. Functional amino acids in growth, reproduction and health. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*. 2010; 1 (1): 31-7.
 237. Gao K, Jiang Z, Lin Y, Zheng C, Zhou G, Chen F, Wu G. Dietary L-arginine supplementation enhances placental growth and reproductive performance in sows. *Amino Acids*. 2012; 42 (6): 2207-14.
 238. Li X, Bazer FW, Johnson GA, Burghardt RC, Frank JW, Dai Z, Wu G. Dietary supplementation with L-arginine between days 14 and 25 of gestation enhances embryonic development and survival in gilts. *Amino Acids*. 2014; 46 (2): 375-84.
 239. Marliss EB, Chevalier S, Gougeon R, Morais JA, Lamarche M, Adegoke OAJ, Wu G. Elevations of plasma methylarginines in obesity and ageing are related to insulin sensitivity and rates of protein turnover. *Diabetologia*. 2006; 49 (2): 351-9.
 240. Bird IM, Zhang L, Magness RR. Possible mechanisms underlying pregnancy-induced changes in uterine artery endothelial function. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2003; 284 (2): R245-58.
 241. Zhong X, Li W, Huang X, Zhang L, Yimamu M, Raiput N, Wang T. Impairment of cellular immunity is associated with overexpression of heat shock protein 70 in neonatal pigs with intrauterine growth retardation. *Cell Stress and Chaperones*. 2012; 17 (4): 495-505.
 242. Visentin S, Lapolla A, Londero AP, Cosma C, Dalfrà M, Camerin M, Faggian D, Plebani M, Cosmi E, Adiponectin levels are reduced while markers of systemic inflammation and aortic remodelling are increased in intrauterine growth restricted mother-child couple. *BioMed Research International*. 2014; 401595..
 243. Ghio, A.; Bertolotto, A.; Resi, V.; Volpe, L.; Di Cianni, G., Triglyceride metabolism in pregnancy. *Advances in clinical chemistry* 2011, 55, 133-53.

244. Conti, E.; Zezza, L.; Ralli, E.; Caserta, D.; Musumeci, M. B.; Moscarini, M.; Autore, C.; Volpe, M., Growth factors in preeclampsia: a vascular disease model. A failed vasodilation and angiogenic challenge from pregnancy onwards? *Cytokine & growth factor reviews* 2013, 24 (5), 411-25.
245. Li, H. P.; Chen, X.; Li, M. Q., Gestational diabetes induces chronic hypoxia stress and excessive inflammatory response in murine placenta. *International journal of clinical and experimental pathology* 2013, 6 (4), 650-9.
246. Roberts, J. M.; Pearson, G.; Cutler, J.; Lindheimer, M.; Pregnancy, N. W. G. o. R. o. H. D., Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension During Pregnancy. *Hypertension* 2003, 41 (3), 437-45
247. Ravelli, G. P.; Stein, Z. A.; Susser, M. W., Obesity in young men after famine exposure in utero and early infancy. *The New England journal of medicine* 1976, 295 (7), 349-53.
248. Lumey, L. H.; Stein, A. D.; Kahn, H. S.; Romijn, J. A., Lipid profiles in middle-aged men and women after famine exposure during gestation: the Dutch Hunger Winter Families Study. *The American journal of clinical nutrition* 2009, 89 (6), 1737-43.
249. Stein, Z.; Susser, M., The Dutch famine, 1944-1945, and the reproductive process. I. Effects on six indices at birth. *Pediatric Research* 1975, 9, 70-6.
250. Stein, Z.; Susser, M., The Dutch famine, 1944-1945, and the reproductive process. II. Interrelations of caloric rations and six indices at birth. *Pediatric Research* 1975, 9, 76-83.
251. Ravelli, A. C.; van Der Meulen, J. H.; Osmond, C.; Barker, D. J.; Bleker, O. P., Obesity at the age of 50 y in men and women exposed to famine prenatally. *The American journal of clinical nutrition* 1999, 70 (5), 811-6.
252. Roseboom, T.; de Rooij, S.; Painter, R., The Dutch famine and its long-term consequences for adult health. *Early human development* 2006, 82 (8), 485-91.
253. Kahn, H. S.; Graff, M.; Stein, A. D.; Lumey, L. H., A fingerprint marker from early gestation associated with diabetes in middle age: the Dutch Hunger Winter Families Study. *International journal of epidemiology* 2009, 38 (1), 101-9.

254. Barker, D. J.; Osmond, C.; Law, C. M., The intrauterine and early post-natal origins of cardiovascular disease and chronic bronchitis. *Journal of epidemiology and community health* 1989, 43 (3), 237-40.
255. Barker, D. J.; Hales, C. N.; Fall, C. H.; Osmond, C.; Phipps, K.; Clark, P. M., Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 1993, 36 (1), 62-7.
256. Barker, D. J.; Clark, P. M., Fetal undernutrition and disease in later life. *Reviews of reproduction* 1997, 2 (2), 105-12.
257. Gluckman, P. D.; Hanson, M. A., Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science* 2004, 305 (5691), 1733-6.
258. Lucas, A., Programming by early nutrition: an experimental approach. *The Journal of nutrition* 1998, 128 (2 Suppl), 401S-406S.
259. McMillen, I. C.; Robinson, J. S., Developmental origins of the metabolic syndrome: prediction, plasticity, and programming. *Physiological reviews* 2005, 85 (2), 571-633.
260. Gluckman, P. D.; Hanson, M. A.; Beedle, A. S., Early life events and their consequences for later disease: a life history and evolutionary perspective. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council* 2007, 19 (1), 1-19.
261. Vickers, M. H.; Breier, B. H.; Cutfield, W. S.; Hofman, P. L.; Gluckman, P. D., Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 2000, 279 (1), E83-7.
262. Gluckman, P. D.; Hanson, M. A.; Spencer, H. G.; Bateson, P., Environmental influences during development and their later consequences for health and disease: implications for the interpretation of empirical studies. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society* 2005, 272 (1564), 671-7.
263. Gluckman, P. D.; Hanson, M. A.; Spencer, H. G., Predictive adaptive responses and human evolution. *Trends in ecology & evolution* 2005, 20 (10), 527-33
264. Wang, J.; Wu, Z.; Li, D.; Li, N.; Dindot, S. V.; Satterfield, M. C.; Bazer, F. W.; Wu, G., Nutrition, epigenetics, and metabolic syndrome. *Antioxidants & redox signaling* 2012, 17 (2), 282-301.

265. Feinberg, A. P., Epigenetics at the epicenter of modern medicine. *Jama* 2008, 299 (11), 1345-50.
266. Warner, M. J.; Ozanne, S. E., Mechanisms involved in the developmental programming of adulthood disease. *The Biochemical journal* 2010, 427 (3), 333-47.
267. Simmons, R., Epigenetics and maternal nutrition: nature v. nurture. *The Proceedings of the Nutrition Society* 2011, 70 (1), 73-81.
268. Grunstein, M., Histone acetylation in chromatin structure and transcription. *Nature* 1997, 389 (6649), 349-52.
269. Kawasaki, H.; Taira, K.; Morris, K. V., siRNA induced transcriptional gene silencing in mammalian cells. *Cell cycle* 2005, 4 (3), 442-8.
270. Unterberger, A.; Szyf, M.; Nathanielsz, P. W.; Cox, L. A., Organ and gestational age effects of maternal nutrient restriction on global methylation in fetal baboons. *Journal of medical primatology* 2009, 38 (4), 219-27.
271. Heijmans, B. T.; Tobi, E. W.; Stein, A. D.; Putter, H.; Blauw, G. J.; Susser, E. S.; Slagboom, P. E.; Lumey, L. H., Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2008, 105 (44), 17046-9.
272. Tobi, E. W.; Lumey, L. H.; Talens, R. P.; Kremer, D.; Putter, H.; Stein, A. D.; Slagboom, P. E.; Heijmans, B. T., DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Human molecular genetics* 2009, 18 (21), 4046-53.
273. Yang, B. T.; Dayeh, T. A.; Kirkpatrick, C. L.; Taneera, J.; Kumar, R.; Groop, L.; Wollheim, C. B.; Nitert, M. D.; Ling, C., Insulin promoter DNA methylation correlates negatively with insulin gene expression and positively with HbA(1c) levels in human pancreatic islets. *Diabetologia* 2011, 54 (2), 360-7.
274. Ling, C.; Groop, L., Epigenetics: a molecular link between environmental factors and type 2 diabetes. *Diabetes* 2009, 58 (12), 2718-25.
275. McGee, S. L.; van Denderen, B. J.; Howlett, K. F.; Mollica, J.; Schertzer, J. D.; Kemp, B. E.; Hargreaves, M., AMP-activated protein kinase regulates GLUT4 transcription by phosphorylating histone deacetylase 5. *Diabetes* 2008, 57 (4), 860-7.

276. Hulsmans, M.; De Keyzer, D.; Holvoet, P., MicroRNAs regulating oxidative stress and inflammation in relation to obesity and atherosclerosis. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 2011, 25 (8), 2515-27.
277. Zhang, X. M.; Guo, L.; Chi, M. H.; Sun, H. M.; Chen, X. W., Identification of active miRNA and transcription factor regulatory pathways in human obesity-related inflammation. *BMC bioinformatics* 2015, 16 (1), 76.
278. McGregor, R. A.; Choi, M. S., microRNAs in the regulation of adipogenesis and obesity. *Current molecular medicine* 2011, 11 (4), 304-16.
279. Desai, M.; Jellyman, J. K.; Ross, M. G., Epigenomics, gestational programming and risk of metabolic syndrome. *International journal of obesity* 2015, 39 (4), 633-641
280. Watkins, A. J.; Ursell, E.; Panton, R.; Papenbrock, T.; Hollis, L.; Cunningham, C.; Wilkins, A.; Perry, V. H.; Sheth, B.; Kwong, W. Y.; Eckert, J. J.; Wild, A. E.; Hanson, M. A.; Osmond, C.; Fleming, T. P., Adaptive responses by mouse early embryos to maternal diet protect fetal growth but predispose to adult onset disease. *Biology of reproduction* 2008, 78 (2), 299-306.
281. Fleming, T. P.; Kwong, W. Y.; Porter, R.; Ursell, E.; Fesenko, I.; Wilkins, A.; Miller, D. J.; Watkins, A. J.; Eckert, J. J., The embryo and its future. *Biology of reproduction* 2004, 71 (4), 1046-54.
282. Sinclair, K. D.; Singh, R., Modelling the developmental origins of health and disease in the early embryo. *Theriogenology* 2007, 67 (1), 43-53
283. Nohr, E. A.; Bech, B. H.; Davies, M. J.; Frydenberg, M.; Henriksen, T. B.; Olsen, J., Prepregnancy obesity and fetal death: a study within the Danish National Birth Cohort. *Obstetrics and gynecology* 2005, 106 (2), 250-9.
284. Nohr, E. A.; Bech, B. H.; Vaeth, M.; Rasmussen, K. M.; Henriksen, T. B.; Olsen, J., Obesity, gestational weight gain and preterm birth: a study within the Danish National Birth Cohort. *Paediatric and perinatal epidemiology* 2007, 21 (1), 5-14.
285. Nohr, E. A.; Vaeth, M.; Bech, B. H.; Henriksen, T. B.; Cnattingius, S.; Olsen, J., Maternal obesity and neonatal mortality according to subtypes of preterm birth. *Obstetrics and gynecology* 2007, 110 (5), 1083-90.

286. Ross, M. G.; Desai, M., Developmental programming of offspring obesity, adipogenesis, and appetite. *Clinical obstetrics and gynecology* 2013, 56 (3), 529-36.
287. Scully, T., Diabetes in numbers. *Nature* 2012, 485 (7398), S2-3.
288. Shetty, P., Public health: India's diabetes time bomb. *Nature* 2012, 485 (7398), S14-6.
289. Kong, A. P.; Xu, G.; Brown, N.; So, W. Y.; Ma, R. C.; Chan, J. C., Diabetes and its comorbidities--where East meets West. *Nature reviews. Endocrinology* 2013, 9 (9), 537-47.
290. Mohan, M.; Prasad, S. R.; Chellani, H. K.; Kapani, V., Intrauterine growth curves in north Indian babies: weight, length, head circumference and ponderal index. *Indian pediatrics* 1990, 27 (1), 43-51.
291. Bavdekar, A.; Yajnik, C. S.; Fall, C. H.; Bapat, S.; Pandit, A. N.; Deshpande, V.; Bhawe, S.; Kellingray, S. D.; Joglekar, C., Insulin resistance syndrome in 8-year-old Indian children: small at birth, big at 8 years, or both? *Diabetes* 1999, 48 (12), 2422-9.
292. Keyes, L. E.; Armaza, J. F.; Niermeyer, S.; Vargas, E.; Young, D. A.; Moore, L. G., Intrauterine growth restriction, preeclampsia, and intrauterine mortality at high altitude in Bolivia. *Pediatric research* 2003, 54 (1), 20-5.
293. Baschat, A. A., Fetal responses to placental insufficiency: an update. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* 2004, 111 (10), 1031-41.
294. Nardoza, L. M.; Araujo Junior, E.; Barbosa, M. M.; Caetano, A. C.; Lee, D. J.; Moron, A. F., Fetal growth restriction: current knowledge to the general Obs/Gyn. *Archives of gynecology and obstetrics* 2012, 286 (1), 1-13.
295. Cetin, I.; Mando, C.; Calabrese, S., Maternal predictors of intrauterine growth restriction. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* 2013, 16 (3), 310-9.
296. Monge, C.; Leon-Velarde, F., Physiological adaptation to high altitude: oxygen transport in mammals and birds. *Physiological reviews* 1991, 71 (4), 1135-72.
297. Jensen, G. M.; Moore, L. G., The effect of high altitude and other risk factors on birthweight: independent or interactive effects? *American journal of public health* 1997, 87 (6), 1003-7.

298. Krampl, E.; Lees, C.; Bland, J. M.; Espinoza Dorado, J.; Moscoso, G.; Campbell, S., Fetal biometry at 4300 m compared to sea level in Peru. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 2000, 16 (1), 9-18.
299. Moore, L. G.; Young, D.; McCullough, R. E.; Droma, T.; Zamudio, S., Tibetan protection from intrauterine growth restriction (IUGR) and reproductive loss at high altitude. *American journal of human biology : the official journal of the Human Biology Council* 2001, 13 (5), 635-44.
300. Moore, L. G.; Charles, S. M.; Julian, C. G., Humans at high altitude: hypoxia and fetal growth. *Respiratory physiology & neurobiology* 2011, 178 (1), 181-90..
301. Mortola, J. P.; Frappell, P. B.; Agüero, L.; Armstrong, K., Birth weight and altitude: a study in Peruvian communities. *The Journal of pediatrics* 2000, 136 (3), 324-9.
302. Giussani, D. A.; Phillips, P. S.; Anstee, S.; Barker, D. J., Effects of altitude versus economic status on birth weight and body shape at birth. *Pediatric research* 2001, 49 (4), 490-4.
303. Ergaz, Z.; Avgil, M.; Ornoy, A., Intrauterine growth restriction-etiology and consequences: what do we know about the human situation and experimental animal models? *Reproductive toxicology* 2005, 20 (3), 301-22.
304. Redmer, D. A.; Wallace, J. M.; Reynolds, L. P., Effect of nutrient intake during pregnancy on fetal and placental growth and vascular development. *Domestic animal endocrinology* 2004, 27 (3), 199-217.
305. Curhan, G. C.; Willett, W. C.; Rimm, E. B.; Spiegelman, D.; Ascherio, A. L.; Stampfer, M. J., Birth weight and adult hypertension, diabetes mellitus, and obesity in US men. *Circulation* 1996, 94 (12), 3246-50.
306. Parsons, T. J.; Power, C.; Manor, O., Fetal and early life growth and body mass index from birth to early adulthood in 1958 British cohort: longitudinal study. *Bmj* 2001, 323 (7325), 1331-5.
307. Whitaker, R. C., Predicting preschooler obesity at birth: the role of maternal obesity in early pregnancy. *Pediatrics* 2004, 114 (1), e29-36.
308. Oken, E.; Taveras, E. M.; Kleinman, K. P.; Rich-Edwards, J. W.; Gillman, M. W., Gestational weight gain and child adiposity at age 3 years. *American journal of obstetrics and gynecology* 2007, 196 (4), 322 e1-8.

309. Hovi, P.; Andersson, S.; Eriksson, J. G.; Jarvenpaa, A. L.; Strang-Karlsson, S.; Makitie, O.; Kajantie, E., Glucose regulation in young adults with very low birth weight. *The New England journal of medicine* 2007, 356 (20), 2053-63.
310. Ibanez, L.; Lopez-Bermejo, A.; Suarez, L.; Marcos, M. V.; Diaz, M.; de Zegher, F., Visceral adiposity without overweight in children born small for gestational age. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2008, 93 (6), 2079-83.
311. Heerwagen, M. J.; Miller, M. R.; Barbour, L. A.; Friedman, J. E., Maternal obesity and fetal metabolic programming: a fertile epigenetic soil. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology* 2010, 299 (3), R711-22.
312. Sirimi, N.; Goulis, D. G., Obesity in pregnancy. *Hormones* 2010, 9 (4), 299-306.
313. Tam, W. H.; Ma, R. C.; Yang, X.; Li, A. M.; Ko, G. T.; Kong, A. P.; Lao, T. T.; Chan, M. H.; Lam, C. W.; Chan, J. C., Glucose intolerance and cardiometabolic risk in adolescents exposed to maternal gestational diabetes: a 15-year follow-up study. *Diabetes care* 2010, 33 (6), 1382-4.
314. Houdebine LM 2004 The mouse as an animal model for human diseases. In: *The laboratory mouse*. Ed: H. Hedrich. Academic Press. pp 99-110
315. McArdle, HJ, Andersen HS, Jones H & Gambling L 2006 Fetal programming: causes and consequences as revealed by studies of dietary manipulation in rats - a review *Placenta* 27 Suppl A S56-60.
316. Armitage JA, Taylor PD & Poston L 2005 Experimental models of developmental programming: consequences of exposure to an energy rich diet during development *Journal of Physiology (London)* 565 3-8
317. Speakman J, Hambly C, Mitchell S & Krol E 2007 Animal models of obesity. *Obesity Reviews* 8 55-61.
318. Schroeder M, Shbiro L, Zagoory-Sharon O, Moran TH & Weller A 2009 Toward an animal model of childhood-onset obesity: follow-up of OLETF rats during pregnancy and lactation *American Journal of Physiology; Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 296 R224-232.
319. Rosenfeld CS 2010 Animal models to study environmental epigenetics *Biology of Reproduction* 82 473-488.

320. Neitzke U, Harder T & Plagemann, A 2011 Intrauterine growth restriction and developmental programming of the metabolic syndrome: A critical appraisal. *Microcirculation* 18 304-311.
321. Neitzke U, Harder T, Schellong K, Melchior K, Ziska T, Rodekamp E, Dudenhausen JW & Plagemann A 2008 Intrauterine growth restriction in a rodent model and developmental programming of the metabolic syndrome: A critical appraisal of the experimental evidence. *Placenta* 29 246-254.
322. Russell JC & Proctor SD 2006 Small animal models of cardiovascular disease: tools for the study of the roles of metabolic syndrome, dyslipidemia, and atherosclerosis *Cardiovascular Pathology* 15 318-330.
323. Vonnahme KA & Lemley CO 2012 Programming the offspring through altered uteroplacental hemodynamics: how maternal environment impacts uterine and umbilical blood flow in cattle, sheep and pigs. *Reproduction, Fertility and Development* 24 97-104
324. McMillen IC, Adam CL & Mühlhäusler BS 2005 Early origins of obesity: programming the appetite regulatory system. *Journal of Physiology* 565 9-17.
325. Gonzalez-Bulnes A, Pallares P & Ovilo C 2011 Ovulation, Implantation and Placentation in Females with Obesity and Metabolic Disorders: Life in the Balance. *Endocrine Metabolic and Immune Disorders: Drug Targets* 11 285-301.
326. Bahr A & Wolf E 2012 Domestic animal models for biomedical research. *Reproduction in Domestic Animals* 47 (Suppl. 4) 59-71.
327. Somers GS 1962 Thalidomide and congenital abnormalities. *The Lancet* 1 912-913.
328. Kobayashi T, Ito T & Shiomi M 2011 Roles of the WHHL rabbit in translational research on hypercholesterolemia and cardiovascular diseases. *Journal of Biomedical Biotechnology* 406473.
329. Ozaki MR & de Almeida EA 2013 Evolution and involution of atherosclerosis and its relationship with vascular reactivity in hypercholesterolemic rabbits. *Experimental Toxicology and Pathology* 65 297-304.
330. Duranthon V, Beaujean N, Brunner M, Odening KE, Santos AN, Kacskovics I, Hiripi L, Weinstein EJ & Bosze Z 2012 On the emerging role of rab-

- bit as human disease model and the instrumental role of novel transgenic tools. *Transgenic Research* 21 699-713.
331. Picone O, Laigre P, Fortun-Lamothe L, Archilla C, Peynot N, Ponter AA, Berthelot V, Cordier AG, Duranthon V & Chavatte-Palmer P 2011 Hyperlipidic hypercholesterolemic diet in prepubertal rabbits affects gene expression in the embryo, restricts fetal growth and increases offspring susceptibility to obesity. *Theriogenology* 75 287-299.
332. Püschel B, Daniel N, Bitzer E, Blum M, Renard JP & Viebahn C 2010 The rabbit (*Oryctolagus cuniculus*): a model for mammalian reproduction and early embryology. *Cold Spring Harbour Protocols* 1 pdb.emo139.
333. Fischer B, Chavatte-Palmer P, Viebahn C, Navarrete-Santos A & Duranthon V 2012 Rabbit as a reproductive model for human health. *Reproduction* 144 1-10.
334. Okamoto I, Patrat C, Thépot D, Peynot N, Fauque P, Daniel N, Diabangouaya P, Wolf JP, Renard JP, Duranthon V & Heard E 2011 Eutherian mammals use diverse strategies to initiate X-chromosome inactivation during development. *Nature* 472 370-374.
335. Duranthon V, Watson AJ & Lonergan P 2008 Preimplantation embryo programming: transcription, epigenetics, and culture environment *Reproduction* 135 141-150.
336. Tarrade A, Chavatte-Palmer P, Guillomot M, Camous S, Evain-Brion D 2014 Le placenta. In 'Reproduction chez l'homme et l'animal. Eds S Chastant-Maillard, M Saint-Dizier. Quae éditions, Paris, France. pp. 367-392.
337. Malassine A, Frendo JL & Evain-Brion D 2003 A comparison of placental development and endocrine functions between the human and mouse model *Human Reproduction Update* 9 531-539.
338. Kevorkova O, Ethier-Chiasson M & J Lafond 2007 Differential expression of glucose transporters in rabbit placenta: Effect of hypercholesterolemia in dams. *Biology of Reproduction* 76 487-495.
339. Marseille-Tremblay, C, Gravel A, Lafond J & Mounier C 2007 Effect of an enriched cholesterol diet during gestation on fatty acid synthase, HMG-CoA reductase and SREBP-1/2 expressions in rabbits. *Life Sciences* 81 772-778.

340. Tarrade, A, Rousseau-Ralliard D, Aubrière MC, Peynot N, Dahirel M, Bertrand-Michel J, Aguirre-Lavin T, Morel O, Beaujean N, Duranthon V & Chavatte-Palmer P 2013 Sexual dimorphism of the feto-placental phenotype in response to a high fat and control maternal diets in a rabbit model. *Plos One* 8 e83458.
341. Hue-Beauvais C, Chavatte-Palmer P, Aujean E, Dahirel M, Laigre P, Péchoux C, Devinoy E & Charlier M 2011 Diet-induced obesity leads to early mammary gland development during pregnancy in the rabbit. *Developmental Dynamics* 240 347–356.
342. Hue-Beauvais C, Koch E, Chavatte-Palmer P, Galio L, Chat S, Letheule M, Rousseau-Ralliard D, Jaffrezic F, Laloë D, Aujean E, Révillion F, Lhotellier V, Gertler A, Devinoy E & Charlier M 2015 Milk from dams fed an obesogenic diet combined with a high-fat/high-sugar diet induces long-term abnormal mammary gland development in the rabbit. *Journal of Animal Science* 93 1641-1655.
343. Flint DJ, Travers MT, Barber MC, Binart N & Kelly PA 2005 Diet-induced obesity impairs mammary development and lactogenesis in murine mammary gland. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism* 288 E1179-1187.
344. Morel O, Laporte-Broux B, Tarrade A & Chavatte-Palmer P 2012 The use of ruminant models in biomedical perinatal research. *Theriogenology* 78 1763-1773.
345. Morel O, Pachy F, Chavatte-Palmer P, Bonneau M, Gayat E, Laigre P, Evain-Brion D & Tsatsaris V 2010 Correlation between utero-placental three-dimensional power Doppler indices and the uterine real blood flow: Evaluation in a pregnant sheep experimental model. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* 36 635-640.
346. Barry JS & Anthony RV 2008 The pregnant sheep as a model for human pregnancy *Theriogenology* 69 55–67.
347. Regnault TRH, de Vrijer B & Battaglia FC 2002 Transport and metabolism of amino acids in the placenta. *Endocrine* 19 23-41.
348. Reynolds LP, Borowicz PP, Vonnahme KA, Johnson ML, Grazul-Bilska AT, Redmer DA & Caton JS 2005a Placental angiogenesis in sheep models of compromised pregnancy. *The Journal of Physiology* 565 43-58.

349. Poore KR, Boullin JP, Cleal JK, Newman JP, Noakes DE, Hanson MA & Green LR 2010 Sex- and age-specific effects of nutrition in early gestation and early postnatal life on hypothalamo-pituitary-adrenal axis and sympathoadrenal function in adult sheep. *Journal of Physiology* 588 2219–2237.
350. Reynolds LP, Borowicz PP, Vonnahme KA, Johnson ML, Grazul-Bilska AT, Wallace JM, Caton JS & Redmer DA 2005b Animal models of placental angiogenesis. *Placenta* 26 689–708.
351. Barry JS, Rozance PJ & Anthony RV 2008 An animal model of placental insufficiency-induced intrauterine growth restriction *Seminars in Perinatology* 32 225–230.
352. Robinson JS, Kingston EJ, Jones CT & Thorburn GD 1979 Studies on experimental growth retardation in sheep. The effect of removal of endometrial caruncles on fetal size and metabolism. *Journal of Developmental Physiology* 1 379–398.
353. Gagnon R 2003 Placental insufficiency and its consequences *European Journal of Obstetrics, Gynaecology and Reproductive Biology* 110 S99–S107.
354. Regnault TRH & Hay WW 2006 In vivo techniques for studying fetoplacental nutrient uptake, metabolism, and transport. *Methods in Molecular Medicine* 122 27–224.
355. Gardner DS & Rhodes P 2009 Developmental origins of obesity: programming of food intake or physical activity? *Advances in Experimental Medicine and Biology* 646 83–93.
356. Zhu MJ, Ma Y, Long NM, Du M & Ford SP. 2010 Maternal obesity markedly increases placental fatty acid transporter expression and fetal blood triglycerides at midgestation in the ewe. *American Journal of Physiology; Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 299 R1224–R1231.
357. Teramo KA 2010 Obstetric problems in diabetic pregnancy. The role of fetal hypoxia. *Best Practice in Research and Clinical Endocrinology and Metabolism* 24 663–671.
358. Edwards LJ & McMillen IC 2002 Impact of maternal undernutrition during the periconceptual period, fetal number, and fetal sex on the development of the hypothalamo-pituitary adrenal axis in sheep during late gestation. *Biology of Reproduction* 66 1562–1569.

359. Zhu MJ, Ma Y, Long NM, Du M & Ford SP. 2010 Maternal obesity markedly increases placental fatty acid transporter expression and fetal blood triglycerides at midgestation in the ewe. *American Journal of Physiology; Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 299 R1224–R1231.
360. Moore LG, Charles SM & Julian CG 2011 Human at high altitude: hypoxia and fetal growth. *Respiratory Physiology and Neurobiology* 178 181–190.
361. Moore LG, Niermeyer S & Zamudio S 1998 Human adaptation to high altitude: regional and life-cycle perspectives. *American Journal of Physiology and Anthropology Suppl* 27 25–64.
362. Jensen GM & Moore LG 1997 The effect of high altitude and other risk factors on birthweight: independent or interactive effects? *American Journal of Public Health* 87 1003–1007.
363. Moore LG, Young DI, McCullough RE, Droma TS & Zamudio S 2001 Tibetan protection from intrauterine growth restriction (IUGR) and reproductive loss at high altitude. *American Journal of Human Biology* 13 635–644
364. Parraguez VH, Urquieta B, de los Reyes M, Gonzalez-Bulnes A, Astiz S & Muñoz A. 2013a Steroidogenesis in sheep pregnancy with intrauterine growth retardation by high-altitude hypoxia: effects of maternal altitudinal status and antioxidant treatment. *Reproduction, Fertility and Development* 25 639–645.
365. Parraguez VH, Urquieta B, Perez L, Castellaro G, De los Reyes M, Torres-Rovira L, Aguado-Martinez A, Astiz S & Gonzalez-Bulnes A 2013b Fertility in a high-altitude environment is compromised by luteal dysfunction: the relative roles of hypoxia and oxidative stress. *Reproductive Biology Endocrinology* 11 24.
366. Parraguez VH, Atlagich M, Diaz R, Bruzzone ME, Behn C & Raggi LA 2005: Effect of hypobaric hypoxia on lamb intrauterine growth: comparison between high and low altitude native ewes. *Reproduction, Fertility and Development* 17 497–505.
367. Parraguez VH, Atlagich M, Díaz R, Cepeda R, González C, De los Reyes M, Bruzzone ME, Behn C & Raggi LA 2006 Ovine placenta at high altitudes: Comparison of animals with different times of adaptation to hypoxic environment. *Animal Reproduction Science* 95 151–157.

368. Corbel T, Gayrard V, Viguié C, Puel S, Lacroix MZ, Toutain PL & Picard-Hagen N 2013 Bisphenol A disposition in the sheep maternal-placental-fetal unit: mechanisms determining fetal internal exposure. *Biology of Reproduction* 89 11.
369. Veiga-Lopez A, Luense LJ, Christenson LK & Padmanabhan V 2013 Developmental programming: gestational bisphenol-A treatment alters trajectory of fetal ovarian gene expression *Endocrinology* 154 1873-1884.
370. Dodic M, Abouantoun T, O'Connor A, Wintour EM & Moritz KM 2002 Programming effects of short prenatal exposure to dexamethasone in sheep. *Hypertension* 40 729-734.
371. Manikkam M, Crespi EJ, Doop DD, Herkimer C, Lee JS, Yu S, Brown MB, Foster DL & Padmanabhan V 2004 Fetal programming: prenatal testosterone excess leads to fetal growth retardation and postnatal catch-up growth in sheep. *Endocrinology* 145 790-798.
372. Veiga-Lopez A, Steckler TL, Abbott DH, Welch KB, MohanKumar PS, Phillips DJ, Refsal K & Padmanabhan V 2011 Developmental programming: impact of excess prenatal testosterone on intrauterine fetal endocrine milieu and growth in sheep. *Biology of Reproduction* 84 87-96.
373. Padmanabhan V & Veiga-Lopez A 2013 Sheep models of polycystic ovary syndrome phenotype. *Molecular and Cellular Endocrinology* 373 8-20.
374. Wolf E, Braun-Reichhart C, Streckel E & Renner S 2014 Genetically engineered pig models for diabetes research. *Transgenic Research* 23 27-38.
375. Kurome M, Kessler B, Wuensch A, Nagashima H & Wolf E 2015 Nuclear transfer and transgenesis in the pig. *Methods in Molecular Biology* 1222 37-59.
376. Spurlock ME & Gabler NK 2008 The Development of Porcine Models of Obesity and the Metabolic Syndrome. *Journal of Nutrition* 138 397-402.
377. Houpt KA, Houpt TR & Pond WG 1979 The pig as a model for the study of obesity and of control of food intake: A review. *The Yale Journal of Biology and Medicine* 52 307-329.
378. Johansen T, Hansen HS, Richelsen B & Malmlöf R 2001 The obese Göttingen minipig as a model of the metabolic syndrome. Dietary effects on obesity; insulin sensitivity; and growth hormone profile. *Comparative Medicine* 51 150-155.

379. Christoffersen BO, Grand N, Golozoubova V, Svendsen O & Raun K 2007 Gender-associated differences in metabolic syndrome-related parameters in Göttingen minipigs. *Comparative Medicine* 57 493-504.
380. Dyson MC, Alloosh M, Vuchetich JP, Mokelke EA & Sturek M 2006 Components of metabolic syndrome and coronary artery disease in female Ossabaw swine fed excess atherogenic diet. *Comparative Medicine* 56 35-45.
381. Guillermin-Regost C, Louveau I, Sébert SP, Damon M, Champ MM & Gondret F 2006 Cellular and biochemical features of skeletal muscle in obese Yucatan minipigs. *Obesity* 14 1700-1707.
382. Ollivier L 2009 European pig genetic diversity: A minireview. *Animal* 3 915-924.
383. Morales J, Perez F, Baucells MD, Mourot J & Gasa J 2002 Comparative digestibility and lipogenic activity in Landrace and Iberian finishing pigs fed ad libitum corn- and corn-sorghum-acorn-based diets. *Livestock Production Science* 77 195-205.
384. Nieto R, Miranda A, García M & Aguilera JF 2002 The effect of dietary protein content and feeding level on the rate of protein deposition and energy utilization in growing Iberian pigs from 15 to 50kg body weight. *British Journal of Nutrition* 88 39-49.
385. Fernandez-Figares I, Lachica M, Nieto R, Rivera-Ferre MG & Aguilera JF 2007 Serum profile of metabolites and hormones in obese (Iberian) and lean (Landrace) growing gilts fed balanced or lysine deficient diets. *Livestock Science* 110 73-81.
386. Ovilo C, Fernández A, Noguera JL, Barragán C, Letón R, Rodríguez C, Mercadé A, Alves E, Folch JM, Varona L & Toro M 2005 Fine mapping of porcine chromosome 6 QTL and LEPR effects on body composition in multiple generations of an Iberian by Landrace intercross. *Genetics Research* 85 57-67.
387. Muñoz G, Óvilo C, Silió L, Tomás A, Noguera JL & Rodríguez MC 2009 Single and joint population analyses of two experimental pig crosses to confirm QTL on SSC6 and LEPR effects on fatness and growth traits. *Journal of Animal Science* 87 459-468.
388. Torres-Rovira L, Gonzalez-Añover P, Astiz S, Caro A, Lopez-Bote C, Ovilo C, Pallares P, Perez-Solana ML, Sanchez-Sanchez R & Gonzalez-Bulnes A

- 2013a Effect of an obesogenic diet during the juvenile period on growth pattern, fatness and metabolic, cardiovascular and reproductive features of swine with obesity/leptin resistance. *Endocrine, Metabolic and Immune Disorders; Drug Targets* 13 143-151.
389. Torres-Rovira L, Astiz S, Caro A, Lopez-Bote C, Ovilo C, Pallares P, Perez-Solana ML, Sanchez-Sanchez R & Gonzalez-Bulnes A 2012 Diet-induced swine model with obesity/leptin resistance for the study of metabolic syndrome and type 2 diabetes. *The Scientific World Journal* 2012 510149.
390. Gonzalez-Añover P, Encinas T, Gomez-Izquierdo E, Sanz E, Letelier CA, Torres-Rovira L et al. Advanced onset of puberty in gilts of thrifty genotype (Iberian pig). *Reprod Domest Anim* 2010; 45: 1003-7.
391. Gonzalez-Añover P, Vigo E, Encinas T, Torres-Rovira L, Pallares P, Gomez-Izquierdo E et al. Prepuberal evolution of plasma leptin levels in gilts of thrifty genotype (Iberian pig) and lean commercial crosses (Large White×Landrace). *Res Vet Sci* 2012; 93: 100-2.
392. Torres-Rovira L, Astiz S, Gonzalez-Añover P, Pallares P, Perez-Garnelo S, Perez-Solana M et al. Intake of high saturated-fat diets disturbs steroidogenesis, lipid metabolism and development of obese-swine conceptuses from early-pregnancy stages. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014; 139: 130-7.
393. Torres-Rovira L, Pallares P, Gonzalez-Añover P, Perez-Solana ML, Gonzalez-Bulnes A. The effects of age and reproductive status on blood parameters of carbohydrate and lipid metabolism in Iberian obese sows. *Reprod Biol* 2011; 11: 165-71
394. Torres-Rovira L, Pallares P, Vigo E, Gonzalez-Añover P, Sanchez-Sanchez R, Mallo F et al. Plasma leptin, ghrelin and indexes of glucose and lipid metabolism in relation to the appearance of post-weaning oestrus in Mediterranean obese sows (Iberian pig). *Reprod Domest Anim* 2011; 46: 558-60
395. Gonzalez-Bulnes A, Torres-Rovira L, Ovilo C, Astiz S, Gomez-Izquierdo E, Gonzalez-Añover P et al. Reproductive, endocrine and metabolic feto-maternal features and placental gene expression in a swine breed with obesity/leptin resistance. *Gen Comp Endocrinol* 2012; 176: 94-101.
396. Gonzalez-Bulnes A, Ovilo C, Lopez-Bote C, Astiz S, Ayuso M, Perez-Solana ML et al. Fetal and early-postnatal developmental patterns of

- obese-genotype piglets exposed to prenatal programming by maternal over- and undernutrition. *Endocr Metabol Immune Disord Drug Targets* 2013; 13: 240-9.
397. Barbero A, Astiz S, Lopez-Bote C, Perez-Solana ML, Ayuso M, Garcia-Real I et al. Maternal malnutrition and offspring sex determine juvenile obesity and metabolic disorders in a swine model of leptin resistance. *PLoS ONE* 2013; 8: e78424.
398. Gonzalez-Bulnes A, Astiz S, Sanchez-Sanchez R, Perez-Solana ML, Gomez-Fidalgo E. Maternal diet-induced obesity in swine with leptin resistance modifies puberty and pregnancy outputs of the adult offspring. *J Develop Origin Health Dis* 2013; 4: 290-5
399. Gonzalez-Bulnes A, Ovilo C, Lopez-Bote C, Astiz S, Ayuso M, Perez-Solana ML et al. Early-postnatal changes in adiposity and lipids profile by transgenerational developmental programming in swine with obesity/leptin resistance. *J Endocrinol* 2014; 223: M17-M29
400. Gonzalez-Bulnes A, Ovilo C, Lopez-Bote CJ, Astiz S, Ayuso M, Perez-Solana ML et al. Gender-specific early postnatal catch-up growth after intrauterine growth retardation by food restriction in swine with obesity/leptin resistance. *Reproduction* 2012; 144: 269-78.
401. Ovilo C, Gonzalez-Bulnes A, Benitez R, Ayuso M, Barbero A, Perez-Solana ML et al. Prenatal programming in an obese swine model: sex-related effects of maternal energy restriction on morphology, metabolism and hypothalamic gene expression. *Br J Nutr* 2014; 111: 735-46.
402. Torres-Rovira L, Tarrade A, Astiz S, Mourier E, Perez-Solana ML, de la Cruz P et al. Sex and breed-dependent organ development and metabolic responses in fetuses from lean and obese/leptin resistant swine. *PLoS ONE* 2013; 8: e66728
403. Barbero A, Astiz S, Ovilo C, Lopez-Bote CJ, Perez-Solana M, Ayuso M et al. Prenatal programming of obesity in a swine model of leptin resistance: modulatory effects of controlled postnatal nutrition and exercise. *J Develop Origin Health Dis* 2014; 5: 248-58.
404. Ashworth CJ, Finch AM, Page KR, Nwagwu MO & McArdle HJ 2001 Causes and consequences of fetal growth retardation in pigs *Reproduction Supplements* 58 233-246.

405. Foxcroft GR, Dixon WT, Novak S, Putman CT, Town SC & Vinsky MD 2006 The biological basis for prenatal programming of postnatal performance in pigs. *Journal of Animal Science* 84 E105-112.
406. Wu G, Bazer FW, Wallace JM & Spencer TE 2006 Board-invited review: intrauterine growth retardation: implications for the animal sciences. *Journal of Animal Sciences* 84 2316-2337.
407. Town SC, Putman CT, Turchinsky NJ, Dixon WT & Foxcroft GR. 2004 Number of conceptuses in utero affects porcine fetal muscle development. *Reproduction* 128 443-454.
408. Van der Waaij EH, Hazeleger W, Soede NM, Laurensen BFA & Kemp B 2010 Effect of excessive, hormonally induced intrauterine crowding in the gilt on fetal development on day 40 of pregnancy. *Journal of Animal Science* 88 2611-2619
409. Metges CC, Lang IS, Hennig U, Brüssow KP, Kanitz E, Tuchscherer M, Schneider F, Weitzel JM, Steinhoff-Ooster A, Sauerwein H, Bellmann O, Nürnberg G, Rehfeldt C & Otten W 2012 Intrauterine growth retarded progeny of pregnant sows fed high protein:low carbohydrate diet is related to metabolic energy deficit. *PLoS One* 7 e31390.
410. Quiniou N, Dagorn J & Gaudre D 2002 Variation of piglets' birth weight and consequences on subsequent performance. *Livestock Production Science* 78 63-70.
411. Bee G 2004 Effect of early gestation feeding, birth weight, and gender of progeny on muscle fiber characteristics of pigs at slaughter. *Journal of Animal Science* 82 826-836.
412. Gondret F, Lefaucheur L, Juin H, Louveau I & Lebret B 2006 Low birth weight is associated with enlarged muscle fiber area and impaired meat tenderness of the longissimus muscle in pigs. *Journal of Animal Science* 84 93-103.
413. Rehfeldt C & Kuhn G 2006 Consequences of birth weight for postnatal growth performance and carcass quality in pigs as related to myogenesis. *Journal of Animal Science* 84 E113-123.
414. Walsh Hentges LS & Martin RJ 1988 Influence of genetic obesity on maternal and fetal serum and lipoprotein lipids in swine. *International Journal of Obesity* 12 49-57.

415. Barbero A, Garcia-Real I, Astiz S, Ayuso M, Lopez-Bote CJ & Gonzalez-Bulnes A 2014b Feasibility of MRI and selection of adequate region of interest for longitudinal studies of growth and fatness in swine models of obesity. *Diagnostic and Interventional Imaging* 95 839-847.

