

Cambios histomorfológicos en pulmón de rata recién nacida inducidos por ingesta materna de azúcar

Histomorphological changes in newborn rat lung induced by maternal sugar intake

Héctor Javier Nava Reyes^a, Luis Felipe Domínguez Robert^a, Ramiro Pardo Ramírez^b, Alberto Pizaña Venegas^b, Guadalupe Hiriart Valencia^c, Erika Liliana Monterrubio Flores^c, Juan Francisco Nava Aguirre^a, Elías Parra Hernández^d, Armando Cristian Sánchez Lara^c, Pedro Zamudio Cortés^a

^aLaboratorio De Farmacología, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. "Ismael Cosío Villegas" (INER). Ciudad de México, México.

^bOficina De Bioterio, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. "Ismael Cosío Villegas" (INER). Ciudad de México, México.

^cLaboratorio De Morfología, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, "Ismael Cosío Villegas" (INER). Ciudad de México, México.

^dComisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). Ciudad de México, México.

^eThe Queen's Veterinary School Hospital. Universidad de Sheffield. Reino Unido.

Recibido: 2 de julio de 2021; Aceptado: 14 de diciembre de 2021

¿Qué se sabe del tema que trata este estudio?

El estado nutricional materno antes y durante la gestación es fundamental para el crecimiento fetal y peso del recién nacido. Sin embargo, aún no existe información que relacionan el desarrollo pulmonar fetal por consumo de sacarosa.

¿Qué aporta este estudio a lo ya conocido?

Estos resultados resaltan la influencia que tiene el consumo de azúcar en la dieta materna sobre el desarrollo y madurez pulmonar del neonato. Más específicamente, sobre las fibras elásticas y colágeno importantes para alveolarización y la función pulmonar.

Resumen

Las afecciones respiratorias son el motivo más común de ingreso a la unidad neonatal tanto de recién nacidos a término como en prematuros. Los desequilibrios nutricionales durante la gestación repercuten en la maduración y capacidad funcional de órganos. **Objetivo:** Describir la histomorfología pulmonar de rata recién nacida por ingesta materna de azúcar mediante microscopía óptica. **Material y Método:** Se utilizaron 20 ratas wistar hembras de 4 semanas de edad divididas en grupo control y experimental con sacarosa antes y durante el embarazo. En la semana 15 las hembras se aparearon con machos durante la noche. Registramos peso corporal y pulmonar de los recién nacidos. Los pulmones se tiñeron con hematoxilina y eosina, tricómico de Masson, ácido periódico de Schiff y Verhoeff. **Resultados:** Los recién nacidos del grupo experimental, fueron de menor peso corporal y pulmonar ($6,980 \pm 0,493^* \text{ g}$; $0,164 \pm 0,022^* \text{ g}$; $* p < 0,05$) que del grupo control ($7,854 \pm 0,497 \text{ g}$; $0,189 \pm 0,005 \text{ g}$). Los pulmones del grupo experimental mostraron alteraciones estructurales en el parénquima pulmonar, así como cambios en depósitos de glucógeno, fibras de colágeno y elastina comparado con el control. **Conclusión:** En el presente estudio demostramos que, las alteraciones en el crecimiento y desarrollo pulmonar del recién nacido están asociadas con la ingesta materna de sacarosa.

Palabras clave:

Dieta Hipercalórica;
Inmadurez Pulmonar;
Rata;
Recién Nacido;
Sacarosa

Abstract

Respiratory conditions are the most common reason for admission to the neonatal unit for both term and premature newborns. It is known that nutritional imbalances during pregnancy affect the maturation and functional capacity of organs. **Objective:** to describe the pulmonary histomorphology of newborn rats due to maternal sugar intake by light microscopy. **Material and Method:** Twenty 4-week-old female Wistar rats divided into control and experimental groups with sucrose before and during pregnancy were used. At week 15, the females mated with males overnight. We recorded values from the body and lung weight of the newborns. The lungs were stained using Hematoxylin and Eosin, Masson's trichrome, Periodic acid-Schiff, and Verhoeff. **Results:** Newborns from the experimental group presented significantly lower body and lung weight ($6.980 \pm 0.493^*$ g, $0.164 \pm 0.022^*$ g; $*p < 0,05$) compared with controls (7.854 ± 0.497 g, 0.189 ± 0.005 g). The lungs of the experimental group showed structural alterations in the lung parenchyma, as well as changes in glycogen deposits, collagen fibers, and elastin compared with the control group. **Conclusion:** Alterations in newborn lung growth and development are associated with maternal sucrose intake. It is important to remember that interventions on the maternal diet have beneficial effects for both the mother and the newborn.

Keywords:

Hypercaloric Diet;
Lung Immaturity;
Rat;
Newborn;
Sucrose

Introducción

Las enfermedades respiratorias son las principales causas de morbilidad y mortalidad en los recién nacidos¹. Por lo que, en las últimas décadas el interés ha aumentado considerablemente sobre las diferentes formas en que el medio ambiente puede influir en la salud de los niños². En particular, evidencias demuestran el impacto que provocan las exposiciones ambientales sobre el crecimiento y función pulmonar³. Recordemos que, el desarrollo pulmonar es un proceso de múltiples etapas sostenido por eventos bioquímicos, mecánicos y anatómicos que abarcan todas las edades gestacionales⁴. Es importante mencionar que, el pulmón tiene un potencial limitado para recuperarse de las agresiones prenatales y presentar consecuencias a largo plazo⁵. Dado lo anterior, evidencias establecen que el ambiente adverso como la pobre nutrición materna desencadena cambios estructurales y funcionales en diferentes órganos del feto⁶, y en particular el pulmón es susceptible a este estímulo⁷. En tales circunstancias, el feto trata de adaptarse a cambios en su fisiología y metabolismo en respuesta a microambientes adversos con limitado o exagerado aporte de nutrientes y oxígeno⁸. En concreto, el consumo de alimentos ricos en azúcares antes y durante el embarazo aumenta el riesgo de padecer diabetes gestacional, preeclampsia⁹ y parto prematuro¹⁰. Asimismo, se afirma que la dieta materna rica en grasa provoca insuficiencia placentaria, restricción en el crecimiento fetal e inhibición en el desarrollo pulmonar¹¹. El objetivo de este trabajo fue describir los cambios morfológicos en pulmón del recién nacido de madres con ingesta de azúcar.

Material y Método

El estudio se realizó en ratas wistar albino procedentes del Bioterio del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Los animales fueron mantenidos en condiciones convencionales de temperatura, humedad y ciclos de luz/ oscuridad de (12/12 h), con libre acceso a agua potable y dieta comercial (Harlan Tekland Global 18%). Los animales fueron manejados de acuerdo a las especificaciones técnicas para el cuidado y uso de animales de laboratorio de la Norma Oficial Mexicana¹² y la Guide for Care and Use of Laboratory Animals. U.S. Eighth Edition. The Guide NRS, 2011¹³. Se utilizaron 20 ratas wistar albino hembras cuyo peso aproximado osciló entre 65-80 g y 12 machos adultos-jóvenes de la misma estirpe y procedencia que se utilizaron para el apareamiento. Después de una semana de aclimatación las hembras se asignaron al azar a un grupo control que tuvo acceso ad libitum a dieta comercial para ratas de laboratorio + agua potable (n = 10). Y un grupo experimental, el cual tuvo acceso ad libitum a dieta comercial + dieta alta en sacarosa (solución de sacarosa al 30%, 30 gramos de sacarosa disuelta en 100 mililitros de agua potable como única bebida) (n = 10). Las hembras permanecieron con esta dieta antes del apareamiento y durante la gestación. Después de 15 semanas con sus respectivas dietas, las hembras de ambos grupos fueron colocadas a razón de dos hembras por macho durante toda la noche para el apareamiento. El día siguiente se verificó presencia de espermatozoides mediante frotis vaginal y fue definido como día cero de gestación. En el día 22 de gestación las madres se mantuvieron en ayuno y se registró peso corpo-

ral (balanza de precisión digital Ohaus Pioneer Plus PA4101). Después del parto los recién nacidos fueron pesados en una balanza de precisión (Denver instrument MXX-123, Denver Instrument 5 Orville). De los recién nacidos, 9 de cada grupo fueron seleccionados al azar y se les practicó eutanasia por decapitación. Los pulmones fueron extraídos, pesados y fijados por inmersión de formalina amortiguada al 10%. Después de 48 horas de fijación, se realizaron nueve cortes de entre 5-7 μm de grosor (micrótomo rotatorio HistoStat Reichert) para cada muestra pulmonar y se llevaron a cabo las diferentes tinciones histológicas. Para evaluar la morfología del parénquima pulmonar se utilizó la tinción con hematoxilina y eosina (H-E), el ácido peryódico de Schiff (PAS) para la detección de glucógeno por intensidad de color, la tricrómica de Masson para análisis de colágeno y para la visualización de elastina se utilizó la tinción de Verhoeff.

Los nueve cortes de tejido pulmonar fueron analizados mediante microscopía de luz para su evaluación morfológica y se compararon los hallazgos del grupo experimental contra el grupo control. El análisis de imágenes fue realizado por el mismo investigador de forma ciega y eligió cinco campos al azar para fotografía. Las imágenes fueron digitalizadas utilizando una cámara digital Hitachi KP-D580 de alta resolución montada en un microscopio Zeiss Axioskop equipado con objetivos de 2x/0.10, 10x/0.52, 40x/0.65 y 100x/1.25 aceite de inmersión.

Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva para variables cuantitativas (peso corporal y pulmonar): media aritmética, como medida de tendencia central y desviación estándar de la media, como medida de dispersión. Los resultados se expresaron como media \pm DS. Posteriormente, para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 21. En lo que respecta a la estadística inferencial, se utilizó la prueba “t” Student no pareada para comparar las variables cuantitativas paramétricas entre los 2 grupos. El nivel de significancia se estableció con un valor ($p < 0,05$).

Resultados

El peso corporal y pulmonar de las crías cuyas madres fueron sometidas a ingesta de sacarosa se muestra en la tabla 1.

El desarrollo pulmonar de mamíferos tiene etapas bien definidas que describen cronológicamente los cambios morfológicos desde su etapa embrionaria hasta alcanzar su madurez¹⁴. De acuerdo con lo anterior, en las muestras de pulmón del grupo control teñidas con H-E se evidenció arquitectura normal con

presencia de alveólos, bronquiolos terminales y ductos alveolares que finalizan en sacos alveolares. El tejido mesenquimatoso circundante se condensa para formar septos primarios que contienen células en su intersticio. Además de observar múltiples crestas secundarias que se alargan para dar origen a los alveólos primitivos (figura 1A). En cuanto a la morfología pulmonar del grupo experimental, se observó estructura pulmonar colapsada, ensanchamiento y alargamiento masivo de espacio aéreo, lo que resulta en reducción del tejido mesenquimatoso. Sin embargo, aún presenta engrosamiento de pared alveolar, así como espacios aéreos irregulares y pequeños (figura 1B). Por otro lado, la reacción de PAS demostró menor contenido de glucógeno pulmonar, con espacios aéreos dilatados y pared alveolar delgada alineada por epitelio más diferenciado en el grupo control (figura 2A). Mientras que, los depósitos de glucógeno en el grupo experimental se observaron con mayor intensidad en células de la pared alveolar en pulmones del recién nacido (figura 2B). Referente a la evaluación del colágeno importante para mantener la estructura pulmonar, el grupo control muestra deposición normal en el intersticio alveolar y en el parénquima pulmonar (figura 3A). Entre tanto, para el grupo experimental mostró una mayor acumulación sobre la arteria y el parénquima pulmonar (figura 3B).

Por otra parte, las fibras de elastina en el pulmón del grupo control se localizaron principalmente en el vértice de las crestas secundarias y en la mesénquima que rodea las vías respiratorias distales en desarrollo antes de la alveolarización (figura 4A). En contraste con el pulmón del grupo experimental, que exhibe expresión reducida de fibras de elastina y se limitó a la mesénquima que rodea las vías respiratorias distales (figura 4B).

Discusión

Los trastornos respiratorios son la causa más frecuente de ingreso en la sala neonatal de cuidados intensivos tanto en el recién nacido a término como en el prematuro¹⁵. Por lo que, durante el desarrollo pulmo-

Tabla 1. Peso corporal y pulmonar de los recién nacidos

Grupos	Peso corporal (g)	Peso pulmón (g)
Control	7,854 \pm 0,497	0,189 \pm 0,005
Experimental	6,980 \pm 0,493*	0,164 \pm 0,022*

Los valores se expresan como media \pm DS, * $p < 0,05$ comparado con grupo I control, $n = 9$.

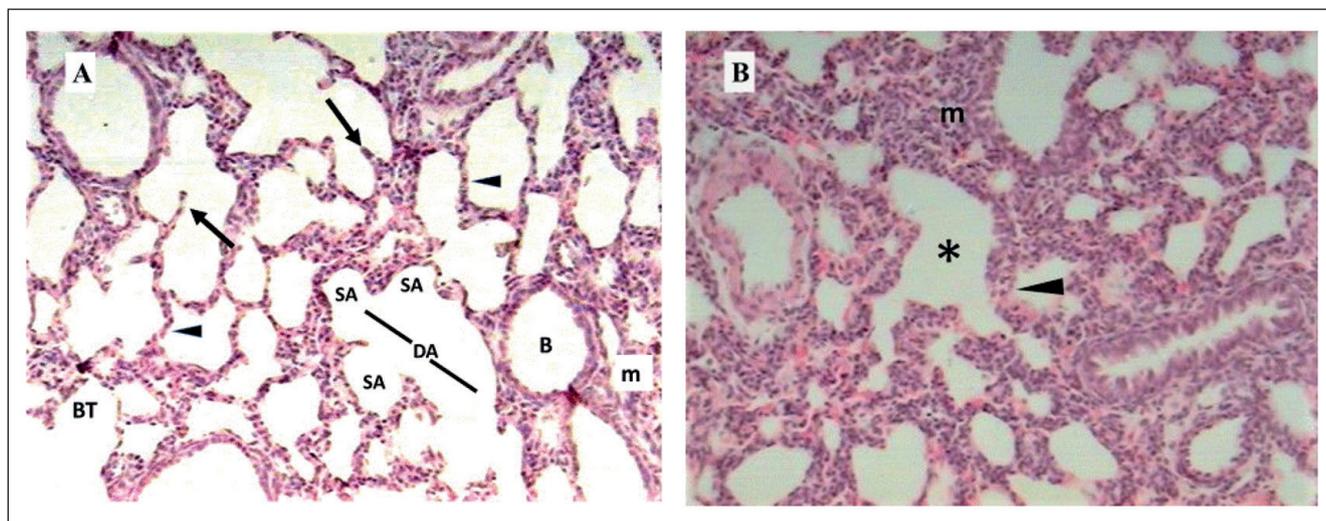


Figura 1. A: Fotomicrografía de sección de tejido pulmonar del grupo control. Alveólo (A), saco alveolar (SA), Bronquiolo terminal (BT), Bronquiolo (B), Ducto Alveolar (DA), mesénquima (m), crestas secundarias (cabeza de flecha) y pared alveolar delgada (flecha). Tinción H-E 10x. **B:** Fotomicrografía de sección de tejido pulmonar del grupo experimental. Estructura pulmonar compacta, pared alveolar engrosada (cabeza de flecha), mesénquima (m), ensanchamiento y alargamiento de espacio aéreo (asterisco). Tinción H-E 10x.

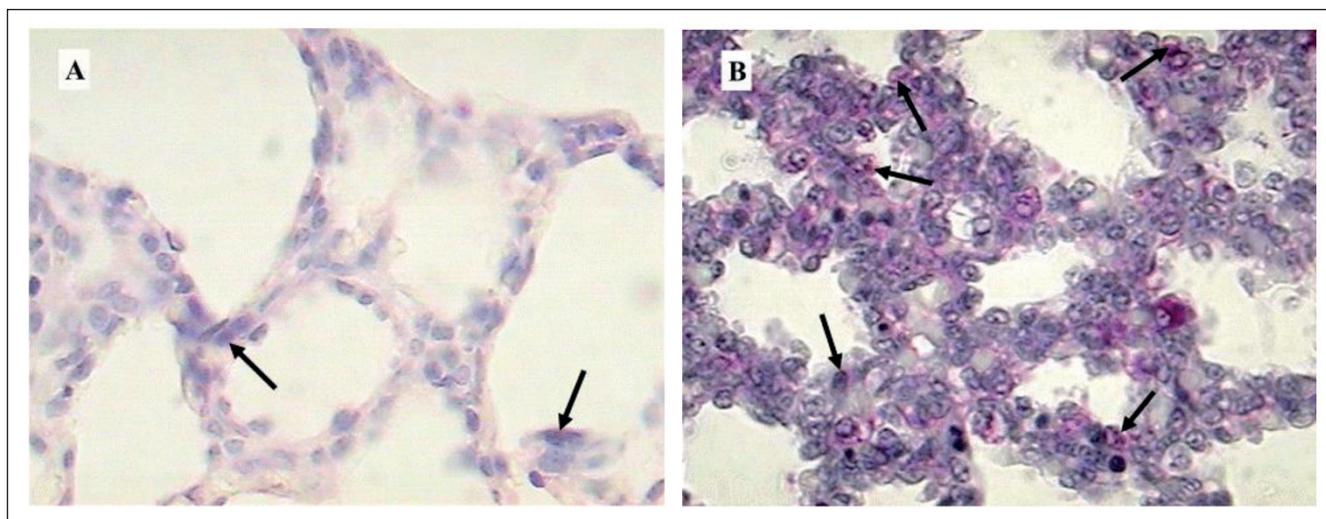


Figura 2. A: Fotomicrografía de sección de tejido pulmonar del grupo control. Se observa glucógeno normal en parénquima pulmonar (flechas). Tinción PAS 40x. **B:** Fotomicrografía de sección de tejido pulmonar del grupo experimental. Incremento de glucógeno en células epiteliales (flechas). Tinción PAS 40x.

nar prenatal la nutrición materna tiene un papel clave en la alteración de los mecanismos de crecimiento pulmonar¹⁶. A pesar de ello, existe poca información que relacionan el desarrollo pulmonar del recién nacido con el consumo materno de sacarosa.

En el presente estudio, demostramos que el desarrollo anormal del pulmón está asociado a la ingesta materna de sacarosa. En este sentido, notamos un menor peso corporal promedio de los recién nacidos del grupo experimental comparado con los recién nacidos del grupo control, consistente con estudios previos¹⁷.

Asimismo, resultados experimentales asocian la ingesta materna de carbohidratos con el tamaño fetal y placentario¹⁸. Por otra parte, se sabe que la desnutrición materna provoca desregulación de transportadores de glucosa placentarios. En consecuencia, la disponibilidad de nutrientes fetales se limita y el crecimiento es afectado¹⁹. Es importante enfatizar que, el deficiente crecimiento fetal y bajo peso al nacimiento se asocian con un mayor riesgo de intolerancia a la glucosa, diabetes tipo 2, síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular en la vida adulta²⁰. También es relevante

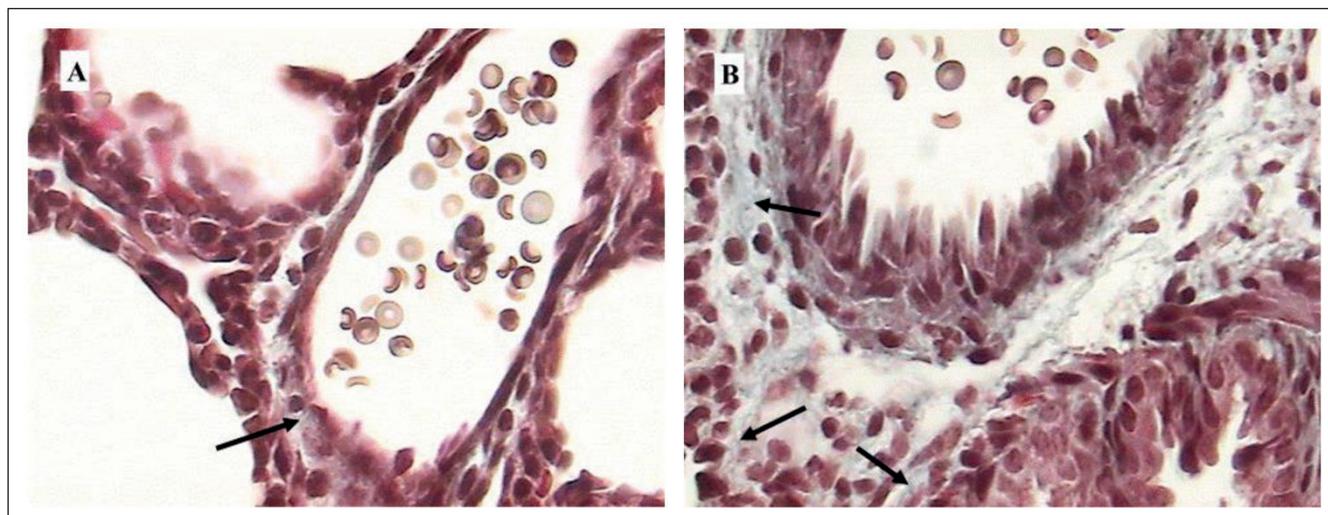


Figura 3. A: Fotomicrografía de sección de tejido pulmonar del grupo control. Deposición normal de colágeno en parénquima pulmonar (flecha). Tinción Tricrómica Masson 40x. **B:** Fotomicrografía de sección de tejido pulmonar del grupo experimental. Acumulación anormal de colágeno, en parénquima y arteria pulmonar (flechas). Tinción Tricrómica Masson 40x..

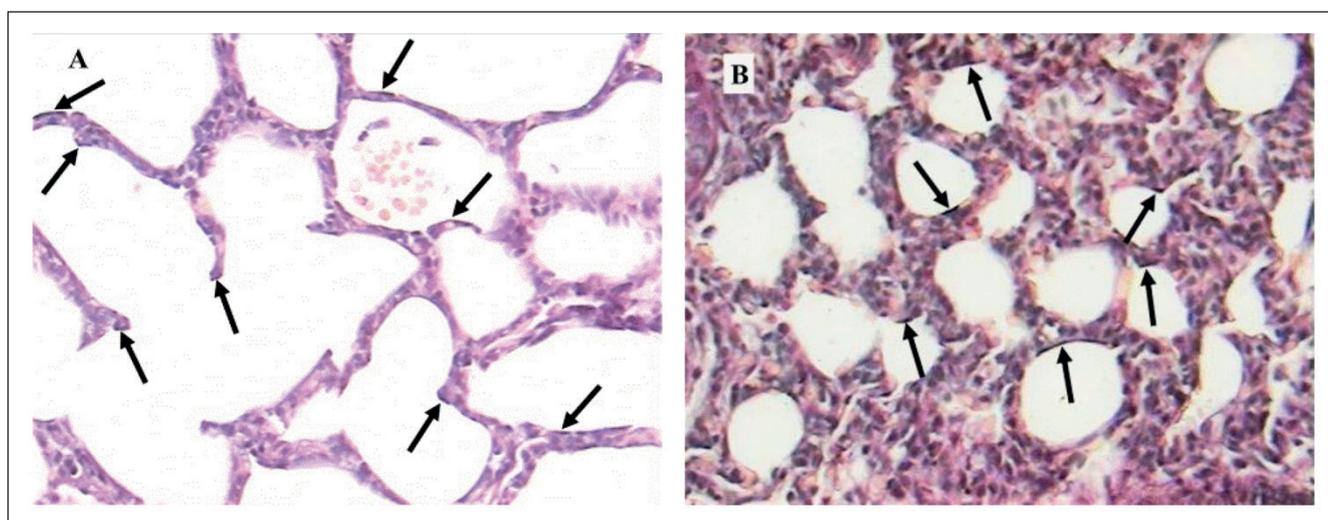


Figura 4. A: Fotomicrografía de sección de tejido pulmonar del grupo control. Existe una organización de elastina en los tabiques alveolares secundarios (flechas). Tinción Verhoeffe 20x. **B:** Fotomicrografía de sección de tejido pulmonar del grupo experimental. Evidente desorganización y depósito anormal de elastina en el intersticio pulmonar (flechas). Tinción Verhoeffe 20x.

mencionar que, se observó menor peso pulmonar del grupo experimental comparado con el grupo control. Lo que sugiere, la posible pérdida de estímulos al crecimiento y diferenciación pulmonar durante el desarrollo prenatal y postnatal temprano. En particular, la restricción calórica durante el período de hiperplasia celular produce alteración del crecimiento pulmonar. El cual se manifiesta por una menor cantidad de células en algunos órganos durante el período neonatal²¹.

Con respecto a la evaluación morfológica pulmonar de los recién nacidos del grupo experimental,

mostraron colapso alveolar, engrosamiento de pared alveolar y aumento en celularidad. Con relación a lo anterior, estudios experimentales indican que la hiperinsulinemia materna provoca retraso en la maduración pulmonar fetal²², deficiencia en la síntesis y secreción de surfactante²³. Cabe mencionar que, en modelo experimental y en humanos el consumo de sacarosa produce resistencia a la insulina²⁴, hiperinsulinemia e hiperlipidemia²⁵. Por otro lado, la hipertensión arterial secundaria al consumo de azúcar está²⁶ fuertemente relacionada con el riesgo de padecer pre-eclampsia.

Como consecuencia, la pre-eclampsia altera el crecimiento vascular en la unidad materno-fetal y evita el apropiado desarrollo de vías aéreas del neonato²⁷. Por lo cual, creemos que los cambios metabólicos y hormonales sufridos por la madre debido al consumo de sacarosa retarda el desarrollo pulmonar del recién nacido.

Otro hallazgo importante, fue la presencia de glucógeno pulmonar en los recién nacidos del grupo experimental. Es conocido que, el glucógeno es la fuente de energía y su síntesis empieza en la novena semana de gestación en el embrión humano. Pero los niveles declinan suavemente cuando el feto se acerca a término. Lo que indica, la relación entre el glucógeno pulmonar y su maduración funcional en el recién nacido²⁸. Está claro que, bajo condiciones fisiológicas el contenido de glucógeno pulmonar disminuye mientras que en condiciones patológicas su presencia se hace más evidente²⁹. Por lo anterior, suponemos que la acumulación de glucógeno tiene impacto negativo en la maduración pulmonar y producción de surfactante. Dado que, la degradación del glucógeno hasta glucosa genera las cadenas de glicerol requeridas para la síntesis del surfactante.

Mientras que, con la tinción tricrómica de Masson se observó aumento en la deposición de colágeno pulmonar en los recién nacidos del grupo experimental. Resultado relevante ya que, el colágeno es un componente de la matriz extracelular pulmonar³⁰ y proporciona estabilidad mecánica durante la función fisiológica del pulmón³¹. En este caso, el aumento de la deposición de colágeno puede conducir a vías respiratorias rígidas y fibróticas en el pulmón neonatal³². Además, estudios en varios modelos animales han revelado mayor producción de colágeno y rigidez pulmonar asociado con displasia broncopulmonar³³. Por lo tanto, creemos que el Factor de Crecimiento Transformante-beta (TGF- β) está implicado en este resultado. Ya que, es un inductor de la expresión de colágeno y de varias enfermedades respiratorias que implican inflamación y remodelación³⁴. Por otro lado, la exposición materna a dieta hipercalórica durante el embarazo impone una alta ingesta de productos finales de glicación avanzada generadas por medio de reacciones no enzimáticas³⁵. Tales moléculas provocan alveolitis, proliferación de fibroblastos, depósito anormal de colágeno intersticial y finalmente fibrosis pulmonar³⁶.

La síntesis de elastina comienza en la etapa pseudoglandular y está asociada con sitios donde las vías respiratorias se ramifican durante el desarrollo pulmonar. Mientras que, aumenta durante los siguientes periodos del desarrollo fetal y alcanza un pico durante la alveolarización en la etapa neonatal. También es conocido que, los compartimentos vasculares, vías respiratorias conductoras y los alveólos requieren una simetría elás-

tica para sufrir repetida distensión y retroceso a lo largo de la vida del pulmón³⁷. En este sentido, nuestros resultados muestran una expresión reducida y deposición desorganizada de elastina en pulmón del recién nacido grupo experimental. Se sabe que, las alteraciones en la deposición de elastina afectan la alveolarización y la función pulmonar. Confirmado, en un modelo de hiperoxia en rata posnatal que muestra una expresión de elastina reducida, rotura de las fibras de elastina y una detención de la maduración pulmonar^{38,39}. Importante mencionar que, la elastina es un componente vital de la estructura pulmonar que permite la expansión y el retroceso del parénquima. Ésta fibra elástica, se deposita principalmente en el vértice de las crestas secundarias durante la alveolarización y en la mesénquima que rodea las vías respiratorias distales antes del desarrollo del pulmón. No olvidemos que, la insuficiencia de elastina afecta el crecimiento de vasos sanguíneos asociados con el crecimiento en los tejidos nuevos o existentes. Lo que provoca la detención en el crecimiento pulmonar y alteración de la función respiratoria⁴⁰. Por lo tanto, éstos hallazgos sugieren que la deposición de elastina pulmonar del recién nacido se ve comprometida por el consumo materno de sacarosa. Esto implicaría, una reducción alveolar y retraso en el desarrollo pulmonar.

En particular, el estudio actual debe considerarse dentro del contexto de sus limitaciones. Primero, tuvimos una pequeña cantidad de recién nacidos en nuestro experimento. Aunque cabe señalar que, es un estudio preliminar que pone a prueba la viabilidad, el equipo y los métodos para nuestro diseño de investigación a mayor escala. Sin embargo, se podría establecer un aumento en el número de animales para la obtención de mayor cantidad de datos y lograr los objetivos de la investigación. Invertir en la planificación y el diseño experimental, es una garantía de que la información que se obtenga será suficiente y de calidad. Segundo, a pesar de las técnicas básicas de tinciones utilizadas en este trabajo encontramos hallazgos interesantes. Por lo que, creemos conveniente evaluar la relevancia de nuestros hallazgos con otras técnicas experimentales. La intención de nuestro grupo de trabajo, es acercarnos a la determinación del surfactante pulmonar mediante pruebas moleculares. Ya que, la producción adecuada de surfactante pulmonar es importante para la supervivencia de los recién nacidos. En el pulmón del recién nacido desarrollado prematuramente, se cree que la deficiencia de surfactante pulmonar causa el síndrome de dificultad respiratoria. Sin olvidar, el estudio de la placenta como órgano transitorio que intercambia una amplia gama de nutrientes, señales endocrinas, citocinas y factores de crecimiento para asegurar un crecimiento y desarrollo fetal. Además, es nuestro interés determinar la funcionalidad mitocon-

drial como mecanismo fundamental de falla en la maduración de los órganos en los bebés prematuros. Aunado a lo anterior, se pretende implementar el análisis de imagen mediante dimensión fractal para cuantificar y caracterizar la matriz extracelular en el pulmón de la rata recién nacida.

En conclusion, de acuerdo con la histomorfología pulmonar demostramos que, las alteraciones en el crecimiento y desarrollo pulmonar del recién nacido están asociadas con la ingesta materna de sacarosa. En este sentido sabemos que, la arquitectura pulmonar se establece en etapa temprana de la vida y el estado nutricional tiene el potencial de inducir alteraciones en la estructura y función pulmonar a lo largo de la vida. No olvidemos que, la nutrición materna tiene consecuencias importantes en la maduración pulmonar neonatal a través de su influencia en el desarrollo placentario y del crecimiento fetal. Cabe señalar que, éste modelo puede ser usado en estudios futuros para explorar el desarrollo de trastornos respiratorios en la vida temprana y adulta por influencia de azúcares. Si bien se requieren más investigaciones, consideramos que el consumo materno de azúcares son un peligro para la salud de los recién nacidos en desarrollo. Por lo que, es de vital importancia propiciar intervenciones de salud pública dirigidas a controlar la ingesta excesiva de bebidas con alta fructosa, harinas y la promoción de hábitos saludables. Asimismo, se debe poner especial interés a uno de los grupos más vulnerables de la po-

blación que corresponde a mujeres en etapa reproductiva y embarazada.

Responsabilidades Éticas

Protección de personas y animales: Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos: Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Agradecimientos

Agradecemos a todo personal que labora en la oficina de bioterio del INER por el apoyo en el cuidado de los animales.

Agradecemos a la Mtra. María Angélica Velázquez González su contribución en la revisión del manuscrito.

Referencias

- Baseer K, Mohamed M, Abd-Elmawgood E. Risk Factors of Respiratory Diseases Among Neonates in Neonatal Intensive Care Unit of Qena University Hospital, Egypt. *Ann Glob Health*. 2020;86(1):22-30.
- Perloth N, Branco C. Current knowledge of environmental exposure in children during the sensitive developmental periods. *J Pediatr*. 2017;93(1):17-27.
- Miller M, Marty M. Impact of Environmental Chemicals on Lung Development. *Environ Health Perspect*. 2010;118:1155-64.
- Stocks J, Hislop A, Sonnappa S. Early lung development: Lifelong effect on respiratory health and disease. *Lancet Respir. Med*. 2013;1(9):728-42.
- Bui D, Lodge C, Burgess J, et al. Childhood predictors of lung function trajectories and future COPD risk: A prospective cohort study from the first to the sixth decade of life. *Lancet Respir. Med*. 2018;6(7):535-44.
- Calkins K, Devaskar S. Fetal origins of adult disease. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2011;41(6):158-76.
- Joss-Moore L, Albertine K, Lane R. Epigenetics and the Developmental Origins of Lung Disease. *Mol Genet Metab*. 2011;104(1-2):61-6.
- Lucas A. Programming by early nutrition in man. *Ciba Foundation Symposium*. 1991;156:38-50.
- Samuelsson A, Matthews P, Jansen E, et al. Sucrose feeding in mouse pregnancy leads to hypertension, and sex-linked obesity and insulin resistance in female offspring. *Front Physiol*. 2013;4(14):1-11.
- Englund-Ögge L, Brantsæter A, Haugen M, et al. Association between intake of artificially sweetened and sugar-sweetened beverages and preterm delivery: a large prospective cohort study. *Am J Clin Nutr*. 2012;96(3):552-59.
- Mayor R, Finch K, Zehr J, et al. Maternal high-fat diet is associated with impaired fetal lung development. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2015;309(4):360-8.
- Especificaciones Técnicas para la Producción, Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Diario Oficial de la Federación 6 dic, 1999. Estados Unidos Mexicanos.
- Guide for Care and Use of Laboratory Animals. U.S. Eighth Edition. The Guide NRS, 2011.
- Tschanz S, Salm L, Roth-Kleiner M, et al. Rat lungs show a biphasic formation of new alveoli during postnatal development. *J Appl Physiol*. 2014;117(1):89-95.
- Pramanik A, Rangaswamy N, Gates T. Neonatal Respiratory Distress. *Pediatr Clin North Am*. 2015;62(2):453-69.
- Hanson C, Brigham E. Maternal nutrition and child respiratory outcomes: paradigms of lung health and disease. *Eur Respir J*. 2020;55(3):1-4.
- Soria A, Chicco A, Mocchiutti N, et al. A sucrose-rich diet affects triglyceride metabolism differently in pregnant and nonpregnant rats and has negative effects on fetal growth. *J Nutr*. 1996;126(10):2481-6.
- Godfrey K, Robinson S, Barker D, et al. Maternal nutrition in early and late pregnancy in relation to placental and

- fetal growth. *BMJ*. 1996;312(7028):410-4.
19. Jansson T, Powell T. Role of placental nutrient sensing in developmental programming. *Clin Obstet Gynecol*. 2013;56(3):591-601.
 20. Cox A, Gottheil S, Arany E, et al. The effects of low protein during gestation on mouse pancreatic development and beta cell regeneration. *Pediatr Res*. 2010;68(1):16-22.
 21. Winick M, Noble A. Cellular response with increased feeding in neonatal rats. *J Nutr*. 1967;91(2):179-82.
 22. Pignol B, Bourbon J, Ktorza A, et al. Lung maturation in the hyperinsulinemic rat fetus. *Pediatr Res*. 1987;21(5):436-41.
 23. Gewolb I, Unger M, Merdian W, et al. High glucose causes delayed fetal lung maturation as measured by fluorescence anisotropy. *Biochem Biophys Res Commun*. 1993;193(2):794-800.
 24. Cao L, Liu X, Cao H, et al. Modified high-sucrose diet-induced abdominally obese and normal-weight rats developed high plasma free fatty acid and insulin resistance. *Oxid Med Cell Longev*. 2012;2012(8):1-9.
 25. Oliveira L, Santos D, Barbosa-da-Silva S, et al. The inflammatory profile and liver damage of a sucrose-rich diet in mice. *J Nutr Biochem*. 2014;25(2):193-200.
 26. Hwang I, Ho H, Hoffman B, et al. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension*. 1987;10(5):512-6.
 27. Hansen A, Barnés C, Folkman J, et al. Maternal preeclampsia predicts the development of bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr*. 2010;156(4):532-6.
 28. Maniscalco W, Wilson C, Gross I, et al. Development of glycogen and phospholipid metabolism in fetal and newborn rat lung. *Biochim Biophys Acta*. 1978;530(3):333-46.
 29. Ridsdale R, Post M. Surfactant lipid synthesis and lamellar body formation in glycogen-laden type II cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2004;287(4):743-51.
 30. Suki B, Ito S, Stamenović D, et al. Biomechanics of the lung parenchyma: critical roles of collagen and mechanical forces. *J Appl Physiol*. 2005;98(5):1892-9.
 31. Burgstaller G, Oehrlé B, Gerckens M, et al. The instructive extracellular matrix of the lung: basic composition and alterations in chronic lung disease. *Eur Respir J*. 2017;50(1):1601805
 32. Vogel E, Britt R, Faksh A, et al. Moderate hyperoxia induces extracellular matrix remodeling by human fetal airway smooth muscle cells. *Pediatr Res*. 2016;81(2):376-83.
 33. Mižíková I, Morty R. The Extracellular Matrix in Bronchopulmonary Dysplasia: Target and Source. *Front. Med*. 2015;2(91):1-20.
 34. Ojiaku C, Yoo E, Panettieri R. Transforming Growth Factor β 1 Function in Airway Remodeling and Hyperresponsiveness: The Missing Link? *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2017;56(4):432-42.
 35. Csongová M, Gurecká R, Koborová I, et al. The effects of a maternal advanced glycation end product-rich diet on somatic features, reflex ontogeny and metabolic parameters of offspring mice. *Food Funct*. 2018;9(6):3432-46.
 36. Machahua C, Montes-Worboys A, Llatjos R, et al. Increased AGE-RAGE ratio in idiopathic pulmonary fibrosis. *Respiratory Research*. 2016;17(1):144-55.
 37. Barry CS. Lung Elastin and Matrix. *CHEST*. 2000;117:229S-34S.
 38. Joss-Moore LA, Wang Y, Yu X, et al. IUGR decreases elastin mRNA expression in the developing rat lung and alters elastin content and lung compliance in the mature rat lung. *Physiological Genomics*. 2011;43(9):499-505.
 39. Mychaliska GB, Officer SM, Heintz CK, et al. Pulmonary elastin expression is decreased in the nitrofen-induced rat model of congenital diaphragmatic hernia. *Journal of Pediatric Surgery*. 2004;39(5):666-71.
 40. Wu CS, Chen CM, Chou HC. Pulmonary Hypoplasia Induced by Oligohydramnios: Findings from Animal Models and a Population-Based Study. *Pediatrics & Neonatology*. 2017;58(1):3-7.