



Facultad de Ciencias Químicas BUAP

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO  
DEPARTAMENTO DE FARMACIA

**EFFECTO DEL SÍNDROME METABÓLICO SOBRE LA  
DINÁMICA DEL LIPIDOMA EN REGIONES CEREBRALES  
LÍMBICAS DE RATA WISTAR.**

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

pQFB GETSEMANÍ GONZÁLEZ LÓPEZ

LUGAR DE REALIZACIÓN:  
**LABORATORIO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO  
CLÍNICAS**

DIRECTOR DE TESIS:  
**D.C. SAMUEL TREVIÑO MORA**

CO-DIRECTORA:  
**D.C. MARÍA DE GUADALUPE MUÑOZ ARENAS**

ENERO 2021





## **AGRADECIMIENTOS**

### **A Dios.**

Por ser proveedor de vida y fortaleza en momentos de debilidad, por llenar mi vida de bendiciones y virtudes.

### **A mi mami.**

Por estar incondicionalmente, apoyar todas mis decisiones y sueños, por creer en mí. Gracias por convertirme en el humano que soy y sembrar en mí la bondad, humildad, responsabilidad y disciplina; eres sin duda alguna el mejor ejemplo de que todo se puede lograr y siempre me demuestras lo inteligente que eres. Gracias por inspirarme a ir siempre por más. Gracias por ser mi fuente de amor y abrazos interminables ¡lo logramos! Te amo.

### **A mi hermanita.**

Gracias por estar, ser mi mitad, la alegría en mi vida y por todos los apapachitos que siempre me das. Gracias por ser mi compañera de vida y mi persona favorita, te amo hermani.

### **Al D.C. Samuel Treviño Mora**

Gracias por aceptarme como su pequeña Padawan, por la confianza que ha puesto en mí, por su dedicación y tiempo para realizar este proyecto, por inspirarme y exigirme, por brindarme sus conocimientos a lo largo de toda mi formación desde que era solo su alumna, hasta ser su tesista. Gracias por su amistad y sus consejos.

### **A la D.C. Guadalupe Muñoz Arenas**

Gracias por su apoyo, disposición y tiempo brindado para concluir este proyecto.

### **A mis sinodales**

D.C Alfonso, D.C. Bere y D.C. Rubén, gracias por brindarme sus conocimientos y tiempo para la culminación de este proyecto.

### **A mis tías Laurita y Lupita**

Gracias por ser una pieza fundamental en mi vida, por demostrarme su apoyo incondicional en las situaciones más difíciles, por ser como mis otras mamás y por darme a mis bebés Manolito y Chuchin.

### **A mi papá**

Gracias por tus enseñanzas y consejos, por permitirme tomar mis propias decisiones y volverme una persona independiente.

### **A mis abuelitos**

Abuelita Lupita, gracias por consentirme tanto, por ser la figura del amor más bonito que puede existir y por toda la comida tan deliciosa que me preparas, gracias abuelito Chucho por todo tu apoyo, les agradezco a los dos por cuidar de mi mamá y mi hermana siempre que no estuve.

Abuelito Uba y abuelita Teo, gracias por siempre confiar en mí, por apoyarme, quererme y por todas las llamadas que me hacían sentirlos cerca.

### **Al M.C. Huguito Hernández Fragoso**

Gracias por apoyarme en los experimentos de este proyecto, por compartir siempre tus conocimientos, por contagiarme tu curiosidad y emoción cada vez que teníamos resultados, pero sobre todo muchas gracias por brindarme tu amistad.

### **A Daniela Juárez Chimal**

Gracias por estar, apoyarme y alentarme a lograr todo lo que me propongo, por acompañarme en cada etapa y celebrar cada triunfo como si fuera tuyo, sin duda eres mi persona.

### **A Martin Arenas Rojas**

Gracias por estar en toda mi vida universitaria, por cuidarme, quererme, hacer mi vida foránea más ligera y aportar un granito más para llegar hasta aquí, siempre tendrás un lugar especial.

# ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS .....	4
LISTA DE ABREVIATURAS.....	7
FIGURAS .....	9
TABLAS.....	10
MARCO TEÓRICO .....	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	31
OBJETIVOS .....	33
HIPÓTESIS.....	34
DIAGRAMA DE TRABAJO .....	35
MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
RESULTADOS .....	46
DISCUSIÓN.....	62
CONCLUSIÓN.....	88
BIBLIOGRAFÍA .....	89
ANEXOS.....	115

## LISTA DE ABREVIATURAS

OMS	Organización Mundial de la Salud
ABC	Proteínas de cassette de unión a ATP
ABCA1	Transportador de AI del casete de unión a ATP
ACC	Acetil Co-A carboxilasa
ACL	ATP-citrato liasa
ACP	Proteína portadora de acilo
ACS	Acetil-coa sintetasa
AG	Ácidos grasos
AGL	Acido grasos libres
AGS	Ácidos grasos saturados
ALA	Ácido $\alpha$ -linolénico
AMG	Amígdala
Apo	Apolipoproteínas
A $\beta$	Beta-amiloide
BHE	Barrera hematoencefálica
CE	Colesterol esterificado
CETP	Proteína transferidora de esteres de colesterol
CF	Corteza frontal
ChREBP	Proteína de unión a elementos que responde a carbohidratos
CT	Corteza temporal
D5D	Delta-5-desaturasa
D6D	Delta-6-desaturasa
DGAT	Diacilglicerol aciltransferasa
DHA	Ácido docosahexaenoico
DL	Gotas lipídicas
EA	Enfermedad de Alzheimer
EEM	Error estándar de la media
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
FAS	Ácido graso sintasa
GD	Giro dentado
GRASE	Elemento conservado de activación de respuesta a glucosa
HCD	Dieta hipercalórica
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
IDL	Lipoproteínas de densidad intermedia
IMC	Índice de masa corporal
LA	Ácido linoleico
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LPL	Lipoprotein lipasa
L-pk	L-piruvato quinasa

LRT	Las lipoproteínas ricas en triglicéridos
Mfsd2a	Superfamilia del facilitador principal que contiene 2a
MTP	Proteína de transferencia de triglicéridos microsomales
NCD	Dieta normocalórica
NPD	Neuropatía periférica diabética
oxLDLsd	Ldlsd oxidadas
PPAR	Receptores activados por peroxisomas
PPRE	Elementos de respuesta del proliferador de peroxisomas
PUFA	Ácidos grasos poliinsaturados
RI	Resistencia a la insulina
ROS	Especies reactivas de oxígeno
SCD	Estearoil-Coa desaturasa
sdLDL	Pequeñas y densas
SMet	Síndrome metabólico
SNC	Sistema nervioso central
SR-B1	Receptor eliminador la clase B, tipo I
SREBP-1c	Factor 1 de transcripción de unión a elementos reguladores de esteroides
VLDL	Lipoproteínas muy baja densidad
TG	Triglicéridos

## FIGURAS

**Figura 1.** Síntesis de lípidos de novo.

**Figura 2.** Características de la dislipidemia.

**Figura 3.** Hipocampo y núcleos amigdalinos.

**Figura 4.** Circuitos en el hipocampo.

**Figura 5.** Tolerancia oral a la glucosa y respuesta de insulina.

**Figura 6.** Panel lipídico cerebral.

**Figura 7.** Evaluación de la expresión de PPAR  $\alpha$ .

**Figura 8.** Expresión de PPAR  $\gamma$ .

**Figura 9.** Evaluación inmunorreactiva de SREBP-1c.

**Figura 10.** Evaluación de la expresión de ChREBP.

**Figura 11.** Evaluación de la expresión de ACC.

**Figura 12.** Evolución inmunorreactiva de FAS.

**Figura 13.** Evaluación de la expresión de DGAT.

**Figura 14.** Evaluación de la expresión de CD36.

**Figura 15.** Expresión de MTP.

**Figura 16.** Actividad de lipoprotein lipasa cerebral.

**Figura 17.** Tinción de rojo oleoso.

**Figura 18.** Efecto del consumo de dieta hipercalórica hiperglucida sobre la ruta de síntesis de lípidos *de novo* en regiones límbicas.

## TABLAS

**Tabla 1.** Diferencias regionales en densidad capilar y permeabilidad

**Tabla 2.** Composición nutrimental de las dietas.

**Tabla 3.** Evaluación antropométrica y consumo de alimento semanal.

**Tabla 4.** IMC, Índice de Lee, masa libre de grasa y masa adipocitaria.

**Tabla 5.** Panel lipídico.

## MARCO TEÓRICO

### ***Balance y sobreconsumo calórico***

La sociedad ha experimentado cambios drásticos en los hábitos alimenticios durante las últimas décadas (Berthoud H., 2012). El perfil nutricional moderno, rico en grasas y azúcares refinados, asociado con mayores porciones, es un factor importante que, en conjunto con menor actividad física, genera un estilo de vida altamente obesogénico que contribuye a la epidemia actual de trastornos metabólicos (Hill J., 1998).

La nutrición de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), es la ingesta de alimentos de acuerdo con la necesidad de un organismo, la mal nutrición puede reducir la inmunidad, aumentar la vulnerabilidad a las enfermedades, alterar el desarrollo físico y mental, y reducir la productividad (OMS). La nutrición es el reflejo de costumbres y tradiciones de una sociedad, la cultura alimentaria es transmitida de generación en generación, lo cual influye en el estado nutricional y por ende, en la salud de la población (Rodríguez, Leandro., 2011). La cultura alimentaria en México se ha ido modificando y adaptando de acuerdo a los cambios socio-económicos por los que ha atravesado el país a lo largo de su historia (Gómez & Velázquez, 2019). El incremento de la urbanización, la industrialización y las jornadas laborales han traído consecuencias en cuanto a la distribución de los alimentos en el transcurso del día, afectando la calidad y cantidad de nutrientes en su proceso, para poder abastecer a la población, como consecuencia la calidad nutricional se ve disminuida y la proporción de macronutrientes es inadecuada para cubrir el requerimiento calórico necesario para llevar a cabo las actividades día a día.

Los principales cambios en la dieta mexicana han sido la incorporación de alimentos altamente procesados, bebidas endulzadas artificialmente, la comida rápida, el marketing masivo alusivo a la alta disponibilidad y accesibilidad de dichos alimentos; los factores reportados como barreras a la hora de alimentarse saludablemente son: la falta de conocimiento, tiempo y/o dinero para comprar, preparar y/o consumir

alimentos saludables, la falta de una alimentación saludable en la familia, la preferencia por consumir bebidas azucaradas y comida densa en energía, la falta de motivación y el desagrado por el sabor de las verduras (Ensanut MC 2016). Estos hábitos afectan negativamente a la salud de las personas, puesto que si son consumidos frecuentemente existe el riesgo de padecer enfermedades crónicas.

El consumo de alimentos procesados de manera ocasional no genera un impacto desfavorable, siempre y cuando el 80% de la dieta sea de origen natural y cumpla con las características de una dieta equilibrada y saludable. Sin embargo, cuando el consumo de estos alimentos es de manera frecuente el organismo comienza con procesos de adaptación y compensatorios, puesto que los ingredientes con los que están elaborados generan un gran impacto a nivel energético, neuronal, metabólico y hormonal. Diversas publicaciones mencionan que el consumo de alimentos procesados está asociado con una alta prevalencia de obesidad y diabetes, debido a que la gente consume más calorías cuando se encuentra expuesto a una dieta basada en este tipo de alimentos (Hall, 2019), los cuales son altos en calorías, azúcar y grasa, además de sales y conservadores (Small, D., 2019).

A nivel mundial, en 2015, 107.7 millones de niños y 603.7 millones de adultos en todo el mundo fueron clasificados con obesidad. Desde 1980 la prevalencia de la obesidad se ha duplicado en al menos 70 países, en un panorama general de obesidad en niños y adultos fue de 5.0% y 12.0% respectivamente. El exceso de peso corporal es un factor de riesgo importante de mortalidad y morbilidad (Obesity Collaborators, 2015) En México, el 75.2% de los adultos mayores de 20 años presentan sobrepeso u obesidad, cifra que incrementó en comparación con mostrado en 2012, del 71.3% (ENSANUT 2018). Existe evidencia en la que se demuestra que el sobrepeso y la obesidad son signos invariables del desarrollo de síndrome metabólico (SMet).

### ***Síndrome metabólico***

El SMet es un estado fisiopatológico complejo estudiado hace tiempo, sin embargo, no hay una definición universal. Las tres definiciones más aceptadas son las establecidas por la OMS, el Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol y

la Federación Internacional de Diabetes (Alberti, K., 2009) en las que se define como una co-ocurrencia de obesidad, hiperglucemia, dislipidemia, hipertensión y se considera que la resistencia a la insulina (RI) es fundamental para la fisiopatología (Balkau, B., 1999).

El SMet se origina principalmente por un desequilibrio de la ingesta calórica y el gasto energético, pero también se ve afectado por la genética del individuo cuya expresión es mediada por factores externos (Saklayen M., 2018). Esta condición vincula a la obesidad abdominal, RI, hipertensión y dislipidemia (Alberti, K., 2009), que se sabe son elementos que están interrelacionados y comparten mediadores, vías y mecanismos fisiopatológicos comunes (Huang P., 2009).

La RI es un estado patológico de respuesta celular inapropiada a la hormona insulina por parte de células dependientes a la insulina, como los adipocitos, miocitos y células musculares (Yaribeygi, 2018). Esta puede ser detectada mucho antes de que se produzca intolerancia a la glucosa, puesto que una de las primeras manifestaciones es el fallo en la captación de glucosa por parte del músculo esquelético. La aparición en el tejido adiposo de resistencia a los efectos antilipolíticos de la insulina, provoca un incremento en la lipólisis y la liberación de ácidos grasos que merman la capacidad de la insulina para reprimir la producción de glucosa en el hígado. Esta desregulación del metabolismo de carbohidratos y lípidos contribuye a acelerar la progresión de RI (Nieto, 2008). Además, es característica de desórdenes metabólicos como obesidad, dislipidemia, síndrome metabólico, hipertensión, arterioesclerosis, hígado graso no alcohólico y diabetes mellitus.

En los tejidos dependientes de insulina (músculo, adipocitos y miocardiocitos) de individuos con alteraciones en el metabolismo de la glucosa, la concentración de insulina es incrementada, incluso en ayuno. El aumento progresivo, es parte de una respuesta adaptativa del páncreas para compensar el deterioro de la homeostasis de la glucosa. Cuando la concentración de glucosa es mayor a 140 mg/dL en ayuno (en humanos), la célula  $\beta$  es incapaz de mantener una tasa elevada de secreción

de insulina, por lo tanto, ésta decae y comienza la producción hepática de glucosa (DeFronzo, R. 2004).

En periodos crónicos de RI, las células adiposas, musculares y hepáticas no responden adecuadamente a la señalización de la hormona y los niveles de glucosa circulante permanecen altos (Huang P., 2009). Con el incremento de la adiposidad visceral hay un mayor flujo de ácidos grasos hacia el hígado y la circulación. Estos factores en conjunto inhiben la actividad antilipolítica de la insulina y favorecen el incremento de la lipólisis de triglicéridos (TG) en tejido adiposo generando ácidos grasos libres (DeFronzo R, 1991) (Eckel, R., 2005).

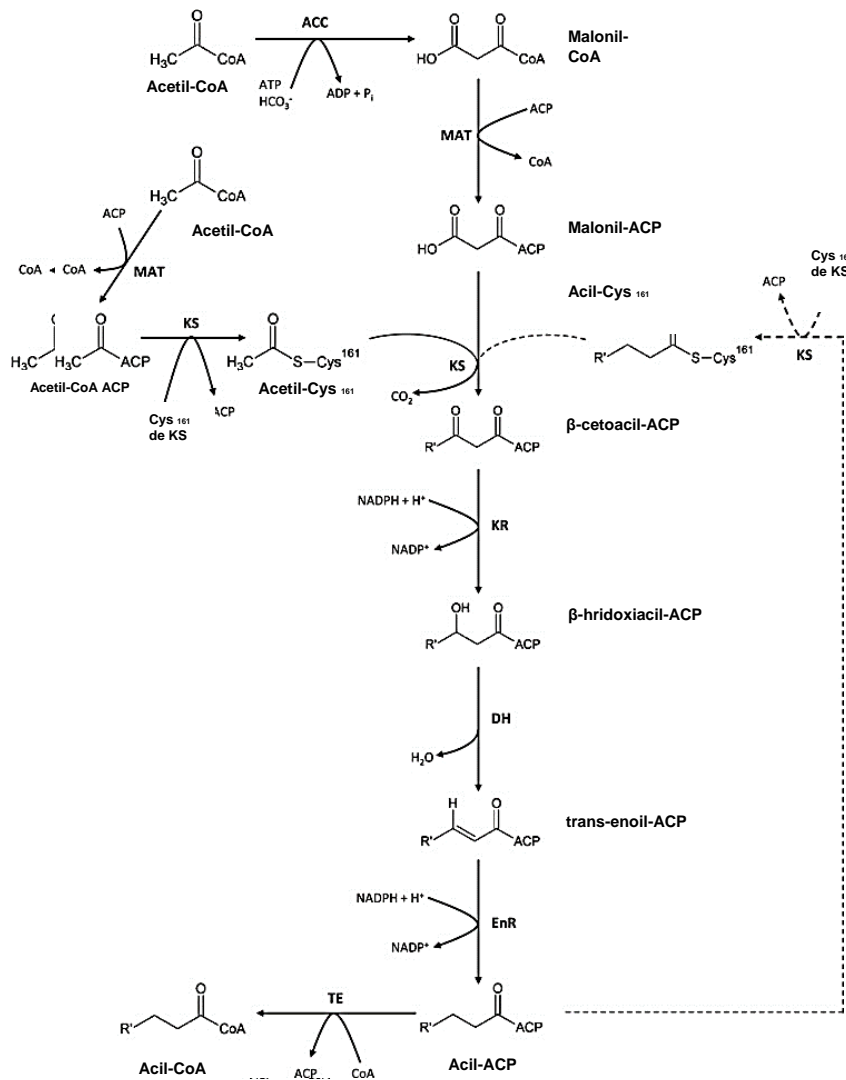
Se ha mostrado en diversas investigaciones que estados crónicos de RI favorecen la aparición de hipertrigliceridemia, y consecutivamente condiciona disminución de colesterol contenido en lipoproteínas de alta densidad (HDL), con aumento de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Este mecanismo se debe a que los carbohidratos rápidamente digeribles en forma de monosacáridos que saturan las rutas metabólicas y de transporte exacerbando la hiperlipidemia postprandial no quilomicroónica. En sujetos con RI se ha mostrado, que la respuesta lipémica postprandial aumenta con las alteraciones metabólicas en las vías de carbohidratos sobre todo cuando se consumen alimentos con alto índice glucémico. En estos sujetos la alteración metabólica es más profunda, afectando el metabolismo de lípidos, aumentando lipogénesis hepática y muscular, con lipólisis adipocitaria mediada por hormonas contrarreguladoras de las rutas insulínicas, incrementado el transporte de ácidos grasos libres a otros tejidos y con ello procesos esteatóticos (González, G., 2008). Estas condiciones dan paso al establecimiento de SMet, por lo que la dislipidemia se ha convertido en un elemento central de estudio y evolución de las patologías crónico-degenerativas.

### ***Lipogénesis***

La lipogénesis es un proceso bioquímico en el que se sintetizan lípidos a partir de intermediarios de la vía glucolítica y el metabolismo de carbohidratos, es posible sintetizar lípidos a partir de carbohidratos, no así lípidos a partir de carbohidratos.

Se presume que las dietas altas en carbohidratos favorecen la síntesis de lípidos *de novo* (en el hígado, Figura 1), pues proporciona gran cantidad de sustrato (Schwarz, J., 2003) (Hellerstein M., 1999). La expresión de enzimas clave, incluida la acetil-CoA carboxilasa (ACC) y la ácido graso sintasa (FAS), sugieren que diversos tipos celulares, son capaces de generar ácidos grasos y TG mediante la síntesis *de novo*, no sólo se da en hepatocitos (Roberts, R., 2009). En la alimentación con dieta hipercalórica rica en carbohidratos, las síntesis de lípidos *de novo* aumenta considerablemente en los tejidos periféricos y supera a la síntesis hepática (Aarsland, A., 1997).

Esta vía biosintética comienza a partir de subunidades acetil-CoA producidas durante la glucólisis, éstas pueden sufrir condensación con una columna de glicerol, esta reacción bajo la acción catalítica de la acetil Co-A carboxilasa (ACC), generando malonil Co-A, que después se transfiere al grupo protético de la proteína portadora de acilo (ACP), un dominio del complejo de FAS, ACP transporta la cadena de ácido graso en elongación a los diversos centros catalíticos del sitio activo de FAS. El resto de malonilo unido a ACP actúa como monómero aditivo para el alargamiento de la cadena de acilo del sustrato; posteriormente sufre condensación descarboxilativa con un resto de acetilo, luego, el ACP se une a un intermedio  $\beta$ -cetoacilo. El ACP transporta el intermedio  $\beta$ -cetoacilo al sitio activo  $\beta$ -cetoreductasa, dependiente de NADPH. La cetona del carbono  $\beta$  se reduce, generando un grupo hidroxilo. Esto es seguido por la deshidratación, por la deshidratasa, y una reducción adicional por enoil-reductasa, dependiente de NADPH. Esto genera una cadena de acilo saturada alargada por dos grupos de carbono, que puede actuar como sustrato para la siguiente ronda de elongación, ya que se une al grupo tiol de la cisteína en el sitio catalítico de la  $\beta$ -cetoacil sintasa. El alargamiento cesa en la etapa de 16 o 18 carbonos, con la liberación de ácido palmítico o ácido esteárico del ACP a través de la actividad del dominio tioesterasa de FAS (Figura 2) (Zaidi, N., 2013) (Lehninger A., 2014)



**Figura 1.** Síntesis de lípidos de novo.

### **Transporte de lípidos**

Los lípidos son moléculas complejas sintetizadas a partir de componentes más simples por mecanismos enzimáticos. Generalmente cada lípido se compone de un grupo que puede esterificarse, en la “cabeza”, y “colas” hidrófobas compuestas por cadenas de ácidos grasos o esfingoides (Fahy, E., 2009). Las funciones de cada clase de lípidos están definidas por la composición de su cabeza, sin embargo, el número en los carbonos de las cadenas acilo también puede establecer diferencias entre los distintos grupos de lípidos. A la composición total de lípidos en las células,

así como al contenido y distribución de lípidos en lipoproteínas se le ha denominado, lipidoma (Sarmiento-Ortega, V., 2017) (Shevchenko, A., 2010).

Los TG y los ésteres de colesterol son transportados en lipoproteínas, envueltos por una capa de fosfolípidos, proteínas y colesterol libre. Las apolipoproteínas (Apo) son importantes en el transporte de lípidos y en el ensamblaje de lipoproteínas, pues median la interacción con receptores, enzimas y proteínas transportadoras de lípidos.

Los lípidos consumidos en la dieta son captados por los enterocitos mediante difusión pasiva y transportadores específicos como CD36 (Pan, X., (2012), después son secretados en quilomicrones, este proceso requiere de la ApoB 48. Los TG contenidos en el núcleo del quilomacrón son hidrolizados por la lipoprotein lipasa (LPL) unida al endotelio, usando como cofactor a la Apo C-II, de esta manera se generan quilomicrones remanentes, los cuales son captados por la proteína receptora tipo LDL, en el hígado. Los lípidos intrahepáticos se reempaquetan y secretan en VLDL ricas en TG, en un proceso que requiere Apo B100. En circulación sanguínea los TG que se encuentra en el core de las VLDL son hidrolizados por LPL en dos ácidos grasos libres y un monoacilglicerol, generando pequeños remanentes de VLDL, el cual es denominado lipoproteínas de densidad intermedia (IDL). Algunos remanentes de IDL son eliminadas por la interacción de ApoE con el receptor de LDL en la superficie del hígado, o si se mantienen en circulación, los TG en la IDL son hidrolizados por la lipasa hepática para producir lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Pan, X., (2012).

La cantidad de ácidos grasos que se liberan de los quilomicrones y VLDL depende directamente de la actividad LPL. La expresión de LPL es estimulada por la insulina (Karpe, F., 2011). La hidrólisis de TG provee de un suministro importante de ácidos grasos al corazón, músculo esquelético y al tejido adiposo, y son usados para el gasto y almacenamiento de energía (Abumrad, N. 2012). Particularmente, en los adipocitos, los TG son resintetizados y almacenados. El transportador de ácidos grasos libres (AGL) mejor caracterizado es el receptor scavenger CD36 y es abundante en músculo, tejido adiposo y endotelio capilar; la insulina aumenta la

expresión de CD36, lo que facilita la captación de AGL (Goldberg, I.2009). Por tanto, la RI tiene un gran impacto en el metabolismo de las lipoproteínas ricas en TG (LRT) y AGL.

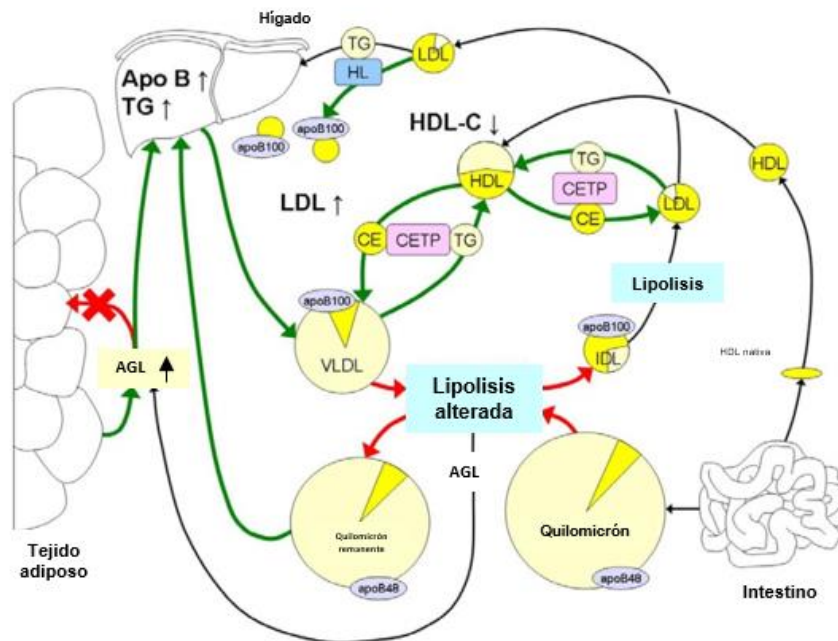
Además del metabolismo de quilomicrones y LDL, el hígado y el intestino también juegan un papel importante en el transporte inverso del colesterol mediante la síntesis de HDL. Las HDL promueven la captación de colesterol de los tejidos periféricos y el transporte hacia el hígado. Sin embargo, cuando existe exceso de LTR, el HDL adquiere TG de estas, generando HDL densas, las cuales adquieren un carácter patológico. En el hígado, la lipasa hepática hidroliza los TG asociados a HDL y también los fosfolípidos, induciendo la formación de partículas de HDL más pequeñas que pueden contribuir nuevamente al transporte inverso del colesterol.

El metabolismo de los lípidos es dinámico y depende de diversos factores, el estado postprandial, la concentración de LRT, los niveles y la función de HDL, el gasto de energía, los niveles y la sensibilidad de insulina.

### ***Dislipidemias***

La dislipidemia es caracterizada por concentraciones elevadas de TG tanto en ayuno como en el postprandio, en combinación con un aumento en las LDL y concentración disminuida de HDL (Patsch, J. 1992). El retraso en el aclaramiento de las LRT puede ser causada por la misma hipertrigliceridemia (Simons, L. 1987), pero también está influenciada por un mayor flujo de AGL al hígado y aumento en la síntesis de VLDL de mayor tamaño (VLDL de clase 1). La reducción de los niveles de expresión de ARNm de la LPL. Asimismo, la hipertrigliceridemia induce el aumento en el intercambio de esteres de colesterol y TG entre VLDL, HDL y LDL, por la proteína de transferencia de esteres de colesterol. Esto conduce a una disminución de las concentraciones de colesterol en las HDL y el aumento del contenido de TG en HDL y LDL, generando LDL remanentes (Figura 1) (Clemente, M., 2011).

Los remanentes de LDL pueden quedar atrapados en el subendotelio cuando migran por circulación, donde pueden ser fagocitados por macrófagos (Klop, B 2012) (Proctor, S. 2003). El tamaño de las lipoproteínas es un factor determinante para la migración a través del endotelio, lo que lleva a la acumulación de colesterol en el subendotelio y por lo tanto inicia la formación de la placa aterosclerótica (Pacífico, L 2011) (Figura 2).



**Figura 2.** Características de la dislipidemia. El sello distintivo de la dislipidemia es el aumento del flujo de AGI y su acumulación en tejidos, aumento en la síntesis hepática de VLDL, además, induce mayor intercambio de colesterol esterificado. Tomado y modificado de Klop, B., 2013.

La ingesta calórica excesiva también da como resultado el aumento de adipogénesis a través de la hipertrofia e hiperplasia de los adipocitos (Song, K., 2014). Cuando el exceso de lípidos rebasa la capacidad de almacenamiento de los adipocitos, se acumula no sólo en el tejido adiposo, sino también en varios otros tejidos, como el hígado, el músculo esquelético, el corazón y el páncreas (Shimabukuro, M., 2013). Por lo que, la dislipidemia típicamente es asociada con obesidad y diabetes tipo 2 (Smith U., 2016).

### ***Alteraciones en lipoproteínas***

La aparición de SMet y RI ha generado un interés creciente en el estudio de las LRT y su contenido, ya que se han vinculado con enfermedades cardiovasculares y deterioro cognitivo.

Dado que, los TG son el componente principal de las LRT, incluidas VLDL, IDL, LDL, HDL y quilomicrones, la LPL promueve la hidrólisis de los TG produciendo remanentes lipoproteicos (Wang, H., 2009). Sin embargo, existen dos hechos importantes a considerar, el exceso de TG es depositado en diversos tejidos incrementando la aparición de esteatosis, es decir, de resguardos abundantes e inadecuados en estos tejidos. El segundo, es considerar que los remanentes lipoproteicos son susceptibles de ingresar a la íntima vascular, induciendo inflamación, estrés oxidativo, y daño endotelial, lo que condiciona a la aparición de patologías inherentes. Particularmente, el cerebro es susceptible de estos cambios y modificaciones, por lo que se ha planteado un vínculo directo entre la dislipidemia de LRT acompañada de RI y la aparición temprana de enfermedades como daño vascular, demencia, Alzheimer e incluso Parkinson esto asociado a cambios dinámicos en la barrera hematoencefálica.

### ***Barrera hematoencefálica***

El sistema nervioso central (SNC) posee una barrera que lo sella, pero mantiene una permeabilidad altamente selectiva para establecer el recambio continuo que sufre el torrente sanguíneo (Engelhardt, B., 2011). La barrera hematoencefálica (BHE) es una estructura compleja, conformada por células endoteliales especializadas, acompañadas por pericitos, terminales de astrocitos y matriz extracelular (Abbott, N., 2006). Las uniones adherentes y uniones estrechas que se encuentra en la BHE son importantes moduladores de su permeabilidad. Las células endoteliales expresan integrinas, que son moléculas involucradas en el anclaje de la estructura basal a la matriz extracelular endotelial; estas en conjunto con las moléculas de adhesión focal son clave para regular la permeabilidad paracelular (Mehta, D., 2006).

La composición estructural y organizacional de la BHE es indispensable para mantener un entorno constante y óptimo para la función neuronal, a través de una combinación de barreras y sistemas de transporte selectivo que regulan estrechamente el paso de moléculas esenciales y no deseadas. Además de modular el paso de moléculas que ingresan y egresan del SNC, funciona como una barrera de transporte y de control metabólico e inmunológico. Cualquier alteración en la integridad o función de la BHE trae como consecuencia el inicio a estados fisiopatológicos (Liebner, S., 2018).

El aumento en la incidencia del SMet ha generado interés en el estudio de las consecuencias patológicas y su progresión, que se desarrolla a partir de una inflamación crónica que aumenta el riesgo de deterioro cognitivo, accidente cerebrovascular y afecciones neurodegenerativas (Yaffe, K., 2004). Recientemente se ha establecido un vínculo entre la alimentación y la salud mental, pues la desregulación de carbohidratos y hormonas producidas por órganos periféricos tienen acción en el SNC al atravesar la BHE (Banks, W., 2012). La insulina y la leptina atraviesan la BHE a través de un mecanismo de transporte saturable e independiente de insulina, que regula el apetito y el equilibrio energético (Banks, W., 1996).

Por otro lado, los transportadores de glucosa dependientes sodio son expresados por células endoteliales en la BHE (Pardridge W. 1991), otro transportador importante en la BHE son los transportadores de la familia de proteínas de cassette de unión a ATP (ABC). Los transportadores ABC están ubicados en la membrana plasmática, así como en la membrana de los orgánulos intracelulares que median el transporte, son reguladores clave de la homeostasis lipídica al mediar en la exportación de colesterol y fosfolípidos en el cerebro. La unión de ABCA1 y lipoproteínas son importantes para la salida de lípidos, ABCA2 regula el metabolismo de los lípidos a través del receptor de lipoproteínas de baja densidad (Kao, Y., 2020). Mientras que, los ácidos grasos esenciales para la función neuronal son transportados por el dominio de la superfamilia del facilitador principal que

contiene 2a (Mfsd2a) el cual permite el transporte de omega-3 y controla el transporte vesicular transcelular (Ben-Zvi, A., 2014).

La red capilar de distintas regiones puede presentar modificaciones en la topografía, morfología y función, la densidad capilar es mayor en la sustancia gris que en la sustancia blanca, se cree que está relacionado con mayor actividad. Se demostró que la región CA3 del hipocampo de rata es rica en microvasos, similar a la región parietal o cortical frontal. Por otro lado, la región CA1 tiene una densidad vascular baja, comparable al cuerpo calloso (Cavaglia, M., 2001). En el hipocampo y CA1 los astrocitos que componen a la BHE demostraron tener alto grado de acoplamiento mientras que en CA3 el acoplamiento es ausente o de apenas algunas células.

Las células endoteliales son el componente más importante de la BHE, por lo tanto, las diferencias en las propiedades de los capilares de la BHE están determinadas directamente por las características de las células endoteliales de cada región (Tabla 1), entre ellas la expresión de transportadores específicos, receptores y actividad enzimática (Ge S., 2005). Hay regiones cerebrales en las que la BHE tiene “fugas” debido a que sus capilares se componen de endotelio fenestrado lo que permite un intercambio relativamente libre entre la circulación periférica y el SNC, entre estas regiones se encuentran elementos importantes del sistema neuroendocrino (Coomber, B. 1985).

El SNC, está separado por otras dos barreras a además de la BHE, la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo en el plexo coroideo y la barrera aracnoidea. (Wilhelm, I. 2016).

Tabla 1 Diferencias regionales en densidad capilar y permeabilidad

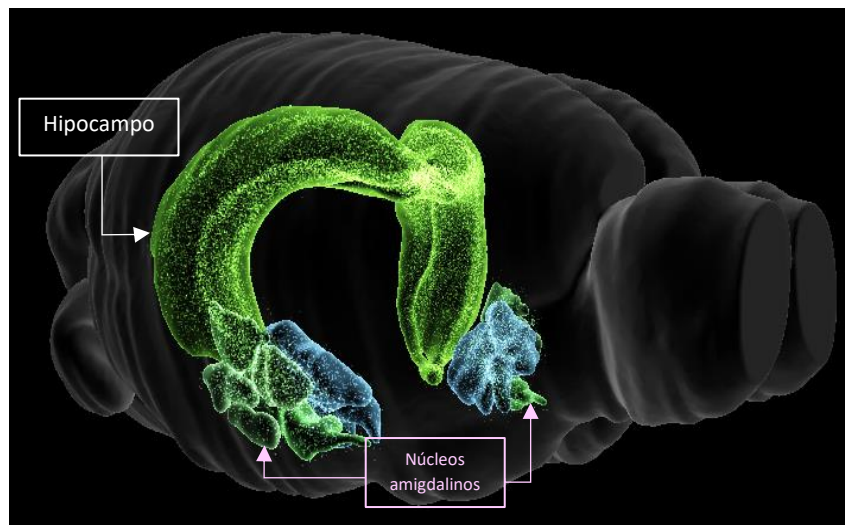
	Órganos circunventriculares	Medula espinal	Materia blanca	Materia gris	Hipocampo
Densidad capilar	Alta		Más baja que en la materia gris	Más alto que en la sustancia blanca aumentando en regiones corticales más profundas	CA3 alta, CA1= sustancia blanca, disminuye en el Alzheimer y el envejecimiento
Células endoteliales cerebrales	Capilares fenestrados, células endoteliales más delgadas, vesículas, TJ discontinuos, alta permeabilidad (mayor en las regiones centrales).	Cantidades reducidas de $\beta$ -catenina, cadherina en las células endoteliales del cerebro, mayor permeabilidad en comparación con el cerebro.	Membrana basal=como en la materia gris, células endoteliales negativas para CD44, aumento de la permeabilidad en la medula espinal.	Membrana basal igual que en la sustancia blanca, arteriolas de tamaño mediano.	Aumento de la permeabilidad en procesos inflamatorios, CA3 menos permeable que CA1.

TJ: Unión estrecha; CD44: Grupo de designación 44; CA1: Cuerno de Among 1; CA3: Cuerno Among 3. Tomado y modificado de (Wilhelm, I)

### Sistema límbico

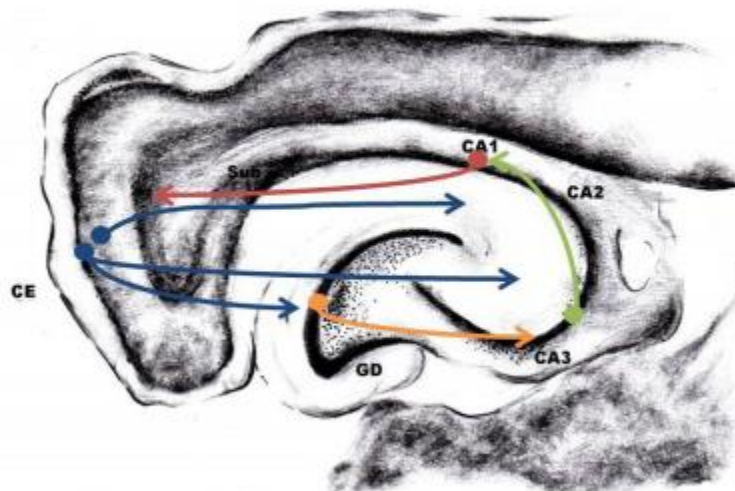
El sistema límbico se conforma por una serie de estructuras interconectadas (Rolls E., 2019), este sistema juega un papel importante en las emociones, el aprendizaje, la memoria y el comportamiento complejo, procesa la información sensorial del entorno externo e interno para determinar, a través de la memoria y la motivación, las respuestas emocionales, autónomas, motoras y cognitivas importantes para la autoconservación y la supervivencia (McLachlan R., 2009). Comprende regiones que se extienden desde la superficie medial del lóbulo frontal hasta el polo temporal (Sitoh, Y., 1997). Las principales estructuras de interacción del sistema límbico incluyen la corteza prefrontal, la corteza cingulada, la amígdala, el tálamo límbico, el hipocampo, el núcleo accumbens, el hipotálamo anterior y el área tegmental ventral, estas estructuras están fuertemente interconectadas (Figura 3). El hipocampo es una estructura en el área media temporal del cerebro; conformado por tres regiones, el giro dentado (GD), con neuronas piramidales principalmente y por CA1 y CA3 compuestos por neuronas granulares (Figura 4) (Jarrard L. 1995). El hipocampo establece conexiones aferentes y eferentes con la corteza cerebral, la vía principal de comunicación, son las conexiones con la corteza entorrinal,

formando un circuito trisináptico con el GD, CA1 y CA3. Estas proyecciones neuronales están involucradas en el proceso de adquisición y almacenamiento de información (Treviño, S., 2017). Del 85 al 90% de las neuronas en el hipocampo son glutamatérgicas y del 10 al 15% son interneuronas de neuroquímica gabaérgica. El giro dentado en el hipocampo de mamíferos es, además de la zona subventricular, una región que tiene la capacidad de producir neuronas durante la edad adulta, que son capaces de integrarse a circuitos preexistentes (Fuentes E., 2020).



**Figura 3.** *Hipocampo y núcleos amigdalinos.*

Por otra parte, la corteza cerebral está organizada de manera jerárquica; la corteza prefrontal constituye el nivel más alto de jerarquía cortical, juega un papel fundamental en el desarrollo de habilidades cognitivas, de conciencia, memoria, lenguaje, toma de decisiones, coordinación y selección de procesos de conducta forma gran variedad de conexiones que están relacionadas con la información que integra. Sus principales conexiones son con el tronco encefálico, el tálamo, los ganglios basales y las estructuras del sistema límbico (Barbas H., 2000). Las conexiones con el sistema límbico transmiten hacia la corteza información sobre el entorno interno, el nivel de excitación, los impulsos y los motivos del individuo. Otra conexión importante es la formada con la amígdala, pues no solo informa el estado interno, también juega un papel importante sobre el significado motivacional en la representación y ejecución de la conducta (Fuster J., 2001).



**Figura 4.** *Circuitos en el hipocampo.* El hipocampo tiene una vía trisináptica excitatoria, flecha azul, vía perforante; flecha naranja, vía de fibras musgosas, flecha verde, colaterales de Schaffer; flecha roja proyecciones de CA1 hacia la corteza entorrinal (CE). Tomado de (Olivares, D., 2015)

El complejo nuclear amigdalario en conjunto con la región hipocámpica, son componentes clave en el sistema límbico, pues son papel fundamental en la emoción, el aprendizaje y la memoria. En todos los mamíferos el complejo amigdalario consta de más de una docena de núcleos, cada uno con distintas conexiones (Pitkänen, A., 1997), los núcleos amigdalares tienen células parecidas a las de la corteza, aproximadamente el 85% de las neuronas son glutamatérgicas piramidales o piramidales con espinas dendríticas. Las neuronas restantes son principalmente neuronas no piramidales gabaérgicas con escasas espinas dendríticas. La mayoría de las neuronas no piramidales parecen ser interneuronas y, como en la corteza cerebral, se pueden distinguir varias subpoblaciones (McDonald, A., 2002). La amígdala recibe información de la corteza, el tálamo y el hipocampo (Mascagni, F., 2009).

Aunque el miedo es la emoción mejor comprendida, como un mecanismo que se realiza en la amígdala, se han implicado una variedad de emociones; entre ellas el aprendizaje y procesamiento de recompensas para motivar el comportamiento. También ha sido implicada en comportamientos agresivos, maternos e ingestivos

(comer y beber). Además, participa en la regulación o modulación de una variedad de funciones cognitivas, como la atención, la percepción y la memoria explícita (LeDoux J., 2007).

### ***Entorno energético***

El cerebro es un órgano con gran cantidad de actividad eléctrica y alta demanda energética para llevar a cabo de forma eficiente sus procesos. El metabolismo energético en el cerebro es variable de acuerdo con el tipo de neurona que conforman cada región, pues las neuronas presentan un metabolismo oxidativo, mientras que los astrocitos tienen un metabolismo glucolítico. Los diversos circuitos neuroendocrinos permiten la integración de mediadores periféricos como insulina, glucosa, TG, AGL, leptina, grelina y adiponectina, que permiten la regulación del metabolismo energético de acuerdo con los requerimientos de cada individuo. El SNC es el mayor contribuyente para la regulación del metabolismo sistémico y el balance lipídico.

El cerebro representa el 2% del peso corporal y contiene el 25% del colesterol total no esterificado del cuerpo. La mayor parte del colesterol que es producido en el cerebro permanece en las membranas plasmáticas de las células gliales o neuronales. El colesterol es un componente esencial durante el desarrollo neuronal, su eliminación limita funciones vitales como exocitosis de vesículas (Snipes, G., 1997).

Debido a la naturaleza de la BHE el metabolismo de lípidos es único en el SNC, gracias al bajo intercambio de colesterol y lipoproteínas desde el plasma, existen diferencias claras entre la composición de las lipoproteínas y Apo; entre el plasma, los tejidos y el SNC. Asimismo, la composición de ácidos grasos en el cerebro es única, y es rica en ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, particularmente ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico. Aunque los ácidos grasos pueden ser sintetizados *de novo*, los ácidos grasos esenciales también pueden ser transportados desde la circulación sistémica al interior del SNC (Elliott, D., 2010).

El transporte de lípidos en el SNC se lleva a cabo principalmente por lipoproteínas similares a HDL, se ha sugerido el tránsito de Apo en SNC que provienen de la periferia y que pueden entrar a través del plexo coroideo. En el cerebro, la ApoE se expresa en gran medida, pues es el segundo sitio en realizar su síntesis, siendo los astrocitos la principal fuente. Sin embargo, también es expresada por los oligodendrocitos. ApoE juega un papel importante en el transporte de colesterol y fosfolípidos en el SNC, después de ser secretada por los astrocitos como una lipoproteína naciente recibe colesterol a través de ABCA1, que es expresado por oligodendrocitos. ApoJ o clusterina se produce en varias regiones el cerebro principalmente por astrocitos, en neuronas piramidales del hipocampo y neuronas de Purkinge en el cerebro (Pasinetti, G., 1994). Existe evidencia de que ApoJ es capaz de inhibir la agregación de amiloide  $\beta$  y facilita su eliminación a través de BHE (Wilson, M. 2008). La ApoD se produce principalmente en la sustancia gris y el espacio subaracnoideo, pero también en la corteza prefrontal dorsolateral, la corteza occipital, la sustancia negra, el hipocampo y cerebelo; la expresión de esta Apo se altera en varios estados patológicos y con el envejecimiento, lo que puede reflejarse como neuroprotección en respuesta al estrés (Do Carmo, S., 2007). La Apo AI es la Apo con mayor concentración en el LCR, sin embargo, el ARNm en tejido cerebral es muy bajo, por lo que se considera que la Apo AI proviene del plasma y atraviesa por el plexo coroideo (Huang, J., 2008), la Apo AI desempeña un papel importante en el transporte de colesterol periférico y es probable que desempeñe una función análoga en el SNC (Elliott, D., 2010).

Además, se cuenta con balsas lipídicas, estas son dominios enriquecidos en colesterol esfingolípidos y ácidos grasos, pueden encontrarse tanto en neuronas como en astrocitos. Adicionalmente, se han propuesto como un marcador temprano para el diagnóstico de enfermedades neurodegenerativas. El papel de los lípidos derivados de lipoproteínas en la regulación del equilibrio energético del SNC está relacionado con la LPL, en las neuronas aumenta la ingesta de alimentos, reduce el gasto energético, regula al alza la expresión del gen del neuropéptido AgRP y NPY, reduce las concentraciones de AGL y de TG en el hipotálamo y la captación de

lípidos derivados de lipoproteínas ricas en TG en el hipotálamo (Sebastião, A., 2013).

### ***Enfermedades neurológicas asociadas al cambio del lipidoma.***

La mal nutrición, con exceso de ingesta calórica, disminución en la actividad física y alteraciones en la expresión génica han incrementado los problemas asociados a la RI, obesidad y dislipidemias, que desencadenan en diabetes tipo 2. Los problemas metabólicos se han convertido en un problema de salud mundial en los últimos años, además cada día incrementa la incidencia en personas de menor edad. Estos desordenes nutricionales están asociados no solo a riesgo metabólico, también se asocian a riesgo coronario, con aumento en la tensión arterial, diferentes tipos de cáncer y con la neurodegeneración, por lo que en los últimos años se han considerado la relación entre las enfermedades metabólicas y las afecciones en la plasticidad, la memoria y las funciones cognitivas (Pugazhenthil, S., 2017).

En las últimas dos décadas se ha vinculado al SMet con la demencia. El incremento de la cantidad de tejido adiposo y consecuente aumento en la lipólisis y lipogénesis en diversos tejidos, representan un riesgo en la vascularidad cerebral. Las regiones más sensibles a estos cambios son las neuronas localizadas en el hipocampo, CA1 y CA3, algunas porciones de núcleo caudado y la región neocortical (Payabvash, S., 2011).

Por otra parte, el Alzheimer, la demencia más común, es caracterizada por dos lesiones en el cerebro: placas seniles, formadas principalmente por amiloide  $\beta$ , y ovillos neurofibrilares, compuestos por proteína Tau hiperfosforilada. El primer síntoma de la enfermedad es la pérdida de memoria episódica, asociado con la afección del hipocampo (Mattson M., 2004) (Parsons, C. 2007). Algunas modificaciones relacionadas con la obesidad, como la neuroinflamación, RI o disfunción mitocondrial, también ocurren en la progresión patológica del Alzheimer (O'Brien, P., 2017). Diversos estudios concluyen que la obesidad temprana se correlaciona con el aumento en la incidencia de la demencia, no así con la obesidad tardía, después de los 65 años (Pedditzi, E., 2016).

Los lípidos cerebrales representan al menos 50% del peso seco del cerebro, pues son el componente estructural básico de las membranas celulares neuronales. El cerebro de pacientes con Alzheimer contiene mayor cantidad de inclusiones lipídicas en la glía, lo que sugiere un metabolismo lipídico aberrante. Los AGL, en especial en áreas corticales, estimulan el ensamblaje de amiloide  $\beta$  y Tau (Wilson, D., 2017).

En el SNC la insulina juega un papel en el aprendizaje y memoria y está asociada con la potenciación a largo plazo en el hipocampo (Lee, C., 2005). Recientemente se ha informado que la alteración en la señalización de la insulina durante el SMet incrementa la probabilidad de padecer enfermedad de Parkinson (Bosco, D., 2012). Esta es la segunda enfermedad neurodegenerativa, después del Alzheimer, con mayor incidencia; se caracteriza por bradicinesia, temblor en reposo, rigidez e inestabilidad postural. La sintomatología puede resultar de una alteración funcional, incluida una deficiencia de neurotransmisores dopaminérgicos, colinérgicos y otros no dopaminérgicos, y de una deficiencia estructural, incluida la atrofia hipocampal y cortical, especialmente de las cortezas occipitales posteriores (Lee, C., 2005).

Se sabe que las neuronas dopaminérgicas participan en la promoción del comportamiento de alimentación en el estado hipoglucémico, por lo que se piensa que la pérdida neuronal dopaminérgica puede alterar el control glicémico (Driver, J., 2008). Sin embargo, se ha identificado una mayor influencia de la diabetes tipo 2 sobre la progresión de la enfermedad de Parkinson, pues los pacientes diabéticos desarrollaron complicaciones motoras en promedio 12 meses antes que los pacientes que no cursaban por una afección metabólica, además de un deterioro cognitivo acelerado (Cheong, J., 2020).

A medida que se acumula la evidencia que establece un vínculo entre la enfermedad de Parkinson y el síndrome metabólico, la evidencia experimental indica una posible superposición en los mecanismos y vías de progresión de ambas enfermedades. La RI se ha caracterizado como la afección clave para producir patologías en el cerebro relacionados con enfermedades metabólicas, puede ocasionarlas mediante sus consecuencias como enfermedad microvascular, inflamación crónica y disfunción

de la BHE, que pueden verse agravadas por comorbilidades asociadas hipertensión, dislipidemia e insuficiencia renal (Li, X., 2012) (Arnold S., 2008).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cambio en el consumo alimenticio, con exceso en la ingesta calórica debido al aumento en el consumo de azúcares refinados, alimentos procesados y disminución en la actividad física; condicionan el desarrollo de SMet y enfermedades crónico-degenerativas. De acuerdo a ENSANUT 2018, 75.2% de la población enfrenta obesidad y/o algún otro padecimiento crónico degenerativo, cifra con incremento del 3.9% respecto a lo reportado en la edición del 2012. Por lo que, México enfrenta una pandemia de enfermedades crónicas no transmisibles. El SMet es un padecimiento complejo que caracterizado por la presencia de alteraciones metabólicas, fisiológicas y funcionales; pues se observan modificaciones metabólicas a nivel celular y molecular que afectan la señalización de carbohidratos y lípidos.

Recientemente se ha generado evidencia que establece la relación entre las enfermedades metabólicas y el deterioro cognitivo, así como defectos en el proceso de generación de memoria, pues se infiere que estos estados fisiopatológicos comparten rutas de señalización. Las patologías comúnmente vinculadas con estos procesos son la enfermedad de Alzheimer y Parkinson. En México más de 350,000 personas están afectadas por la enfermedad de Alzheimer, y mueren por ella anualmente 2,030 pacientes. Asimismo, para el Parkinson se estima una prevalencia de 50 casos nuevos por cada 100 mil habitantes al año. Sin embargo, aún no está completamente establecida la relación con el desarrollo de SMet y sus consecuencias en totalidad.

Por lo anterior, la alteración generada por una sobre ingesta hipercalórica hiperglúcida y su posible relación con las enfermedades neurocognitivas dan paso a la siguiente pregunta científica:

¿El desarrollo de SMet en rata Wistar genera cambios en el lipidoma de las regiones del sistema límbico?

## JUSTIFICACIÓN

En México el aumento en la incidencia del SMet, asociado al consumo calórico superior al gasto energético, se ha convertido en un problema de salud pública; pues las alteraciones bioquímicas, metabólicas, fisiológicas y clínicas son un factor predisponente para desarrollar enfermedades crónico-degenerativas como diabetes tipo 2 y aterosclerosis. Además, se ha vinculado a la ingesta de dietas con altos porcentajes de azúcares refinados y alimentos procesados, con el desarrollo de enfermedades neurodegenerativas.

El Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, son los principales padecimientos con los que se ha establecido un posible factor de relación, pues se sugiere que se comparten vías de señalización, sin embargo, los mecanismos no se han establecido en su totalidad.

Se propone que el exceso de ingesta de carbohidratos ocasiona cambios el entorno energético cerebral, por lo que en el presente estudio se pretende identificar si la dieta hipercalórica hiperglúcida genera cambios en la dinámica metabólica lipídica de regiones límbicas, encargadas de generar respuesta a estímulos y de la formación de memoria.

## OBJETIVOS

### *Objetivo general*

- Evaluar el impacto del SMet sobre el lipidoma a nivel sérico y el sistema límbico cerebral.

### *Objetivos específicos*

En animales con SMet causado por el consumo de una dieta hipercalórica hiperglúcida:

- Evaluar el lipidoma sérico.
- Analizar la ruta de síntesis *de novo* de lípidos en las regiones límbicas.
- Valorar los componentes de transporte, resguardo y oxidación de triglicéridos en diferentes regiones límbicas.

## **HIPÓTESIS**

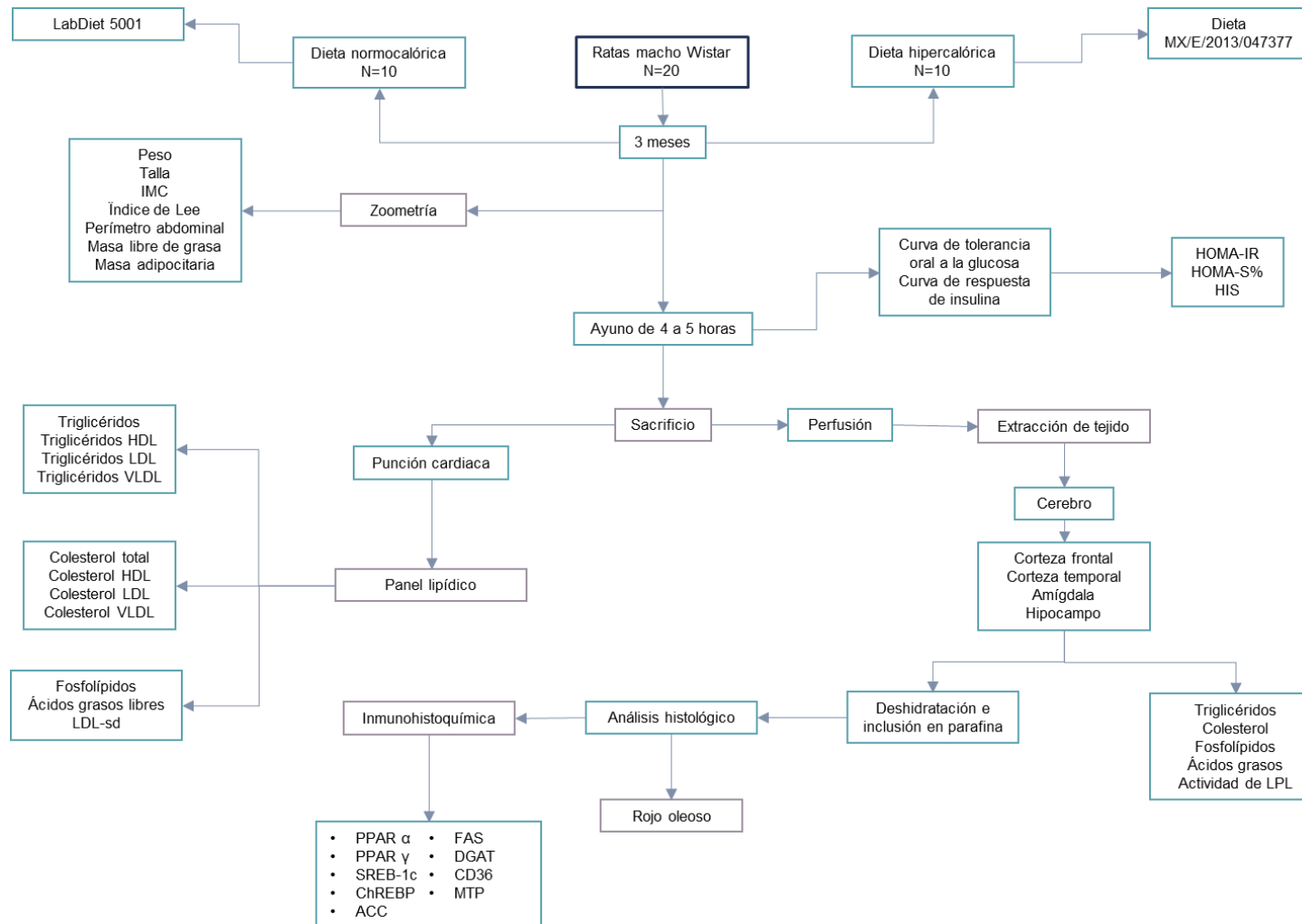
### *Hipótesis nula*

El SMet no altera el lipidoma de las regiones cerebrales que conforman el sistema límbico.

### *Hipótesis alternativa*

El SMet altera el lipidoma de las regiones cerebrales que conforman el sistema límbico.

# DIAGRAMA DE TRABAJO



## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### ***Animales***

Se utilizaron 20 machos de la cepa Wistar, con 20 días de edad y 70 a 80 gramos de peso, los cuales fueron proporcionados por “Bioterio *Claude Bernard*” de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Los animales se mantuvieron en condiciones controladas, con ciclos de luz oscuridad de 12 horas, temperatura entre 19°C y 26°C, en cajas de policarbonato con una cama de aserrín, manteniendo máximo 4 sujetos de experimentación en cada caja, con acceso a comida y agua “*Ad libitum*”. Se monitoreo el peso de cada rata cada tercer día hasta alcanzar 100 gramos, una vez cumplida esta condición se conformaron los grupos experimentales.

Todos los procedimientos se realizaron bajo las condiciones establecidas en la NOM-062-ZOO-1999 que indica las especificaciones para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio y del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la BUAP.

### ***Conformación de grupos***

Los animales fueron divididos aleatoriamente en dos grupos:

- Dieta normocalórica.
- Dieta hipercalórica.

Cada grupo conformado por 10 sujetos de experimentación. El grupo dieta normocalórica (NCD) consumió una dieta base pellet balanceada LabDiet 5001, los animales del grupo dieta hipercalórica (HCD) fueron alimentados con dieta hipercalórica hiperglúcida (MX/E/2013/047377), durante 90 días, para inducir el SMet.

Tabla 2 Composición nutrimental de las dietas.

	NCD Labdiet 5001 (Kcal/g)	HCD (MX/E/2013/047377) (Kcal/g)
Carbohidratos %	48.7	77.82
Proteínas %	28.5	7.95
Lípidos %	5.0	6.6
Lípidos (hidrolisis) %	5.7	7.63
Fibra	5.1	0.0
Ceniza	7.0	0.0
Total	100	100

NCD= dieta normocalórica, HCD= dieta hipercalórica.

### **Zoometría**

Semanalmente se determinó en cada animal la cantidad de alimento consumido, así como la masa, talla y perímetro abdominal, a partir de los cuales se calculó el índice de masa corporal (IMC), masa libre de grasa, de masa adipocitaria y del índice de Lee, empleando las siguientes formulas:

- IMC

$$IMC = \frac{Peso (Kg)}{Talla^2 (m)}$$

- % de grasa corporal, índice de Lee.

Se calculó de acuerdo con el índice de Lee para modelos murinos (Rogers y Webb, 1979).

$$\% \text{ de grasa corporal} = \left[ \frac{Peso (g)^{0.33}}{Longitud \text{ nasoanal (mm)}} * 100 \right]$$

- Masa libre de grasa

Se realizó una estimación de los componentes músculo y hueso. Se determinó mediante la fórmula sugerida por Cossio, 2010.

$$Masa \text{ libre de grasa} = 19.9 + [0.453 * Peso \text{ corporal (g)}] + [0.114 * edad (días)]$$

- Masa adipocitaria

Se realizó una estimación de tejido adiposo. Se determinó mediante la fórmula sugerida por Cossio, 2010.

$$\text{Masa adipocitaria} = -31.6 + [0.36 * \text{peso corporal (g)}] - [0.345 * \text{edad (días)}]$$

### **Obtención de muestra sanguínea**

Tres días antes de concluir el tiempo de cohorte se obtuvieron muestras sanguíneas de cada uno de los animales. mediante punción cardiaca para la determinación de la curva de tolerancia oral a la glucosa y la respuesta de insulina. Los animales tuvieron como preparación, ayuno por 4 horas previas a la toma de muestra, posteriormente recibieron carga oral de glucosa con dosis 1.75 g de glucosa por kg de peso. Después, fueron anestesiados con la administración intraperitoneal de Ketamina + Xilazina con una dosis de 0.2 mL/100 g, durante la anestesia, se realizó la punción cardiaca, y se obtuvieron 200 µL de sangre a los 0, 30, 60 y 90 minutos posterior a la carga oral de glucosa. Las muestras obtenidas se centrifugaron durante 10 minutos a 10,000 rpm, después se separó el suero la fracción celular y se almacenó a -70°C hasta su análisis.

### **Sacrificio**

Previo al sacrificio los animales se mantuvieron en ayuno durante cuatro horas, una vez concluido el tiempo se administraron con pentobarbital sódico a una dosis de 150 mg/kg, por vía intraperitoneal.

Después de la eutanasia se realizó punción cardiaca de la que se obtuvieron aproximadamente 5 mL de muestra sanguínea, que fueron colocados en tubos BD Vacutainer para suero con gel separador, los cuales fueron centrifugados durante 10 minutos a 3,500 rpm; el suero fue separado del resto de componentes y almacenado a -70°C, hasta su análisis.

### **Extracción de órganos**

Después de la punción cardiaca, se realizó la perfusión de los órganos con solución salina isotónica. Posteriormente se decapitaron los animales y se extrajo el cerebro, 5 cerebros por grupo, se seccionaron con ayuda de un bisturí en tres partes con dos

cortes coronales y se almacenaron en formalina bufferada al 4%, para fijar el tejido. Los cerebros restantes de cada grupo fueron disectadas las regiones de interés y se congelaron en ultracongelación a -70°C hasta su análisis.

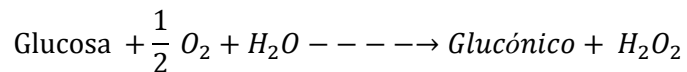
### ***Determinaciones bioquímicas séricas***

#### *Prueba de tolerancia oral a la glucosa*

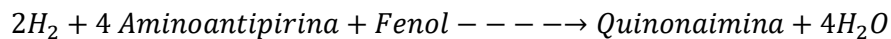
Esta prueba evaluó concentraciones de glucosa en 0, 30, 60 y 90 minutos después de una carga de glucosa con dosis 1.75 g de glucosa por kg de peso. Las concentraciones se determinaron por el método de Trinder (oxidasa-peroxidasa).

La glucosa presente en la muestra origina un complejo coloreado que se cuantifica por espectrofotometría.

#### **Glucosa oxidasa**



#### **Peroxidasa**



#### *Insulina sérica*

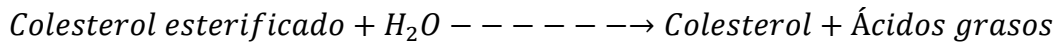
Se realizo por el método de inmunoensayo enzimático (ELISA) tipo sándwich, en el pozo se inmoviliza el anticuerpo durante la interacción de la estreptavidina con el anticuerpo de insulina monoclonal biotinilado, el suero contiene el antígeno, una vez mezclado el anticuerpo monoclonal biotinilado, el anticuerpo de enzima etiquetada y el suero que contiene el antígeno nativo resulta una reacción entre el antígeno nativo y los anticuerpos, que forma un complejo soluble. El complejo es depositado en el pozo a través de la reacción de alta afinidad de estreptavidina y el anticuerpo biotinilado. Posterior al obtener el equilibrio la fracción del anticuerpo unido es separado del antígeno desatado por decantación o aspiración. La actividad enzimática en la fracción del anticuerpo límite es directamente proporcional a la concentración nativa del antígeno. Utilizando estándares de concentración conocida se construyó una curva de absorbancia - concentración.

## *Determinación de colesterol*

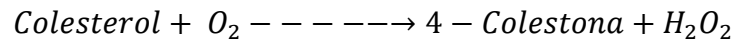
### Colesterol total

El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la siguiente reacción:

#### *Colesterol esterasa*



#### *Colesterol oxidasa*

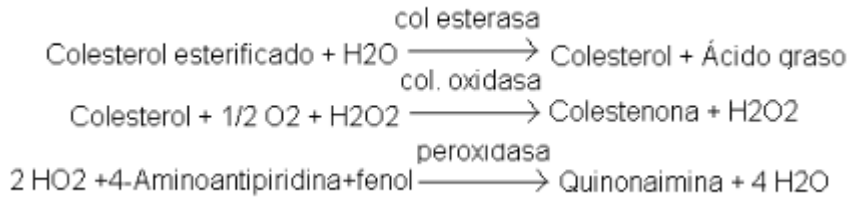


- Determinación del Colesterol HDL reactivo precipitante

Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y las de baja densidad (LDL) presentes en la muestra se hacen precipitar con fosfotungstato en presencia de iones de magnesio. Después de la centrifugación el sobrenadante que contiene las HDL es cuantificado por método espectrofotométrico al hacerlo reaccionar con el reactivo de colesterol que contiene enzimas, como colesterol esterasa que hidrata el colesterol dando como resultados colesterol y ácidos grasos libres, posteriormente colesterol oxidasa favorece una semioxidación e hidratación que da como resultado una colestona y peróxido de hidrógeno y finalmente una peroxidasa arroja un compuesto coloreado de quinonaimina detectado a 505 nm.

- Determinación de Colesterol LDL reactivo precipitante

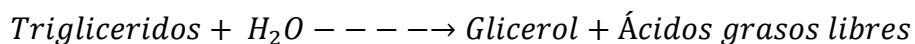
Las lipoproteínas no LDL presentes en la muestra, precipitan en presencia de polivinil. El colesterol se cuantifica espectrofotométricamente a 505 nm frente al blanco, mediante las reacciones acopladas descritas a continuación:



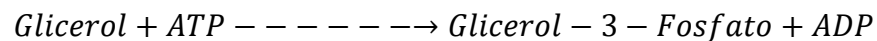
### *Determinación de triglicéridos séricos*

Esta determinación se realizó por química líquida mediante reacciones acopladas, corresponde a una reacción coloreada que se evalúa por espectrofotometría, en la cual los triglicéridos se hidrolizan mediante una lipasa y se obtiene glicerol y ácidos grasos libres, el glicerol reacciona con ATP contenido en el reactivo, reacción que es propiciada por la enzima glicerol cinasa, resultando glicerol-3-fosfato y ADP; el glicerol-3-fosfato se oxida por una reacción acoplada por una G-3-P-oxidasa, dicha reacción tiene como productos dihidroxiacetona-P y peróxido de hidrógeno, este reacciona a su vez con 4-aminoantipirina y 4-clorofenol mediante una peroxidasa, obteniéndose una reacción coloreada de quinonaimina que es mediada a una longitud de onda de 505 nm.

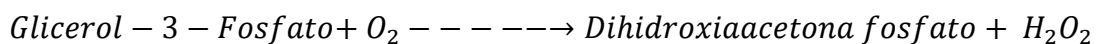
LPL



Glicerol cinasa



*Glicerol fosfato oxidasa*



- *Determinación de TG HDL*

Las LDL y VLDL se hacen precipitar con fosfotungstato y iones magnesio, después se centrifuga y el sobrenadante contiene únicamente HDL. Del sobrenadante se toma una muestra que se hace reaccionar con LPL para liberar el glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por la glicerolfosfato deshidrogenasa y ATP

en presencia de glicerol quinasa para producir glicerol-3-fosfato y ADP. El glicerol-3-fosfato es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato y peróxido de hidrogeno por la glicerol fosfato oxidasa. Al final, el peróxido de hidrogeno reacciona con 4-aminofenazona y clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa, dando una coloración roja. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra

- *Determinación de TG LDL*

Las lipoproteínas no LDL en la muestra precipitan en presencia de polivinil, la muestra se centrifuga y en el sobrenadante quedan exclusivamente LDL. Del sobrenadante se toma una muestra y se determina la concentración de TG, por las reacciones anteriormente descritas.

*Determinación de ácidos grasos libres*

El método se basa en la formación de sales metálicas y la posterior estimación del metal en jabones extraídos con un reactivo de color adecuado. La extracción se realiza con cloroformo. Esta afinidad se mejora con alcohol y con el nitrato de cobre. El cobre presente durante la extracción reacciona primero con los ácidos grasos libres generando jabones de cobre, estos son extraídos con el cloroformo. La trietanolamina proporciona un medio básico y favorece la formación de complejos de cobre. La forma en cómo se agita la muestra durante la extracción es de suma importancia, siendo la mezcla vertical en vortex a velocidad media la manera ideal. Se utiliza en una solución con etanol o isopropanol en una relación 1:1 y se desarrolla un color de baja intensidad. El color aparece inmediatamente después de agregar la solución de amoníaco y aumenta rápidamente dependiendo de la concentración de ácidos grasos presentes en la muestra y permanece estable al menos por 25 minutos.

*Determinación de fosfolípidos*

Los fosfolípidos son hidrolizados por la fosfolipasa D y la colina liberada es secuencialmente oxidada por la colina oxidasa a betaína, con la simultánea producción de peróxido de hidrógeno. En presencia de peroxidasa, el peróxido de hidrógeno acopla oxidativamente a la 4-aminofenazona y al diclorofenol formando

una quinonamina coloreada, la intensidad del color formado es proporcional a la concentración de fosfolípidos presentes en la muestra ensayada

#### *Determinación de sdLDL-C*

Al medir el colesterol LDL (LDL-C), lo que se mide es la masa de colesterol dentro de las partículas de LDL. La población de partículas de LDL dentro de LDL es heterogénea, lo que significa que el tamaño, la densidad y la composición de cada partícula serán diferentes. sdLDL-C es una subfracción de lipoproteínas de baja densidad (LDL) con un tamaño de partícula más pequeño y una densidad más alta que las LDL más grandes y flotantes. Todos transportan triglicéridos y colesterol a los tejidos, pero su aterogénesis varía según su tamaño. sdLDL-C penetrará más fácilmente en la pared arterial interna. sdLDL-C es más susceptible a la oxidación y tiene una menor afinidad por el receptor de LDL hepático y, como tal, circula en la sangre por más tiempo. El ensayo se realizó con reactivos de la marca Randox, que consta de dos pasos, se basa en el uso de tensioactivos y enzimas bien caracterizados que reaccionan selectivamente con ciertos grupos de lipoproteínas. La medición se realizó por espectrofotometría a 505 nm, siguiendo las indicaciones del productor.

#### ***Determinaciones bioquímicas en tejidos***

Las determinaciones bioquímicas en el cerebro se realizaron a partir de un sobrenadante obtenido mediante la homogenización de 100 mg de tejido y 800µL de solución salina isotónica.

- Colesterol
- Triglicéridos
- Fosfolípidos
- Ácidos grasos

#### *Actividad de Lipoprotein lipasa*

La actividad de la enzima se determina al colocar una mezcla de reacción compuesta por buffer y sustrato de la LPL con la muestra y posterior incubación, al finalizar esta, se mide el aumento de fluorescencia con un fluorómetro ( $\lambda = 370$ ). La

intensidad de la fluorescencia se determina restando la fluorescencia del blanco, la actividad se obtiene con la ecuación de la recta estándar.

### ***Análisis histológico***

Los cerebros conservados en formalina al 4% se deshidrataron, posteriormente se incluyeron en parafina. De los bloques generados se realizaron cortes histológicos con 5µm de grosor en un micrótopo Leica RM2125, estos cortes se colocaron en portaobjetos previamente embebidos con poli-L-lisina al 0.1%.

#### *Inmunohistoquímica*

La técnica inmunohistoquímica se basa en la especificidad de anticuerpo primario para el antígeno diana. El anticuerpo se detecta directamente, a través de una etiqueta que se conjuga directamente con el anticuerpo primario, o indirectamente, usando un anticuerpo secundario marcado que se ha generado contra el anticuerpo primario. El anticuerpo se visualiza con una enzima, unida al anticuerpo secundario, que convierte un sustrato soluble en un producto cromogénico insoluble. Esta técnica se empleó para evidenciar la expresión de:

- CD36 (Cell signaling 19347)
- ChREBP (Santa Cruz Sc 21189)
- SREBP (Santa Cruz Sc 8984)
- ACC (Santa Cruz Sc 26817)
- FAS (Santa Cruz Sc 20140)
- DGAT (Santa Cruz Sc 66859)
- PPAR  $\alpha$  (Santa Cruz Sc 398394)
- PPAR  $\gamma$  (Santa Cruz Sc 7273)

Empleando anticuerpos secundarios acoplados a peroxidasa se realizó la detección cromogénica, agregando el sustrato de la enzima, peróxido de hidrogeno, y el cromógeno diaminobencidina. La liberación de oxígeno provoca la oxidación del cromógeno y origina un producto insoluble color marrón.

#### *Tinción de rojo oleoso*

En cortes histológicos de 40  $\mu\text{m}$  de grosor se colocan en portaobjetos, después se sumergen en propilenglicol para evita el paso de agua, posteriormente se realiza tinción con rojo oleoso al 0.5% (Sigma-Aldrich). Inmediatamente se sumerge en propilenglicol al 85%, se lava y contratiñe con hematoxilina. Los lípidos son teñidos de color rojo y los núcleos de color azul.

### ***Análisis estadístico***

El análisis estadístico se realizó con ayuda del programa PrismGraph versión 7.0. Las variables fueron expresadas como la media  $\pm$  el error estándar de la media (SEM). Se realizó la comparación entre el grupo dieta normocalórica y el grupo dieta hipercalórica utilizando la prueba de inferencia t-Student. Considerando un nivel de significancia del 95 % ( $P < 0.05$ ) y una docima bilateral. Para el análisis de las pruebas histológicas se realizó la comparación entre grupos usando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Considerando un nivel de significancia del 95 % ( $P < 0.05$ ) y una docima bilateral.

## RESULTADOS

### *Efectos de la dieta hipercalórica hiperglúcida sobre los parámetros zoométricos.*

Se realizó la evaluación antropométrica, semanalmente se determinó el peso, talla y perímetro abdominal con los datos obtenidos se calculó el índice de Lee, el índice de masa corporal (IMC), la masa adipocitaria y la masa libre de grasa.

Tabla 3 Evaluación antropométrica y consumo de alimento semanal.

		NCD	HCD			NCD	HCD
<b>Peso (g)</b>	<b>Semana 1</b>	97.90 ± 1.69	100.70 ± 31.84	<b>Talla (cm)</b>		14.21 ± 0.08	14.26 ± 0.07
	<b>Semana 2</b>	129.10 ± 3.18	114.60 ± 36.24 ▼			16.05 ± 0.09	15.49 ± 0.26 ▼
	<b>Semana 3</b>	155.20 ± 4.82	123.84 ± 39.16 ▼			16.43 ± 0.09	16.08 ± 0.23 ▼
	<b>Semana 4</b>	180.80 ± 5.90	149.27 ± 47.20 ▼			17.24 ± 0.10	16.45 ± 0.16 ▼
	<b>Semana 5</b>	214.80 ± 5.98	161.60 ± 51.10 ▼			17.53 ± 0.08	16.68 ± 0.16 ▼
	<b>Semana 6</b>	246.17 ± 5.58	180.15 ± 56.97 ▼			18.06 ± 0.10	17.01 ± 0.15 ▼
	<b>Semana 7</b>	270.45 ± 5.07	199.14 ± 62.97 ▼			18.63 ± 0.08	17.50 ± 0.18 ▼
	<b>Semana 8</b>	285.90 ± 3.40	215.03 ± 68.00 ▼			19.25 ± 0.12	17.86 ± 0.15 ▼
	<b>Semana 9</b>	294.23 ± 4.23	234.67 ± 74.21 ▼			19.75 ± 0.10	18.53 ± 0.13 ▼
	<b>Semana 10</b>	299.97 ± 4.05	252.25 ± 79.77 ▼			20.31 ± 0.11	19.27 ± 0.07 ▼
	<b>Semana 11</b>	309.33 ± 3.50	256.27 ± 81.04 ▼			20.68 ± 0.07	19.36 ± 0.08 ▼
	<b>Semana 12</b>	317.28 ± 2.91	266.89 ± 84.40 ▼			20.95 ± 0.07	19.46 ± 0.07 ▼
<b>Perímetro abdominal</b>		NCD	HCD	<b>Consumo de alimento (g)</b>		NCD	HCD
	<b>Semana 1</b>	11.37 ± 0.08	11.2 ± 0.1			49.52 ± 0.50	37.19 ± 0.50 ▼
	<b>Semana 2</b>	12.31 ± 0.11	12.0 ± 0.2			57.26 ± 0.60	39.45 ± 0.37 ▼
	<b>Semana 3</b>	13.17 ± 0.10	12.6 ± 0.1 ▼			58.37 ± 0.47	43.79 ± 0.81 ▼
	<b>Semana 4</b>	13.63 ± 0.07	13.2 ± 0.1 ▼			59.42 ± 0.52	48.89 ± 0.77 ▼
	<b>Semana 5</b>	14.15 ± 0.09	13.4 ± 0.1 ▼			63.65 ± 0.63	51.36 ± 0.67 ▼
	<b>Semana 6</b>	14.72 ± 0.06	14.1 ± 0.2 ▼			64.07 ± 1.27	51.22 ± 1.01 ▼
	<b>Semana 7</b>	15.37 ± 0.06	14.3 ± 0.2 ▼			63.19 ± 0.48	56.24 ± 1.00 ▼
	<b>Semana 8</b>	15.67 ± 0.07	14.9 ± 0.3 ▼			66.74 ± 0.75	58.10 ± 0.86 ▼
	<b>Semana 9</b>	15.88 ± 0.09	15.1 ± 0.1 ▼			66.17 ± 0.81	59.17 ± 1.14 ▼
	<b>Semana 10</b>	16.19 ± 0.09	15.2 ± 0.2 ▼			72.77 ± 0.79	58.41 ± 1.10 ▼
	<b>Semana 11</b>	16.26 ± 0.11	15.7 ± 0.3 ▼			77.50 ± 0.60	65.85 ± 0.89 ▼
<b>Semana 12</b>	16.67 ± 0.10	16.5 ± 0.3		82.74 ± 0.76	72.50 ± 0.92 ▼		

NCD= Dieta normocalórica, HCD= Dieta hipercalórica. Los datos presentados son el resultado del promedio de 10 sujetos experimentales ± el error estándar de la media (EEM). El análisis estadístico se realizó por la prueba t-Student, (▼/▲) indica diferencia significativa a p<0.05.

Los resultados muestran que los sujetos de experimentación HCD presentan un menor peso y talla de manera estadísticamente significativa a partir de la semana 2 y hasta el final del estudio, en comparación con el grupo NCD, esta tendencia se mantuvo hasta la semana 12. El perímetro abdominal mostró este mismo comportamiento de la semana 2 a la semana 11. El consumo de alimento fue estadísticamente menor en el grupo HCD durante todo el estudio (Tabla 3).

Tabla 4 IMC, Índice de Lee, masa libre de grasa y masa adipocitaria.

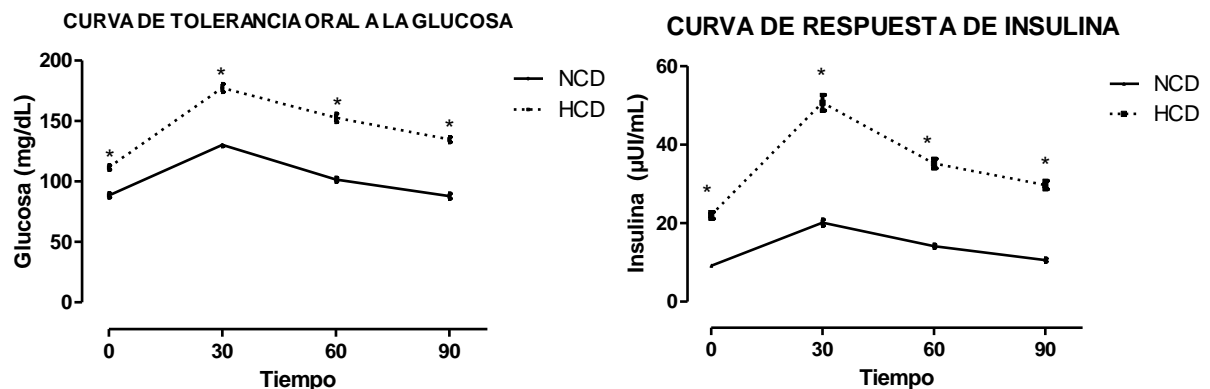
		NCD	HCD			NCD	HCD
IMC (g/cm <sup>2</sup> )	Semana 1	0.48 ± 0.01	0.50 ± 0.01	Índice de Lee (%)	Semana 1	3.19 ± 0.02	3.21 ± 0.02
	Semana 2	0.50 ± 0.02	0.48 ± 0.01		Semana 2	3.10 ± 0.04	3.09 ± 0.03
	Semana 3	0.58 ± 0.02	0.48 ± 0.01 ▼		Semana 3	3.21 ± 0.03	3.05 ± 0.03 ▼
	Semana 4	0.61 ± 0.02	0.55 ± 0.02 ▼		Semana 4	3.22 ± 0.03	3.17 ± 0.04
	Semana 5	0.70 ± 0.02	0.58 ± 0.02 ▼		Semana 5	3.35 ± 0.03	3.21 ± 0.05
	Semana 6	0.76 ± 0.02	0.62 ± 0.02 ▼		Semana 6	3.41 ± 0.03	3.26 ± 0.04 ▼
	Semana 7	0.78 ± 0.01	0.65 ± 0.02 ▼		Semana 7	3.41 ± 0.02	3.28 ± 0.03 ▼
	Semana 8	0.77 ± 0.01	0.68 ± 0.02 ▼		Semana 8	3.36 ± 0.02	3.30 ± 0.04
	Semana 9	0.75 ± 0.01	0.68 ± 0.02 ▼		Semana 9	3.30 ± 0.02	3.27 ± 0.03
	Semana 10	0.73 ± 0.01	0.68 ± 0.01 ▼		Semana 10	3.23 ± 0.02	3.22 ± 0.02
	Semana 11	0.72 ± 0.01	0.68 ± 0.02		Semana 11	3.21 ± 0.01	3.22 ± 0.03
	Semana 12	0.72 ± 0.01	0.71 ± 0.01		Semana 12	3.19 ± 0.01	3.25 ± 0.02 ▲
Masa libre de grasa		NCD	HCD	Masa adipocitaria (g)		NCD	HCD
	Semana 1	75.93 ± 0.77	69.73 ± 0.39		Semana 1	-9.02 ± 0.61	-8.01 ± 0.31
	Semana 2	89.77 ± 1.44	76.82 ± 1.77 ▼		Semana 2	-0.17 ± 1.15	-5.41 ± 1.41 ▼
	Semana 3	102.39 ± 2.18	81.92 ± 1.59 ▼		Semana 3	6.49 ± 1.74	-4.83 ± 1.27 ▼
	Semana 4	116.74 ± 2.67	94.35 ± 2.31 ▼		Semana 4	12.97 ± 2.13	1.59 ± 1.84 ▼
	Semana 5	132.35 ± 2.71	100.74 ± 2.35 ▼		Semana 5	22.83 ± 2.16	3.62 ± 1.87 ▼
	Semana 6	145.81 ± 2.53	109.94 ± 2.69 ▼		Semana 6	31.74 ± 2.01	7.90 ± 2.14 ▼
	Semana 7	155.72 ± 2.30	119.45 ± 3.39 ▼		Semana 7	37.74 ± 1.83	12.00 ± 2.70 ▼
	Semana 8	161.96 ± 1.54	127.57 ± 2.51 ▼		Semana 8	40.56 ± 1.23	14.98 ± 2.00 ▼
	Semana 9	165.94 ± 1.92	137.26 ± 2.18 ▼		Semana 9	41.15 ± 1.53	19.65 ± 1.74 ▼
	Semana 10	170.22 ± 1.84	146.02 ± 1.99 ▼		Semana 10	40.81 ± 1.46	23.58 ± 1.59 ▼
	Semana 11	175.05 ± 1.59	148.75 ± 3.04 ▼		Semana 11	41.43 ± 1.26	22.27 ± 2.42 ▼
Semana 12	177.31 ± 1.32	154.48 ± 1.79 ▼	Semana 12	41.54 ± 1.05	23.35 ± 1.43 ▼		

NCD= Dieta normocalórica, HCD= Dieta hipercalórica. Los datos presentados son el resultado del promedio de 10 sujetos experimentales ± el error estándar de la media (EEM). El análisis estadístico se realizó por la prueba t-Student, (▼/▲) indica diferencia significativa a p<0.05.

Mientras que, el IMC fue estadísticamente menor de la semana 3 a la 10, en comparación con el grupo control; las determinaciones de la masa libre de grasa y masa adipocitaria manifiestan disminución estadísticamente significativa desde la semana 2 hasta el final del estudio. Mientras que, el índice de Lee presentó una disminución estadísticamente significativa en la semana 2, 6 y 7, pero en la semana 12 incrementó significativamente (Tabla 4).

### **Caracterización metabólica.**

Adicionalmente a la caracterización zoométrica, al final del estudio (semana 12) se realizó un análisis de parámetros bioquímicos que denoten el desarrollo de SMet. En este sentido, se analizó la tolerancia oral a la glucosa y su respuesta de insulina. Los resultados mostraron que la concentración de glucosa basal aumentó en 26.06%. Asimismo, se observó un aumento significativo a los 30, 60 y 90 minutos (36.3%, 50.3% y 53.3%, respectivamente), en comparación con el grupo NCD (Figura 5A). Del mismo modo, la respuesta de insulina mostró aumento significativo en cada uno de los tiempos de análisis, del 140.8% en la determinación basal, 151.8% a los 30 minutos poscarga, 149.0% en el minuto 60 y 180.9 % en el minuto 90 (Figura 5B). El cálculo de los índices HOMA-S% y HIS evidenció decrementos significativos del 67% y 67.3%. Mientras que, el índice HOMA-IR mostró un aumento significativo del 206% (Tabla 5).



**Figura 5.** Tolerancia oral a la glucosa y respuesta de insulina. **A.** Curva de tolerancia oral a la glucosa. **B.** Curva de respuesta de insulina. Los resultados son el promedio de 10 sujetos experimentales  $\pm$  el error estándar de la media (EEM). El análisis estadístico se realizó por la prueba ANOVA de dos vías (\*) indica diferencias significativas  $P < 0.0001$ .

Los resultados del panel lipídico sérico mostraron cambios significativos, incrementando el colesterol contenido en LDL (63.7%) y VLDL (42.7%), pero disminuyendo el contenido en HDL (43.2%). Asimismo, se presentó un incremento significativo en TG totales (79.8%) y su distribución en las lipoproteínas presentándose 375% más TG en HDL, 176% en LDL y 22.1% en VLDL, en comparación con el grupo NCD (Tabla 5). También se determinó la concentración de fosfolípidos, cuyos resultados muestran disminución del 5.27% Mientras que, los AGL y LDL pequeñas y densas (sdLDL-C) aumentaron significativamente en 195% y 225% respecto al grupo NCD (Tabla 5).

Tabla 5 Panel lipídico.

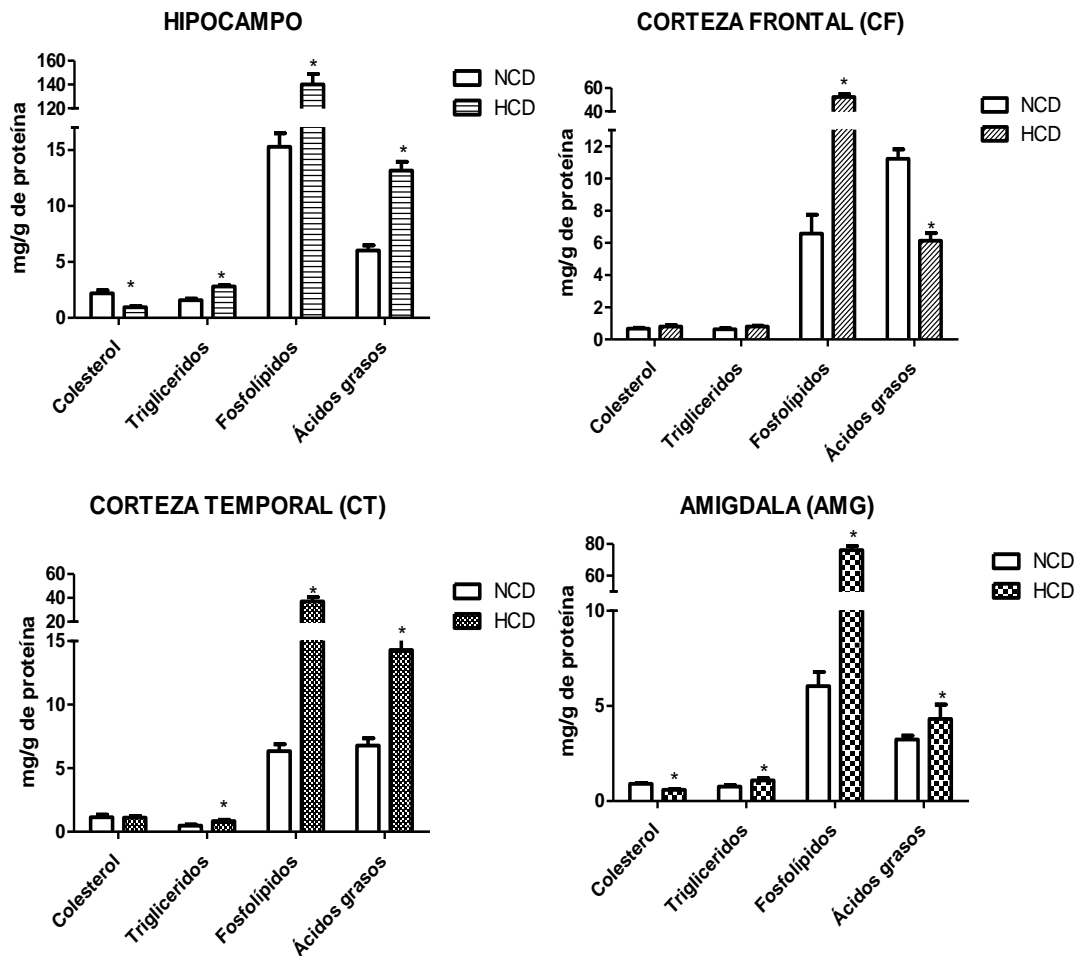
	NCD	HCD
Colesterol total	105.70 ± 3.49	106.8 ± 4.49
Colesterol HDL	59.26 ± 2.16	33.68 ± 1.91 ▼
Colesterol LDL	32.55 ± 3.74	53.29 ± 3.88 ▲
Colesterol VLDL	13.89 ± 0.35	19.82 ± 0.22 ▲
Triglicéridos	69.45 ± 1.79	124.91±1.44 ▲
Triglicéridos HDL	3.41± 0.12	19.63 ± 0.46 ▲
Triglicéridos LDL	15.99 ± 1.69	44.17 ± 0.57 ▲
Triglicéridos VLDL	50.05 ± 2.36	61.11 ± 0.53 ▲
Fosfolípidos	109.90 ± 1.10	104.10 ± 1.36
AGL	1.96 ± 0.05	5.79 ± 0.26 ▲
LDL-sd	1.18 ± 0.06	3.83 ± 0.25 ▲
HOMA-IR	0.33 ± 0.01	1.01 ± 0.14 ▲
HOMA-S%	305.05 ± 14.56	100.76 ± 4.61 ▼
HIS	12.55 ± 0.59	4.14 ± 0.18 ▼

NCD= Dieta normocalórica, HCD= Dieta hipercalórica. Los datos presentados son el resultado del promedio de 10 sujetos experimentales ± el error estándar de la media (EEM). El análisis estadístico se realizó por la prueba t-Student, (▼/▲) indica diferencia significativa a p<0.05.

### **Panel lipídico en cerebro.**

Se realizó la determinación del lipidoma en regiones límbicas cerebrales, que comprendió la cuantificación de la concentración de colesterol, TG, fosfolípidos y ácidos (AG) se evaluaron el hipocampo, la corteza frontal (CF), la corteza temporal (CT) y la amígdala (AMG). En el hipocampo los resultados mostraron cambios significativos, la concentración de colesterol disminuyó 56.9%. Sin embargo, TG, fosfolípidos y AG incrementaron respecto al grupo control en 77.7%, 816% y 118.6%. Por otra parte, la CF observó cambios significativos en el contenido de

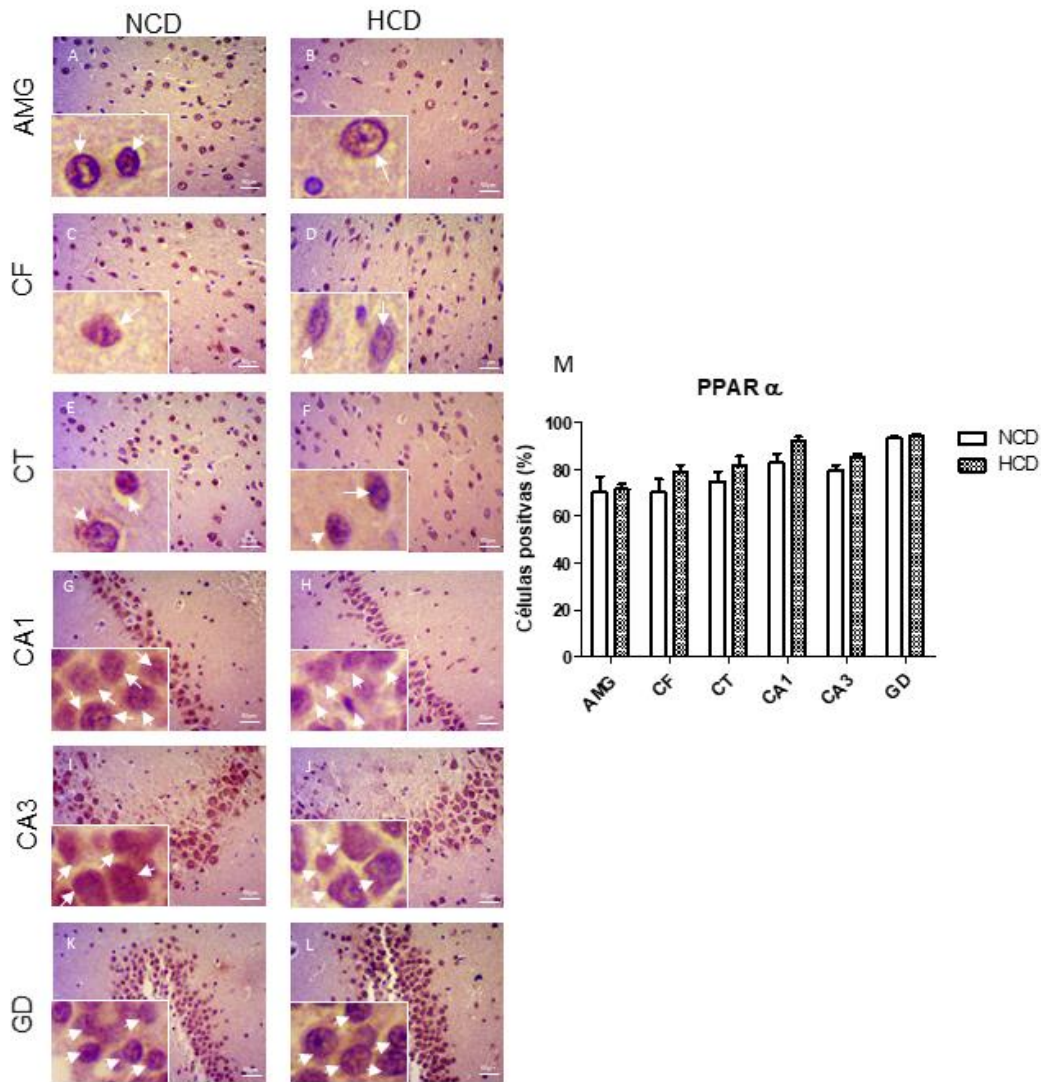
fosfolípidos aumentando 695% y disminuyendo 46.5% en AG en relación con el grupo NCD. En la CT del grupo HCD aumentaron significativamente el contenido de TG (76.6%), fosfolípidos (483%) y AG (110%). En la AMG disminuyó significativamente (37.2%) el contenido de colesterol; por el contrario, incremento significativamente el contenido de TG (43.4%), fosfolípidos (1160%) y AG (33.3%).



**Figura 6. Panel lipídico cerebral. A)** Perfil lipídico en hipocampo. **B)** Perfil lipídico de corteza frontal. **C)** Perfil lipídico en corteza temporal. **D)** Perfil lipídico en amígdala. Los datos presentados son el resultado del promedio de 10 sujetos experimentales  $\pm$  el error estándar de la media (EEM). El análisis estadístico se realizó por la prueba t-Student, (\*) indica diferencia significativa a  $p < 0.05$ . **NCD**=Dieta normocalórica. **HCD**=Dieta hipercalórica.

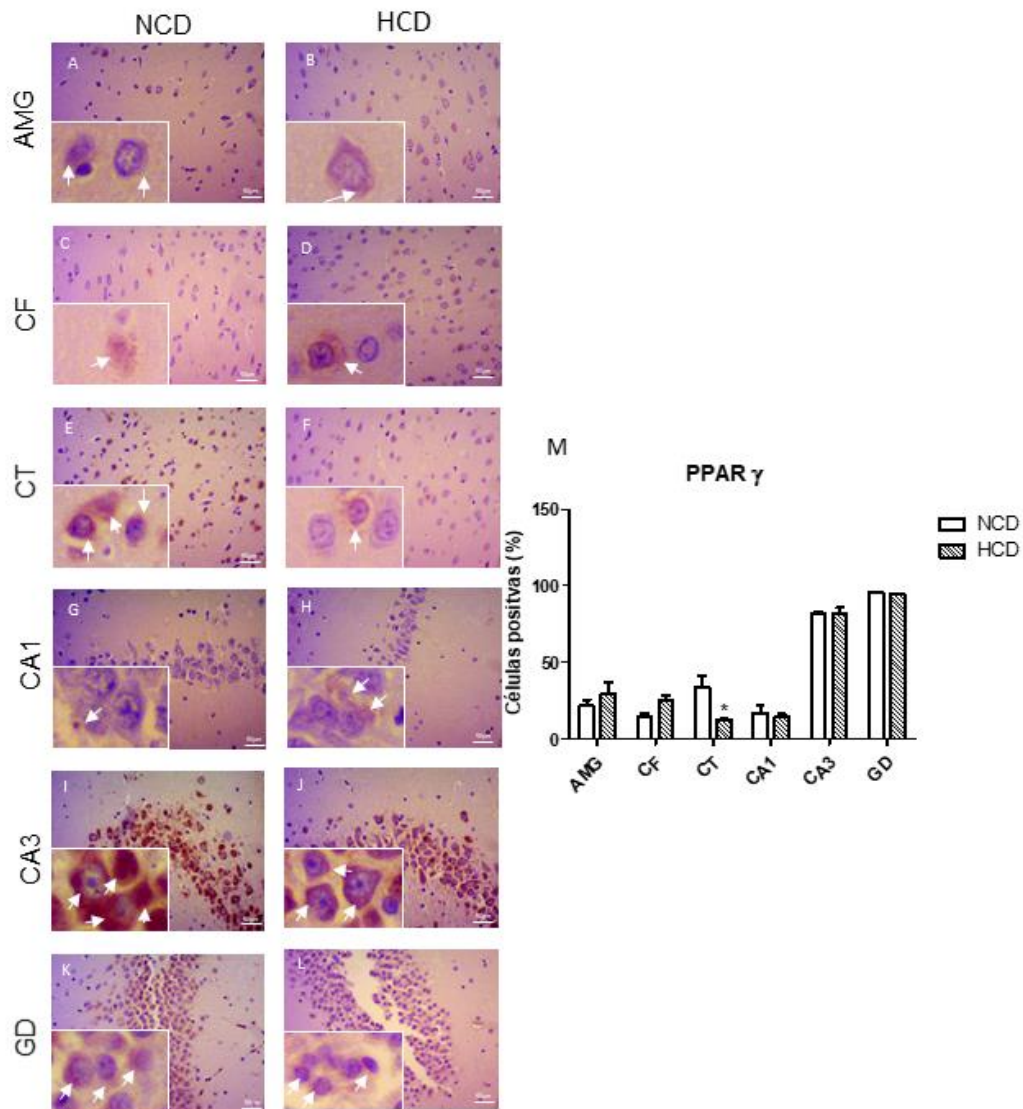
**Efecto del síndrome metabólico sobre la expresión de PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$ .**

Por otro lado, se evaluó PPAR $\alpha$  y PPAR $\gamma$  (receptores activados por peroxisomas, por sus siglas en inglés) que es una subfamilia de factores de transcripción/receptores nucleares activados por ligandos, que modulan los genes del equilibrio energético, homeostasis de la glucosa, metabolismo de TG y LP, en cuanto a la síntesis, oxidación y almacenamiento de ácidos grasos.



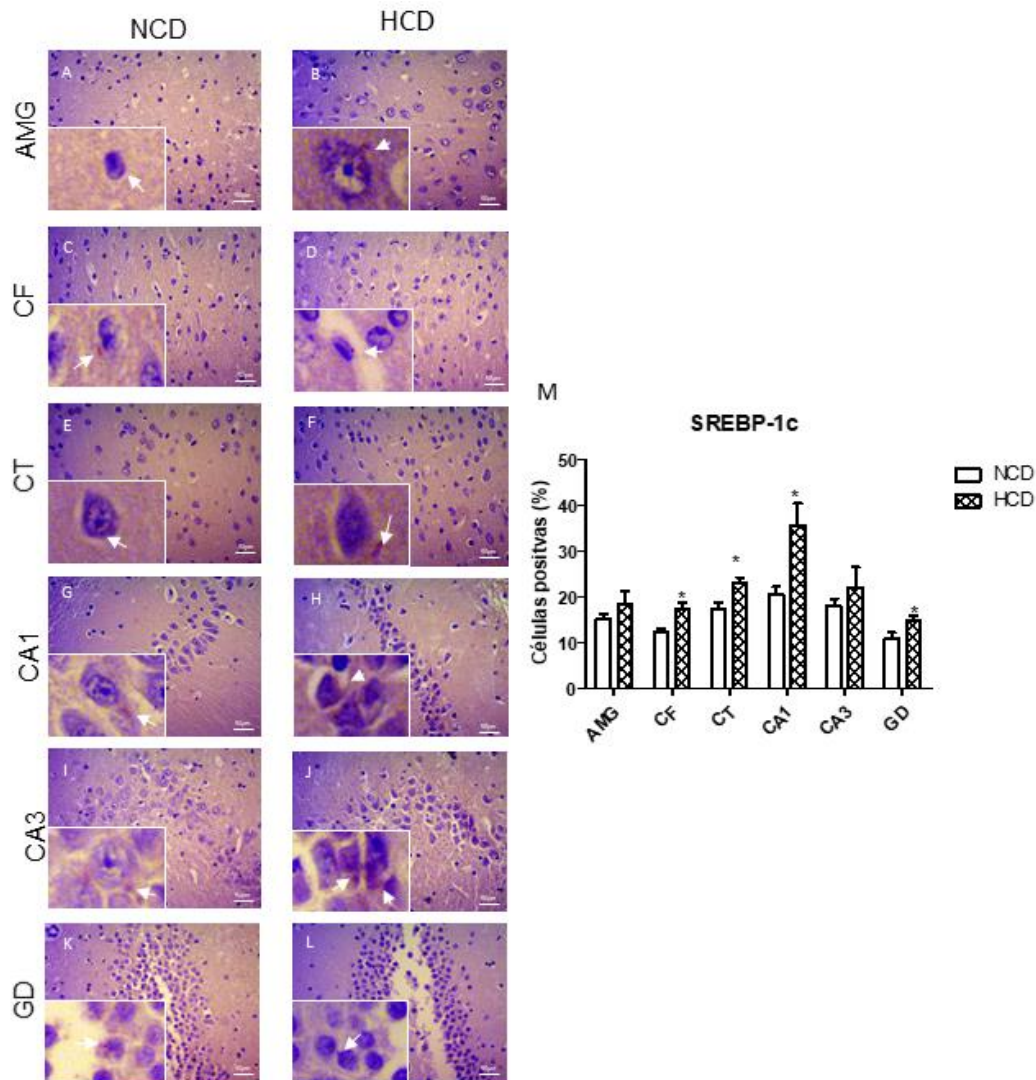
**Figura 7.** Evaluación de la expresión de PPAR  $\alpha$ . Se muestran microfotografía tomadas a 20X. A) Amígdala NCD, B) Amígdala HCD, C) Corteza frontal NCD, D) Corteza frontal HCD, E) Corteza temporal NCD, F) Corteza temporal HCD, G) CA1 NCD, H) CA1 HCD, I) CA3 NCD, J) CA3 HCD, K) GD NCD, L) GD HCD. M) Porcentaje de células reactivas para PPAR  $\alpha$ . Flechas blancas (células positivas). NCD= Dieta normocalórica. HCD= Dieta hipercalórica.

PPAR  $\alpha$  es activado por ligandos endógenos, su activación es importante en la regulación de los niveles circulantes de colesterol HDL, TG, AGL y APO CIII. De acuerdo con los resultados obtenidos no hubo cambios estadísticamente significativos entre el grupo NCD y el grupo HCD para la expresión de PPAR  $\alpha$  (Figura 7). Las diferentes regiones analizadas parecen tener una expresión similar. Sin embargo, en CA3 y GD se puede observar la marca nuclear en mayor número de células, lo que sugiere una región con mayor actividad.



**Figura 8.** Expresión PPAR  $\gamma$ . Se muestran microfotografía tomadas a 20X. A) Amígdala NCD, B) Amígdala HCD, C) Corteza frontal NCD, D) Corteza frontal HCD, E) Corteza temporal NCD, F) Corteza temporal HCD, G) CA1 NCD, H) CA1 HCD, I) CA3 NCD, J) CA3 HCD, K) GD NCD, L) GD HCD, M) Porcentaje de células reactivas para PPAR  $\gamma$ . Flechas blancas (células positivas). NCD= Dieta normocalórica. HCD= Dieta hipercalórica.

Por otra parte, PPAR $\gamma$  juega un papel esencial en el proceso lipogénico, almacenamiento de lípidos y el metabolismo de la glucosa. Los resultados obtenidos mostraron disminución significativa del 63.1% en el porcentaje de células que expresan PPAR $\gamma$  en la corteza temporal (Figura 8). La expresión de PPAR $\gamma$  es francamente diferente entre regiones siendo CA3 y GD las de mayor expresión.

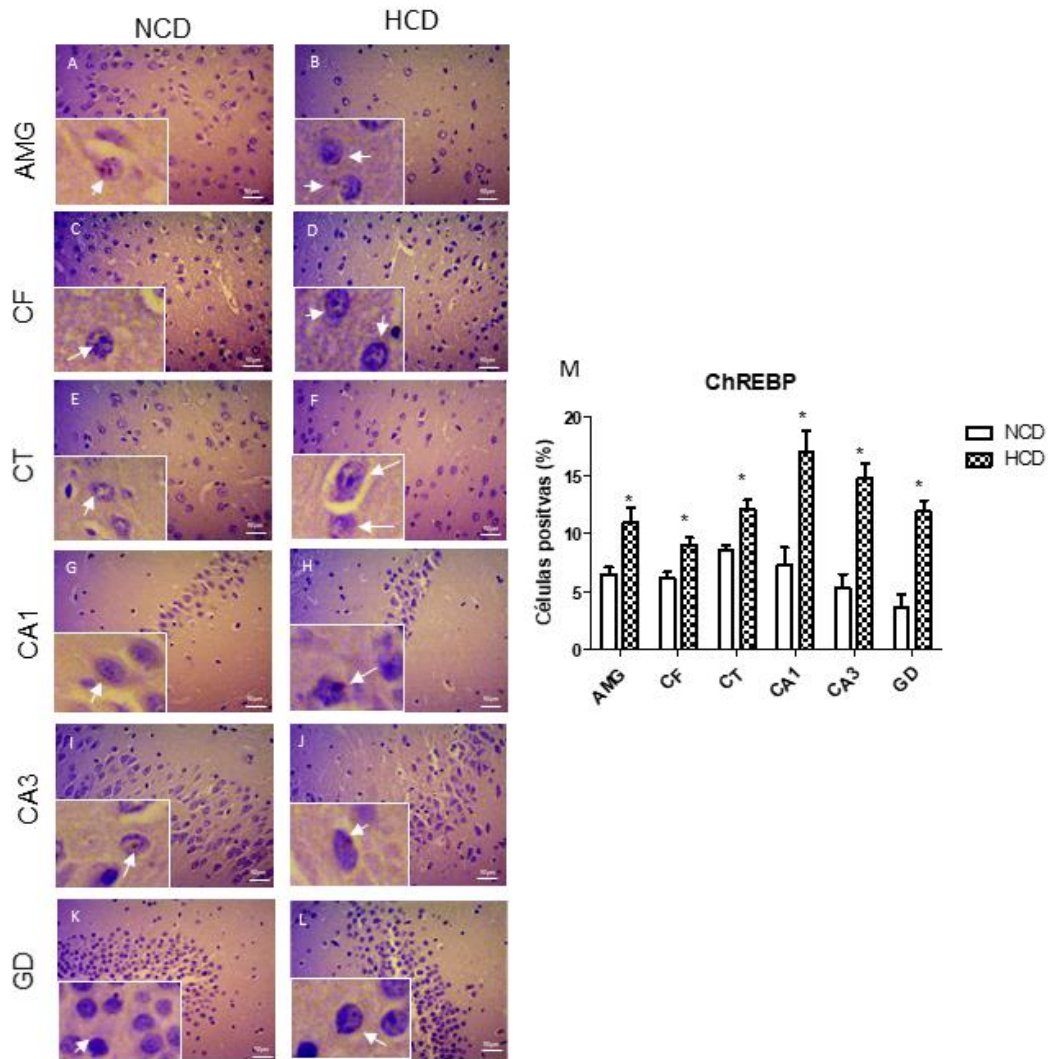


**Figura 9.** Evaluación inmunorreactiva de SREBP-1c. Se muestran microfotografía tomadas a 20X. A) Amígdala NCD, B) Amígdala HCD, C) Corteza frontal NCD, D) Corteza frontal HCD, E) Corteza temporal NCD, F) Corteza temporal HCD, G) CA1 NCD, H) CA1 HCD, I) CA3 NCD, J) CA3 HCD, K) GD NCD, L) GD HCD, M) Porcentaje de células reactivas para SREBP-1c. Flechas blancas (células positivas). NCD= Dieta normocalórica. HCD= Dieta hipercalórica.

### **Evaluación de la expresión los factores de transcripción ChREBP y SREBP-1.**

Los lípidos almacenados pueden ser aportados por la dieta o la vía de síntesis *de novo* a partir de sustratos no lipídicos. Los dos principales factores de transcripción

responsables de la inducción coordinada de genes lipogénicos son el factor 1 de transcripción de unión a elementos reguladores de esteroides (SREBP-1c) y la proteína de unión a elementos que responde a carbohidratos (ChREBP).

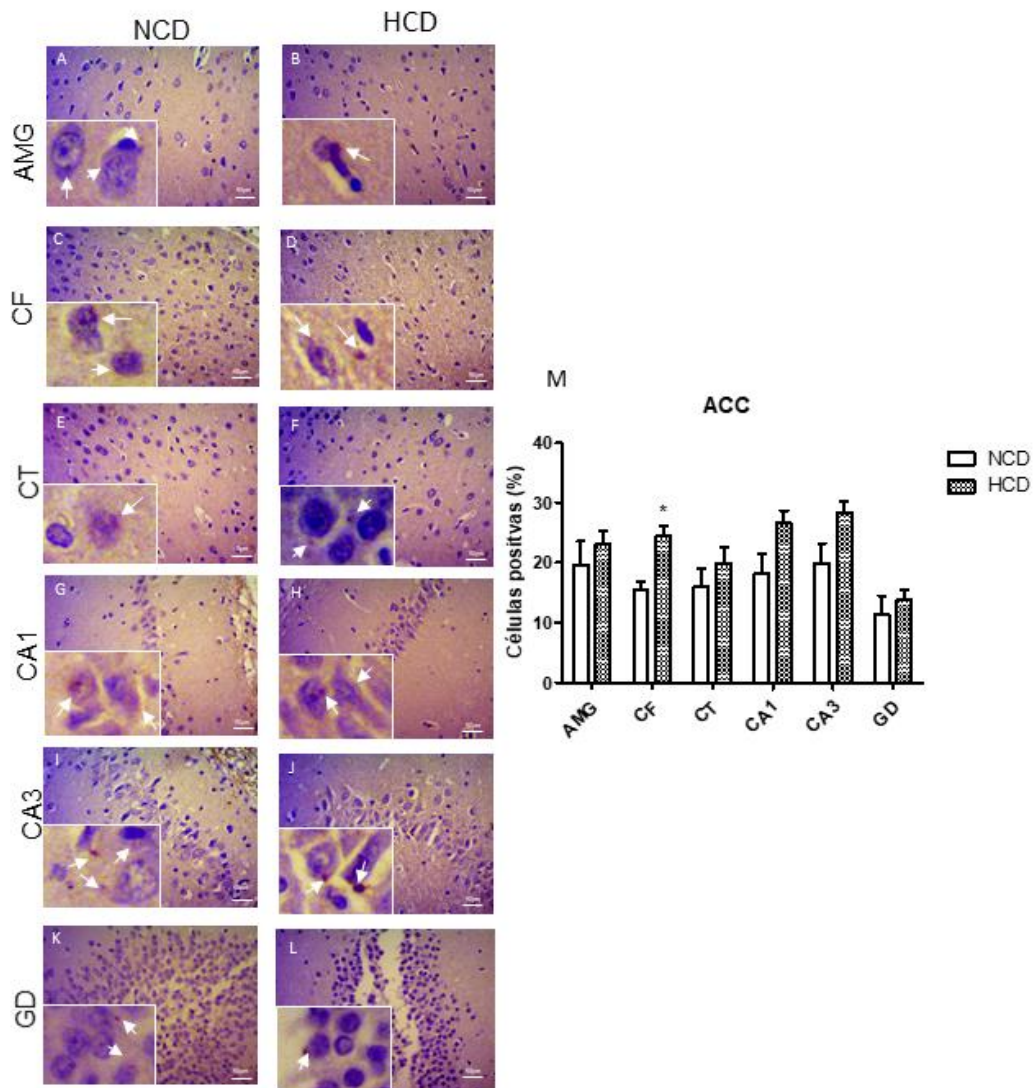


**Figura 10.** Evaluación de la expresión de ChREBP. Se muestran microfotografía tomadas a 20X. **A)** Amígdala NCD, **B)** Amígdala HCD, **C)** Corteza frontal NCD, **D)** Corteza frontal HCD, **E)** Corteza temporal NCD, **F)** Corteza temporal HCD, **G)** CA1 NCD, **H)** CA1 HCD, **I)** CA3 NCD, **J)** CA3 HCD, **K)** GD NCD, **L)** GD HCD, **M)** Porcentaje de células reactivas para ChREBP. Flechas blancas (células positivas). NCD= Dieta normocalórica. HCD= Dieta hipercalórica.

SREBP-1c activa los factores necesarios para la expresión de las enzimas para la síntesis de ácidos grasos y TG, por el estímulo de insulina. Los resultados de la expresión SREBP-1c mostraron cambios estadísticamente significativos en el grupo HCD para la región de la CF, CT, CA1 y GD, con aumentos del 42.2%, 58.3%, 72.7%

y 34.8% respectivamente. Mientras que, se presentó aumento no significativo en la AMG y la región hipocampal CA3 (Figura 9).

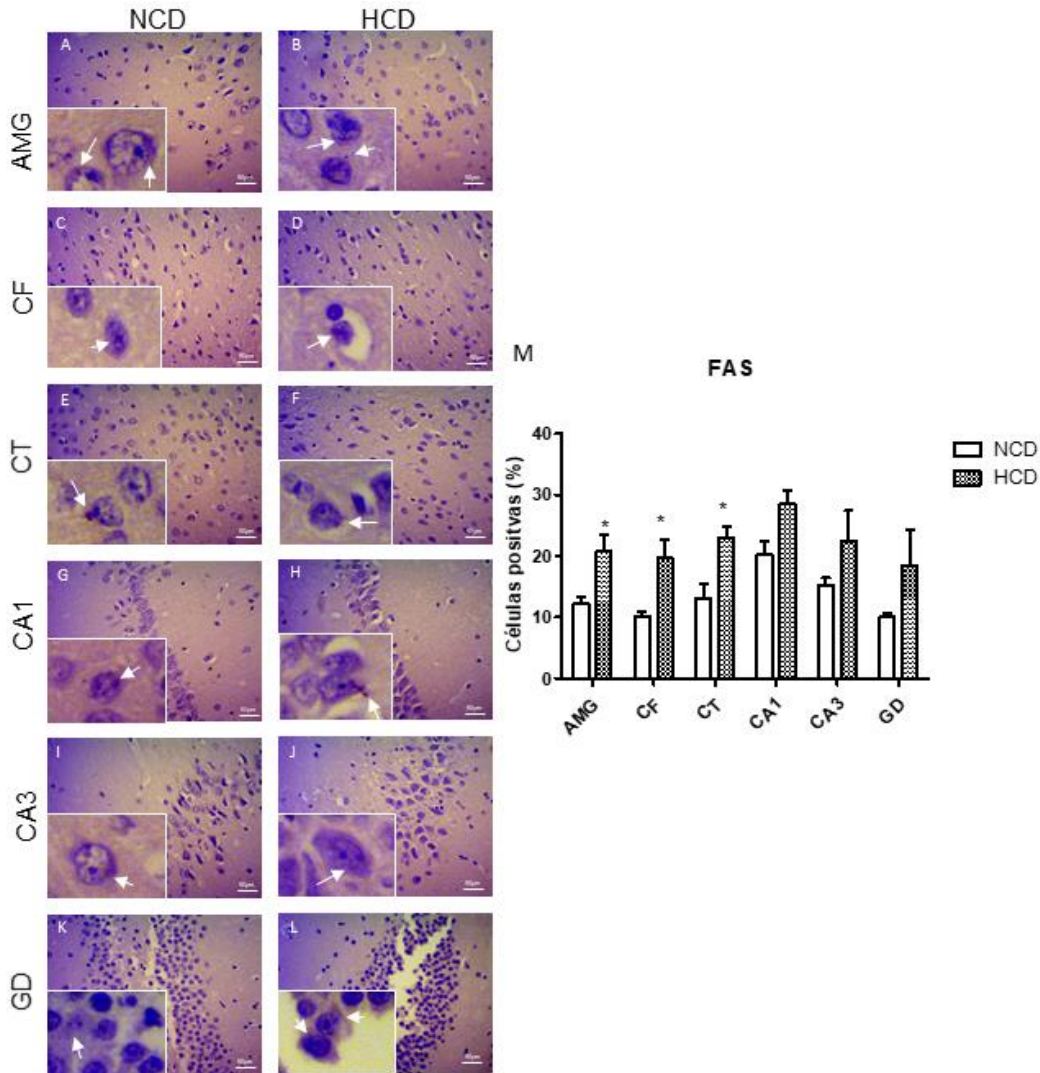
Complementariamente, ChREBP es un factor de transcripción con características lipogénicas. Los resultados mostraron incremento significativo en la expresión de ChREBP en el grupo HCD en todas las regiones evaluadas, 40.9% en CF, 40.1% para CT, 57.6% en AMG, 133.7% en CA1, 176.8% en CA3 y 3.04% para el GD (Figura 10).



**Figura 11.** Evaluación de la expresión de ACC Se muestran microfotografía tomadas a 20X. **A)** Amígdala NCD, **B)** Amígdala HCD, **C)** Corteza frontal NCD, **D)** Corteza frontal HCD, **E)** Corteza temporal NCD, **F)** Corteza temporal HCD, **G)** CA1 NCD, **H)** CA1 HCD, **I)** CA3 NCD, **J)** CA3 HCD, **K)** GD NCD, **L)** GD HCD, **M)** Porcentaje de células reactivas para ACC. Flechas blancas (células positivas). **NCD=** Dieta normocalórica. **HCD=** Dieta hipercalórica.

**Efecto del síndrome metabólico sobre la expresión de las enzimas para la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos.**

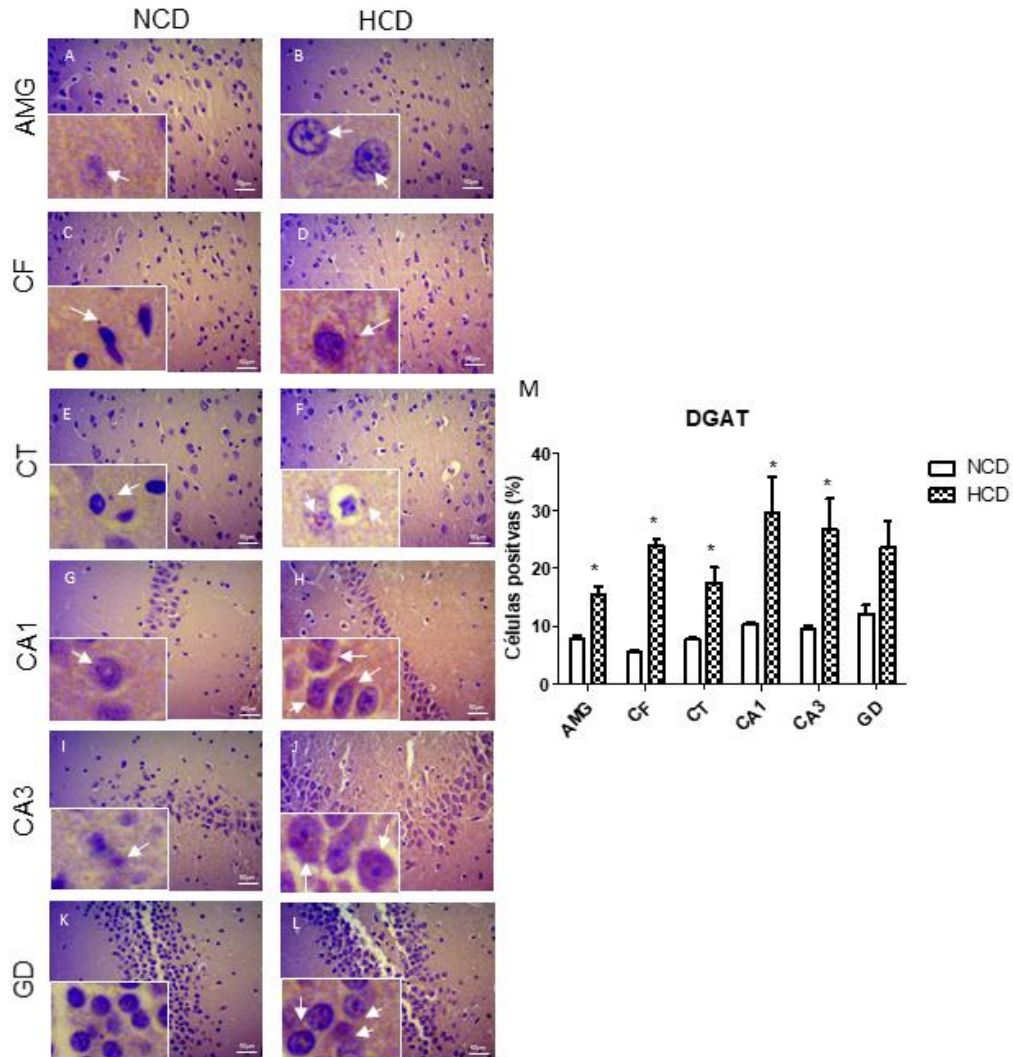
La síntesis de lípidos *de novo* necesita diversas enzimas, una de ellas es la acetil CoA carboxilasa (ACC). El grupo HCD aumentó significativamente el número de células reactivas para ACC en CT (24%). Incremento no significativo fue observado en AMG, CT, CA1, CA3 y GD (Figura 11).



**Figura 12.** Evaluación inmunorreactiva de FAS. Se muestran microfotografía tomadas a 20X. A) Amígdala NCD, B) Amígdala HCD, C) Corteza frontal NCD, D) Corteza frontal HCD, E) Corteza temporal NCD, F) Corteza temporal HCD, G) CA1 NCD, H) CA1 HCD, I) CA3 NCD, J) CA3 HCD, K) GD NCD, L) GD HCD, M) Porcentaje de células reactivas para FAS. Flechas blancas (células positivas). NCD= Dieta normocalórica. HCD= Dieta hipercalórica.

Consecutivamente, la siguiente enzima involucrada en la lipogénesis es la ácido graso sintasa (FAS). De acuerdo con el análisis realizado, se evidenció aumento

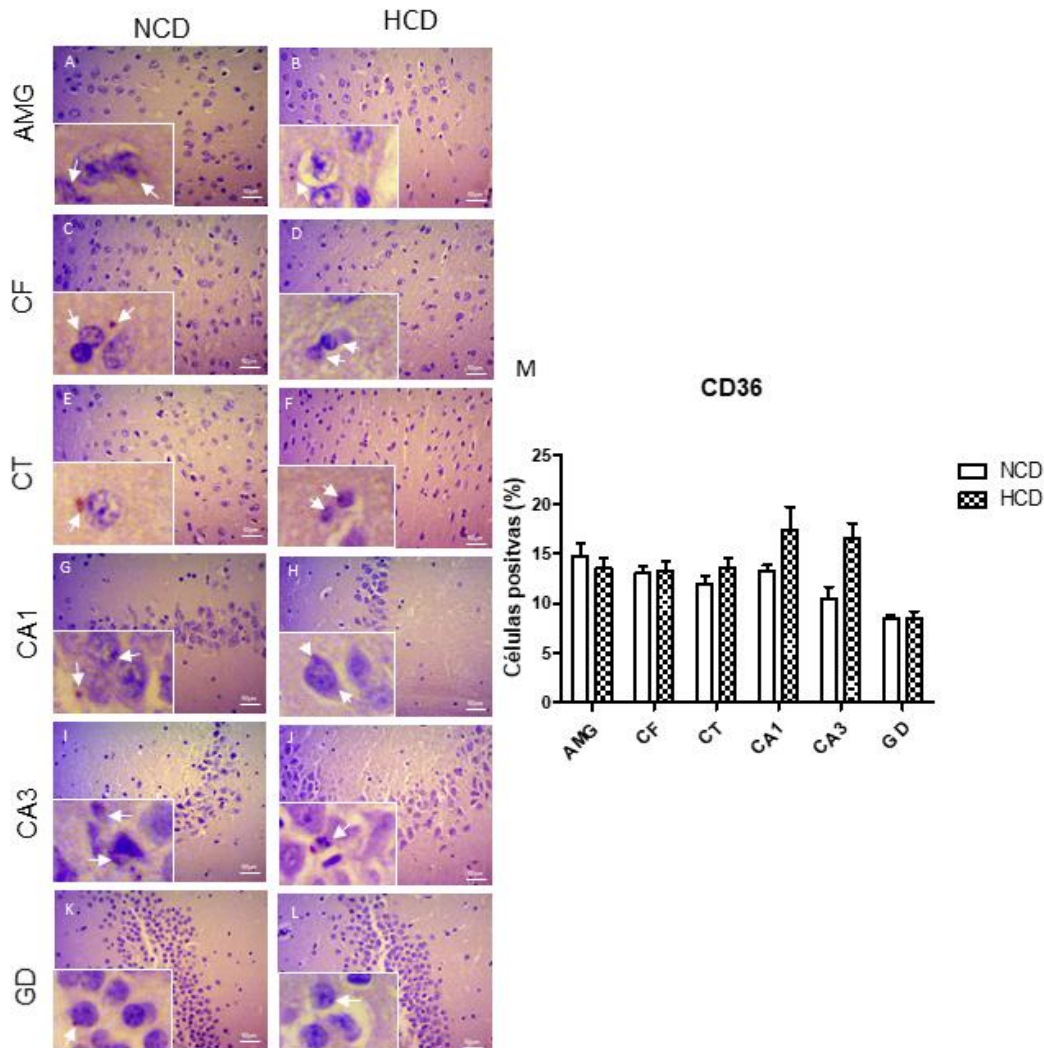
estadísticamente significativo en AMG (70.8%) CF (92.3%) y CT (76.4%). Además, incrementos no significativos en las regiones del hipocampo CA1, CA3 y GD (Figura 12).



La síntesis de TG depende de la expresión y actividad de la diacilglicerol aciltransferasa (DGAT). Los resultados demostraron aumento estadísticamente significativo en el grupo HCD respecto al grupo control en AMG (114.7%), CF (268.6%), CT (129.3%), en CA1 (187.2%) y CA3 (181.9%). El GD mostró un aumento no estadísticamente significativo (Figura 13).

### **Evaluación de la captación lípidos.**

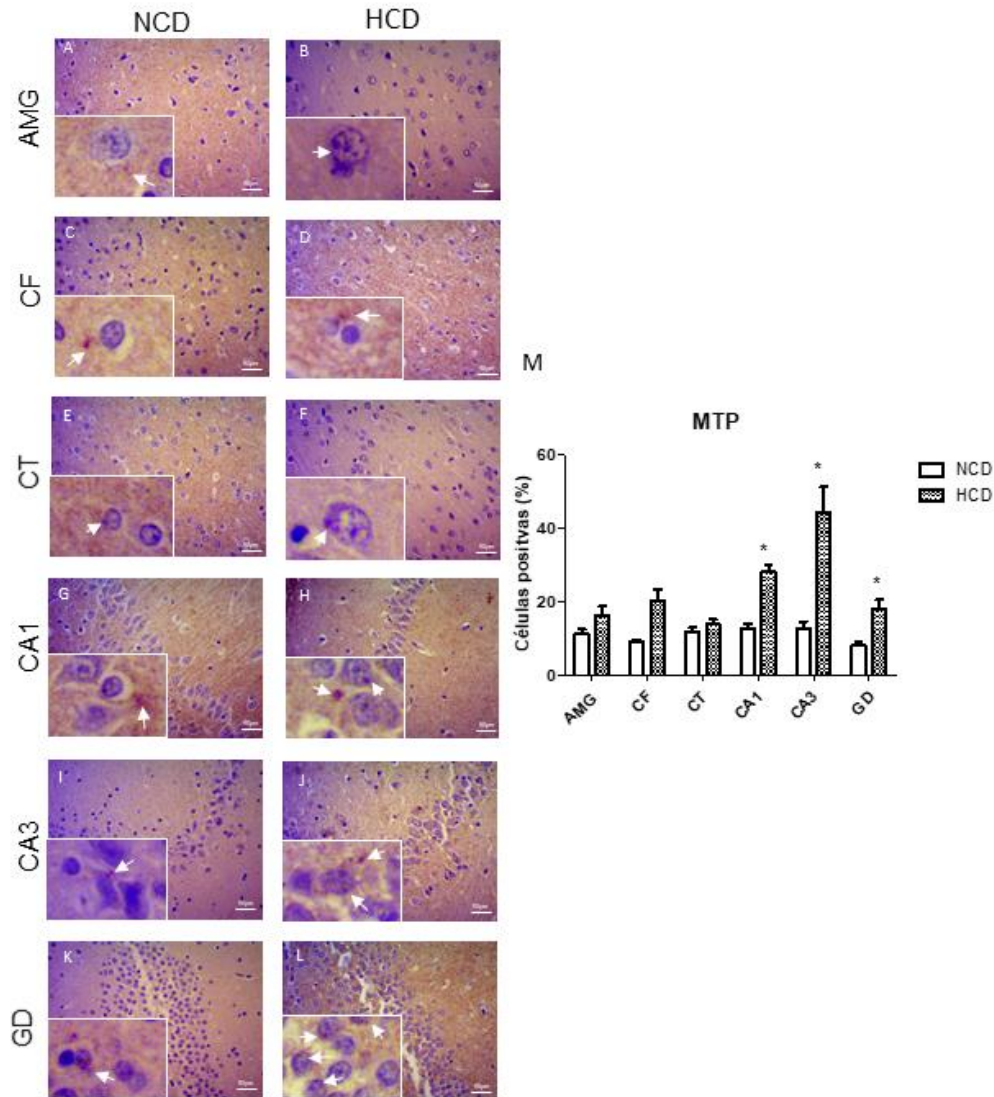
CD36 es un receptor de alta afinidad para ácidos grasos de cadena larga que se ha demostrado facilita la captación de neta de ácidos grasos en diversos tejidos. Los resultados obtenidos no mostraron cambios significativos en ninguna de las regiones evaluadas (Figura 14). Sin embargo, tanto la CA1 y CA3 incrementaron de manera no estadísticamente significativa el número de células reactivas.



**Figura 14.** Evaluación de la expresión de CD36. Se muestran microfotografía tomadas a 20X. A) Amígdala NCD, B) Amígdala HCD, C) Corteza frontal NCD, D) Corteza frontal HCD, E) Corteza temporal NCD, F) Corteza temporal HCD, G) CA1 NCD, H) CA1 HCD, I) CA3 NCD, J) CA3 HCD, K) GD NCD, L) GD HCD, M) Porcentaje de células reactivas para CD36. Flechas blancas (células positivas). NCD= Dieta normocalórica. HCD= Dieta hipercalórica.

La proteína de transferencia microsomal de triglicéridos (MTP), es una proteína residente en el retículo endoplásmico que ayuda en el ensamblaje de triglicéridos,

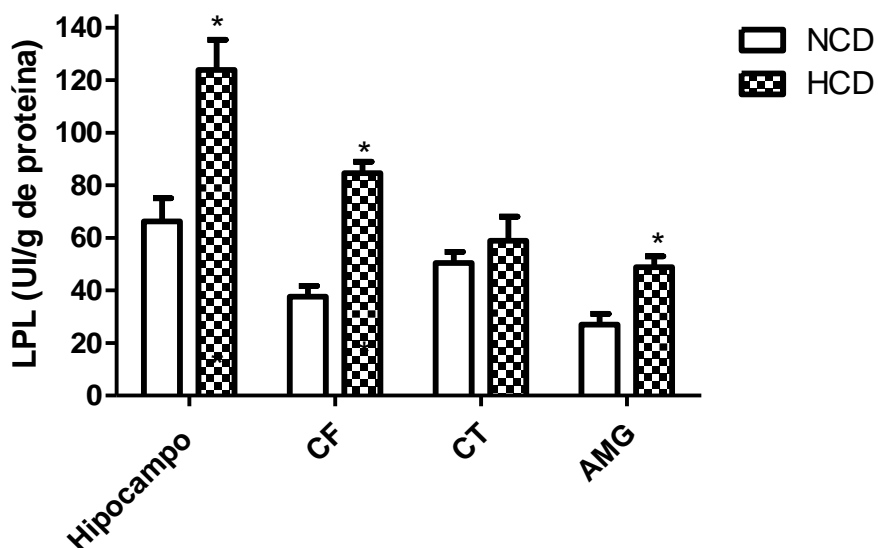
esteres de colesterol y transferencia de esfingolípidos, de esta manera participa en la homeostasis de lípidos. Los resultados de la expresión de MTP, mostraron incremento significativo en las regiones que conforman el hipocampo, CA1, CA3 y GD, 93.9%, 253.2% y 116.1%, del grupo HCD comparado con el grupo control, en AMG, CF y CF no se obtuvieron cambios significativos (Figura 15).



**Figura 15.** Expresión de MTP. Se muestran microfotografía tomadas a 20X. A) Amígdala NCD, B) Amígdala HCD, C) Corteza frontal NCD, D) Corteza frontal HCD, E) Corteza temporal NCD, F) Corteza temporal HCD, G) CA1 NCD, H) CA1 HCD, I) CA3 NCD, J) CA3 HCD, K) GD NCD, L) GD HCD, M) Porcentaje de células reactivas para MTP. Flechas blancas (células positivas). NCD= Dieta normocalórica. HCD= Dieta hipercalórica.

### **Evaluación cerebral de la actividad de lipoprotein lipasa.**

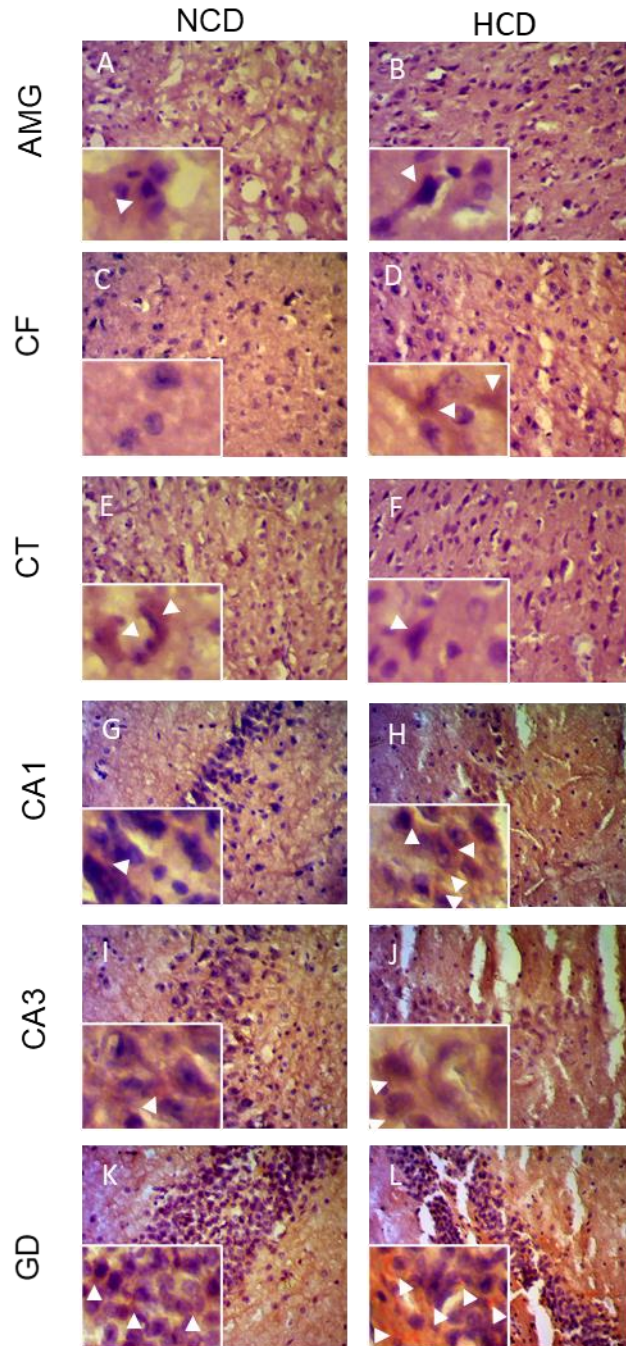
La LPL media la liberación de ácidos grasos de lipoproteínas ricas en TG, por los que representa una enzima clave para la regulación de la homeostasis de los lípidos utilizados en el suministro de energía, así como un mecanismo de control de los niveles circulantes de TG. Los resultados mostraron aumento estadísticamente significativo en hipocampo (87.1%), CF (125.2%) y AMG (81.3%) respecto al grupo NCD, para CT se evidenció incremento no significativo (Figura 16).



**Figura 16.** Actividad de lipoprotein lipasa cerebral. **CF**=Corteza frontal, **CT**=Corteza temporal, **AMG**=Amígdala, **NCD**=Dieta normocalórica. **HCD**=Dieta hipercalórica. Los datos presentados son el resultado del promedio de 10 sujetos experimentales  $\pm$  el error estándar de la media (EEM). El análisis estadístico se realizó por la prueba t-Student, (\*) indica diferencia significativa a  $p < 0.05$ .

### **Acumulación de lípidos en regiones límbicas.**

La tinción de rojo oleoso permite identificar lípidos neutros y la acumulación de ellos. En las microfotografías se observaron droplets que corresponden a la acumulación de lípidos neutros (TG) en mayor cantidad para el grupo HCD comparado con el grupo NCD, además se observó incremento en el número de droplets en el GD respecto a las demás regiones evaluadas (Figura 17).



**Figura 17.** Tinción de rojo oleoso. Se muestran microfotografía tomadas a 20X. **A)** Amígdala NCD, **B)** Amígdala HCD, **C)** Corteza frontal NCD, **D)** Corteza frontal HCD, **E)** Corteza temporal NCD, **F)** Corteza temporal HCD, **G)** CA1 NCD, **H)** CA1 HCD, **I)** CA3 NCD, **J)** CA3 HCD, **K)** GD NCD, **L)** GD HCD. Punta de flechas blancas (acumulación de lípidos). **NCD**= Dieta normocalórica. **HCD**= Dieta hipercalórica.

## DISCUSIÓN

El cambio en los hábitos alimenticios ha resultado en un excesivo consumo de alimentos ricos en carbohidratos simples que, en conjunto con un estilo de vida sedentario, son fuertes inductores de alteraciones metabólicas entre ellas obesidad, RI, SMet, enfermedades vasculares y neurodegenerativas.

Diversos autores han reportado que estímulos generados por el consumo de dietas hipercalóricas altas en carbohidratos juegan un papel importante en el desarrollo de SMet, pues los patrones dietéticos se relacionan íntimamente con el desarrollo de estados fisiopatológicos de las enfermedades crónicas no transmisibles (Esmailzadeh A., 2007). Estos patrones son caracterizados por alta densidad energética y bajo aporte de micronutrientes, además de la incapacidad de cumplir las demandas energéticas adecuadas, lo que conduce al desvío de las rutas metabólicas de resguardo.

La prevalencia mundial del SMet oscila entre 10-84%, dependiendo de la región geográfica, y de los criterios clínicos establecidos por las distintas organizaciones que definen dicha patología (Kaur J, 2014). En términos generales el SMet se define como el conjunto de alteraciones fisiológicas, bioquímicas, metabólicas y clínicas interconectadas entre sí, que propician el desarrollo de hipertensión, obesidad central, resistencia a la insulina y dislipidemia aterogénica, que en conjunto predisponen al desarrollo de enfermedades cardiovasculares y DM2 (Kaur J, 2014) (Grundy S, 2004).

A pesar de los exhaustivos esfuerzos para dilucidar los mecanismos fisiopatológicos que desencadenan el desarrollo de SMet, aún no está del todo claro como ocurren y se interrelacionan. Es por ello, que el uso de la experimentación animal, como herramienta, ayuda a comprender en gran parte esta patología. Algunos de los diversos enfoques utilizados para inducir el SMet en roedores incluyen modificaciones genéticas, administración de medicamentos y el consumo de dietas hipercalóricas (Wong, 2016). En la actualidad, los estudios dietéticos se han convertido en la piedra angular para la investigación del SMet, debido a que las dietas hipercalóricas tienen un impacto directo sobre la dinámica metabólica,

principalmente en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos (Wong, 2016) (Suman R, 2016).

Tradicionalmente las dietas hiperglúcidas más empleadas para el desarrollo de enfermedades metabólicas corresponden a altas concentraciones en fructosa y/o sacarosa. Nuestro grupo de investigación trabaja con una alternativa a las dietas de fructosa y sacarosa, cuya base es la glucosa. Esta dieta, ha demostrado inducir características clínicas como RI, SMet y estado diabetogénico. Entre las características comunes se ha evidenciado hiperinsulinemia, la cual está presente en este modelo ocasionando el resguardo excesivo de lípidos en tejidos no capacitados para este fin, como son hígado, músculo y riñón. Además, se ha evidenciado cambios en la homeostasis de glucosa y afección pancreática (Treviño S., 2015). Este efecto se observó a partir de 3 meses de consumo, y ha sido reproducible en estudios consecuentes, en los cuales se presentaron alteraciones a nivel del sistema nervioso central, particularmente en la corteza temporal y el hipocampo (Treviño S., 2015).

Por otro lado, se ha reconocido que la alteración de zoometría de los modelos animales es parte importante del desarrollo de un fenotipo similar al SMet. El peso corporal, que es la cantidad de masa total de un individuo la cual se compone de la masa muscular, órganos, huesos y tejido graso, como los de mayor relevancia, que a su vez va de la mano con la talla disminuyeron de la semana 2–12 en el grupo HCD (Tabla 3). Por lo tanto, la correlación entre el peso y la talla, es decir el IMC, también disminuyó en el grupo HCD de la semana 3–10. Una de las causas principales en la disminución de peso, podría ser explicado por la disminución en el consumo proteico (Rolland-Cachera, 1995), sin embargo, la cantidad proteica del alimento diseñado cumple con los requerimientos mínimos establecidos para este macronutriente y de sustratos energéticos aprovechables, según lo indicado por la Guía Internacional para el Cuidado y Manejo de Animales de Laboratorio (Institute for Laboratory Animal Research, 2001). Además, se puede observar como en el curso temporal del desarrollo del modelo existe un menor consumo de la dieta hipercalórica que, sin embargo, la porción promedio consumida posee una mayor

carga calórica que explica que el censo del balance calórico a nivel SNC, se puede deteriorar con el consumo calórico excesivo y crónico (Roberts S. 2000).

El IMC se puede subdividir en los componentes de masa libre de grasa y masa adipocitaria, los cuales resultaron por debajo del control (semana 2–12; Tabla 4). Sin embargo, el porcentaje de grasa corporal y perímetro abdominal a las 12 semanas incrementó en el grupo HCD. Esto puede estar relacionado con procesos de regulación mediado para disminución de la ingesta de alimento causada por la activación del sistema de recompensa cerebral a los alimentos y el sistema hedónico (Fuentes E., 2020). Este sistema se asocia a la activación neuronal como respuesta a alimentos con alta palatabilidad, es decir, alimentos que independientemente de su valor nutricional, producen una sensación de placer y saciedad. La ingesta de alimentos está fuertemente influida por el hedonismo a través del sistema cortico-límbico, el cual pone de manifiesto el vínculo entre estos centros homeostáticos con la ingesta alimentaria (Hussain S., 2013) (Hernández M., 2018).

En conjunto los resultados indican que a 3 meses de consumo de una dieta hipercalórica hiperglúcida se alteró la zometría del grupo HCD, promoviendo una acumulación grasa en la zona visceral en donde podemos situar la mayor cantidad de grasa corporal, lo cual es un indicador de daño metabólico. El incremento de estos parámetros es atribuible a la respuesta natural ante el excesivo consumo de carbohidratos en la dieta (Fermin, 2006) (Michael, 1985). Al respecto se conoce que, la homeostasis de nutrientes está coordinada por el ritmo hormonal diario, la actividad intra-individual, comportamiento de consumo alimenticio, utilización y resguardo energético, dada por ciclos diarios de luz/oscuridad. La maquinaria molecular involucra ritmos circadianos específicos, retroalimentación transcripción–traducción, que en el caso de componente alimenticio se halla en el núcleo supraquiasmático (SCN) del hipotálamo, regulando la mayoría de órganos y tejidos (Kohsaka, 2007). Cuando el SNC pierde el control de la coordinación del proceso alimenticio por falta o exceso de alimento, o en este caso de calorías, estudios recientes muestran una pérdida de la regulación de genes que se hallan

íntimamente involucrados en la lipogénesis, catabolismo lipídico, metabolismo de esteroides y gluconeogénesis; lo cual sugiere una pérdida del reloj circadiano celular (Oishi, 2003) (Yang F., 2006) (Zvonic S., 2006) (Panda S., 2002). Estas características que vinculan el estado nutricional y las vías de transcripción circadiana están íntimamente ligadas a la cepa (o raza), género y edad específica en la que se presenta dichas alteraciones (Yanagihara H., 2006) (Kohsaka A., 2007).

Además, los resultados mostraron una alteración bioquímica severa, clásica del fenotipo SMet en el grupo HCD. En este sentido, el grupo HCD observó datos de hiperglicemia con hiperinsulinemia compensatoria, tanto en ayuno como post carga de glucosa (Fig. 5). Estos elementos son biomarcadores que evalúan la respuesta pancreática con relación a los niveles de glucemia, y es un reflejo de la recaptura del carbohidrato por tejidos periféricos y centrales. La hiperinsulinemia compensatoria crónica conlleva a la pérdida del efecto de la hormona, lo cual puede ser por una baja sensibilidad o el desarrollo de RI (Gadgil M., 2013).

Trabajos de Ferrannini, DeFronzo y colaboradores, han demostrado que, en proporción al aumento de la concentración de glucosa plasmática, la recaptura hepática se reduce marcadamente en todos los sujetos con RI y SMet, incrementando la gluconeogénesis hepática (DeFronzo R., 1989). Para confirmar la RI en el grupo hipercalórico se utilizó el HOMA-IR (Tabla 5) observándose un incremento. También se ha descrito que la concentración de insulina en plasma en ayunas y el postprandio en sujetos con RI, es dos a cuatro veces mayor que en sujetos sanos. Debido a que la hiperinsulinemia es un potente inhibidor de la producción de glucosa hepática, la resistencia hepática a la acción de la insulina estuvo presente en nuestro modelo experimental (Tabla 5), lo cual explicaría la concentración excesiva de glucosa de segunda fase (pendiente negativa, de la curva de glucosa). Este evento se ha informado en los individuos metabólicamente comprometidos (Campbell P., 1988). Asimismo, este comportamiento se ha reportado en estudios previos en nuestro grupo de trabajo, en donde se ha

mantenido durante 2 a 5 meses el consumo de la dieta hiperglúcida (Treviño S., 2015) (Moroni-Gonzalez D., 2016).

Es conocido que, la RI hepática modifica la cascada de señalización de la insulina afectando la regulación de factores de transcripción como: las proteínas de unión a elementos reguladores de esteroides (SREBP) y las proteínas de unión a elementos reguladores de carbohidratos (ChREBP), ambos regulan la expresión génica de la glucólisis y la lipogénesis (Xu X, 2013). Particularmente, SREBP-1c se considera el regulador transcripcional maestro de la síntesis de TG y AG en respuesta a la estimulación con insulina, induciendo la transcripción de ARNm que codifican enzimas como: ATP-citrato liasa (ACL), acetil-CoA sintetasa (ACS), acetil-CoA carboxilasa (ACC), ácido graso sintasa (FAS), esteroil-CoA desaturasa-1 (SCD1) y glicerol-3-fosfato aciltransferasa (GPAT) (Chirala S., 2004). Mientras que, ChREBP ha sido reconocido como un factor de transcripción que se activa por un nivel alto de glucosa independiente de la insulina, y juega un papel clave en glucólisis y lipogénesis. ChREBP induce la transcripción de los genes: piruvato quinasa de tipo L (L-PK), ACC y FAS (Gluvic Z., 2017). Ambos redundantes sobre la vía lipogénica, explicando de esta manera el incremento en la concentración de TG en el grupo hipercalórico (Tabla 5), correspondiente al panel lipídico sérico. En hígado este hecho favorece la lipogénesis de *novo* de manera redundante (Wang Y., 2015).

En lo que respecta a las fracciones de colesterol, en el grupo HCD se presentó disminución de HDL, incrementó en LDL y VLDL, estas alteraciones son características del SMet y RI. De manera natural, un incremento en el consumo de carbohidratos estimula una mayor síntesis de AG, y por ende de TG movilizados en VLDL, que a su vez son hidrolizadas por la LPL (la cual es inducida por insulina) en diferentes tejidos, lo que provoca la liberación de AG hacia los tejidos blanco; los principales tejidos que llevan a cabo estas acciones son el tejido adiposo que lo resguarda y el tejido muscular que los utiliza para la obtención de energía (Holvoet P., 2008). En condiciones de RI, la concentración de AGL incrementa en músculo esquelético, lo que resulta a largo plazo en un menor aclaramiento de las VLDL

(Sato K., 2016). Además, el aumento de AGL en suero conlleva al hígado a sintetizar fracciones más grandes de VLDL que contienen mayor cantidad de fosfolípidos en la superficie y tardan mayor tiempo en ser aclaradas lo que fomenta el incremento de LRT. Adicionalmente, existe una disminución de las HDL en estados de RI y SMet, lo que conlleva a la formación de partículas pequeñas y densas de LDL, como se observó en nuestros resultados (Tabla 5), que a su vez induce la formación de partículas pequeñas y densas de HDL (Boden G., 2003). Por lo tanto, el consumo de la dieta hipercalórica hiperglúcida durante tres meses resulta en alteraciones bioquímicas y metabólicas semejantes al SMet en humanos y que estas alteraciones persisten en nuestro grupo experimental alimentado con una dieta hipercalórica.

Cabe mencionar que, durante el ensamble de las VLDL en hepatocitos de pacientes y modelos animales con un alto flujo calórico, el retículo endoplasmático rugoso produce y estimula la secreción hepática de las VLDL ricas en triglicéridos. Estimula la incorporación de triglicéridos *novo* sintetizados en compartimentos microsomales y facilita la expansión de las VLDL, haciendo que estas puedan coexistir como subfracciones de tipo 1 (Sundaram, 2010). Las VLDL tipo 1 en estados de RI y SMet disminuyen su catabolismo generando LDLsd. Además, en el SMet existe una mayor actividad de la proteína transferidora de esteres de colesterol (CETP), dando como resultado LDL ricas en triglicéridos, como se puede observar en nuestros resultados (Subashini C., 2016). Adicionalmente, las HDL forman parte importante del acondicionamiento de las VLDL por su intercambio lipídico y de apolipoproteínas. En este sentido, se ha informado que CETP promueve la movilización de TG hacia las HDL, generando HDL ricas en triglicéridos y pobres en contenido de colesterol como se observó en nuestro grupo HCD. Estas HDL se reconocen como subfracciones HDL3b y HDL3c, las cuales en estudios epidemiológicos se ha demostrado que no son ateroprotectoras y que al poseer una mayor cantidad de ApoE, son inestables y aclaradas por el cerebro, generando depósitos lipídicos con características tóxicas (Boden G., 2003) (Tian L., 2011) (Katz L., 2010).

La deslipidación de lipoproteínas es una acción de la lipoproteína lipasa (LPL), esta es una enzima multifuncional que desempeña un papel importante en el metabolismo y el transporte de lípidos en los tejidos periféricos, incluidos el corazón, el músculo esquelético y el tejido adiposo blanco y marrón (Goldberg I., 1989). Después de su síntesis en las células parenquimatosas, la LPL se transporta al endotelio, donde se une al glucocálix. En este sitio, la LPL es la enzima limitante para la hidrólisis del núcleo TG de las lipoproteínas circulantes ricas en TG, quilomicrones y VLDL, produciendo remanentes de quilomicrones y lipoproteínas de densidad intermedia, respectivamente. Los AG y el monoacilglicerol liberados de la hidrólisis son absorbidos en parte por los tejidos localmente, donde se procesan de una manera específica de tejido, por ejemplo, se almacenan como lípidos neutros en el tejido adiposo, se oxidan o se almacenan en el músculo esquelético y cardíaco, o como éster de colesterilo y TG en macrófagos (Merkel M., 2002).

Además de su actividad hidrolítica, otras funciones de la LPL incluyen **(a)** promover el intercambio de lípidos entre las subclases de HDL's y, por lo tanto, desempeña un papel en la maduración de las partículas de HDL en plasma (Long S.,2006); **(b)** interactuar con HDL, LDL y VLDL para anclarlas a la pared del vaso y facilitar la captación de partículas de lipoproteínas (Auerbach, B. 1996) (Eisenberg, S., 1992) (Mulder, M.,1992) (Panzenboeck, U., 1997) (Seo, T., 2000); **(c)** actuar como ligando de los receptores de lipoproteínas para facilitar la captación de lipoproteínas (Kounnas M., 1993) (Medh J.1996) (Mulder M., 1993) (Obunike J., 1994 )(Strauss J. 2001) (Takahashi S.,1995); y **(d)** mediar la captación selectiva de lípidos asociados a lipoproteínas y vitaminas lipofílicas sin la captación concomitante de las partículas de lipoproteínas. Asimismo, en algunos tejidos (hígado, músculo y macrófagos) se ha demostrado que tanto la LPL activa como la inactiva mejoran la unión, captación y degradación de las lipoproteínas mediante mecanismos que son tanto dependientes como independientes del receptor de lipoproteínas (Balazs Z., 2004) (Goti, D., 2002) (Merkel, M., 2002) (Merkel, M., 1998) (Rinninger, F., 2001) (Schorsch, F., 1997). Las distintas actividades fisiológicas de LPL regulan la partición de AG derivados de lipoproteínas a varios tejidos periféricos, ya sea para almacenamiento u oxidación.

La LPL también está presente en todo el sistema nervioso, incluido el cerebro, la médula espinal y el nervio periférico (Ben-Zeev, O., 1990) (Bessesen, D. 1993) (Brecher, P., 1979) (Eckel, R. 1984) (Gavin, L. 1987) (Goti, D., 2002) (Yacoub, L. 1990). Paradis y colaboradores determinaron la expresión de ARNm de LPL en el cerebro de ratones C57BL/6, evidenciando que hay mayor expresión en las regiones del hipocampo CA1 y CA3 y el área cortical (Paradis E., 2004). También se ha evidenciado que el ARNm de LPL se encuentra predominantemente en las neuronas del giro dentado, así como en las capas CA1-CA4 del hipocampo, las células piramidales del cuerpo estriado y en varias áreas corticales, las células de Purkinje en el cerebelo y en neuronas motoras grandes en el tronco encefálico. En el hipocampo, los niveles de ARNm de LPL son al menos 2.5 veces más altos que en otras regiones del cerebro (Nuñez M., 1995) (Wang, H., 2011). Asimismo, se ha detectado la actividad de LPL en las regiones del cerebro antes mencionados en ratas y ratones adultos, siendo el hipocampo la región con la actividad más alta detectada (Ben-Zeev O., 1990) (Eckel R., 1984). Nuestros resultados concuerdan con la literatura ya que el grupo nomocálico presenta la mayor actividad de LPL en hipocampo, seguido de la CT, CF y amígdala. Sin embargo, en el grupo HCD la región que mostró el mayor incremento porcentual de la actividad de LPL fue la CF, seguida del hipocampo y finalmente la amígdala (Figura 16).

El papel de la actividad de LPL en cerebro es controversial, por un lado, se reconoce que es la enzima limitante en la hidrólisis de TG contenidas en LRT, y que estos lípidos pueden cumplir diversas acciones, que van desde el mantenimiento energético, mantenimiento de membranas, cotransporte vitamínico, pero su exceso puede llevar a la lipotoxicidad y lipoapoptosis neuronal (Doolittle M., 2010). En las neuronas, se han sugerido otras funciones de la LPL. La LPL activa promueve la diferenciación estimulada por VLDL y la extensión de neuritas (Paradis E., 2004), además, previene la neurotoxicidad cuando las células están expuestas a lipoproteínas nativas u oxidadas (Paradis E., 2004). Lo que sugiere que la LPL posiblemente puede desempeñar un papel en la diferenciación de neuronas y en la respuesta al estrés oxidativo en varios trastornos neurodegenerativos. En ratones sometidos a desaferentación utilizando una lesión de la corteza entorrinal, se ha

observado una marcada inducción en los niveles de LPL (ARNm y proteína) en el hipocampo dos días después de la lesión, lo cual indica un papel potencial de LPL en el reciclaje y/o eliminación de lípidos y colesterol liberados de las terminales nerviosas en degeneración (Blain, J. 2004). Estas observaciones son particularmente relevantes porque el giro dentado, una de las regiones del hipocampo en la que se localiza abundantemente el ARNm de LPL, es una de las pocas regiones del cerebro adulto que sufre neurogénesis (Zhao, C., 2008). Además, la expresión de ARNm y proteica de LPL ocurre de manera más importante en las capas CA1-CA4 del hipocampo. En el modelo de ratón de deficiencia de LPL rescatado de la letalidad neonatal por transferencia de genes somáticos, se ha demostrado cognición alterada (Xian, X., 2009), evidenciada por pruebas que evalúan el aprendizaje espacial y la memoria relacionados con el hipocampo. Adicionalmente, la microscopía electrónica de transmisión ha evidenciado una disminución en el número de vesículas presinápticas en el hipocampo de ratones deficientes en LPL, con niveles del marcador presináptico sinaptofisina reducidos y sin cambios en los niveles de un marcador postsináptico, la proteína de densidad postsináptica 95. Cuando estos datos preclínicos se consideran junto con los de humanos en los que las mutaciones de LPL se relacionan con la EA, lo que sugiere que LPL desempeña un papel importante en el aprendizaje y la memoria. Nuestros resultados demostraron la mayor actividad de LPL/gr de proteína en la región hipocámpal, y en trabajos previos en nuestro grupo de trabajo, ya se ha demostrado la pérdida de memoria a corto y largo plazo en animales HCD alimentados por 3 meses (Treviño S., 2015) (Treviño S., 2017), lo que sugiere que la actividad de LPL está a favor de la hidrólisis y recuperación de AG, y posiblemente su resguardo en este tejido.

Como hemos mencionado, posterior a la actividad de LPL se liberan AG y monoacilgliceroles para su absorción por el tejido cerebral (D Bruce K., 2020). Estos actúan en regiones centrales sensibles a AG y podrían inducir respuesta hedónica y de satisfacción. Por supuesto, un prerrequisito para que esto suceda es la presencia de transportadores de AG como CD36. De esta manera se captan AG (Cruciani-Guglielmacci C., 2017). El transporte de AG a través de la BHE se basa

en dos mecanismos distintos: difusión pasiva a través de la bicapa lipídica llamada flip-flop de AG, principalmente debido a las propiedades lipofílicas de los AG y el transporte facilitado de AG que requiere la presencia de transportadores de AG saturables, se han identificado FATP, CD36 y FABP (Hawkins B., 2005; Moullé V., 2012). Particularmente, CD36 o FAT (AG translocasa), presenta diversos ligandos y funciones críticas en cerebro, por lo que actualmente es un punto de interés.

La proteína CD36 es un receptor de "reconocimiento de patrones" y es probable que su función principal dependa del contexto celular y del ligando con el que interactúa (Febbraio M., 2001) (Chen H., 2000). Las funciones que se han documentado para CD36 hasta ahora derivan en gran medida de dos propiedades principales, su capacidad para facilitar la captación de moléculas lipídicas específicas como AG y LDLsd oxidadas (oxLDLsd) y su adhesión de varias macromoléculas cargadas negativamente con la posterior transducción de señales intracelulares relevantes para inflamación, fagocitosis y endocitosis (Husemann J., 2002). CD36 se une a AG de cadena larga con alta afinidad (Baillie A., 1996) (Harmon C., 1993), donde contribuye a la regulación del metabolismo de los lípidos y la sensibilidad a la insulina (Hajri T., 2002) (Aitman T., 1999). En los macrófagos, el CD36 es un receptor de oxLDLsd que refleja su capacidad para unirse a fosfolípidos aniónicos, así como a lípidos modificados por peroxidación (Febbraio M., 2001). Muchos de los ligandos de CD36 están implicados en la transducción de señales, en consonancia con la localización de CD36 en balsas lipídicas, microdominios de membrana con alto contenido de colesterol y esfingolípidos (Zeng Y., 2003) (Pohl J., 2004). Las balsas, que representan aproximadamente el 5% de la membrana plasmática de las células de mamíferos, tienen una alta densidad de receptores, por lo que funcionan como centros de transducción de señales.

En el cerebro, la distribución de CD36 no se ha examinado de forma exhaustiva, pero su expresión en la microglía y las células endoteliales microvasculares se ha establecido de forma concluyente (Husemann J., 2002). Su expresión en neuronas también se ha informado (Ricciarelli R., 2004). La expresión de CD36 en el cerebro parece estar en consonancia con sus dos funciones principales, a saber, captación

de lípidos (células endoteliales) y adhesión/transducción de señales y fagocitosis (microglía). En este contexto, se ha propuesto que, de forma similar a su papel en la interacción de macrófagos con oxLDLsd, CD36 media las interacciones de la microglía con beta-amiloide fibrilar (A $\beta$ ) (Coraci I., 2002). Se ha propuesto que la activación de CD36 de la microglía desempeña un papel en la patogenia de la EA en paralelo a su papel de la prolesión en la placa aterosclerótica. CD36 está implicado en la mediación de la respuesta inflamatoria local y la degeneración neuronal a los depósitos de A $\beta$  (Coraci I., 2002). Se ha informado que un complejo que involucra CD36 e integrinas se une a A $\beta$  (Coraci I., 2002) y es necesario para la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y citocinas, sustancias que se sabe que propagan los efectos neurotóxicos del amiloide (El Khoury J., 2003). Es posible que en condiciones en las que el aclaramiento de A $\beta$  sea inadecuado, la inducción continua de CD36 con la consiguiente producción de un exceso de ROS y quimiocinas por la microglía pueda contribuir a la neurodegeneración (Coraci I., 2002) (Ricciarelli R., 2004). Nuestros resultados mostraron que existe una expresión en las regiones límbicas analizadas, sin embargo, el consumo crónico de una dieta hipercalórica presentó un incremento en el porcentaje de células inmunorreactivas en las subregiones CA1 y CA3 del hipocampo, lo que sugiere que juega un papel importante en cuanto al cambio del lipidoma cerebral y por supuesto con procesos neurodegenerativos. Es por ello que fue imprescindible evaluar el lipidoma en las regiones límbicas en el presente trabajo.

Además de los transportadores de AG, en el cerebro se expresan diversos transportadores asociados a colesterol debido a que es el lípido más estudiado en cerebro. En este órgano, la BHE necesita que la homeostasis del colesterol se mantenga mediante síntesis local (Quan G., 2003). El transportador de colesterol proteína 1 de Niemann-Pick tipo C y el colesterol 24 (S)-hidroxilasa son esenciales para el metabolismo del colesterol en el cerebro. Aunque los cambios en la concentración de colesterol plasmático o la pérdida de función del transportador de AI del casete de unión a ATP (ABCA1), receptor eliminador la clase B, tipo I (SR-B1, también conocida como Scarb1), LDLR o ApoE, o ApoA-I no tienen ningún efecto sobre el recambio de esteroides en el cerebro (Quan G., 2003). En general,

las evidencias sugieren fuertemente que, durante el desarrollo temprano, el colesterol se origina completamente a partir de la síntesis local, pero en el adulto hay una excreción constante de esterol del cerebro al plasma.

En el cerebro los astrocitos y neuronas cooperan en la regulación, síntesis y redistribución de colesterol a las diferentes subregiones (Pfrieger F., 2011). Específicamente, los pasos enzimáticos seleccionados y los precursores en la biosíntesis del colesterol difieren en los astrocitos cultivados frente a las neuronas. Diferentes mecanismos parecen regular la salida de colesterol de las neuronas y astrocitos, lo que refleja los diferentes roles que juegan estos tipos de células en la homeostasis del colesterol cerebral. Por ejemplo, los astrocitos producen y liberan ApoE, mientras que las neuronas metabolizan el colesterol a 24 (S)-hidroxicolesterol. La salida de colesterol de los astrocitos se ve facilitada por las apolipoproteínas solas o en partículas de lipoproteínas; mientras que, la eliminación del colesterol de las neuronas sólo se da por las partículas de lipoproteínas. La salida de colesterol regulada por ABCA1 y ABCG1 sólo se produce en los astrocitos, mientras que la salida de colesterol mediada por ABCG4 sólo se produce en las neuronas (Chen J., 2013). Además, el colesterol recién sintetizado rara vez se convierte en CE y se redistribuye rápidamente entre varios tipos de células dentro del cerebro. Además, la vida media del colesterol derivado del cerebro es mayor (hasta 5 años) en comparación con la de escasos días en la periferia, con una redistribución y transporte extensos a través de ABCA1 y lipoproteínas similares a HDL, respectivamente, como principal mecanismo para mantener la homeostasis (Wang H., 2014).

Cabe destacar que alteraciones en la homeostasis de los esteroides son componentes críticos de muchos trastornos cerebrales de neurodesarrollo y/o neurodegenerativos. En los ancianos, el colesterol alto se asocia con una mejor función de la memoria, mientras que el colesterol bajo se asocia con un mayor riesgo de depresión (Loera-Valencia R., 2019). La función del colesterol en el SNC va más allá de ser un componente estructural de las membranas celulares y las balsas lipídicas, es necesario para la formación de sinapsis y dendritas, sirve como

precursor de varias vías biosintéticas. Las neuronas expresan genes que codifican las enzimas de biosíntesis de colesterol, pero se cree ampliamente que la principal síntesis de esteroides en el cerebro adulto la realizan las células gliales (Banks W., 2018). En este sentido, nuestros resultados mostraron que la concentración de colesterol disminuyó en el hipocampo y la AMG para el grupo HCD (Figura 6). Estudios señalan un mayor riesgo de desarrollar enfermedades neuronales relacionado a las concentraciones elevadas de colesterol (Kivipelto M., 2005) (Solomon A., 2007), sin embargo, surgieron interrogantes cuando la evidencia mostró disminución en el riesgo, e incluso un efecto neuroprotector de la hipercolesterolemia en pacientes ancianos (Mielke M., 2005) (Reitz C., 2008). Se ha reportado que la disminución en la concentración de colesterol bloquea la potenciación a largo plazo (LTP) en el hipocampo, y la reposición *in vivo* de la membrana sobre las funciones cognitivas (Koudinov A., 2001) (Martin M., 2014).

Además, el cerebro es uno de los tejidos más ricos en términos de contenido de fosfolípidos. Los fosfolípidos son moléculas importantes que forman las bicapas lipídicas de la membrana de las neuronas, la glía y las células cerebrovasculares. Proporcionan integridad estructural para las proteínas de la membrana intracelular y de la superficie celular (Adibhatla y Hatcher, 2007). Tienen una serie de funciones diversas que van desde la regulación del comportamiento de proteínas de membrana, receptores, enzimas, canales iónicos, que sirven como reservorios bioenergéticos y precursores de mensajeros secundarios para la transducción de señales, incluida la mediación de respuestas inflamatorias (Adibhatla y Hatcher, 2007). Las diferentes regiones del cerebro difieren en la composición de fosfolípidos y la alteración en su composición genera cambios en la fluidez y permeabilidad de la membrana neuronal.

Un desequilibrio en la coordinación del metabolismo de los fosfolípidos ha sido bien documentado en varias afecciones neurológicas y psiquiátricas, lo que resulta en diversos fenotipos y estados patológicos (Kosicek, 2013). En algunas patologías agudas cerebrales, se han informado aumentos en los niveles de fosfolípidos provenientes de fracciones lipoproteicas y AGL en el LCR, las cuales se presentan

entre horas y días después de la lesión (Pilitsis, 2003) (Pasvogel, 2010) (Hankin, 2011). En la EA, se han mostraron cambios en la composición de fosfolípidos en la membrana (Sabogal-Guáqueta A., 2020), pero no se ha demostrado el mecanismo por el cual se genera este fenómeno. Asimismo, se ha observado una reducción del 73% en el plasmalógeno de colina en la corteza frontal de los individuos con EA en comparación pacientes sin la enfermedad (Igarashi M., 2011). Adicionalmente, se ha demostrado que el consumo de dietas hipercalóricas conduce a la desregulación de la vía de esfingolípidos y glucolípidos en tejidos periféricos, y por ende tiene impacto en la composición cerebral (Meikle P., 2017). Nuestros resultados mostraron incremento en la concentración de fosfolípidos en las cuatro regiones evaluadas (Figura 6). Se ha establecido que las células neuronales tienen la capacidad de sintetizar fosfolípidos a partir de AG, además de que expresan las enzimas necesarias para la síntesis de colina, en conjunto este mecanismo podría ser estimulado por el consumo crónico de la dieta alta en carbohidratos, incrementando la síntesis de fosfolípidos (Poitelon Y., 2020).

Nuestros resultados mostraron que la concentración de AG en el hipocampo, la CT y AMG aumentaron en el grupo HCD en comparación con el grupo NCD (Figura 6). La elevación en la concentración de AGL séricos puede ser una explicación a este incremento pues los transportadores de AG en el endotelio podrían propiciar un mayor transporte desde la circulación a las regiones cerebrales. Esto se ha asociado con la sobrenutrición causada por una dieta alta en grasas, la cual trae como consecuencia incremento de AGL en circulación, que conlleva al incremento en la probabilidad de neuropatías (Moon M., 2014). Sin embargo, también se sabe que durante el proceso de RI periférica, se regula positivamente la expresión de enzimas lipogénicas, incrementando la síntesis *de novo* de AG.

Los AG puede ser clasificados de diversas maneras, comúnmente se clasifican con base a la saturación de sus enlaces entre carbonos. Varias funciones cerebrales están determinadas por ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, por sus siglas en inglés), que son partes de la membrana plasmática implicadas en una amplia gama de procesos, incluido un mayor desarrollo y funcionalidad sináptica, efectos sobre

la integridad y plasticidad, neuroplasticidad y mejora de la actividad cognitiva (Cansev M., 2008) (Beltz B., 2007) (Castro-Gómez P., 2015). Algunos reportes indican que en la suplementación dietaria con PUFA puede mejorar desordenes neurodegenerativos como EA y Parkinson (Calviello G., 2013). Las principales clases de PUFA pertenecen al omega-3, que comprende ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA, 18: 3  $\omega$ -3), ácido eicosapentaenoico (EPA, 20: 5  $\omega$ -3) y ácido docosahexaenoico (DHA, 22: 6  $\omega$ -3) y al omega-6, que comprende ácido linoleico (LA, 18: 2  $\omega$ -6) y ácido araquidónico (ARA, 20: 4  $\omega$ -6) (Weiser M. 2006).

El DHA y ARA son los PUFA más importantes del cerebro (Chappus-McCendie H., 2019). En particular, el DHA constituye más del 90% de los FA-3 PUFA y el 10-20% de los lípidos totales en el cerebro (Brenna J. 2007). Se incorpora principalmente en fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina y en cantidades más pequeñas en fosfatidilcolina en las terminales sinápticas, mitocondrias y retículo endoplásmico (Wassall S. 2018). De hecho, el DHA es capaz de modular las propiedades celulares y los procesos fisiológicos como la fluidez de la membrana, la liberación de neurotransmisores, la expresión génica, la mielinización, la neuroinflamación y el crecimiento neuronal (Uauy R., 2006).

Por otro lado, el aumento de los AGL monosaturados o saturados circulantes derivan en factores proinflamatorios asociados a la RI y la desregulación de la homeostasis de la glucosa, que son aspectos centrales de la diabetes mellitus tipo 2 (Greenberg y Obin, 2006). En particular, se ha demostrado que la composición de ácidos grasos saturados (AGS) en las dietas afecta el perfil obesogénico de los pacientes y en general presentan una mayor toxicidad, debido a que induce una mayor acumulación de grasa corporal y menor saciedad que las dietas enriquecidas en PUFA (Lawton,2000) (Piers 2003) (Moussavi,2008) (Phillips,2012). Además, el rendimiento cognitivo en personas de edad avanzada (65-90 años), sin deterioro cognitivo significativo, es mejor en sujetos con ingestas elevadas de verduras, frutas y vitaminas; y menores en los que tiene ingestas de ácidos grasos monoinsaturados, AGS y colesterol (Ortega, 1997).

Existe una estrecha relación entre el SMet, la diabetes mellitus tipo 2 y la disfunción cerebral, que abarca tanto los trastornos del estado de ánimo como los cognitivos (Ott, 1996) (De Felice, 2013) (Santos, 2016) (Rebolledo-Solleiro, 2017). Los mecanismos subyacentes a esta conexión parecen basarse en gran medida en la neuroinflamación y la señalización desregulada de la insulina cerebral, que pueden resultar de un desequilibrio nutricional (Luchsinger, 2012) (De Felice y Ferreira, 2014) (Holt, 2014) (Sevilla-González, 2017). Aunque en el presente trabajo no se diferenció el tipo de AG que se incrementan en cerebro, trabajos anteriores en nuestro grupo de trabajo ya han evidenciado que la dieta hipercalórica hiperglúcida incrementa los AG de tipo monoinsaturados y saturados.

Adicionalmente evidenciamos que, la concentración de TG en regiones cerebrales incrementó en el hipocampo, CT, AMG y de manera no significativa estadísticamente en la CF. Aunque no existen evidencias contundentes que en el cerebro se genera esteatosis, es decir, resguardo de TG, debido a que la actividad de los astrocitos se encarga de mantener baja cantidad TG resguardados, algunos estudios han mostrado el incremento de TG en regiones hipocampales de pacientes con EA, demostrando la correlación entre la acumulación de TG, el grado de atrofia cerebral y altos niveles de LTR (Kao Y., 2020). En este contexto, diversos autores sugieren que el incremento de los TG séricos se correlaciona con un rendimiento cognitivo deficiente (Huang C., 2009) (Lepara O., 2009). Posterior a la hidrólisis por la LPL el flujo hacia cerebro es principalmente de AG, y no de TG. Dado que las neuronas tienen capacidad limitada de oxidar AG para obtener energía y el tráfico adecuado del sustrato a los astrocitos vecinos es esencial para evitar el almacenamiento excesivo de lípidos, la generación de intermediarios lipotóxicos, en particular de lipoperóxidos, que en condiciones de alta actividad neuronal es más probable (Aon M., 2014). Por lo tanto, las neuronas son casi dependientes del tráfico de lípidos con la glía cercana, para el intercambio de lípidos y el desecho de metabolitos potencialmente lipotóxicos, lo que produce distintos perfiles de distribución de lípidos entre la diversidad celular del SNC. Se sabe poco sobre la distribución de TG en las regiones cerebrales, sin embargo, se ha identificado que la generación y acumulación de estos, puede propagar procesos inflamatorios

(Khatchadourian A., 2012). Estudios *post mortem* en cerebros de pacientes con Parkinson han evidenciado la acumulación de TG en las neuronas dopaminérgicas y la microglía respecto a pacientes sin la enfermedad (Brek O., 2020). En conjunto los resultados evidencian cambios en el lipidoma cerebral, después del consumo crónico de dieta hipercalórica hiperglúcida durante 3 meses, promoviendo cambios importantes en la concentración y distribución de lípidos en las zonas cerebrales estudiadas.

El lipidoma en cualquier tejido deriva tanto de la distribución lipídica proveniente de lipoproteínas circulantes y de complejos AG-proteína (principalmente albúmina), como de la síntesis de *novo* en cada tejido. La *novo* síntesis de AG está vinculada a la actividad del factor de transcripción SREBP-1c que actúa en sinergia con ChREBP, que son estimulados en proporción a la concentración de insulina y carbohidratos. Tanto en el hígado, músculo y tejido adiposo el proceso de lipogénesis de *novo* es bien reconocido (Ortega-Prieto P., 2019). Sin embargo, en el cerebro este evento es poco estudiado, a pesar de ello, se ha identificado que puede existir en los núcleos hipotalámicos arqueado, dorsomedial, paraventricular y ventromedial en roedores y seres humanos (Kim E., 2002) (Sorensen A., 2002) (Kuhajda F. 1994). Lo que sugiere que la vía biosintética de los AG es importante en estos grupos de células.

La mayoría de los estudios de SREBP se han centrado en el hígado y los tejidos adiposos, que son importantes para la homeostasis del colesterol y el metabolismo de los AG en todo el cuerpo. En el cerebro, las alteraciones de la homeostasis del colesterol y los AG provocan diversas enfermedades neurodegenerativas. Los ratones mutantes Niemann-Pick tipo C, que exhiben un almacenamiento de colesterol celular anormal y una degeneración neuronal progresiva, tienen una expresión de la proteína SREBP-1c reducida en las neuronas de la corteza y el hipocampo (Ong et al., 2000). Esto sugiere que la regulación a la baja de SREBP-1c en el cerebro contribuye a la disfunción neuronal que caracteriza a la enfermedad de Niemann-Pick. Los astrocitos sintetizan y liberan ácidos oleicos, que promueven la diferenciación neuronal (Tabernero et al., 2001). SREBP-1c induce las enzimas

que participan en la síntesis de ácido oleico, en particular estearoil-CoA desaturasa (SCD), una enzima que cataliza la formación de  $\Delta^9$ -cis-doble enlace dentro del ácido oleico (Pai., 1998). Recientemente se informó que la transcitosis de albúmina en astrocitos indujo la síntesis de ácido oleico activando SREBP-1c y SCD (Tabernero et al., 2002). Estos resultados indican que, al igual que la SREBP-1c hepática, la SREBP-1c del cerebro regula la lipogénesis de *novo* y participa en el mantenimiento de la homeostasis de los AG dentro del cerebro. El hecho de que el contenido de ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico y ácido palmitoleico (el tipo principal de ácido graso saturado y ácido graso monoinsaturado en los fosfolípidos de membrana) en el cerebro es indistinguible en animales delgados y obesos (Guesnet et al., 1990; Sena et al., 1982) lo que indica que la expresión de SREBP-1c en el cerebro está regulada de manera muy precisa. La sobre regulación de SREBP-1c se involucra en procesos de mielinización en adultos (de Preux A. 1994) (Verheijen M. 2003) (Leblanc, S. 2005). Además, es fuertemente expresada en inervaciones maduras, lo que sugiere que es un factor de transcripción altamente activo en el metabolismo de AG.

Algunos trabajos demuestran que la acción de SREBP-1c en múltiples tejidos se ve afectada en la diabetes, lo que sugiere que la sobre expresión y actividad de SREBP-1c puede ser la base de los cambios patológicos asociados con neuropatía periférica diabética (NPD) (Verheijen M. 2003) (Sima A., 2003). Se cree que la diabetes mellitus tipo 1 también altera el metabolismo de los PUFA al disminuir la actividad desaturasa de los AG, lo que resulta en un menor contenido de PUFA en los fosfolípidos de membrana de las neuronas (Horrobin D. 1997). De acuerdo con estas observaciones, se ha demostrado que los PUFA modifican la actividad de las ATPasas axonales de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  (Vreugdenhil M., 1996) Curiosamente, también se ha evidenciado que SREBP-1c media la transcripción inducida por insulina de SCD1, delta-5-desaturasa (D5D) y delta-6-desaturasa (D6D) (Nakamura, M. 2002). Lo que conlleva a una mayor síntesis de MUFA, alterando la contracción dendrítica, la sinapsis neural y la velocidad de conducción del impulso eléctrico en pacientes diabéticos. Debido a que la dinámica regulación entre MUFA's y PUFA's es una actividad del astrocito, las evidencias apuntan a que esta es una célula clave en el

estudio del metabolismo cerebral. Claramente, la expresión de la SREBP-1c se ve afectada por ambientes diabetogénicos, como en el SMet, y por el estado nutricional, contribuyendo a la fisiopatología de las enfermedades neurodegenerativas. Nuestros resultados mostraron un incremento en la expresión de SREBP-1c en todas las regiones cerebrales evaluadas el grupo HCD (Fig. 9)

De manera sinérgica a SREBP-1c, otro factor de transcripción asociado a la lipogénesis es ChREBP, que media la respuesta a los carbohidratos de la dieta. La estructura de la proteína ChREBP contiene un dominio inhibidor de glucosa baja (LID) y un elemento conservado de activación de respuesta a glucosa (GRACE) ubicado en su extremo N-terminal (Li, 2006). La activación del dominio GRACE por los metabolitos de la glucosa promueve la actividad transcripcional de ChREBP y la unión a una secuencia altamente conservada llamada elemento de respuesta de carbohidratos (ChoRE). ChoRE está presente en los promotores de los genes diana de ChREBP, que codifican enzimas clave de la lipogénesis *de novo*, incluida la L-piruvato quinasa (L-pk), una enzima limitante de la glucólisis, la FAS, la ACC y SCD-1 (Kawaguchi et al., 2001). Se han informado niveles discretos de ARNm de ChREBP en distintas regiones del cerebro (Poungvarin N.,2012), principalmente en el hipotálamo y el tronco encefálico. El incremento de ChREBP en el cerebro es un hallazgo indiscutible de un incremento del flujo de glucosa, preferencia por alimentos con sabor dulce y regulación de la saciedad (Abdul-Wahed A., 2017). También debemos considerar que la actividad de ChREBP en cerebro evitaría la glucotoxicidad, sin embargo, el desvío a la lipogénesis *de novo* parecería ser inevitable (Steinbusch., 2015). Curiosamente, la investigación sobre la identidad de los neurotransmisores que responden a la glucosa ha revelado un papel paralelo de estas neuronas en la regulación de la ingesta de alimentos y el gasto energético. Es de resaltar que, no se han definido las regiones cerebrales específicas y las poblaciones neuronales que expresan ChREBP (Lizuka., 2004). Mientras tanto, los datos en ratones sugieren un papel de ChREBP en la regulación del comportamiento alimentario. La pérdida total de ChREBP en la cepa de ratón ob/ob antagoniza su fenotipo hiperfágico y da como resultado la modificación de la expresión de neuropéptidos orexigénicos (Lizuka ., 2006). Los ratones deficientes

en ChREBP también muestran una menor ingesta de alimentos en la dieta occidental (Wu et al., 2015). Por lo que es plausible pensar que su incremento sería motivo de hiperfagia de dietas altamente calóricas, preferencias sobre alimentos dulces, y por tanto, una mayor probabilidad de desarrollar enfermedades neurodegenerativas. Nuestros resultados mostraron incremento en la expresión de ChREBP para todas las regiones evaluadas (Figura 10), lo que apunta que la hiperglicemia producida por el consumo de la dieta alta en carbohidratos estimula la expresión de este factor de transcripción.

En estados de RI, es inminente la activación de ChREBP y SREBP-1c, lo cual puede llevar a una mayor biosíntesis de lípidos (Brown, M., 1997). Ambos factores de transcripción desempeñan un papel relevante en la biosíntesis de AG, debido a que incrementan la expresión de la ACC, FAS, la ATP citrato liasa (que suministra acetil-CoA), la enzima málica y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, favoreciendo así la síntesis de AG insaturados y la glicerol-3-fosfato aciltransferasa, que convierte el exceso de AG en triglicéridos (Edwards P., 2000) (Osborne T., 200). Las enzimas lipogénicas encargadas de convertir intermediarios del metabolismo de la glucosa en lípidos, es estimulada por el consumo de las dietas altas en carbohidratos (Schwarz J. 2003).

El primer paso en la biosíntesis de AG es la carboxilación de acetil CoA, en el citoplasma la ACC conecta el metabolismo energético central con la biosíntesis de lípidos y limita la velocidad de la síntesis *de novo* de lípidos, pues cataboliza la síntesis de malonil CoA a través de la carboxilación de acetil CoA, en dos paso **1**) en el sitio activo de la biotina forma el complejo carboxi-biotinil-ACC, **2**) el grupo carboxi se transfiere de biotina a acetil CoA (Brownsey R. 2006). Nuestros resultados muestran incremento estadísticamente significativo para su expresión en la CF en el grupo HCD, además se mostró tendencia en aumento para el resto de las regiones evaluadas en el grupo HCD (Figura 11). La ACC existe como una enzima asociada a oligodendrocitos en el cerebro y desempeña un papel importante en el suministro de AG para la mielinización, sin embargo, su mayor actividad sucede durante el crecimiento y es baja en etapas adultas (Spencer E., 1993). El

incremento de ACC ha sido poco estudiado en cuanto a enfermedades neurodegenerativas, sin embargo, algunos estudios la vinculan con cambios en la dinámica lipídica y progresión en el desarrollo de EA (Mufson E., 2008). Por lo que su inhibición ha mostrado un efecto neuroprotector (Currais A., 2019). En este sentido, nuestro modelo presenta dos vertientes importantes el daño neural previamente descrita por nuestro grupo de trabajo, y en la cual **1)** la mayor actividad de ACC está en relación con la generación de lípidos que coadyuvan en la regeneración o mantenimiento neuronal, o **2)** la actividad de la enzima está vinculada a la biosíntesis y resguardo de lípidos. El malonil CoA generado por ACC, no solo es importante como precursor de AG, también regula la oxidación de AG (a través de la modulación de la entrada mitocondrial de cadenas largas) y como primer paso para el alargamiento de AG en los microsomas (Bianchi A., 1990). Datos reportados por Gao y colaboradores proporcionan evidencia que la actividad ACC en neuronas del hipotálamo está íntimamente relacionada con la ingesta de alimentos y el peso corporal (Chakravarthy M., 2007).

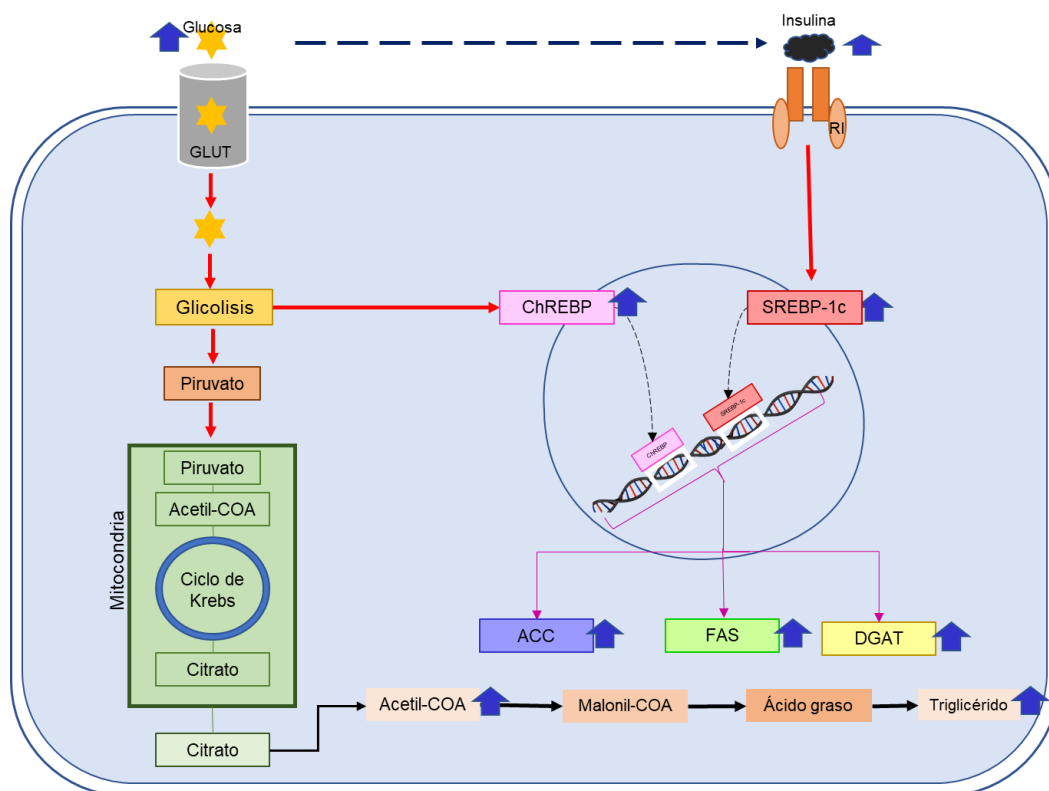
Para conocer el significado del resultado observado en la ACC, se analizó la expresión de FAS, que es otra enzima clave en la síntesis de AG. La FAS cataliza todos los pasos necesarios para la reacción de conversión de acetil-CoA y malonil-CoA en AG, que se pueden utilizar para el almacenamiento de energía, el ensamblaje y reparación de membranas o síntesis de TG. El producto principal de la actividad de FAS es palmitato, pero también se pueden producir estearato y AG más cortos. Los sustratos de FAS son acetil-CoA, malonil-CoA y NADPH. Acetil-CoA funciona como un cebador para la reacción, mientras que NADPH proporciona equivalentes reductores (Wakil S., 1989). Los resultados obtenidos en el presente trabajo mostraron incremento en la expresión de FAS en AMG, CT y CF, en el grupo HCD. El fenotipo de una mayor actividad de FAS en hipotálamo se ha vinculado con un mayor consumo de alimento, lo que sugiere FAS participa activamente en la homeostasis energética (Osei-Hyiaman D., 2005). La evidencia directa de la mediación del FAS hipotalámica en la ingesta de alimentos ayuda a unificar las observaciones anteriores sobre el papel del metabolismo de los AG en el control de la bioenergética en el SNC. Se ha informado de forma independiente que el

aumento del contenido de malonil-CoA neuronal, la inhibición de la actividad de CPT-1 y la acumulación de AG de cadena larga y sus ésteres suprimen el apetito (Hu Z., 2005). Estas variables biológicas están interrelacionadas de formas complejas. Los niveles altos de malonil-CoA inhiben la actividad de CPT-1. La actividad disminuida de CPT-1 altera el metabolismo de los ácidos grasos, provocando la acumulación de acil-CoAs grasos de cadena larga que inhiben la ACC y disminuyen los niveles de malonil-CoA, ya que la malonil-CoA es el producto final de la actividad de ACC.

La evidencia obtenida hasta este momento indica que las diferentes regiones límbicas cerebrales son capaces de generar AG, y exacerbar estas condiciones ante un consumo crónico de dietas hipercalóricas hiperglúcidas (Figura 18). Sin embargo, el destino final del AG ya sea recapturado de la circulación lipoproteica o *novo* sintetizado es diverso. Como ya hemos discutido puede entrar a vías de obtención energética, ser parte de los componentes de membrana o fungir como intermediario en procesos de señalización o inflamación. Un regulador maestro de estos procesos es la proteína asociada a receptores activados por proliferadores de peroxisomas tipo alfa (PPAR  $\alpha$ ). Tras la unión del ligando, los PPAR se translocan al núcleo, donde se heterodimerizan con el receptor de retinoides X y se unen a los elementos de respuesta del proliferador de peroxisomas y actúan como factores de transcripción (Wójtowicz S., 2020) (Chan L., 2009). Los PPAR son sensores y reguladores críticos de lípidos debido a su papel indispensable en diversas bioactividades relacionadas con estos, como el transporte de lípidos, la diferenciación de adipocitos y el metabolismo de varios componentes de lípidos como AG, cuerpos cetónicos, triglicéridos y colesterolos.

PPAR  $\alpha$  regula el metabolismo de las mitocondrias, incluida la vía de oxidación  $\beta$  de los ácidos grasos, los procesos energéticos, el metabolismo de la glucosa, el estado redox y la neurotransmisión glutamatérgica, colinérgica/dopaminérgica. Además, PPAR  $\alpha$  participa en el metabolismo de la proteína precursora beta amiloide (APP) en el cerebro y, directa o indirectamente a través de A $\beta$ , también puede influir en la fosforilación de la proteína Tau (Wójtowicz S., 2020). Roy y colaboradores

demostraron la distribución de PPAR  $\alpha$  en diferentes regiones del hipocampo y observó que la proteína PPAR  $\alpha$  estaba localizada en CA1, CA2 y CA3 y en giro dentado del cerebro de ratones. Se ha demostrado que PPAR  $\alpha$  controla la entrada de calcio y la expresión de varios genes que codifican proteínas del hipocampo involucradas en la regulación de la plasticidad sináptica, lo que concuerda con nuestros resultados, pues evidenciaron que las regiones evaluadas tienen alto porcentaje de células que expresan PPAR  $\alpha$  (Warden A., 2016) (Wójtowicz S., 2020). Sin embargo, el consumo de la dieta hipercalórica hiperglúcida no generó cambios en el número de células inmunorreactivas para PPAR  $\alpha$  (Figura 7). Por lo que se sugiere que la expresión de PPAR  $\alpha$  en las regiones cerebrales evaluadas es independiente de la dieta, al menos al tiempo evaluado, y que el mantenimiento de la expresión confiere cierto grado de neuroprotección (Boese, A. 2020).



**Figura 18.** Efecto del consumo de dieta hipercalórica hiperglúcida sobre la ruta de síntesis de lípidos *de novo* en regiones límbicas.

Siguiendo la ruta biosintética de TG, la adición secuencial de AG al glicerol-3-fosfato es una reacción conducida por la DGAT, esta es una enzima que cataliza el paso

final de la síntesis de TG, que implica la esterificación del diacilglicerido por esteres de acil-CoA de cadena larga (Bhatt-Wessel B., 2018). El diacilglicerol para esta reacción proviene de la vía glicerol-fosfato, en la que el fosfato de glicerol se acila secuencialmente en aciltransferasas, seguido de la eliminación del grupo fosfato del ácido fosfatídico para formar diacilglicerol. La vía del glicerol-fosfato y la actividad DGAT están presentes en la mayoría de los tejidos (Lehner R., 1996). En los animales del grupo HCD se observó una sobreexpresión de DGAT en todas las regiones límbicas evaluados (Figura 13). Lo que indica que la generación de triglicéridos es favorecida en los animales alimentados con una dieta hipercalórica hiperglúcida, evidenciando que la vía lipogénica es dependiente de las condiciones nutricionales y está claramente establecido que la transcripción de sus enzimas requiere tanto de glucosa como de insulina para ser inducidas (Escalona I., 2014).

Se ha evidenciado que incremento de la actividad de DGAT en cerebro favorece el desarrollo y acumulación de gotas lipídicas (DL) primordialmente en células de la microglía (Marschallinger, J., 2020) (Hamilton, L., 2018) y en astrocitos. La propia glia puede generar DL a partir de la fagocitosis de fragmentos de mielina (Lee S., 1990). En neuronas de la corteza frontal, hipocampo y bulbo olfatorio se han evidenciado desarrollo de DL vinculándose este fenómeno con desarrollo de EA, demencia vascular y otras enfermedades neurodegenerativas (Shimabukuro M., 2018) (Hulette C., 1992) (Cole, N., 2002). Además, las enfermedades metabólicas como el SMet y la DM2 modifican el contenido de DL y su distribución en regiones cerebrales. La generación de DL en parte es una actividad de la proteína de transferencia de triglicéridos microsomales (MTP) (Pereira I., 2011). No se ha descrito con precisión el proceso de ensamblaje de estas lipoproteínas en el cerebro, sin embargo, en el hígado se sabe que es un proceso que ocurre en el RE y se realiza en dos pasos, primero una pequeña cantidad de lípidos se transfiere a la ApoB naciente durante la translocación al lumen del RE, formando una partícula de ApoB primordial, después se agrega gran cantidad de lípidos a la partícula de ApoB primordial después translocación (Wetterau J., 1997). En el cerebro, la MTP puede transferir TG a ApoE para su movilización a diferentes regiones o puede mediar el resguardo a un grupo proteico llamado perilipinas que forman parte de los DL. El

primer paso en ambos casos requiere que la MTP residente en RE, transporte TG, CE y fosfolípidos desde la membrana del RE a la partícula de ApoE o de perilipina, la capacidad de MTP para transportar TG está relacionada con la concentración de estos. Nuestros resultados mostraron incremento en la expresión de MTP en las regiones que componen el hipocampo, CA1, CA3 y giro dentado, por lo que sugiere que en el hipocampo se realiza mayor producción de lipoproteínas que contienen ApoE, después del consumo de dieta hipercalórica hiperglúcida durante 3 meses, en comparación con el resto de las regiones evaluadas (Figura 15), asimismo se apunta a que el incremento en la concentración de TG en el hipocampo favorece la expresión de esta enzima. El resguardo, pero no la movilización es una acción regulada por el PPAR  $\gamma$ . La activación de PPAR  $\gamma$  juega un papel crucial en la regulación de la proliferación, el metabolismo, la diferenciación, el desarrollo y las respuestas inflamatorias del SNC. PPAR  $\gamma$  está presente en la mayoría de los tipos de células, vasos, neuronas y astrocitos, donde media la función multimodal antes mencionada (Giannini S., 2004) (Moreno, S., 2004) PPAR  $\gamma$  también se expresa en células dendríticas y microglía (Yuan G., 2015). PPAR  $\gamma$  regula la activación alternativa de las células inmunes aumentando la expresión de genes relacionados con antiinflamatorios (Bouhlef et al. 2007) y la regulación a la baja de mediadores proinflamatorios a través de su acción sobre microglia/macrófagos activados (Kapadia R., 2008). La regulación positiva de CD36 mediada por PPAR  $\gamma$  ha estado involucrada en la modulación de la activación y el fenotipo de la microglía, promoviendo la fagocitosis de las células apoptóticas y contribuyendo así a la resolución de la inflamación (Ballesteros I., 2014) Además, PPAR  $\gamma$  tiene la capacidad principalmente de inhibir factores de transcripción, como la proteína activadora de factores de transcripción 1, Stat 1 y factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) (Ricote M., 1998) PPAR  $\gamma$  también media la regulación a la baja de genes proinflamatorios como la ciclooxygenasa-2 (COX-2), metaloproteinas-9 (MMP-9), receptor A eliminador, óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), así como la producción de citocinas, quimiocinas e interleucinas proinflamatorias (Heneka M., 2000) (Kapadia R., 2008) (Lenglet S., 2013)). Por tanto, la reducción de la activación de PPAR  $\gamma$  puede contribuir a la inflamación crónica. Por otro lado, PPAR  $\gamma$  promueve selectivamente la captación de lípidos y la lipogénesis en los tejidos, lo que conduce

a una acumulación de los triglicéridos circulantes y de los AGL, así como a la RI, por lo que los agonistas de PPAR y se consideran importantes tratamientos antineurodegenerativos por enfermedades metabólicas (Ahmadian M., 2003) (Cheng H., 2009). Las regiones hipocampales CA3 y el giro dentado presentan mayor expresión de este receptor (Warden A., 2016). El consumo de la dieta hipercalórica hiperglúcida no generó cambios en el número de células inmunorreactivas para los PPAR y en el grupo HCD en comparación con el grupo control (Figura 8).

En el contexto del resguardo lipídico o formación y acumulación de DL, evaluamos la acumulación de lípidos neutros en las regiones límbicas, mostrando que la dieta hipercalórica hiperglúcida genera acumulación de estos lípidos en las regiones evaluadas (Figura 17). Los DL se han identificado como marcadores estructurales de inflamación en dependencia de la edad. Su presencia indica senescencia celular, particularmente este fenómeno ha sido descrito como una característica de microglia envejecida, que es un fenómeno asociado principalmente al hipocampo (Marschallinger J., 2016). Se ha expuesto que la acumulación lipídica en el cerebro envejecido es una característica inequívoca del desarrollo de enfermedades neurológicas como EA y Parkinson (Fanning S., 2020). De acuerdo con lo mencionado el consumo crónico de dieta hipercalórica hiperglúcida puede estar relacionado con microambientes de envejecimiento neuronal temprano y condicionar la inducción de enfermedades neurodegenerativas.

## CONCLUSIÓN

- El consumo crónico de una dieta hipercalórica hiperglúcida desarrolla SMet.
- El SMet modifica el lipidoma sérico generando lipoproteínas ricas en triglicéridos y LDL cortas y densas.
- El SMet incrementa la hidrolisis y transporte de TG a regiones límbicas.
- El SMet aumenta la lipogénesis *de novo* (fosfolípidos y AG) y el resguardo de TG en regiones límbicas.
- El SMet modifica el lipidoma de regiones límbicas, reduciendo el contenido de colesterol, e incrementando el contenido de TG, fosfolípidos y AG.
- La modificación en el lipidoma de las regiones límbicas es un factor de riesgo para el desarrollo y progresión de enfermedades neurodegenerativas.

## BIBLIOGRAFÍA

Aarsland, A., Chinkes, D., & Wolfe, R. R. (1997). Hepatic and whole-body fat synthesis in humans during carbohydrate overfeeding. *The American journal of clinical nutrition*, 65(6), 1774–1782. <https://doi.org/10.1093/ajcn/65.6.1774>.

Abbott, N. J., Rönnbäck, L., & Hansson, E. (2006). Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nature reviews. Neuroscience*, 7(1), 41–53. <https://doi.org/10.1038/nrn1824>.

Abu-Elheiga, L., Oh, W., Kordari, P., & Wakil, S. J. (2003). Acetyl-CoA carboxylase 2 mutant mice are protected against obesity and diabetes induced by high-fat/high-carbohydrate diets. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(18), 10207–10212. <https://doi.org/10.1073/pnas.1733877100>.

Abumrad, N. A., & Davidson, N. O. (2012). Role of the gut in lipid homeostasis. *Physiological reviews*, 92(3), 1061–1085. <https://doi.org/10.1152/physrev.00019.2011>.

Abdul-Wahed, A., Guilmeau, S., & Postic, C. (2017). Sweet Sixteenth for ChREBP: Established Roles and Future Goals. *Cell metabolism*, 26(2), 324–341. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.07.004>

Ahmadian, M., Suh, J. M., Hah, N., Liddle, C., Atkins, A. R., Downes, M., & Evans, R. M. (2013). PPAR $\gamma$  signaling and metabolism: the good, the bad and the future. *Nature medicine*, 19(5), 557–566. <https://doi.org/10.1038/nm.3159>.

Aitman, T. J., Glazier, A. M., Wallace, C. A., Cooper, L. D., Norsworthy, P. J., Wahid, F. N., Al-Majali, K. M., Trembling, P. M., Mann, C. J., Shoulders, C. C., Graf, D., St Lezin, E., Kurtz, T. W., Kren, V., Pravenec, M., Ibrahimi, A., Abumrad, N. A., Stanton, L. W., & Scott, J. (1999). Identification of Cd36 (Fat) as an insulin-resistance gene causing defective fatty acid and glucose metabolism in hypertensive rats. *Nature genetics*, 21(1), 76–83. <https://doi.org/10.1038/5013>.

Alberti, K. G., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., Fruchart, J. C., James, W. P., Loria, C. M., Smith, S. C., Jr, International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention, National Heart, Lung, and Blood Institute, American Heart Association, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society, & International Association for the Study of Obesity (2009). Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, 120(16), 1640–1645. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>.

- Aon, M. A., Bhatt, N., & Cortassa, S. C. (2014). Mitochondrial and cellular mechanisms for managing lipid excess. *Frontiers in physiology*, 5, 282. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00282>.
- Arnold, S. E., Arvanitakis, Z., Macauley-Rambach, S. L., Koenig, A. M., Wang, H. Y., Ahima, R. S., Craft, S., Gandy, S., Buettner, C., Stoeckel, L. E., Holtzman, D. M., & Nathan, D. M. (2018). Brain insulin resistance in type 2 diabetes and Alzheimer disease: concepts and conundrums. *Nature reviews. Neurology*, 14(3), 168–181. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.185>.
- Auerbach, B. J., Bisgaier, C. L., Wölle, J., & Saxena, U. (1996). Oxidation of low density lipoproteins greatly enhances their association with lipoprotein lipase anchored to endothelial cell matrix. *The Journal of biological chemistry*, 271(3), 1329–1335. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.3.1329>.
- Baillie, A. G., Coburn, C. T., & Abumrad, N. A. (1996). Reversible binding of long-chain fatty acids to purified FAT, the adipose CD36 homolog. *The Journal of membrane biology*, 153(1), 75–81. <https://doi.org/10.1007/s002329900111>.
- Balazs, Z., Panzenboeck, U., Hammer, A., Sovic, A., Quehenberger, O., Malle, E., & Sattler, W. (2004). Uptake and transport of high-density lipoprotein (HDL) and HDL-associated alpha-tocopherol by an in vitro blood-brain barrier model. *Journal of neurochemistry*, 89(4), 939–950. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02373.x>.
- Ballesteros, I., Cuartero, M. I., Pradillo, J. M., de la Parra, J., Pérez-Ruiz, A., Corbí, A., Ricote, M., Hamilton, J. A., Sobrado, M., Vivancos, J., Nombela, F., Lizasoain, I., & Moro, M. A. (2014). Rosiglitazone-induced CD36 up-regulation resolves inflammation by PPAR $\gamma$  and 5-LO-dependent pathways. *Journal of leukocyte biology*, 95(4), 587–598. <https://doi.org/10.1189/jlb.0613326>
- Balkau, B., & Charles, M. A. (1999). Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*, 16(5), 442–443. <https://doi.org/10.1046/j.1464-5491.1999.00059.x>.
- Banks, W. A., Farr, S. A., Salameh, T. S., Niehoff, M. L., Rhea, E. M., Morley, J. E., Hanson, A. J., Hansen, K. M., & Craft, S. (2018). Triglycerides cross the blood-brain barrier and induce central leptin and insulin receptor resistance. *International journal of obesity (2005)*, 42(3), 391–397.
- Barbas H. (2000). Connections underlying the synthesis of cognition, memory, and emotion in primate prefrontal cortices. *Brain research bulletin*, 52(5), 319–330. [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(99\)00245-2](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(99)00245-2).
- Beltz, B. S., Tlusty, M. F., Benton, J. L., & Sandeman, D. C. (2007). Omega-3 fatty acids upregulate adult neurogenesis. *Neuroscience letters*, 415(2), 154–158. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.01.010>.

- Ben-Zeev, O., Doolittle, M. H., Singh, N., Chang, C. H., & Schotz, M. C. (1990). Synthesis and regulation of lipoprotein lipase in the hippocampus. *Journal of lipid research*, 31(7), 1307–1313.
- Berthoud H. R. (2012). The neurobiology of food intake in an obesogenic environment. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 71(4), 478–487. <https://doi.org/10.1017/S0029665112000602>.
- Bessesen, D. H., Richards, C. L., Etienne, J., Goers, J. W., & Eckel, R. H. (1993). Spinal cord of the rat contains more lipoprotein lipase than other brain regions. *Journal of lipid research*, 34(2), 229–238.
- Bhatt-Wessel, B., Jordan, T. W., Miller, J. H., & Peng, L. (2018). Role of DGAT enzymes in triacylglycerol metabolism. *Archives of biochemistry and biophysics*, 655, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.08.001>.
- Bianchi, A., Evans, J. L., Iverson, A. J., Nordlund, A. C., Watts, T. D., & Witters, L. A. (1990). Identification of an isozymic form of acetyl-CoA carboxylase. *The Journal of biological chemistry*, 265(3), 1502–1509.
- Blain, J. F., Paradis, E., Gaudreault, S. B., Champagne, D., Richard, D., & Poirier, J. (2004). A role for lipoprotein lipase during synaptic remodeling in the adult mouse brain. *Neurobiology of disease*, 15(3), 510–519. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2003.12.001>.
- Boden G. (2003). Effects of free fatty acids (FFA) on glucose metabolism: significance for insulin resistance and type 2 diabetes. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 111(3), 121–124. <https://doi.org/10.1055/s-2003-39781>.
- Boese, A. C., Lee, J. P., & Hamblin, M. H. (2020). Neurovascular protection by peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  in ischemic stroke. *Experimental neurology*, 331, 113323. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2020.113323>
- Bosco, D., Plastino, M., Cristiano, D., Colica, C., Ermio, C., De Bartolo, M., Mungari, P., Fonte, G., Consoli, D., Consoli, A., & Fava, A. (2012). Dementia is associated with insulin resistance in patients with Parkinson's disease. *Journal of the neurological sciences*, 315(1-2), 39–43. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2011.12.008>.
- Bovet, P., Chioloro, A., & Gedeon, J. (2017). Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries. *The New England journal of medicine*, 377(15), 1495–1496. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1710026> Countries over 25 Years. *The New England journal of medicine*, 377(1), 13–27. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1614362>.
- Brecher, P., & Kuan, H. T. (1979). Lipoprotein lipase and acid lipase activity in rabbit brain microvessels. *Journal of lipid research*, 20(4), 464–471.

Brekke, O. R., Honey, J. R., Lee, S., Hallett, P. J., & Isacson, O. (2020). Cell type-specific lipid storage changes in Parkinson's disease patient brains are recapitulated by experimental glycolipid disturbance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(44), 27646–27654. <https://doi.org/10.1073/pnas.2003021117>.

Brenna, J. T., & Diau, G. Y. (2007). The influence of dietary docosahexaenoic acid and arachidonic acid on central nervous system polyunsaturated fatty acid composition. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids*, 77(5-6), 247–250. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2007.10.016>.

Brown, M. S., & Goldstein, J. L. (1997). The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell*, 89(3), 331–340. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80213-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80213-5).

Brownsey, R. W., Boone, A. N., Elliott, J. E., Kulpa, J. E., & Lee, W. M. (2006). Regulation of acetyl-CoA carboxylase. *Biochemical Society transactions*, 34(Pt 2), 223–227. <https://doi.org/10.1042/BST20060223>.

Calviello, G., Su, H. M., Weylandt, K. H., Fasano, E., Serini, S., & Cittadini, A. (2013). Experimental evidence of  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acid modulation of inflammatory cytokines and bioactive lipid mediators: their potential role in inflammatory, neurodegenerative, and neoplastic diseases. *BioMed research international*, 2013, 743171. <https://doi.org/10.1155/2013/743171>.

Campbell, P. J., Mandarino, L. J., & Gerich, J. E. (1988). Quantification of the relative impairment in actions of insulin on hepatic glucose production and peripheral glucose uptake in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism: clinical and experimental*, 37(1), 15–21.

Cansev, M., Wurtman, R. J., Sakamoto, T., & Ulus, I. H. (2008). Oral administration of circulating precursors for membrane phosphatides can promote the synthesis of new brain synapses. *Alzheimer's & dementia : the journal of the Alzheimer's Association*, 4(1 Suppl 1), S153–S168. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2007.10.005>.

Cases, S., Stone, S. J., Zhou, P., Yen, E., Tow, B., Lardizabal, K. D., Voelker, T., & Farese, R. V., Jr (2001). Cloning of DGAT2, a second mammalian diacylglycerol acyltransferase, and related family members. *The Journal of biological chemistry*, 276(42), 38870–38876. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106219200>.

Castro-Gómez, P., Garcia-Serrano, A., Visioli, F., & Fontecha, J. (2015). Relevance of dietary glycerophospholipids and sphingolipids to human health. *Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids*, 101, 41–51. <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2015.07.004>.

Chakravarthy, M. V., Zhu, Y., López, M., Yin, L., Wozniak, D. F., Coleman, T., Hu, Z., Wolfgang, M., Vidal-Puig, A., Lane, M. D., & Semenkovich, C. F. (2007). Brain fatty acid synthase activates PPAR $\alpha$  to maintain energy homeostasis. *The*

Journal of clinical investigation, 117(9), 2539–2552.  
<https://doi.org/10.1172/JCI31183>.

Chan, L. S., & Wells, R. A. (2009). Cross-Talk between PPARs and the Partners of RXR: A Molecular Perspective. *PPAR research*, 2009, 925309.  
<https://doi.org/10.1155/2009/925309>.

Chappus-McCendie, H., Chevalier, L., Roberge, C., & Plourde, M. (2019). Omega-3 PUFA metabolism and brain modifications during aging. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*, 94, 109662.  
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2019.109662>.

Chen, H., Herndon, M. E., & Lawler, J. (2000). The cell biology of thrombospondin-1. *Matrix biology : journal of the International Society for Matrix Biology*, 19(7), 597–614. [https://doi.org/10.1016/s0945-053x\(00\)00107-4](https://doi.org/10.1016/s0945-053x(00)00107-4).

Chen, J., Zhang, X., Kusumo, H., Costa, L. G., & Guizzetti, M. (2013). Cholesterol efflux is differentially regulated in neurons and astrocytes: implications for brain cholesterol homeostasis. *Biochimica et biophysica acta*, 1831(2), 263–275.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbali.2012.09.007>.

Cheng, H. S., Tan, W. R., Low, Z. S., Marvalim, C., Lee, J., & Tan, N. S. (2019). Exploration and Development of PPAR Modulators in Health and Disease: An Update of Clinical Evidence. *International journal of molecular sciences*, 20(20), 5055. <https://doi.org/10.3390/ijms2020505>.

Cheong, J., de Pablo-Fernandez, E., Foltynie, T., & Noyce, A. J. (2020). The Association Between Type 2 Diabetes Mellitus and Parkinson's Disease. *Journal of Parkinson's disease*, 10(3), 775–789. <https://doi.org/10.3233/JPD-191900>.

Chirala, S. S., & Wakil, S. J. (2004). Structure and function of animal fatty acid synthase. *Lipids*, 39(11), 1045–1053. <https://doi.org/10.1007/s11745-004-1329-9>,  
Zaric B, Resanovic I, Obradovic M, Mitrovic A, Radak D, Isenovic ER. Link between Metabolic Syndrome and Insulin Resistance. *Curr Vasc Pharmacol*. 2017;15(1):30-39. doi: 10.2174/1570161114666161007164510. PMID: 27748199.

Clemente-Postigo, M., Queipo-Ortuño, M. I., Fernandez-Garcia, D., Gomez-Huelgas, R., Tinahones, F. J., & Cardona, F. (2011). Adipose tissue gene expression of factors related to lipid processing in obesity. *PloS one*, 6(9), e24783.

Cohen, J. C., Horton, J. D., & Hobbs, H. H. (2011). Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science (New York, N.Y.)*, 332(6037), 1519–1523.  
<https://doi.org/10.1126/science.1204265>.

Coraci, I. S., Husemann, J., Berman, J. W., Hulette, C., Dufour, J. H., Campanella, G. K., Luster, A. D., Silverstein, S. C., & El-Khoury, J. B. (2002). CD36, a class B scavenger receptor, is expressed on microglia in Alzheimer's disease brains and can mediate production of reactive oxygen species in response to beta-amyloid

fibrils. *The American journal of pathology*, 160(1), 101–112. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)64354-4](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)64354-4).

Cole, N. B., Murphy, D. D., Grider, T., Rueter, S., Brasaemle, D., & Nussbaum, R. L. (2002). Lipid droplet binding and oligomerization properties of the Parkinson's disease protein alpha-synuclein. *The Journal of biological chemistry*, 277(8), 6344–6352. <https://doi.org/10.1074/jbc.M108414200>.

Cruciani-Guglielmacci, C., & Magnan, C. (2017). Brain lipoprotein lipase as a regulator of energy balance. *Biochimie*, 143, 51–55. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2017.07.012>.

Currais, A., Huang, L., Goldberg, J., Petrascheck, M., Ates, G., Pinto-Duarte, A., Shokhirev, M. N., Schubert, D., & Maher, P. (2019). Elevating acetyl-CoA levels reduces aspects of brain aging. *eLife*, 8, e47866. <https://doi.org/10.7554/eLife.47866>.

D Bruce, K., Tang, M., Reigan, P., & H Eckel, R. (2020). Genetic Variants of Lipoprotein Lipase and Regulatory Factors Associated with Alzheimer's Disease Risk. *International journal of molecular sciences*, 21(21), 8338. <https://doi.org/10.3390/ijms21218338>.

de Preux, A. S., Goosen, K., Zhang, W., Sima, A. A., Shimano, H., Ouwens, D. M., Diamant, M., Hillebrands, J. L., Rozing, J., Lemke, G., Beckmann, J. S., Smit, A. B., Verheijen, M. H., & Chrast, R. (2007). SREBP-1c expression in Schwann cells is affected by diabetes and nutritional status. *Molecular and cellular neurosciences*, 35(4), 525–534. <https://doi.org/10.1016/j.mcn.2007.04.010>.

DeFronzo, R. A., & Ferrannini, E. (1991). Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes care*, 14(3), 173–194. <https://doi.org/10.2337/diacare.14.3.173>.

DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., & Simonson, D. C. (1989). Fasting hyperglycemia in non-insulin-dependent diabetes mellitus: contributions of excessive hepatic glucose production and impaired tissue glucose uptake. *Metabolism: clinical and experimental*, 38(4), 387–395. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(89\)90129-7](https://doi.org/10.1016/0026-0495(89)90129-7).

Dentin, R., Benhamed, F., Hainault, I., Fauveau, V., Foufelle, F., Dyck, J. R., Girard, J., & Postic, C. (2006). Liver-specific inhibition of ChREBP improves hepatic steatosis and insulin resistance in ob/ob mice. *Diabetes*, 55(8), 2159–2170. <https://doi.org/10.2337/db06-0200>.

Do Carmo, S., Levros, L. C., Jr, & Rassart, E. (2007). Modulation of apolipoprotein D expression and translocation under specific stress conditions. *Biochimica et biophysica acta*, 1773(6), 954–969. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2007.03.007>.

Doolittle, M. H., Ehrhardt, N., & Péterfy, M. (2010). Lipase maturation factor 1: structure and role in lipase folding and assembly. *Current opinion in lipidology*, 21(3), 198–203. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e32833854c0>.

Driver, J. A., Smith, A., Buring, J. E., Gaziano, J. M., Kurth, T., & Logroscino, G. (2008). Prospective cohort study of type 2 diabetes and the risk of Parkinson's disease. *Diabetes care*, 31(10), 2003–2005. <https://doi.org/10.2337/dc08-0688>.

Eckel, R. H., & Robbins, R. J. (1984). Lipoprotein lipase is produced, regulated, and functional in rat brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 81(23), 7604–7607. <https://doi.org/10.1073/pnas.81.23.7604>.

Eckel, R. H., Grundy, S. M., & Zimmet, P. Z. (2005). The metabolic syndrome. *Lancet* (London, England), 365(9468), 1415–1428. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66378-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66378-7).

Edwards, P. A., Tabor, D., Kast, H. R., & Venkateswaran, A. (2000). Regulation of gene expression by SREBP and SCAP. *Biochimica et biophysica acta*, 1529(1-3), 103–113. [https://doi.org/10.1016/s1388-1981\(00\)00140-2](https://doi.org/10.1016/s1388-1981(00)00140-2).

Eisenberg, S., Sehayek, E., Olivecrona, T., & Vlodavsky, I. (1992). Lipoprotein lipase enhances binding of lipoproteins to heparan sulfate on cell surfaces and extracellular matrix. *The Journal of clinical investigation*, 90(5), 2013–2021. <https://doi.org/10.1172/JCI116081>.

El Khoury, J. B., Moore, K. J., Means, T. K., Leung, J., Terada, K., Toft, M., Freeman, M. W., & Luster, A. D. (2003). CD36 mediates the innate host response to beta-amyloid. *The Journal of experimental medicine*, 197(12), 1657–1666. <https://doi.org/10.1084/jem.20021546>.

Elliott, D. A., Weickert, C. S., & Garner, B. (2010). Apolipoproteins in the brain: implications for neurological and psychiatric disorders. *Clinical lipidology*, 51(4), 555–573. <https://doi.org/10.2217/CLP.10.3>.

Engelhardt, B., & Coisne, C. (2011). Fluids and barriers of the CNS establish immune privilege by confining immune surveillance to a two-walled castle moat surrounding the CNS castle. *Fluids and barriers of the CNS*, 8(1), 4. <https://doi.org/10.1186/2045-8118-8-4>.

ENSANUT 2018.

Esmailzadeh A, Kimiagar M, Mehrabi Y, Azadbakht L, Hu FB, Willett WC. Dietary patterns, insulin resistance, and prevalence of the metabolic syndrome in women. *Am J Clin Nutr*. 2007 Mar;85(3):910-8. doi: 10.1093/ajcn/85.3.910. PMID: 17344515.

Fanning, S., Selkoe, D., & Dettmer, U. (2020). Parkinson's disease: proteinopathy or lipidopathy?. *NPJ Parkinson's disease*, 6, 3. <https://doi.org/10.1038/s41531-019-0103-7>

Febbraio, M., Hajjar, D. P., & Silverstein, R. L. (2001). CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism. *The Journal of clinical investigation*, 108(6), 785–791. <https://doi.org/10.1172/JCI14006>.

Foufelle, F., & Ferré, P. (2002). New perspectives in the regulation of hepatic glycolytic and lipogenic genes by insulin and glucose: a role for the transcription factor sterol regulatory element binding protein-1c. *The Biochemical journal*, 366(Pt 2), 377–391. <https://doi.org/10.1042/BJ20020430>.

Fuster J. M. (2001). The prefrontal cortex--an update: time is of the essence. *Neuron*, 30(2), 319–333. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00285-9](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00285-9).

Gadgil, M. D., Appel, L. J., Yeung, E., Anderson, C. A., Sacks, F. M., & Miller, E. R., 3rd (2013). The effects of carbohydrate, unsaturated fat, and protein intake on measures of insulin sensitivity: results from the OmniHeart trial. *Diabetes care*, 36(5), 1132–1137. <https://doi.org/10.2337/dc12-0869>.

Gavin, L. A., Cavalieri, R. R., Moeller, M., McMahon, F. A., Castle, J. N., & Gulli, R. (1987). Brain lipoprotein lipase is responsive to nutritional and hormonal modulation. *Metabolism: clinical and experimental*, 36(10), 919–924. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(87\)90124-7](https://doi.org/10.1016/0026-0495(87)90124-7).

Giannini, S., Serio, M., & Galli, A. (2004). Pleiotropic effects of thiazolidinediones: taking a look beyond antidiabetic activity. *Journal of endocrinological investigation*, 27(10), 982–991. <https://doi.org/10.1007/BF03347546>

Girard, J., Ferré, P., & Foufelle, F. (1997). Mechanisms by which carbohydrates regulate expression of genes for glycolytic and lipogenic enzymes. *Annual review of nutrition*, 17, 325–352. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.17.1.325>.

Glivic, Z., Zaric, B., Resanovic, I., Obradovic, M., Mitrovic, A., Radak, D., & Isenovic, E. R. (2017). Link between Metabolic Syndrome and Insulin Resistance. *Current vascular pharmacology*, 15(1), 30–39. <https://doi.org/10.2174/1570161114666161007164510>.

Goldberg, I. J., Eckel, R. H., & Abumrad, N. A. (2009). Regulation of fatty acid uptake into tissues: lipoprotein lipase- and CD36-mediated pathways. *Journal of lipid research*, 50 Suppl(Suppl), S86–S90. <https://doi.org/10.1194/jlr.R800085-JLR200>.

Goldberg, I. J., Soprano, D. R., Wyatt, M. L., Vanni, T. M., Kirchgessner, T. G., & Schotz, M. C. (1989). Localization of lipoprotein lipase mRNA in selected rat tissues. *Journal of lipid research*, 30(10), 1569–1577.

Goti, D., Balazs, Z., Panzenboeck, U., Hrzenjak, A., Reicher, H., Wagner, E., Zechner, R., Malle, E., & Sattler, W. (2002). Effects of lipoprotein lipase on uptake and transcytosis of low density lipoprotein (LDL) and LDL-associated alpha-

tocopherol in a porcine in vitro blood-brain barrier model. *The Journal of biological chemistry*, 277(32), 28537–28544. <https://doi.org/10.1074/jbc.M203989200>.

Hajri, T., Han, X. X., Bonen, A., & Abumrad, N. A. (2002). Defective fatty acid uptake modulates insulin responsiveness and metabolic responses to diet in CD36-null mice. *The Journal of clinical investigation*, 109(10), 1381–1389. <https://doi.org/10.1172/JCI14596>.

Hamilton, L. K., & Fernandes, K. (2018). Neural stem cells and adult brain fatty acid metabolism: Lessons from the 3xTg model of Alzheimer's disease. *Biology of the cell*, 110(1), 6–25. <https://doi.org/10.1111/boc.201700037>.

Han, L., Shen, W. J., Bittner, S., Kraemer, F. B., & Azhar, S. (2017). PPARs: regulators of metabolism and as therapeutic targets in cardiovascular disease. Part I: PPAR- $\alpha$ . *Future cardiology*, 13(3), 259–278. <https://doi.org/10.2217/fca-2016-0059>.

Harmon, C. M., & Abumrad, N. A. (1993). Binding of sulfosuccinimidyl fatty acids to adipocyte membrane proteins: isolation and amino-terminal sequence of an 88-kD protein implicated in transport of long-chain fatty acids. *The Journal of membrane biology*, 133(1), 43–49. <https://doi.org/10.1007/BF00231876>.

Hawkins, B. T., & Davis, T. P. (2005). The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacological reviews*, 57(2), 173–185. <https://doi.org/10.1124/pr.57.2.4>

Hellerstein MK. Lipogénesis de novo en humanos: aspectos metabólicos y regulatorios. *Eur J Clin Nutr*. Abril de 1999; 53 Suppl 1: S53-65. doi: 10.1038 / sj.ejcn.1600744. PMID: 10365981.

Heneka, MT, Klockgether, T. y Feinstein, DL (2000). Los ligandos del receptor gamma activados por proliferadores de peroxisomas reducen la expresión de la sintasa de óxido nítrico inducible neuronal y la muerte celular in vivo. *La Revista de neurociencia: la revista oficial de la Sociedad de Neurociencia*, 20 (18), 6862–6867. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-18-06862.2000>

Hernández Ruiz de Eguilaz, M., Martínez de Morentin Aldabe, B., Almiron-Roig, E., Pérez-Diez, S., San Cristóbal Blanco, R., Navas-Carretero, S., & Martínez, J. A. (2018). Multisensory influence on eating behavior: Hedonic consumption. *Influencia multisensorial sobre la conducta alimentaria: ingesta hedónica*. *Endocrinología, diabetes y nutrición*, 65(2), 114–125. <https://doi.org/10.1016/j.endinu.2017.09.008>.

Hill, J. O., & Peters, J. C. (1998). Environmental contributions to the obesity epidemic. *Science (New York, N.Y.)*, 280(5368), 1371–1374. <https://doi.org/10.1126/science.280.5368.1371>.

Holvoet, P., De Keyzer, D., Jacobs, D. R., & Jr. (2008). Oxidized LDL and the metabolic syndrome. *Future Lipidology*, 3(6), 637–649. <https://doi.org/10.2217/17460875.3.6.637>.

Horrobin D. F. (1997). Essential fatty acids in the management of impaired nerve function in diabetes. *Diabetes*, 46 Suppl 2, S90–S93. <https://doi.org/10.2337/diab.46.2.s90>.

Hu X, Xu B, Ge W. The Role of Lipid Bodies in the Microglial Aging Process and Related Diseases. *Neurochem Res.* 2017 Nov;42(11):3140-3148. doi: 10.1007/s11064-017-2351-4. Epub 2017 Jul 11. PMID: 28699057.

Hu, Z., Dai, Y., Prentki, M., Chohnan, S., & Lane, M. D. (2005). A role for hypothalamic malonyl-CoA in the control of food intake. *The Journal of biological chemistry*, 280(48), 39681–39683. <https://doi.org/10.1074/jbc.C500398200>

Huang P. L. (2009). A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Disease models & mechanisms*, 2(5-6), 231–237. <https://doi.org/10.1242/dmm.001180>.

Huang, C. Q., Dong, B. R., Wu, H. M., Zhang, Y. L., Wu, J. H., Lu, Z. C., & Flaherty, J. H. (2009). Association of cognitive impairment with serum lipid/lipoprotein among Chinese nonagenarians and centenarians. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, 27(2), 111–116. <https://doi.org/10.1159/000194660>

Huang, J. T., Wang, L., Prabakaran, S., Wengenroth, M., Lockstone, H. E., Koethe, D., Gerth, C. W., Gross, S., Schreiber, D., Lilley, K., Wayland, M., Oxley, D., Leweke, F. M., & Bahn, S. (2008). Independent protein-profiling studies show a decrease in apolipoprotein A1 levels in schizophrenia CSF, brain and peripheral tissues. *Molecular psychiatry*, 13(12), 1118–1128. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4002108>.

Hudgins, L. C., Hellerstein, M. K., Seidman, C. E., Neese, R. A., Tremaroli, J. D., & Hirsch, J. (2000). Relationship between carbohydrate-induced hypertriglyceridemia and fatty acid synthesis in lean and obese subjects. *Journal of lipid research*, 41(4), 595–604.

Hudgins, L. C., Hellerstein, M., Seidman, C., Neese, R., Diakun, J., & Hirsch, J. (1996). Human fatty acid synthesis is stimulated by a eucaloric low fat, high carbohydrate diet. *The Journal of clinical investigation*, 97(9), 2081–2091. <https://doi.org/10.1172/JCI118645>.

Hulette, C. M., Earl, N. L., Anthony, D. C., & Crain, B. J. (1992). Adult onset Niemann-Pick disease type C presenting with dementia and absent organomegaly. *Clinical neuropathology*, 11(6), 293–297.

Husemann, J., Loike, J. D., Anankov, R., Febbraio, M., & Silverstein, S. C. (2002). Scavenger receptors in neurobiology and neuropathology: their role on microglia and

other cells of the nervous system. *Glia*, 40(2), 195–205. <https://doi.org/10.1002/glia.10148>.

Hussain, S. S., & Bloom, S. R. (2013). The regulation of food intake by the gut-brain axis: implications for obesity. *International journal of obesity (2005)*, 37(5), 625–633. <https://doi.org/10.1038/ijo.2012.93>.

Hussain, M. M., Rava, P., Pan, X., Dai, K., Dougan, S. K., Iqbal, J., Lazare, F., & Khatun, I. (2008). Microsomal triglyceride transfer protein in plasma and cellular lipid metabolism. *Current opinion in lipidology*, 19(3), 277–284.

Igarashi, M., Ma, K., Gao, F., Kim, H. W., Rapoport, S. I., & Rao, J. S. (2011). Disturbed choline plasmalogen and phospholipid fatty acid concentrations in Alzheimer's disease prefrontal cortex. *Journal of Alzheimer's disease : JAD*, 24(3), 507–517. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-101608>.

Iizuka, K., Miller, B., & Uyeda, K. (2006). Deficiency of carbohydrate-activated transcription factor ChREBP prevents obesity and improves plasma glucose control in leptin-deficient (*ob/ob*) mice. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 291(2), E358–E364. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00027.2006>.

Jarrard L. E. (1995). What does the hippocampus really do?. *Behavioural brain research*, 71(1-2), 1–10. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(95\)00034-8](https://doi.org/10.1016/0166-4328(95)00034-8).

Kapadia, R., Yi, J. H., & Vemuganti, R. (2008). Mechanisms of anti-inflammatory and neuroprotective actions of PPAR-gamma agonists. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library*, 13, 1813–1826. <https://doi.org/10.2741/2802>

Kao, Y. C., Ho, P. C., Tu, Y. K., Jou, I. M., & Tsai, K. J. (2020). Lipids and Alzheimer's Disease. *International journal of molecular sciences*, 21(4), 1505. <https://doi.org/10.3390/ijms21041505>.

Karpe, F., Dickmann, J. R., & Frayn, K. N. (2011). Fatty acids, obesity, and insulin resistance: time for a reevaluation. *Diabetes*, 60(10), 2441–2449. <https://doi.org/10.2337/db11-0425>.

Kaur J. (2014). A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiology research and practice*, 2014, 943162. <https://doi.org/10.1155/2014/943162> (Retraction published *Cardiol Res Pract.* 2019 Jan 31;2019:4301528).

Khatchadourian, A., Bourque, S. D., Richard, V. R., Titorenko, V. I., & Maysinger, D. (2012). Dynamics and regulation of lipid droplet formation in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated microglia. *Biochimica et biophysica acta*, 1821(4), 607–617. <https://doi.org/10.1016/j.bbaliip.2012.01.007>.

Kim, C. W., Addy, C., Kusunoki, J., Anderson, N. N., Deja, S., Fu, X., Burgess, S. C., Li, C., Ruddy, M., Chakravarthy, M., Previs, S., Milstein, S., Fitzgerald, K., Kelley, D. E., & Horton, J. D. (2017). Acetyl CoA Carboxylase Inhibition Reduces Hepatic Steatosis but Elevates Plasma Triglycerides in Mice and Humans: A Bedside to

Bench Investigation. *Cell metabolism*, 26(2), 394–406.e6.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.07.009>.

Kim, EK, Miller, I., Landree, LE, Borisy-Rudin, FF, Brown, P., Tihan, T., Townsend, CA, Witters, LA, Moran, TH, Kuhajda, FP y Ronnett, GV ( 2002). Expresión de FAS dentro de las neuronas hipotalámicas: un modelo para la disminución de la ingesta de alimentos después del tratamiento con C75. *Revista estadounidense de fisiología. Endocrinología y metabolismo* , 283 (5), E867 – E879. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00178.2002>.

Kivipelto, M., Ngandu, T., Fratiglioni, L., Viitanen, M., Kåreholt, I., Winblad, B., Helkala, E. L., Tuomilehto, J., Soininen, H., & Nissinen, A. (2005). Obesity and vascular risk factors at midlife and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Archives of neurology*, 62(10), 1556–1560.  
<https://doi.org/10.1001/archneur.62.10.1556>.

Klop, B., Elte, J. W., & Cabezas, M. C. (2013). Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. *Nutrients*, 5(4), 1218–1240.  
<https://doi.org/10.3390/nu5041218>.

Klop, B., Proctor, S. D., Mamo, J. C., Botham, K. M., & Castro Cabezas, M. (2012). Understanding postprandial inflammation and its relationship to lifestyle behaviour and metabolic diseases. *International journal of vascular medicine*, 2012, 947417.  
<https://doi.org/10.1155/2012/947417>.

Kohsaka, A., Laposky, A. D., Ramsey, K. M., Estrada, C., Joshu, C., Kobayashi, Y., Turek, F. W., & Bass, J. (2007). High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice. *Cell metabolism*, 6(5), 414–421.  
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.09.006>.

Koudinov, A. R., & Koudinova, N. V. (2001). Essential role for cholesterol in synaptic plasticity and neuronal degeneration. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 15(10), 1858–1860.  
<https://doi.org/10.1096/fj.00-0815fje>.

Kounnas, M. Z., Chappell, D. A., Strickland, D. K., & Argraves, W. S. (1993). Glycoprotein 330, a member of the low density lipoprotein receptor family, binds lipoprotein lipase in vitro. *The Journal of biological chemistry*, 268(19), 14176–14181.

Kuhajda, F. P., Jenner, K., Wood, F. D., Hennigar, R. A., Jacobs, L. B., Dick, J. D., & Pasternack, G. R. (1994). Fatty acid synthesis: a potential selective target for antineoplastic therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91(14), 6379–6383.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.91.14.6379>.

Leblanc, S. E., Srinivasan, R., Ferri, C., Mager, G. M., Gillian-Daniel, A. L., Wrabetz, L., & Svaren, J. (2005). Regulation of cholesterol/lipid biosynthetic genes by

Egr2/Krox20 during peripheral nerve myelination. *Journal of neurochemistry*, 93(3), 737–748. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03056.x>

LeDoux J. (2007). The amygdala. *Current biology : CB*, 17(20), R868–R874. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2007.08.005>.

Lee, S. C., Moore, G. R., Golenwsky, G., & Raine, C. S. (1990). Multiple sclerosis: a role for astroglia in active demyelination suggested by class II MHC expression and ultrastructural study. *Journal of neuropathology and experimental neurology*, 49(2), 122–136.

Lee, C. C., Huang, C. C., Wu, M. Y., & Hsu, K. S. (2005). Insulin stimulates postsynaptic density-95 protein translation via the phosphoinositide 3-kinase-Akt-mammalian target of rapamycin signaling pathway. *The Journal of biological chemistry*, 280(18), 18543–18550. <https://doi.org/10.1074/jbc.M414112200>.

Lehner, R., & Kuksis, A. (1996). Biosynthesis of triacylglycerols. *Progress in lipid research*, 35(2), 169–201. [https://doi.org/10.1016/0163-7827\(96\)00005-7](https://doi.org/10.1016/0163-7827(96)00005-7).

Lehninger, A. L., Nelson, D. L., Cox, M. M., Foix, C. M. C., León, P. S., & Roca, J. V. (2014). *Lehninger principios de bioquímica*. Barcelona: Omega.

Lenglet, S., Montecucco, F., & Mach, F. (2015). Role of matrix metalloproteinases in animal models of ischemic stroke. *Current vascular pharmacology*, 13(2), 161–166. <https://doi.org/10.2174/15701611113116660161>

Lepara, O., Valjevac, A., Alajbegović, A., Začiragić, A., & Nakas-Ićindić, E. (2009). Decreased serum lipids in patients with probable Alzheimer's disease. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 9(3), 215–220. <https://doi.org/10.17305/bjbms.2009.2809>.

Li, X., Sundquist, J., & Sundquist, K. (2012). Subsequent risks of Parkinson disease in patients with autoimmune and related disorders: a nationwide epidemiological study from Sweden. *Neuro-degenerative diseases*, 10(1-4), 277–284. <https://doi.org/10.1159/000333222>.

Liang, G., Yang, J., Horton, J. D., Hammer, R. E., Goldstein, J. L., & Brown, M. S. (2002). Diminished hepatic response to fasting/refeeding and liver X receptor agonists in mice with selective deficiency of sterol regulatory element-binding protein-1c. *The Journal of biological chemistry*, 277(11), 9520–9528. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111421200>.

Lin, M. C., Arbeeny, C., Bergquist, K., Kienzle, B., Gordon, D. A., & Wetterau, J. R. (1994). Cloning and regulation of hamster microsomal triglyceride transfer protein. The regulation is independent from that of other hepatic and intestinal proteins which participate in the transport of fatty acids and triglycerides. *The Journal of biological chemistry*, 269(46), 29138–29145.

- Linden, A. G., Li, S., Choi, H. Y., Fang, F., Fukasawa, M., Uyeda, K., Hammer, R. E., Horton, J. D., Engelking, L. J., & Liang, G. (2018). Interplay between ChREBP and SREBP-1c coordinates postprandial glycolysis and lipogenesis in livers of mice. *Journal of lipid research*, 59(3), 475–487. <https://doi.org/10.1194/jlr.M081836>.
- Loera-Valencia, R., Goikolea, J., Parrado-Fernandez, C., Merino-Serrais, P., & Maioli, S. (2019). Alterations in cholesterol metabolism as a risk factor for developing Alzheimer's disease: Potential novel targets for treatment. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 190, 104–114. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.03.003>.
- Long, S., Tian, Y., Zhang, R., Yang, L., Xu, Y., Jia, L., & Fu, M. (2006). Relationship between plasma HDL subclasses distribution and lipoprotein lipase gene HindIII polymorphism in hyperlipidemia. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 366(1-2), 316–321. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.11.010>.
- Marschallinger, J., Iram, T., Zardeneta, M., Lee, S. E., Lehallier, B., Haney, M. S., Pluvinae, J. V., Mathur, V., Hahn, O., Morgens, D. W., Kim, J., Tevini, J., Felder, T. K., Wolinski, H., Bertozzi, C. R., Bassik, M. C., Aigner, L., & Wyss-Coray, T. (2020). Lipid-droplet-accumulating microglia represent a dysfunctional and proinflammatory state in the aging brain. *Nature neuroscience*, 23(2), 194–208. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0566-1>.
- Martin, M. G., Ahmed, T., Korovaichuk, A., Venero, C., Menchón, S. A., Salas, I., Munck, S., Herreras, O., Balschun, D., & Dotti, C. G. (2014). Constitutive hippocampal cholesterol loss underlies poor cognition in old rodents. *EMBO molecular medicine*, 6(7), 902–917. <https://doi.org/10.15252/emmm.201303711>.
- Mascagni, F., Muly, E. C., Rainnie, D. G., & McDonald, A. J. (2009). Immunohistochemical characterization of parvalbumin-containing interneurons in the monkey basolateral amygdala. *Neuroscience*, 158(4), 1541–1550. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.11.017>.
- Mattson M. P. (2004). Pathways towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*, 430(7000), 631–639. <https://doi.org/10.1038/nature02621>.
- McDonald, A. J., & Mascagni, F. (2002). Immunohistochemical characterization of somatostatin containing interneurons in the rat basolateral amygdala. *Brain research*, 943(2), 237–244. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(02\)02650-1](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(02)02650-1).
- McLachlan R. S. (2009). A brief review of the anatomy and physiology of the limbic system. *The Canadian journal of neurological sciences. Le journal canadien des sciences neurologiques*, 36 Suppl 2, S84–S87.
- Medh, J. D., Bowen, S. L., Fry, G. L., Ruben, S., Andracki, M., Inoue, I., Lalouel, J. M., Strickland, D. K., & Chappell, D. A. (1996). Lipoprotein lipase binds to low density lipoprotein receptors and induces receptor-mediated catabolism of very low density

lipoproteins in vitro. *The Journal of biological chemistry*, 271(29), 17073–17080. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.29.17073>.

Meikle, P. J., & Summers, S. A. (2017). Sphingolipids and phospholipids in insulin resistance and related metabolic disorders. *Nature reviews. Endocrinology*, 13(2), 79–91. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.169>.

Merkel, M., Eckel, R. H., & Goldberg, I. J. (2002). Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation. *Journal of lipid research*, 43(12), 1997–2006. <https://doi.org/10.1194/jlr.r200015-jlr200>.

Merkel, M., Heeren, J., Dudeck, W., Rinninger, F., Radner, H., Breslow, J. L., Goldberg, I. J., Zechner, R., & Greten, H. (2002). Inactive lipoprotein lipase (LPL) alone increases selective cholesterol ester uptake in vivo, whereas in the presence of active LPL it also increases triglyceride hydrolysis and whole particle lipoprotein uptake. *The Journal of biological chemistry*, 277(9), 7405–7411. <https://doi.org/10.1074/jbc.M107914200>.

Merkel, M., Kako, Y., Radner, H., Cho, I. S., Ramasamy, R., Brunzell, J. D., Goldberg, I. J., & Breslow, J. L. (1998). Catalytically inactive lipoprotein lipase expression in muscle of transgenic mice increases very low density lipoprotein uptake: direct evidence that lipoprotein lipase bridging occurs in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(23), 13841–13846. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.23.13841>.

Mielke, M. M., Zandi, P. P., Sjögren, M., Gustafson, D., Ostling, S., Steen, B., & Skoog, I. (2005). High total cholesterol levels in late life associated with a reduced risk of dementia. *Neurology*, 64(10), 1689–1695. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000161870.78572.A5>.

Miller, M., Stone, N. J., Ballantyne, C., Bittner, V., Criqui, M. H., Ginsberg, H. N., Goldberg, A. C., Howard, W. J., Jacobson, M. S., Kris-Etherton, P. M., Lennie, T. A., Levi, M., Mazzone, T., Pennathur, S., American Heart Association Clinical Lipidology, Thrombosis, and Prevention Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism, Council on Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology, Council on Cardiovascular Nursing, & Council on the Kidney in Cardiovascular Disease (2011). Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*, 123(20), 2292–2333. <https://doi.org/10.1161/CIR.0b013e3182160726>.

Moon, M. L., Joesting, J. J., Lawson, M. A., Chiu, G. S., Blevins, N. A., Kwakwa, K. A., & Freund, G. G. (2014). The saturated fatty acid, palmitic acid, induces anxiety-like behavior in mice. *Metabolism: clinical and experimental*, 63(9), 1131–1140. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2014.06.002>.

Moon, Y. S., Latasa, M. J., Kim, K. H., Wang, D., & Sul, H. S. (2000). Two 5'-regions are required for nutritional and insulin regulation of the fatty-acid synthase promoter

in transgenic mice. *The Journal of biological chemistry*, 275(14), 10121–10127. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.14.10121>.

Moullé, V. S., Cansell, C., Luquet, S., & Cruciani-Guglielmacci, C. (2012). The multiple roles of fatty acid handling proteins in brain. *Frontiers in physiology*, 3, 385. <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00385>.

Mulder, M., Lombardi, P., Jansen, H., van Berkel, T. J., Frants, R. R., & Havekes, L. M. (1992). Heparan sulphate proteoglycans are involved in the lipoprotein lipase-mediated enhancement of the cellular binding of very low density and low density lipoproteins. *Biochemical and biophysical research communications*, 185(2), 582–587. [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(92\)91664-c](https://doi.org/10.1016/0006-291x(92)91664-c).

Mulder, M., Lombardi, P., Jansen, H., van Berkel, T. J., Frants, R. R., & Havekes, L. M. (1993). Low density lipoprotein receptor internalizes low density and very low density lipoproteins that are bound to heparan sulfate proteoglycans via lipoprotein lipase. *The Journal of biological chemistry*, 268(13), 9369–9375.

Moreno, S., Farioli-Vecchioli, S., & Cerù, M. P. (2004). Immunolocalization of peroxisome proliferator-activated receptors and retinoid X receptors in the adult rat CNS. *Neuroscience*, 123(1), 131–145. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.08.064>

Mufson, E. J., Counts, S. E., Perez, S. E., & Ginsberg, S. D. (2008). Cholinergic system during the progression of Alzheimer's disease: therapeutic implications. *Expert review of neurotherapeutics*, 8(11), 1703–1718. <https://doi.org/10.1586/14737175.8.11.1703>

Nakamura, M. T., & Nara, T. Y. (2002). Gene regulation of mammalian desaturases. *Biochemical Society transactions*, 30(Pt 6), 1076–1079. <https://doi.org/10.1042/bst0301076>

Nuñez, M., Peinado-Onsurbe, J., Vilaró, S., & Llobera, M. (1995). Lipoprotein lipase activity in developing rat brain areas. *Biology of the neonate*, 68(2), 119–127. <https://doi.org/10.1159/000244227>.

O'Brien, P. D., Hinder, L. M., Callaghan, B. C., & Feldman, E. L. (2017). Neurological consequences of obesity. *The Lancet. Neurology*, 16(6), 465–477. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30084-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30084-4).

Obunike, J. C., Edwards, I. J., Rumsey, S. C., Curtiss, L. K., Wagner, W. D., Deckelbaum, R. J., & Goldberg, I. J. (1994). Cellular differences in lipoprotein lipase-mediated uptake of low density lipoproteins. *The Journal of biological chemistry*, 269(18), 13129–13135.

Organización Mundial de la Salud.

Ortega-Prieto, P., & Postic, C. (2019). Carbohydrate Sensing Through the Transcription Factor ChREBP. *Frontiers in genetics*, 10, 472. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00472>.

Osborne T. F. (2000). Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): key regulators of nutritional homeostasis and insulin action. *The Journal of biological chemistry*, 275(42), 32379–32382. <https://doi.org/10.1074/jbc.R000017200>.

Osei-Hyiaman, D., DePetrillo, M., Pacher, P., Liu, J., Radaeva, S., Bátkai, S., Harvey-White, J., Mackie, K., Offertáler, L., Wang, L., & Kunos, G. (2005). Endocannabinoid activation at hepatic CB1 receptors stimulates fatty acid synthesis and contributes to diet-induced obesity. *The Journal of clinical investigation*, 115(5), 1298–1305. <https://doi.org/10.1172/JCI23057>

Pacifico, L., Anania, C., Osborn, J. F., Ferraro, F., Bonci, E., Olivero, E., & Chiesa, C. (2011). Low 25(OH)D3 levels are associated with total adiposity, metabolic syndrome, and hypertension in Caucasian children and adolescents. *European journal of endocrinology*, 165(4), 603–611. <https://doi.org/10.1530/EJE-11-0545>.

Pan, X., & Hussain, M. M. (2012). Gut triglyceride production. *Biochimica et biophysica acta*, 1821(5), 727–735. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2011.09.013>.

Panda, S., Antoch, M. P., Miller, B. H., Su, A. I., Schook, A. B., Straume, M., Schultz, P. G., Kay, S. A., Takahashi, J. S., & Hogenesch, J. B. (2002). Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. *Cell*, 109(3), 307–320. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)00722-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00722-5).

Panzenboeck, U., Wintersberger, A., Levak-Frank, S., Zimmermann, R., Zechner, R., Kostner, G. M., Malle, E., & Sattler, W. (1997). Implications of endogenous and exogenous lipoprotein lipase for the selective uptake of HDL3-associated cholesteryl esters by mouse peritoneal macrophages. *Journal of lipid research*, 38(2), 239–253.

Paradis, E., Clavel, S., Julien, P., Murthy, M. R., de Bilbao, F., Arsenijevic, D., Giannakopoulos, P., Vallet, P., & Richard, D. (2004). Lipoprotein lipase and endothelial lipase expression in mouse brain: regional distribution and selective induction following kainic acid-induced lesion and focal cerebral ischemia. *Neurobiology of disease*, 15(2), 312–325. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2003.09.017>.

Parhofer K. G. (2015). Increasing HDL-cholesterol and prevention of atherosclerosis: A critical perspective. *Atherosclerosis. Supplements*, 18, 109–111. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosissup.2015.02.020>.

Parsons, C. G., Stöffler, A., & Danysz, W. (2007). Memantine: a NMDA receptor antagonist that improves memory by restoration of homeostasis in the glutamatergic system--too little activation is bad, too much is even worse. *Neuropharmacology*, 53(6), 699–723. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.07.013>.

Pasinetti, G. M., Johnson, S. A., Oda, T., Rozovsky, I., & Finch, C. E. (1994). Clusterin (SGP-2): a multifunctional glycoprotein with regional expression in astrocytes and neurons of the adult rat brain. *The Journal of comparative neurology*, 339(3), 387–400. <https://doi.org/10.1002/cne.903390307>.

Patsch, J. R., Miesenböck, G., Hopferwieser, T., Mühlberger, V., Knapp, E., Dunn, J. K., Gotto, A. M., Jr, & Patsch, W. (1992). Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state. *Arteriosclerosis and thrombosis : a journal of vascular biology*, 12(11), 1336–1345. <https://doi.org/10.1161/01.atv.12.11.1336>.

Payabvash, S., Souza, L. C., Wang, Y., Schaefer, P. W., Furie, K. L., Halpern, E. F., Gonzalez, R. G., & Lev, M. H. (2011). Regional ischemic vulnerability of the brain to hypoperfusion: the need for location specific computed tomography perfusion thresholds in acute stroke patients. *Stroke*, 42(5), 1255–1260. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.600940>.

Peditzi, E., Peters, R., & Beckett, N. (2016). The risk of overweight/obesity in mid-life and late life for the development of dementia: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Age and ageing*, 45(1), 14–21. <https://doi.org/10.1093/ageing/afv151>.

Pereira, I. V., Stefano, J. T., & Oliveira, C. P. (2011). Microsomal triglyceride transfer protein and nonalcoholic fatty liver disease. *Expert review of gastroenterology & hepatology*, 5(2), 245–251. <https://doi.org/10.1586/egh.11.22>.

Pfriege, F. W., & Ungerer, N. (2011). Cholesterol metabolism in neurons and astrocytes. *Progress in lipid research*, 50(4), 357–371. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2011.06.002>.

Pitkänen, A., Savander, V., & LeDoux, J. E. (1997). Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends in neurosciences*, 20(11), 517–523. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(97\)01125-9](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(97)01125-9).

Pohl, J., Ring, A., Eehalt, R., Schulze-Bergkamen, H., Schad, A., Verkade, P., & Stremmel, W. (2004). Long-chain fatty acid uptake into adipocytes depends on lipid raft function. *Biochemistry*, 43(14), 4179–4187. <https://doi.org/10.1021/bi035743m>.

Poitelon, Y., Kopec, A. M., & Belin, S. (2020). Myelin Fat Facts: An Overview of Lipids and Fatty Acid Metabolism. *Cells*, 9(4), 812. <https://doi.org/10.3390/cells9040812>.

Poungvarin, N., Lee, J. K., Yechoor, V. K., Li, M. V., Assavapokee, T., Suksaranjit, P., Thepsongwajja, J. J., Saha, P. K., Oka, K., & Chan, L. (2012). Carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) plays a pivotal role in beta cell glucotoxicity. *Diabetologia*, 55(6), 1783–1796. <https://doi.org/10.1007/s00125-012-2506-4>

Proctor, S. D., & Mamo, J. C. (2003). Intimal retention of cholesterol derived from apolipoprotein B100- and apolipoprotein B48-containing lipoproteins in carotid arteries of Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 23(9), 1595–1600. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000084638.14534.0A>.

Pugazhenthii, S., Qin, L., & Reddy, P. H. (2017). Common neurodegenerative pathways in obesity, diabetes, and Alzheimer's disease. *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease*, 1863(5), 1037–1045. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2016.04.017>.

Quan, G., Xie, C., Dietschy, J. M., & Turley, S. D. (2003). Ontogenesis and regulation of cholesterol metabolism in the central nervous system of the mouse. *Brain research. Developmental brain research*, 146(1-2), 87–98.

Rambold, AS, Cohen, S. y Lippincott-Schwartz, J. (2015). Tráfico de ácidos grasos en células hambrientas: regulación por lipólisis de gotitas de lípidos, autofagia y dinámica de fusión mitocondrial. *Celda de desarrollo*, 32 (6), 678–692. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2015.01.029>.

Rebolledo-Solleiro, D., Roldán-Roldán, G., Díaz, D., Velasco, M., Larqué, C., Rico-Rosillo, G., Vega-Robledo, G. B., Zambrano, E., Hiriart, M., & Pérez de la Mora, M. (2017). Increased anxiety-like behavior is associated with the metabolic syndrome in non-stressed rats. *PLoS one*, 12(5), e0176554. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176554>.

Reitz, C., Tang, M. X., Manly, J., Schupf, N., Mayeux, R., & Luchsinger, J. A. (2008). Plasma lipid levels in the elderly are not associated with the risk of mild cognitive impairment. *Dementia and geriatric cognitive disorders*, 25(3), 232–237. <https://doi.org/10.1159/000115847>.

Ricciarelli, R., D'Abramo, C., Zingg, J. M., Giliberto, L., Markesbery, W., Azzi, A., Marinari, U. M., Pronzato, M. A., & Tabaton, M. (2004). CD36 overexpression in human brain correlates with beta-amyloid deposition but not with Alzheimer's disease. *Free radical biology & medicine*, 36(8), 1018–1024. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.01.007>.

Ricote, M., Li, A. C., Willson, T. M., Kelly, C. J., & Glass, C. K. (1998). The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma is a negative regulator of macrophage activation. *Nature*, 391(6662), 79–82. <https://doi.org/10.1038/34178>

Rinninger, F., Brundert, M., Brosch, I., Donarski, N., Budzinski, RM y Greten, H. (2001). La lipoproteína lipasa media un aumento en la captación selectiva de ésteres de colesterol asociados a HDL por las células en cultivo independientemente del receptor eliminador BI. *Revista de investigación de lípidos*, 42 (11), 1740-1751.

Roberts S. B. (2000). Regulation of energy intake in relation to metabolic state and nutritional status. *European journal of clinical nutrition*, 54 Suppl 3, S64–S69. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601027>.

Roberts, R., Hodson, L., Dennis, A. L., Neville, M. J., Humphreys, S. M., Harnden, K. E., Micklem, K. J., & Frayn, K. N. (2009). Markers of de novo lipogenesis in adipose tissue: associations with small adipocytes and insulin sensitivity in humans. *Diabetologia*, 52(5), 882–890. <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1300-4>.

Rolls E. T. (2019). The cingulate cortex and limbic systems for emotion, action, and memory. *Brain structure & function*, 224(9), 3001–3018. <https://doi.org/10.1007/s00429-019-01945-2>.

Roy, A., Jana, M., Corbett, G. T., Ramaswamy, S., Kordower, J. H., Gonzalez, F. J., & Pahan, K. (2013). Regulation of cyclic AMP response element binding and hippocampal plasticity-related genes by peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$ . *Cell reports*, 4(4), 724–737. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.07.028>.

Sabogal-Guáqueta, A. M., Arias-Londoño, J. D., Gutierrez-Vargas, J., Sepulveda-Falla, D., Glatzel, M., Villegas-Lanau, A., & Cardona-Gómez, G. P. (2020). Common disbalance in the brain parenchyma of dementias: Phospholipid profile analysis between CADASIL and sporadic Alzheimer's disease. *Biochimica et biophysica acta. Molecular basis of disease*, 1866(8), 165797. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165797>.

Saklayen M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current hypertension reports*, 20(2), 12. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>.

Sato, K., Okajima, F., Miyashita, K., Imamura, S., Kobayashi, J., Stanhope, K. L., Havel, P. J., Machida, T., Sumino, H., Murakami, M., Schaefer, E., & Nakajima, K. (2016). The majority of lipoprotein lipase in plasma is bound to remnant lipoproteins: A new definition of remnant lipoproteins. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 461, 114–125. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.06.020>.

Schorsch, F., Malle, E., & Sattler, W. (1997). Selective uptake of high density lipoprotein-associated cholesterylesters by differentiated Ob1771 adipocytes is modulated by endogenous and exogenous lipoprotein lipase. *FEBS letters*, 414(3), 507–513. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(97\)01061-2](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(97)01061-2).

Schutz Y. (2004). Concept of fat balance in human obesity revisited with particular reference to de novo lipogenesis. *International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity*, 28 Suppl 4, S3–S11. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802852>.

Schwarz, J. M., Linfoot, P., Dare, D., & Aghajanian, K. (2003). Hepatic de novo lipogenesis in normoinsulinemic and hyperinsulinemic subjects consuming high-fat, low-carbohydrate and low-fat, high-carbohydrate isoenergetic diets. *The American journal of clinical nutrition*, 77(1), 43–50. <https://doi.org/10.1093/ajcn/77.1.43>.

Schwarz, JM, Neese, RA, Turner, S., Dare, D. y Hellerstein, MK (1995). Alteraciones a corto plazo en la ingesta energética de carbohidratos en humanos. Efectos sorprendentes sobre la producción de glucosa hepática, la lipogénesis de novo, la lipólisis y la selección de combustible en todo el cuerpo. *Revista de investigación clínica*, 96 (6), 2735–2743. <https://doi.org/10.1172/JCI118342>

Sebastião, A. M., Colino-Oliveira, M., Assaife-Lopes, N., Dias, R. B., & Ribeiro, J. A. (2013). Lipid rafts, synaptic transmission and plasticity: impact in age-related neurodegenerative diseases. *Neuropharmacology*, 64, 97–107.

Seo, T., Al-Haideri, M., Treskova, E., Worgall, T. S., Kako, Y., Goldberg, I. J., & Deckelbaum, R. J. (2000). Lipoprotein lipase-mediated selective uptake from low density lipoprotein requires cell surface proteoglycans and is independent of scavenger receptor class B type 1. *The Journal of biological chemistry*, 275(39), 30355–30362. <https://doi.org/10.1074/jbc.M910327199>.

Shimabukuro, M., Kozuka, C., Taira, S., Yabiku, K., Dagvasumberel, M., Ishida, M., Matsumoto, S., Yagi, S., Fukuda, D., Yamakawa, K., Higa, M., Soeki, T., Yoshida, H., Masuzaki, H., & Sata, M. (2013). Ectopic fat deposition and global cardiometabolic risk: new paradigm in cardiovascular medicine. *The journal of medical investigation : JMI*, 60(1-2), 1–14. <https://doi.org/10.2152/jmi.60.1>.

Shimabukuro, M. K., Langhi, L. G., Cordeiro, I., Brito, J. M., Batista, C. M., Mattson, M. P., & Mello Coelho, V. d. (2016). Lipid-laden cells differentially distributed in the aging brain are functionally active and correspond to distinct phenotypes. *Scientific reports*, 6, 23795. <https://doi.org/10.1038/srep23795>

Sima A. A. (2003). New insights into the metabolic and molecular basis for diabetic neuropathy. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 60(11), 2445–2464. <https://doi.org/10.1007/s00018-003-3084-x>

Simons, L. A., Dwyer, T., Simons, J., Bernstein, L., Mock, P., Poonia, N. S., Balasubramaniam, S., Baron, D., Branson, J., & Morgan, J. (1987). Chylomicrons and chylomicron remnants in coronary artery disease: a case-control study. *Atherosclerosis*, 65(1-2), 181–189. [https://doi.org/10.1016/0021-9150\(87\)90020-7](https://doi.org/10.1016/0021-9150(87)90020-7).

Sitoh, Y. Y., & Tien, R. D. (1997). The limbic system. An overview of the anatomy and its development. *Neuroimaging clinics of North America*, 7(1), 1–10.

Smith, U. y Kahn, BB (2016). El tejido adiposo regula la sensibilidad a la insulina: papel de la adipogénesis, lipogénesis de novo y nuevos lípidos. *Revista de medicina interna*, 280 (5), 465–475. <https://doi.org/10.1111/joim.12540>.

Snipes, G. J., & Suter, U. (1997). Cholesterol and myelin. *Sub-cellular biochemistry*, 28, 173–204. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5901-6\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5901-6_7).

Solomon, A., Kåreholt, I., Ngandu, T., Winblad, B., Nissinen, A., Tuomilehto, J., Soininen, H., & Kivipelto, M. (2007). Serum cholesterol changes after midlife and late-life cognition: twenty-one-year follow-up study. *Neurology*, 68(10), 751–756. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000256368.57375.b7>.

Song, K., Wang, S., Mani, M., & Mani, A. (2014). Wnt signaling, de novo lipogenesis, adipogenesis and ectopic fat. *Oncotarget*, 5(22), 11000–11003. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.2769>.

Song, Z., Xiaoli, A. M., & Yang, F. (2018). Regulation and Metabolic Significance of De Novo Lipogenesis in Adipose Tissues. *Nutrients*, 10(10), 1383. <https://doi.org/10.3390/nu10101383>.

Sorensen, A., Travers, M. T., Vernon, R. G., Price, N. T., & Barber, M. C. (2002). Localization of messenger RNAs encoding enzymes associated with malonyl-CoA metabolism in mouse brain. *Brain research. Gene expression patterns*, 1(3-4), 167–173. [https://doi.org/10.1016/s1567-133x\(02\)00013-3](https://doi.org/10.1016/s1567-133x(02)00013-3).

Spencer, E. B., Bianchi, A., Widmer, J., & Witters, L. A. (1993). Brain acetyl-CoA carboxylase: isozymic identification and studies of its regulation during development and altered nutrition. *Biochemical and biophysical research communications*, 192(2), 820–825. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1993.1488>

Strauss, J. G., Frank, S., Kratky, D., Hämmerle, G., Hrzenjak, A., Knipping, G., von Eckardstein, A., Kostner, G. M., & Zechner, R. (2001). Adenovirus-mediated rescue of lipoprotein lipase-deficient mice. Lipolysis of triglyceride-rich lipoproteins is essential for high density lipoprotein maturation in mice. *The Journal of biological chemistry*, 276(39), 36083–36090. <https://doi.org/10.1074/jbc.M104430200>.

Suman, R. K., Ray Mohanty, I., Borde, M. K., Maheshwari, U., & Deshmukh, Y. A. (2016). Development of an Experimental Model of Diabetes Co-Existing with Metabolic Syndrome in Rats. *Advances in pharmacological sciences*, 2016, 9463476. <https://doi.org/10.1155/2016/9463476>.

Takahashi, S., Suzuki, J., Kohno, M., Oida, K., Tamai, T., Miyabo, S., Yamamoto, T., & Nakai, T. (1995). Enhancement of the binding of triglyceride-rich lipoproteins to the very low density lipoprotein receptor by apolipoprotein E and lipoprotein lipase. *The Journal of biological chemistry*, 270(26), 15747–15754. <https://doi.org/10.1074/jbc.270.26.15747>.

Towle, H. C., Kaytor, E. N., & Shih, H. M. (1997). Regulation of the expression of lipogenic enzyme genes by carbohydrate. *Annual review of nutrition*, 17, 405–433. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.17.1.405>.

Treviño, S., Aguilar-Alonso, P., Flores Hernandez, J. A., Brambila, E., Guevara, J., Flores, G., Lopez-Lopez, G., Muñoz-Arenas, G., Morales-Medina, J. C., Toxqui, V., Venegas, B., & Diaz, A. (2015). A high calorie diet causes memory loss, metabolic

syndrome and oxidative stress into hippocampus and temporal cortex of rats. *Synapse (New York, N.Y.)*, 69(9), 421–433. <https://doi.org/10.1002/syn.21832>.

Treviño, S., Sánchez-Lara, E., Sarmiento-Ortega, V. E., Sánchez-Lombardo, I., Flores-Hernández, J. Á., Pérez-Benítez, A., Brambila-Colombres, E., & González-Vergara, E. (2015). Hypoglycemic, lipid-lowering and metabolic regulation activities of metforminium decavanadate (H<sub>2</sub>Metf)<sub>3</sub> [V<sub>10</sub>O<sub>28</sub>]-8H<sub>2</sub>O using hypercaloric-induced carbohydrate and lipid deregulation in Wistar rats as biological model. *Journal of inorganic biochemistry*, 147, 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2015.04.002>

Treviño, S., Aguilar-Alonso, P., Flores Hernandez, J. A., Brambila, E., Guevara, J., Flores, G., Lopez-Lopez, G., Muñoz-Arenas, G., Morales-Medina, J. C., Toxqui, V., Venegas, B., & Diaz, A. (2015). A high calorie diet causes memory loss, metabolic syndrome and oxidative stress into hippocampus and temporal cortex of rats. *Synapse (New York, N.Y.)*, 69(9), 421–433. <https://doi.org/10.1002/syn.21832>.

Treviño, S., Vázquez-Roque, R. A., López-López, G., Perez-Cruz, C., Moran, C., Handal-Silva, A., González-Vergara, E., Flores, G., Guevara, J., & Díaz, A. (2017). Metabolic syndrome causes recognition impairments and reduced hippocampal neuronal plasticity in rats. *Journal of chemical neuroanatomy*, 82, 65–75. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2017.02.007>.

Uauy, R., & Dangour, A. D. (2006). Nutrition in brain development and aging: role of essential fatty acids. *Nutrition reviews*, 64(5 Pt 2), S24–S91. <https://doi.org/10.1301/nr.2006.may.s24-s33>.

Verheijen, M. H., Chrast, R., Burrola, P., & Lemke, G. (2003). Local regulation of fat metabolism in peripheral nerves. *Genes & development*, 17(19), 2450–2464. <https://doi.org/10.1101/gad.1116203>.

Villanueva, C. J., Monetti, M., Shih, M., Zhou, P., Watkins, S. M., Bhanot, S., & Farese, R. V., Jr (2009). Specific role for acyl CoA:Diacylglycerol acyltransferase 1 (Dgat1) in hepatic steatosis due to exogenous fatty acids. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 50(2), 434–442. <https://doi.org/10.1002/hep.22980>.

Vreugdenhil, M., Bruehl, C., Voskuyl, R. A., Kang, J. X., Leaf, A., & Wadman, W. J. (1996). Polyunsaturated fatty acids modulate sodium and calcium currents in CA1 neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(22), 12559–12563. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.22.12559>

Walkin S. J. (1989). Fatty acid synthase, a proficient multifunctional enzyme. *Biochemistry*, 28(11), 4523–4530. <https://doi.org/10.1021/bi00437a001>

Wang, H., & Eckel, R. H. (2014). What are lipoproteins doing in the brain?. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 25(1), 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.10.003>.

- Wang, H., Astarita, G., Taussig, M. D., Bharadwaj, K. G., DiPatrizio, N. V., Nave, K. A., Piomelli, D., Goldberg, I. J., & Eckel, R. H. (2011). Deficiency of lipoprotein lipase in neurons modifies the regulation of energy balance and leads to obesity. *Cell metabolism*, 13(1), 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.12.006>.
- Wang, Y., Viscarra, J., Kim, S. J., & Sul, H. S. (2015). Transcriptional regulation of hepatic lipogenesis. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 16(11), 678–689. <https://doi.org/10.1038/nrm4074>.
- Warden, A., Truitt, J., Merriman, M., Ponomareva, O., Jameson, K., Ferguson, L. B., Mayfield, R. D., & Harris, R. A. (2016). Localization of PPAR isotypes in the adult mouse and human brain. *Scientific reports*, 6, 27618. <https://doi.org/10.1038/srep27618>.
- Wassall, S. R., Leng, X., Canner, S. W., Pennington, E. R., Kinnun, J. J., Cavazos, A. T., Dadoo, S., Johnson, D., Heberle, F. A., Katsaras, J., & Shaikh, S. R. (2018). Docosahexaenoic acid regulates the formation of lipid rafts: A unified view from experiment and simulation. *Biochimica et biophysica acta. Biomembranes*, 1860(10), 1985–1993. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2018.04.016>.
- Weiser, M. J., Butt, C. M., & Mohajeri, M. H. (2016). Docosahexaenoic Acid and Cognition throughout the Lifespan. *Nutrients*, 8(2), 99. <https://doi.org/10.3390/nu8020099>.
- Wetterau, J. R., Lin, M. C., & Jamil, H. (1997). Microsomal triglyceride transfer protein. *Biochimica et biophysica acta*, 1345(2), 136–150. [https://doi.org/10.1016/s0005-2760\(96\)00168-3](https://doi.org/10.1016/s0005-2760(96)00168-3).
- Wilhelm, I., Nyúl-Tóth, Á., Suciú, M., Hermenean, A., & Krizbai, I. A. (2016). Heterogeneity of the blood-brain barrier. *Tissue barriers*, 4(1), <https://doi.org/10.1080/21688370.2016.1143544>.
- Wilson, D. M., & Binder, L. I. (1997). Free fatty acids stimulate the polymerization of tau and amyloid beta peptides. In vitro evidence for a common effector of pathogenesis in Alzheimer's disease. *The American journal of pathology*, 150(6), 2181–2195.
- Wilson, M. R., Yerbury, J. J., & Poon, S. (2008). Potential roles of abundant extracellular chaperones in the control of amyloid formation and toxicity. *Molecular bioSystems*, 4(1), 42–52. <https://doi.org/10.1039/b712728f>.
- Wójtowicz, S., Strosznajder, A. K., Jeżyna, M., & Strosznajder, J. B. (2020). The Novel Role of PPAR Alpha in the Brain: Promising Target in Therapy of Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Disorders. *Neurochemical research*, 45(5), 972–988. <https://doi.org/10.1007/s11064-020-02993-5>

Wong, S. K., Chin, K.-Y., Suhaimi, F. H., Fairus, A., & Ima-Nirwana, S. (2016). Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutrition & Metabolism*, 13(1). doi:10.1186/s12986-016-0123-9.

Xian, X., Liu, T., Yu, J., Wang, Y., Miao, Y., Zhang, J., Yu, Y., Ross, C., Karasinska, JM, Hayden, MR, Liu, G. y Chui, D. (2009). Defectos presinápticos subyacentes al deterioro de la función de aprendizaje y memoria en ratones con deficiencia de lipoproteína lipasa. *La Revista de neurociencia: la revista oficial de la Sociedad de Neurociencia*, 29 (14), 4681–4685. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0297-09.2009>.

Xu, X., So, J. S., Park, J. G., & Lee, A. H. (2013). Transcriptional control of hepatic lipid metabolism by SREBP and ChREBP. *Seminars in liver disease*, 33(4), 301–311. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1358523>.

Yacoub, L. K., Vanni, T. M., & Goldberg, I. J. (1990). Lipoprotein lipase mRNA in neonatal and adult mouse tissues: comparison of normal and combined lipase deficiency (cld) mice assessed by in situ hybridization. *Journal of lipid research*, 31(10), 1845–1852.

Yanagihara H, Ando H, Hayashi Y, Obi Y, Fujimura A. High-fat feeding exerts minimal effects on rhythmic mRNA expression of clock genes in mouse peripheral tissues. *Chronobiol Int.* 2006;23(5):905-14. doi: 10.1080/07420520600827103.

Yang, F., Vought, B. W., Satterlee, J. S., Walker, A. K., Jim Sun, Z. Y., Watts, J. L., DeBeaumont, R., Saito, R. M., Hyberts, S. G., Yang, S., Macol, C., Iyer, L., Tjian, R., van den Heuvel, S., Hart, A. C., Wagner, G., & Näär, A. M. (2006). An ARC/Mediator subunit required for SREBP control of cholesterol and lipid homeostasis. *Nature*, 442(7103), 700–704. <https://doi.org/10.1038/nature04942>.

Yuan, G., Chen, X., & Li, D. (2015). Modulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR  $\gamma$ ) by conjugated fatty acid in obesity and inflammatory bowel disease. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(7), 1883–1895. <https://doi.org/10.1021/jf505050c>

Zaidi, N., Lupien, L., Kuemmerle, N. B., Kinlaw, W. B., Swinnen, J. V., & Smans, K. (2013). Lipogenesis and lipolysis: the pathways exploited by the cancer cells to acquire fatty acids. *Progress in lipid research*, 52(4), 585–589. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2013.08.005>.

Zeng, Y., Tao, N., Chung, K. N., Heuser, J. E., & Lublin, D. M. (2003). Endocytosis of oxidized low density lipoprotein through scavenger receptor CD36 utilizes a lipid raft pathway that does not require caveolin-1. *The Journal of biological chemistry*, 278(46), 45931–45936.

Zhang, E. E., Liu, Y., Dentin, R., Pongsawakul, P. Y., Liu, A. C., Hirota, T., Nusinow, D. A., Sun, X., Landais, S., Kodama, Y., Brenner, D. A., Montminy, M., & Kay, S. A. (2010). Cryptochrome mediates circadian regulation of cAMP signaling and hepatic

gluconeogenesis. *Nature medicine*, 16(10), 1152–1156.  
<https://doi.org/10.1038/nm.2214>.

Zhao, C., Deng, W., & Gage, F. H. (2008). Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell*, 132(4), 645–660.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.01.033>.

Zvonic S, Ptitsyn AA, Conrad SA, Scott LK, Floyd ZE, Kilroy G, Wu X, Goh BC, Mynatt RL, Gimble JM. Characterization of peripheral circadian clocks in adipose tissues. *Diabetes*. 2006 Apr;55(4):962-70. doi: 10.2337/diabetes.55.04.06.db05-0873.

## ANEXOS

### **Anexo 1. Determinación de la concentración de glucosa sérica.**

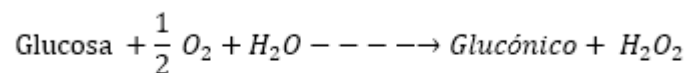
**Método:** De Trinder, Glucosa oxidasa- Peroxidasa. Automatizado

**Fundamento:**

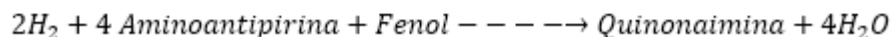
La glucosa presente en la muestra origina un complejo coloreado que se cuantifica por

espectrofotometría.

**Glucosa oxidasa**



**Peroxidasa**



**Condiciones de ensayo:**

- Longitud de onda: 505 nm
- Temperatura: 37 °C

**Procedimiento:**

1. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada
3. Pipetear en un tubo de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
Patrón (A)		10 µL	
Muestra			10 µL
Reactivo	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

4. Agitar bien e incubar los tubos durante 5 minutos a 37 °C.
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y de la muestra a 505 nm frente al blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

**Cálculos**

$$\text{Concentración de la muestra} \left( \frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right) = \left( \frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{patron}}} \right) (100) (\text{Concentración del patrón})$$

## **Anexo 2. Determinación de la concentración de insulina sérica**

**Método:** Ensayo Inmunoenzimométrico

### **Fundamento:**

Los reactivos esenciales requeridos para un ensayo inmunoenzimométrico incluyen anticuerpos de una alta afinidad y especificidad (Ab), (enzima conjugada e inmovilizada), con epitopes de reconocimiento diferentes y distintos, en exceso, y antígeno nativo (Ag). En este procedimiento, la inmovilización toma lugar durante el ensayo en la superficie del pozo en el micro plato durante la interacción de estreptavidina cubierto sobre el pozo y agregando exógenamente anticuerpo de insulina monoclonal biotinilado. Una vez mezclado el anticuerpo monoclonal biotinilado, el anticuerpo de enzima etiquetada y un suero que contiene el antígeno nativo resulta una reacción entre el antígeno nativo y los anticuerpos, sin competencia o sterio hidrance, para formar un complejo de sándwich soluble. Simultáneamente, el complejo es depositado en el pozo a través de la reacción de alta afinidad de estreptavidina y el anticuerpo biotinilado. Después de que se obtiene el equilibrio, la fracción del anticuerpo-atado es separado del antígeno desatado por la decantación o la aspiración. La actividad enzimática en la fracción del anticuerpo-limite es directamente proporcional a la concentración nativa del antígeno.

### **Procedimiento**

1. Saque los micropozos necesarios para cada suero de referencia, controles y muestras. Coloque 50  $\mu$ L de los sueros de referencia, controles y muestras en los pozos correspondientes.
2. Agregue 100 $\mu$ L de la solución del Reactivo de la Enzima de Insulina a todos los pozos y golpear suavemente uno de los extremos de la microplaca por 20- 30 segundos para mezclar. Selle la microplaca con una cubierta de plástico.
3. Incube por 120 minutos a temperatura ambiente (20-27 °C)
4. Deseche el contenido de la microplaca por decantación o aspiración.
5. Agregue 300 $\mu$ L de la solución de lavado. Repita dos (2) veces adicionales.
6. Agregue 0.100 mL (100 $\mu$ L) de la solución de substrato a todos los pozos Incube en la temperatura ambiente por quince (15) minutos.
7. Agregue 0.050 mL (50 $\mu$ L) de la solución de paro a cada pozo y mezcle suavemente por 15-20 segundos. Agregue siempre los reactivos en el mismo orden para reducir al mínimo diferencias del tiempo de reacción entre los pozos.
8. Lea la absorbancia en cada pozo a 450nm (con una longitud de onda de referencia de 620-630nm para reducir al mínimo imperfecciones del pozo) en un lector de microplacas. Los resultados se deben leer en el plazo de treinta (30) minutos de haber agregado la solución de paro.

### **Cálculos**

Una curva en la reacción se usa para comprobar la concentración de insulina en especímenes desconocidos. Registre la absorbancia obtenida del listado del lector de microplacas. Trace la absorbancia para cada referencia duplicada del suero

contra la concentración correspondiente de Insulina en  $\mu\text{IU/mL}$ . Calcule la ecuación de la línea recta para la curva de calibración.

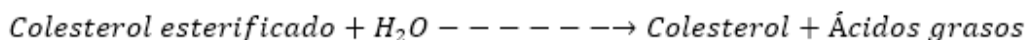
### Anexo 3. Determinación de la concentración de colesterol total

**Método:** CHOD-POD, líquido. Automatizado

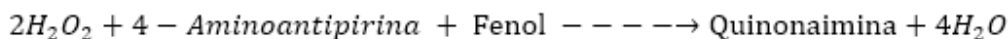
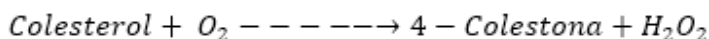
**Fundamento:**

El colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la reacción siguiente:

*Colesterol esterasa*



*Colesterol oxidasa*



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra ensayada.

**Condiciones de ensayo:**

- Longitud de onda: 505 nm
- Temperatura: 37 °C

**Procedimiento**

1. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada
3. Pipetear en un tubo de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
Patrón (A)		10 µL	
Muestra			10 µL
Reactivo	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

4. Agitar bien e incubar los tubos durante 10 minutos a 37 °C.
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y de la muestra a 505 nm frente al blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 60 minutos.

**Cálculos**

$$\text{Concentración de la muestra} \left( \frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right) = \left( \frac{A \text{ muestra}}{A \text{ patrón}} \right) (100) (\text{Concentración del patrón})$$

**Nota:** para la determinación en tejido se tomó la muestra a partir de un homogenado compuesto por 100 mg de tejido y 800 µL de SSI

#### **Anexo 4. Determinación de la concentración de triglicéridos**

**Método:** GPO-POD, líquido. Automatizado

**Fundamento:**

La concentración sérica de triglicéridos, se realizó por química líquida mediante reacciones acopladas que corresponde a una reacción coloreada que se evalúa por espectrofotometría, en la cual los triglicéridos se hidratan mediante una lipasa, en la cual se obtienen glicerol y ácidos grasos libres, el glicerol reacciona con ATP contenido en el reactivo reacción propiciada por la enzima glicerol cinasa, resultando glicerol-3-fosfato y ADP, el glicerol-3-fosfato se oxida por una reacción acoplada por una G-3-P-oxidasa dicha reacción tiene por productos dihidroxiacetona-P y peróxido de hidrógeno, este reacciona a su vez con 4-aminoantipirina y 4-clorofenol mediante una peroxidasa obteniéndose una reacción coloreada de quinonaimina que es medida a una longitud de onda de 505 nm.

**Condiciones de ensayo:**

- Longitud de onda: 505 nm
- Temperatura: 37 °C

**Procedimiento**

1. Atemperar el reactivo a temperatura ambiente.
2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada
3. Pipetear en un tubo de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
Patrón (A)		10 µL	
Muestra			10 µL
Reactivo	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL

4. Agitar bien e incubar los tubos durante 5 minutos a 37 °C.
5. Leer la absorbancia (A) del patrón y de la muestra a 505 nm frente al blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 60 minutos.

**Cálculos**

$$\text{Concentración de la muestra} \left( \frac{mg}{dL} \right) = \left( \frac{A \text{ muestra}}{A \text{ patron}} \right) (100) (\text{Concentración del patrón})$$

**Nota:** para la determinación en tejido se tomó la muestra a partir de un homogenado compuesto por 100 mg de tejido y 800 µL de SSI

## **Anexo 5. Determinación de la concentración de colesterol HDL reactivo precipitante**

**Método:** Reactivo precipitante

### **Fundamento:**

Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y baja densidad (LDL) del suero o plasma, se precipitan con fosfotungstato en presencia de iones magnesio. Tras la centrifugación, el sobrenadante contiene lipoproteínas de alta densidad (HDL). La fracción de HDL colesterol se determina utilizando el reactivo enzimático de colesterol total.

### **Condiciones de ensayo:**

Longitud de onda: 505 nm.

### **Procedimiento**

1. Agregar en un tubo de ensayo:
  - Reactivo: 25  $\mu$ L
  - Suero: 250  $\mu$ L
2. Mezclar y dejar reposar 10 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar 2 min a 12 rpm
4. Recoger el sobrenadante y procesar como muestra en la determinación de colesterol total.

**NOTA:** Es muy importante formar el sobrenadante del menisco formado en el tubo, para ello no introducir demasiado la punta y no arrastrar las fracciones VLDL y LDL.

### **Cálculos**

Seguir las instrucciones detalladas en el inserto de colesterol:

## **Anexo 6. Determinación de la concentración de colesterol LDL reactivo precipitante**

**Método:** Reactivo precipitante

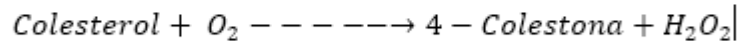
### **Fundamento:**

Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de baja densidad (LDL) presentes en la muestra, precipitan en presencia de fosfotungstato y iones magnesio. El sobrenadante contiene las lipoproteínas de elevada densidad (HDL), cuyo colesterol se cuantifica espectrofotométricamente mediante las reacciones acopladas descritas a continuación:

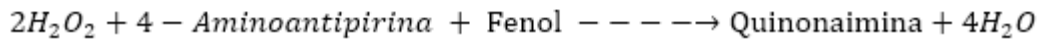
*Colesterol esterasa*



*Colesterol oxidasa*



*Peroxidasa*



### **Procedimiento**

1. Pipetear en un tubo de ensaye:
  - Reactivo: 100  $\mu$ L
  - Suero: 200  $\mu$ L
2. Agitar bien y dejar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar 2 min a 12,000 rpm.
4. Recoger cuidadosamente el sobrenadante y procesar como muestra en la determinación de
5. colesterol total.

**NOTA:** El sobrenadante debe ser completamente claro. En caso de persistir la turbidez o de no obtener una buena sedimentación del precipitado, adicionar otros 200  $\mu$ L de reactivo, mezclar bien y centrifugar de nuevo. Multiplicar el resultado obtenido por 1.3 para corregir la dilución efectuada.

### **Cálculos**

La concentración de colesterol en el sobrenadante se calcula a partir de la siguiente fórmula general:

$$\text{Concentración de la muestra} \left( \frac{mg}{dL} \right) = \left( \frac{A \text{ muestra}}{A \text{ patron}} \right) (100) (\text{Concentración del patrón}) (\text{Factor de dilución})$$

## **Anexo 7. Determinación de la concentración de ácidos grasos libres**

**Método:** Colorimétrico

### **Fundamento:**

Está basado en la formación de sales metálicas de los ácidos y la posterior estimación del metal en los jabones extraídos con un reactivo de color adecuado. La extracción se realiza con cloroformo. Esta afinidad se mejora con alcohol y con el nitrato de cobre. El cobre presente durante la extracción reacciona primero con los ácidos grasos libres generando jabones de cobre, estos son extraídos con el cloroformo. La trietanolamina proporciona un medio básico y favorece la formación de complejos de cobre. La forma en cómo se agita la muestra durante la extracción es de suma importancia, siendo la mezcla vertical en vortex a velocidad media la manera ideal. Se utiliza en una solución con etanol o isopropanol en una relación 1:1 y se desarrolla un color de baja intensidad. El color aparece inmediatamente después de agregar la solución de amoníaco y aumenta rápidamente dependiendo de la concentración de ácidos grasos presentes en la muestra y permanece estable al menos por 25 minutos.

### **Reactivos**

- Cloroformo
- Reactivo de cobre: Consiste en  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , 40,0 g/litro; trietanolamina 99%, 120,0 ml/L (135,0g/L). Se disuelve el nitrato cúprico en 500 ml de agua destilada, agregue la trietanolamina y diluir a 1 litro con agua destilada.
- Reactivo cuprizona. Este consiste en ácido oxálico-bis (cyclohexylidenehydrazide), 0.40 g/litro de isopropanol. Disolver la cuprizona en 10 mL de cloroformo y se diluye con isopropanol para 1 L.
- Reactivo amoníaco. 100 mL de una solución al 58% de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (concentrado) se diluye hasta 1L con agua destilada agua.

### **Procedimiento**

1. Añadir 50  $\mu\text{L}$  de suero en un tubo de ensayo
2. A un tubo semejante, se añaden 50  $\mu\text{L}$  de estándar de ácido oleico.
3. Para otro tubo de ensayo añadir 100  $\mu\text{L}$  de agua, este será el blanco de reactivo.
4. Para todos los tubos añadir 150  $\mu\text{L}$  de reactivo de cobre y 1 ml de cloroformo.
5. Coloque los tubos verticalmente en un vortex y agite por 10 min.
6. Centrifugar los tubos 10 minutos a 1500 rpm.
7. Extraer las fases de cloroformo en otros tubos de ensayo cuidando el no extraer la fase acuosa de color azul.
8. De cada tubo, pipetear 500  $\mu\text{L}$  de extracto de cloroformo y colocar en un nuevo tubo, la evaporación debe mantenerse a un mínimo.
9. A cada tubo, añadir 450  $\mu\text{L}$  de reactivo cuprizona, tapar y agitar suavemente.
10. A cada tubo, añadir 50  $\mu\text{L}$  de solución de amoníaco, tapar y agite suavemente.
11. Lea la absorbancia a 620 nm (frente a un blanco a cero de absorbancia) 10 minutos después de agitar con la solución de amoníaco. Si aparece un

precipitado azul, agitar la cubeta enérgicamente para redispersarlo y leer la absorbancia.

### **Cálculos**

El ácido graso libre (FFA) contenido se calcula:

$$\text{Concentración de la muestra} \left( \frac{mg}{dL} \right) = \left( \frac{A \text{ muestra}}{A \text{ patron}} \right) \left( 8.6 \frac{mg}{dl} \right)$$

## **Anexo 8. Deshidratación y embebido en parafina.**

### **Fundamento:**

Se realiza el proceso de fijación para detener la vida de las células e impedir las modificaciones *postmortem* que puedan sufrir las células (procesos autolíticos) manteniendo la estructura morfológica de las células y tejidos sin que ocurran cambios notables en ellos. Esto se consigue inmovilizando las moléculas proteicas e inhibiendo principalmente las enzimas al hacerlas insolubles. Esta acción garantiza la integridad celular y de los tejidos, se efectúa con el uso de agentes fijadores como lo es la formalina. Después de la fijación y el lavado de las muestras, son deshidratadas e infiltradas con el solvente de la sustancia de inclusión con la finalidad de extraer o remover el agua de los tejidos, para ello se someten las muestras en baños sucesivos en soluciones de concentraciones crecientes de alcohol etílico.

Las parafinas son hidrocarburos saturados provenientes de la destilación del petróleo. La penetración de la parafina a interior de los tejidos se efectúa cuando esta se encuentra en estado líquido. El primer recipiente con parafina recibirá a las muestras embebidas en xilol, la parafina reemplazará el xilol de las muestras y se infiltrará al interior de estas, la parafina 3 servirá como contenedor de las muestras.

### **Procedimiento:**

1. Los tejidos extraídos fueron resguardados en formalina al 4% en PBS 1X, 96 horas antes de la deshidratación se cambiaron a una solución tamponada con formalina al 10%
2. Los tejidos fueron cortados a la mitad y colocados en cassetes para inclusión y rotulados con lápiz.
3. Realizar el siguiente tren de deshidratación:
  - ✓ 45 minutos en PBS 1X para limpiar la formalina del tejido
  - ✓ 1 hora en alcohol al 80%
  - ✓ 1 hora en alcohol al 96%-1
  - ✓ 1 hora en alcohol al 96%-2
  - ✓ 1 hora en alcohol al 100%-1
  - ✓ 1 hora en alcohol al 100%-2
  - ✓ 1 hora en alcohol-xilol (1:1)
  - ✓ 1 hora en xilol 1
  - ✓ 1 hora en xilol 2
  - ✓ 1 hora en parafina 1 (en baño maría a 50 – 55 °C)
  - ✓ 1 hora en parafina 2 (en baño maría a 50 – 55 °C)
  - ✓ 1 hora en parafina 3 (en baño maría a 50 – 55 °C)
  - ✓ Inclusión con paraplast

## Anexo 9. Inmunohistoquímica

### Fundamento:

La inmunohistoquímica (IHC) es un método para detectar la localización de las proteínas y otros antígenos en secciones de tejido usando anticuerpos. En general, los datos IHC proporcionan una perspectiva valiosa que puede ayudar a interpretar los datos obtenidos mediante otros métodos. La clave para la tinción inmunohistoquímica de alta calidad es la especificidad del anticuerpo utilizado. Un anticuerpo altamente específico se unirá sólo a la proteína de interés en la sección de tejido. La interacción antígeno-anticuerpo se visualiza usando la detección ya sea cromógeno o fluorescente. En la detección cromogénica, el anticuerpo se conjuga a una enzima que escinde un sustrato para producir un precipitado coloreado en la ubicación de la proteína. En la detección fluorescente, el anticuerpo está conjugado con un fluoróforo que se puede visualizar mediante microscopía de fluorescencia.

### Procedimiento:

Las laminillas con tejidos se rotulan adecuadamente y se lleva a cabo el proceso de hidratación, que consiste en colocar los tejidos en xilol durante 15 minutos con la finalidad de quitar la parafina, enseguida se realizan 15 baños en otra solución de Xilol, luego en una solución de Alcohol-Xilol en una relación 1:1, de la misma manera 15 baños. Posteriormente en una solución de alcohol absoluto 1, alcohol absoluto 2, alcohol 96% 1 y alcohol 96% 2, realizando 15 baños en cada una de ellas y finalmente se lavan con agua destilada tres veces y se mantienen en buffer de fosfatos (PBS). Después, se realiza la recuperación antigénica utilizando una solución Diva Decloaker de la marca comercial BioCare en una dilución 1:10 durante 40 minutos a 60 °C. Culminado el tiempo, las laminillas se dejan enfriar hasta llegar a una temperatura ambiente y se realiza la inactivación de peroxidasa endógena con peróxido de hidrogeno al 0.3% durante 10 minutos, después se realiza el bloqueo; el cual se realiza con una solución de albumina libre de inmunoglobulinas al 1.0% en solución salina isotónica durante 2 horas, luego se realizan tres lavados con PBS 1X y se coloca el anticuerpo primario con la dilución y tiempo de incubación que se muestran a continuación:

<i>Anticuerpo</i>	<i>Dilución</i>	<i>Tiempo de incubación</i>	<i>Anticuerpo secundario</i>	<i>Dilución</i>	<i>Tiempo de incubación</i>
<i>Anti-PPAR <math>\alpha</math> producido en ratón</i>	1:200	40 horas	Anti-ratón conjugado a PHR	1:200	4 horas
<i>Anti-PPAR <math>\beta</math> producido en ratón</i>	1:200	40 horas	Anti-ratón conjugado a PHR	1:200	4 horas
<i>Anti-DGAT producido conejo</i>	1:200	40 horas	Anti-conejo conjugado a PHR	1:200	4 horas
<i>Anti-FAS producido conejo</i>	1:200	40 horas	Anti-conejo conjugado a PHR	1:200	4 horas
<i>Anti-ChREBP producido conejo</i>	1:200	40 horas	Anti-conejo conjugado a PHR	1:200	4 horas
<i>Anti-SREBP-1c producido conejo</i>	1:200	40 horas	Anti-conejo conjugado a PHR	1:200	4 horas
<i>Anti-CD36 producido conejo</i>	1:200	40 horas	Anti-conejo conjugado a PHR	1:200	4 horas

<i>Anti-ACC producido cabra</i>	1:200	40 horas	Anti-cabra conjugado a PHR	1:200	4 horas
<i>Anti-MTP producido cabra</i>	1:200	40 horas	Anti-cabra conjugado a PHR	1:200	4 horas

Transcurrido el tiempo de incubación se realizan 5 lavados con PBS 1X y se adiciona el anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa durante 4 horas, después se lava 5 veces con PBS 1X y se revela con DAM, posteriormente se inactiva con cloro y se realizan 5 lavados con PBS 1X; la contra tinción se realiza con hematoxilina durante 1 minuto y agregando carbonato de litio al 1% se genera el vire. Por último, se realiza el montaje con resina.

## ***Anexo 10. Tinción con rojo oleoso***

### **Fundamento:**

El rojo aceite O es un colorante lipófilo que, debido a su comportamiento de solución, difunde hacia los lípidos del tejido. La tinción de rojo aceite O se utiliza por ejemplo para la detección de grasas neutras o gránulos de polietileno en tejidos histológicos, en la patología articular, así como en material de muestra citológico.

### **Procedimiento:**

Se realizaron cortes 40  $\mu\text{m}$  de grosor y se colocaron en un portaobjetos previamente embebidos en poli-L-lisina, después se sumergieron en propilenglicol durante 2 minutos para evitar el paso de agua y se tiñó con rojo oleoso al 0.5% por 8 minutos (Sigma-Aldrich). Después de la tinción los cortes se sumergieron nuevamente en propilenglicol al 85%, por último, se lavaron con agua destilada y contratiñeron con hematoxilina durante 3 minutos. Los lípidos se tiñen de color rojo y los núcleos de color azul.

### **Anexo 11. Actividad de lipoprotein lipasa.**

#### **Fundamento:**

La actividad de la enzima se determina al colocar una mezcla de reacción compuesta por buffer y sustrato de la LPL con la muestra y posterior incubación, al finalizar esta, se mide el aumento de fluorescencia con un fluorómetro ( $\lambda = 370$ ). La intensidad de la fluorescencia se determina restando la fluorescencia del blanco, la actividad se obtiene con la ecuación de la recta estándar.

#### **Procedimiento:**

1. Preparar la mezcla de reacción de acuerdo a la siguiente tabla:

<b>Reactivo</b>	<b>Volumen</b>
<b>Buffer de ensayo LPL</b>	195 $\mu\text{L}$
<b>Emulsión de sustrato LPL</b>	1 $\mu\text{L}$

2. Añadir 5  $\mu\text{L}$  de la fuente de LPL deseada (plasma o suero, fresco o congelado) a los pocillos correspondientes. A un blanco de muestra, agregue 5  $\mu\text{L}$  de tampón de ensayo LPL en lugar de la fuente LPL.
3. Selle la placa e incube durante 15–60 minutos a 25–37 ° C.
4. Mida el aumento de fluorescencia de las muestras con un fluorómetro ( $\lambda_{\text{ex}} = 370 / \lambda_{\text{em}} = 450 \text{ nm}$ ). Determina la intensidad de fluorescencia de las muestras de plasma o suero restando la intensidad de fluorescencia del blanco de muestra de cada muestra.
5. Calcule nanomoles de etiqueta en el ensayo con la ecuación de la curva estándar.