BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Facultad de Ciencias Químicas

Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Área de Análisis Clínicos

Tesis profesional para obtener el título de Licenciado en Químico FarmacoBiólogo

"Papel de una dieta hiperglúcida – hipercalórica en el desarrollo de Síndrome Metabólico en diferentes Cepas de *Ratus norvergicus*"

Presenta, pQFB **Lizeth Zepeda Camacho**

Lugar de realización:
Laboratorio de Investigaciones Químico Clínicas

Director de Tesis:
cDC. Samuel Treviño Mora

JUNIO 2015

CONTENIDO

1.- Marco teórico…….. ...5

1.1 Introducción..... 5

1.2 Antecedentes históricos 6

1.3 Definición de Síndrome Metabólico..... 8

1.4 Epidemiologìa..... 11

1.5 Genética de las desregulaciones metabólicas……. ……13

1.6 Nutrición y Síndrome Metabólico..... 16

1.7 Valoración diagnóstica de Síndrome Metabólico..... 17

1.8 Regulación bioquímica de la alimentación normocalórica……18

1.9 Fisiopatología del Síndrome Metabólico por descoordinación energética….21

1.10 Dinámica bioquímica en el tejido adiposo…….42

1.11 Consecuencias de desbalance metabólico y resistencia a la insulina……46

1.12 Resistencia a la insulina y Síndrome Metabólico…….47

1.13 Patologías secundarias……51

1.14 Modelos animales para el estudio de alteraciones metabólicas……...52

1.15 Dietas utilizadas para el desarrollo de enfermedades patofisiológicas en modelos murinos……54

Planteamiento del problema……58

Justificación……59

Objetivos……60

Hipótesis……61

2. Diseño de la investigación……..62

2.1 Tipo de estudio..... 62

2.2 Definición del universo 62

2.3 Tamaño de la muestra 62

2.4 Criterios de selección..... 62

2.6 Manejo estadístico de los datos y pruebas estadísticas……...62

3. Diagrama de trabajo…….63

4. Metodología……64

5. Resultados……..71

6.Discusión…… 86

7. Conclusiones……101

8. Bibliografía……..103

9. Anexos……..122

Anexo 1……122

Anexo 2……123

Anexo 3……125

Anexo 4……127

Anexo 5……129

Anexo 6……131

Anexo 7……133

Anexo 8……135

Anexo 9……137

Agradecimientos

A Dios

Por haberme brindando salud, fuerza y esperanza para terminar con satisfacción cada etapa de mi vida, tanto en el ámbito familiar como escolar y darle gracias por llegar con vida plena hasta aquí. También le agradezco por haberme dado la dicha de tener una familia tan maravillosa, que a pesar de sus altas y bajas siempre hemos estado unidos. Y por permitir que aquellas personas especiales sigan a mi lado con vida y salud.

A mis padres

Por ser el pilar principal de mi vida, agradeciéndoles infinitamente por haberme dejado crecer en un ambiente lleno de amor, felicidad, cariño, consejos, regaños en fin, todo para que al final lograra ser una persona agradecida con la vida y con su familia.

A mi familia

A todas esas personas que quiero muchísimo y que siempre me brindaron su cariño, amor y apoyo en todo momento de mi vida. Mi hermano Arturo, al que adoro muchísimo al igual que su familia y que de alguna manera han sido testigos de cada evento de mi vida, mi abuelita Virgilia, por su gran apoyo desde que nací hasta hoy en día, mi tío Ruben por haber brindado de su tiempo en la elaboración de mi dieta experimental. A Ulises, que ha sido una persona muy importante en esta etapa y en mi vida, pues nunca dejó de brindarme su gran apoyo, amor y paciencia.

A mis amigos

A todas esas personas que conocí en esta etapa universitaria y que se convirtieron en mis grandes amigos incluyendo aquellas que conocí durante el transcurso de este proyecto y que se volvieron muy importantes, inolvidables y queridas para mi.

Al cDC Samuel Treviño Mora

Por haberme brindado la confianza de formar parte de su equipo de investigación, y que gracias a él fue posible este proyecto, por sus consejos, sus regaños, su paciencia y conocimientos. Se le aprecia y se le tiene un cariño especial porque indudablemente fue pieza importante para que diera el primer paso hacia el ámbito laboral teniendo con ello experiencias inolvidables y que sin duda servirán para mi futuro profesional y personal.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 INTRODUCCION

El síndrome metabólico (SM) es una entidad compleja y heterogénea, con un fuerte componente genético y cuya expresión está influida por factores sociales, ambientales, económicos y culturales. Engloba una serie de enfermedades cuya prevalencia tanto en México como a nivel mundial son un problema de salud pública y su impacto radica en que involucra un sin fin de factores de riesgo cardiovascular y dentro de estos, la obesidad juega un papel central en la fisiopatología al ser uno de los factores desencadenante de otras alteraciones metabólicas las cuales están íntimamente relacionadas con el SM, tales como intolerancia a la glucosa, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensión arterial y dislipidemia principalmente, aunque cabe mencionar que tampoco es un factor decisivo.[Mariel E. López, et. al, 2007]

Por otra parte, otro de los factores de riesgo que últimamente ha causado gran impacto sobre la sociedad, es la parte nutricional, principalmente una dieta hiperglúcida y/o hipercalórica, ya que recientes estudios epidemiológicos, demuestran que la ingesta del alimento con estas características podría generar trastornos en el metabolismo de lípidos y carbohidratos, ocasionando así alteraciones que conlleven al desarrollo de SM. Las asociaciones enfocadas a la evaluación de las dietas en México, indican que una dieta caracterizada por el alto consumo de refrescos, refinado de cereales, tortillas de maíz, pastas y bajo consumo de productos lácteos, mariscos y granos integrales, se asocia con mayores probabilidades de desarrollar SM en niños, jóvenes y adultos mexicanos, ya que estadísticas muestran una prevalencia de un 20-50% en adultos y de un 10-20% de la población infantil ya presentan SM. [Niels Wacher-Rodarte, 2009]; a nivel global que ofrecen datos de prevalencia del síndrome metabólico, oscilando entre 13 y 42 %, según la población de origen y los criterios utilizados [Quiróz Cortés, 2014]. A diferencia de los países latinoamericanos y de forma global, el síndrome metabólico según criterios del *National Cholesterol Education Program*

(modificado según los valores de cintura conforme la Federación Internacional de Diabetes) manejan una prevalencia del 42.3% en los adultos mexicanos mayores de 20 años. [Carranza Madrigal et al., 2008]

Uno de los recursos científicos con los que se ha podido establecer el impacto de las dietas hipercalóricas en humanos son los modelos murinos, ya que estos son útiles en el entendimiento de las rutas bioquímicas y el comportamiento celular de diversos órganos afectados. Dentro de dichos modelos, se han creado diversas mutaciones, las cuales conllevan a la disminución o sobre expresión de elementos claves en el desarrollo de SM, incluso modificaciones en las dietas proporcionan datos fidedignos y con poca variabilidad ayudan a la compresión del proceso en el cual se establecen dichas entidades. En cuanto a las dietas existentes para la inducción de las patologías, se hallan dietas con alto contenido lipídico que conducen a la manifestación de los signos y síntomas reconocidos por los organismos internacionales como SM y DM2. Sin embargo, este tipo de dietas no son reflejo fiel de lo que sucede en la población mundial, ya que son los carbohidratos los que se consumen mayoritariamente, y un sobre consumo de los mismos provoca alteraciones fenótipicas característico de las enfermedades en estudio. [André F. Nascimento, 2008].

1.2. ANTECEDENTES HISTORICOS DEL SÍNDROME METABÓLICO

El concepto de SM o agrupación de factores asociados a mayor riesgo cardiovascular viene gestándose desde hace mucho tiempo. Alberti y cols., proporcionaron una de las primeras descripciones conjuntamente con Kylin en 1923, cuando definieron un síndrome consistente en hipertensión, hiperglicemia e hiperuricemia; posteriormente, en 1956, Vague asoció por primera vez hipertensión arterial e hiperuricemia en un grupo de pacientes, sin embargo fue hasta 1966 que Welborn en un estudio de pacientes con hipertensión arterial demostró concentraciones séricas de insulina mayores que en el grupo control,

señalando hiperinsulinemia y describiéndose así por primera vez las consecuencias de la resistencia a la insulina y el desarrollo del Síndrome Metabólico. [Alberto Campos, 2012]

Vague dentro de sus contribuciones ha subrayado la distribución de obesidad en trastornos metabólicos, sin embargo, no fue hasta la década de los ochenta en que adquirió mayor interés. En 1988, Reaven describió un síndrome que se basa en un conjunto de anormalidades con mayor riesgo cardiovascular y propuso el término de síndrome X [Reaven GM. Banting, 1988], en el cual describió un cuadro caracterizado por la agrupación de factores de riesgo cardiovascular (aumento de triglicéridos con disminución de colesterol HDL, hipertensión arterial y obesidad adbominal) asociado con resistencia a la insulina. En su hipótesis la resistencia a la hormona hipoglucemiante juega el papel principal y la obesidad es un factor predisponente, así como a la hipercoagubilidad, los estados proinflamatorios y la microalbuminuria. [Horacio Carbajal y Martín R. Salazar]

A lo largo de los años se han añadido otros componentes a la definición de este síndrome, a la vez que comenzó a recibir nuevas denominaciones como fueron la de Síndrome X plus, cuarteto mortífero, Síndrome plurimetabólico, Síndrome de insulinorresistencia, Síndrome de OROP (dislipidemia, resistencia a la insulina, obesidad e hipertensión arterial, por sus siglas en inglés) y otros.[Horacio Carbajal y Martín R. Salazar] En 1998, el grupo de trabajo de diabetes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) propuso un conjunto de criterios para el diagnóstico de SM, el cual debía incluir evidencias clínicas de resistencia a la insulina, dislipidemias, hipertensión arterial, obesidad (definida por el índice de masa corporal (IMC) o por la relación cintura-cadera) y microalbuminuria. [Horacio Carbajal y Martín R. Salazar]

En el 2001 el panel de expertos sobre detección, evaluación y tratamiento de la Hipercolesterolemia (ATPIII) determinaron los criterios de este síndrome, finalmente en el año 2003; la Asociación Americana de Endocrinología Clínica (AACE) unificó y publico una serie de criterios para establecer el diagnóstico de

síndrome metabólico haciendo énfasis en la utilidad de la prueba de tolerancia a la glucosa y estos nuevos criterios se sumaron a los ya establecidos por la OMS y el ATPIII .[Reaven GM. Banting, 1988].

1.3 DEFINICIÓN DE SÍNDROME METABÓLICO

A nivel internacional, en la actualidad no existe un criterio único para definir el SM. Desde la aparición de su primera definición oficial, hasta la actualidad, han surgido disímiles propuestas con el objetivo de identificar a los individuos que lo presentan y de estimar su prevalencia en diferentes poblaciones. Esos conceptos muestran diferencias, no solo con relación a los componentes que se proponen para su diagnóstico, sino también con respecto a los puntos de corte fijados para cada uno de ellos. En la literatura existen seis principales organismos internacionales los cuales proporcionan sus criterios diagnósticos, propuestos por sus paneles de expertos: [Alberti KG, Zimmet, 1988]

1. World Health Organization (Organización Mundial de la Salud, OMS) [Balkau B, et.al. 2002]
2. European Group for Study of Insulin Resistance (EGIR) [Grundy SM, et. al. 2011]
3. National Cholesterol Education Programme (NCEP-ATP III) [Zimmet P, 2005]
4. International Diabetes Federation Consensus Panel (IDF) [Einhorn D, 2003]
5. American College of Endocrinology (ACE)[Jiménez-Gómez y col.]
6. Asociación Americana del Corazón (AHA) en conjunto con el Instituto Nacional del Corazón, Pulmón y Sangre de los Estados Unidos (NLHBI)[Horacio Carbajal y Martín R. Salazar]
7. NORMA Oficial Mexicana para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus.(3.62.- Síndrome metabólico) [NOM-015-SSA2-2010].

Todas las definiciones, de los organismos anteriormente citados, tienen en común el agrupar una serie de anormalidades en un mismo individuo, que le otorgan un mayor riesgo en el desarrollo de diabetes y de enfermedad cardiovascular, teniendo como base la resistencia insulínica. La insulinorresistencia es la incapacidad de la insulina tanto endógena como exógena para facilitar la captación, entrada y utilización de la glucosa en los tejidos periféricos, creando un estado constante de hiperinsulinemia, la cual a su vez genera una serie de alteraciones asociadas. ES importante destacar que no todo paciente con hiperinsulinemia e incluso con resistencia la insulina desarrollará SM ya que el desarrollo del mismo se requiere defectos metabólicos adicionales como obesidad, dieta hipercalórica rica en grasas y carbohidratos por mencionar algunos. La teoría metabólica sostiene que la hiperinsulinemia compensatoria resultante es el factor que determina un estado proinflamatorio crónico que genera a su vez mayor número de alteraciones del receptor y por lo tanto defectos intracelulales. [AlbertoCampos, 2012]

A continuación se describen los diferentes criterios diagnósticos establecidos por dichas organizaciones.

TABLA 1.- Resumen de criterios utilizados para el diagnóstico de SM

Criterios de diagnóstico	OMS	EGIR	NCEP-ATP III (3 de los siguientes)	AHA/NHLBi (3 de los siguientes)	IDF	NOM-015-SSA2-2010
Insulino-resistencia	GAA, TGA, DM2 o disminución de la sensibilidad a la insulina más de dos de los siguientes	Insulina plasmática mayor al 25% de los valores en ayunas en normodiabéticos *	No lo considera	No lo considera	No lo considera	Disminución de la efectividad de esta hormona ya sea exógena o endógena, en los tejidos muscular, hepático y adiposo.
Obesidad	IMC > 30 y/o relación cintura cadera > 0.9 en varones o > 0.85 en mujeres	Cintura ≥ 94 cm en varones y ≥ 80 cm en mujeres	Cintura ≥120 94 cm en varones y ≥ 88 cm en mujeres	Cintura ≥120 94 cm en varones y ≥ 88 cm en mujeres	Cintura ≥del umbral definido para cada grupo étnico más dos de los siguientes.	Puede estar o no presente obesidad abdominal
Dislipidemia	TG ≥ 150 mg/dL y/o HDL < 35 mg/dL en varones o <39 mg/dL en mujeres	TG ≥ 150 mg/dL y/o HDL < 35 mg/dL en varones o <39 mg/dL en mujeres	TG ≥ 150 mg/dL o HDL < 40 mg/dL en varones o <50 mg/dL en mujeres	TG ≥ 150 mg/dL* o HDL* < 40 mg/dL en varones o <50 mg/dL en mujeres	TG ≥ 150 mg/dL* o HDL < 40 mg/dL en varones o <50 mg/dL en mujeres	Hipertrigliceridemia y/o HDL bajo.
Presión arterial	≥140/90 mmHg	≥140/90 mmHg	≥130/85 mmHg	≥130/85 mmHg*	≥130/85 *mmHg*	presión arterial fronteriza
Glucemia en ayunas		GAA, TGA O DM2	Glucemia en ayunas >110 mg/dL	Glucemia* en ayunas >100 mg/dL	Glucemia* en ayunas >100 mg/dL	
IMC						> a 25 Kg/m^2
otros	microalbuminuria					

*o en tratamiento con fármacos: Se refiere a presentar valores normales de los lípidos en el momento del estudio pero está bajo tratamiento por diagnóstico previo; Microalbuminuria positiva se considera cuando la excreción de albúmina ≥20 mg/min o la relación albúmina/creatinina en orina es ≥30 mg/g en 24 Hras.

AHA/NHLBI: Asociación Americanca del Corazón/Instituto Nacional del Corazón, Sangre y Pulmón; DM 2: Diabetes Mellitus tipo 2; GAA: glucemia alterada en ayunas; TGA: tolerancia a la glucosa alterada; TG: triglicéridos.

1.4 EPIDEMIOLOGÌA DE ENFERMEDADES METABÓLICAS

Desde el punto de vista epidemiológico se han publicado estudios, a nivel global que ofrecen datos de prevalencia del síndrome metabólico, oscilando entre 13 y 42 %, según la población de origen y los criterios utilizados [Quiróz Cortés, 2014].

A diferencia de los países latinoamericanos y de forma global, el Síndrome Metabólico según criterios del *National Cholesterol Education Program* (modificado según los valores de cintura conforme la Federación Internacional de Diabetes) manejan una prevalencia del 42.3% en los adultos mexicanos mayores de 20 años.[Carranza Madrigal et. al,. 2008] Estimando que cerca de una cuarta parte de la población mayor de 40 años e incluso más de la mitad de los individuos de 50 años, presentan este síndrome.

Estas prevalencias publicadas varían, de acuerdo a las organizaciones que las emiten; tal es el caso de los Criterios de la Organización Mundial de la Salud al manejar una prevalencia en México de 13.6% y al aplicar los criterios ATP-III asciende hasta los 26.6% [Montes de Oca et al., 2008] por lo tanto existen de 6.7 a 14.3 millones de Mexicanos afectados, conforme a los criterios de la Organización Mundial de la Salud y los ATP-III respectivamente [Hernández Prado et al. ., 2009]

La edad de diagnóstico de personas con SM ha disminuido progresivamente a lo largo de los últimos años. Hace unos 25 años, cuando se empezaba a realizar publicaciones sobre el síndrome, el mayor riesgo estaba en personas de 50 años o más. Sin embargo, en la actualidad se ha presentado un incremento en la prevalencia y se está considerando como grupos de riesgo a personas de entre 30 a 35 años en promedio. En la actualidad existe un incremento de obesidad y síndrome metabólico en jóvenes, y que desde etapas tempranas de la vida hay una tendencia hacia la mala alimentación (alimentos rápidos, exceso de consumos de harinas refinadas y bebidas azucaradas) y escasa actividad física en la población general. Lo que hace que estos factores disminuyen la expectativa de

vida ya que un análisis a futuro de estos pacientes muestra que la disminución en años de vida puede ser de 10 a 15, dependiendo de los índices de masa corporal de cada individuo. [Comité IMSS, 2014; ENSANUT, 2012]

Sin embargo, el sobrepeso y la obesidad, marcadores relevantes para el desarrollo del SM, ha tenido una prevalencia importante en los últimos años, pues de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012 el aumento en la prevalencia de obesidad en nuestro país se encuentra entre los más rápidos del mundo. Hoy en día, 7 de cada 10 mexicanos mayores de 20 años padecen esta enfermedad y la mayoría son mujeres (73%) y uno de cada tres niños cuyas edades oscilan entre los 5 y los 19 años (alrededor de 12 millones) presentan sobrepeso u obesidad. La Secretaría de Salud capitalina indica que el 72% de mujeres, el 66% de hombres mayores de 20 años y el 26% de niños en edad escolar, padecen obesidad y sobrepeso. [Comité médica IMSS, 2014]

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), estos padecimientos representan el 5º factor de riesgo de defunción en el mundo. Cada año fallecen por lo menos 2.8 millones de personas adultas a consecuencia del sobrepeso o la obesidad. Además, se asocian a ellos el 44 % de la carga de diabetes, el 23 % de cardiopatías isquémicas y entre el 7% y el 41 % de algunos cánceres. [Comité IMSS, 2014; ENSANUT, 2012]

Por otro lado, no sólo esta pandemia de desregulaciones metabólicas tiene un impacto sobre la salud, sino también a nivel económico, ya que en el país, la Secretaría de Salud informó en 2012 que el país invierte en la atención de la obesidad y sus complicaciones 42 mil millones de pesos anuales y las pérdidas por productividad, por su parte, ascienden a 25 mil millones que pagan directamente los contribuyentes. En suma, el año pasado las pérdidas totales para la nación por este problema fueron de 67 mil millones de pesos. [Revista médica IMSS, 2014; Lux médica, 2012]

En cuanto a la parte genética, en México, junto con la proclividad heredada de nuestro tronco ancestral amerindio de padecer obesidad abdominal, síndrome

metabólico y DM2 (la teoría del *genotipo ahorrador)* los hábitos de nutrición malsanos tan extendidos en nuestra población explican el aumento de la incidencia de estas enfermedades en los últimos tiempos. Un claro ejemplo es el hecho de que el consumo promedio de frutas y vegetales se ha visto reducido en 29.3% y, por el contrario, se incrementó en 37.2% el consumo de refrescos embotellados [García Alcalá et al., 2011].

1.5 GENÉTICA DE LAS DESREGULACIONES METABÓLICAS.

El comportamiento epidemiológico de la Obesidad, Diabetes Mellitus tipo 2 y el Síndrome Metabólico han ido en ascenso radical desde la última mitad del siglo pasado. Varias teorías se han descrito para explicar esa anomalía, y una de ellas es la teoría del Genotipo Ahorrador. Esta hipótesis fue propuesta en 1962 por Neel, y ha provocado la aparición de planteamientos subsiguientes a favor y en contra de la misma. El concepto de un rearreglo génico adaptado para los factores ambientales y antropológicos del Paleolítico aún activo en el *Homo sapiens sapiens* es una idea innovadora e interesante la cual intenta explicar todas las características metabólicas observadas en las poblaciones afectadas. [Chacín Maricarmen et. al. 2011]. Posterior a esta teoría, otros trabajos de investigación relevantes acentuaron argumentos de la predisposición genética de ciertas patologías como la obesidad. A pesar de que ésta es una epidemia mundial los grupos Áfrico-Americano y el hispano tienen una tendencia mayor para desarrollarla. Esto pone en evidencia que es necesaria una predisposición genética en donde interactúen múltiples genes con un medio ambiente obesogénico, el cual es diferente entre los distintos grupos raciales. Se considera a la obesidad poligénica como el tipo “común” de la obesidad. [Lux médica, 2012]

Tal fue el descubrimiento del gen FTO (fat mass and obesity associated). Se han encontrado múltiples variantes para este gen, una de ellas asociada al IMC y a diabetes tipo 2 en adultos y niños. Este gen codifica para una proteína de la

superfamilia de las dioxigenasas no hemicas y se expresa en numerosos tejidos. [Tejero Ma. Elizabeth, 2008]. En otra variante (rs9939609) se encontró obesidad en niñas, pero no en niños, indicando que ciertos fenotipos de obesidad corresponden a un determinado sexo. Está relacionado con el control del gasto energético. [Lux médica, 2012] Un estudio posterior examinó la asociación entre variantes en los genes FTO y el gen KIAA005, que se encuentran localizados cerca de FTO, y obesidad en niños con obesidad severa y controles sin sobrepeso. [Tejero Ma. Elizabeth, 2008]

Otros de los genes estudiados son el Gen INSIG2 (Insulin-induced gene) el cual se ha relacionado contradictoriamente con el riesgo de obesidad en población caucásica y afroamericana. Una de sus variantes también se ha asociado a un mayor IMC. El Gen GAD2 (Glutamate decarboxylase 2) que está implicado en la formación del ácido γ aminobutírico (GABA), un neurotransmisor regulador de la ingesta de alimentos. Sus polimorfismos se han asociado a obesidad en la población francesa. En el Quebec Family Study se encontró que no afecta a hombres; en mujeres ocasionó mayor susceptibilidad a tener hambre y también desinhibición a consumir más cantidades de carbohidratos y lípidos. Esto sugiere que este gen participa en la determinación de la ingesta de alimentos, las conductas alimentarias y el aumento de peso en las mujeres. El Gen PLIN codifica para las perilipinas, las cuales son las proteínas más abundantes en la superficie de los lípidos dentro de los adipocitos; estudios recientes han demostrado que la ausencia de perilipinas resulta en una notable disminución de obesidad en ratones, motivo por el cual se han considerado una diana farmacológica contra esta anomalía. Son ya múltiples las investigaciones que han mencionado que polimorfismos de este gen brindan protección contra la obesidad; se han descrito alrededor de 130 asociados con obesidad, la mayoría relacionados con las señales de hambre y saciedad, con el crecimiento y diferenciación de adipocitos y con la regulación del gasto energético. [Lux médica, 2012]

El eje leptina-melanocortina permite mantener un equilibrio entre el apetito y la saciedad: la leptina es producida por los adipocitos con depósitos lipídicos llenos para informarle al hipotálamo que inicie la inhibición del apetito. Cuando la leptina llega al hipotálamo (núcleo arcuato), induce la producción de proconvertasa 1 (PCSK1) que escinde la proopiomelanocortina (POMC) para producir melanocortinas que, a su vez, activan a los receptores de melanocortina (MC) del núcleo paraventricular para generar saciedad; cualquier defecto en los genes que regulan esta vía tendrá como resultado la pérdida de homeostasis energética. Cabe mencionar que estas alteraciones son independientes de factores ambientales y la deficiencia de alguno de ellos provocan severos daños fisiológicos; tal es el ejemplo de deficiencia de POMC la cual se describió en dos niños obesos con hiperfagia, pigmentación rojiza del pelo y deficiencia de la hormona adrenocorticotropa (ACTH), mostrando crisis adrenal durante la vida neonatal por falta de ACTH, requiriendo tratamiento con corticosteroides. [Lux médica, 2012]

A pesar de que la obesidad es una epidemia mundial los grupos Áfrico-Americano y el hispano tienen una tendencia mayor para desarrollarla. Esto pone en evidencia que es necesaria una predisposición genética en donde interactúen múltiples genes con un medio ambiente obesogénico, el cual es diferente entre los distintos grupos raciales. Se considera a la obesidad poligénica como el tipo “común” de la obesidad. Aún no han podido ser identificados todos los genes que predisponen a padecerla, sin embargo actualmente ya se conocen más de 100. Los que más se han estudiado son los que codifican a los receptores adrenérgicos β2 y β3, la adiponectina (ACDC), el receptor de leptina (LEPR), el factor de transcripción receptor proliferador de peroxisomas activados gamma (PPARγ) y las proteínas desacopladoras de la fosforilación oxidativa 1, 2 y 3 (UCP-1, 2 y 3) .[Lux médica, 2012].

1.6 NUTRICIÓN Y SÍNDROME METABÓLICO

Estudios epidemiológicos han observado que una ingesta elevada de azúcares simples, de alimentos con alto índice glucémico y de dietas con alta carga glucémica se asocian a resistencia insulínica, DM2, hipertrigliceridemia y cifras bajas de colesterol- HDL. Un bajo consumo de grasa saturada a favor de ácidos grasos poliinsaturados y monoinsaturados se ha implicado en una reducción de la incidencia de dichas anormalidades, aunque aún continúa el debate. La fibra dietética de cereales no refinados ha mostrados ser beneficiosa en la reducción del riesgo para el desarrollo de problemas metabólicos que derivan en DM2. Entre los patrones dietéticos de mayor debate, la dieta mediterránea se ha visto relacionada con una menor incidencia de diabetes y con una reducción del riesgo de muerte, sin embargo, cabe mencionar que el factor genético es de suma importancia también. Estudios de intervención para la prevención de DM2 han propuesto dietas hipograsas (reduciendo grasa saturada y trans-), con alto aporte de fibra y con bajo índice glucémico [Balkau B, et al. 2002]. Ensayos clínicos han demostrado el beneficio de este tipo de dietas con baja cantidad de carbohidratos y bajo índice glucémico.

Actualmente no existe contundencia en cuanto a la elección de dietas y el tipo de carbohidratos a restringir. Por lo que, distintas guías recomiendan dietas hipocalóricas con bajo contenido en grasas saturadas, grasas trans-, colesterol y azúcares, favoreciendo el consumo de frutas, verduras, cereales no refinados y pescado [Edgar Denova-Gutiérrez, et al., 2012]. La elevada ingesta de carbohidratos condiciona la función pancreática por excesiva secreción de insulina o por glucotoxicidad a las células beta [Pilar Matía Martín, et al., 2007.]**.**

Así mismo, el consumo de azúcares refinados no sólo incrementa las glicemias prandiales y postprandiales, sino que también aumenta el depósito de grasas, principalmente en abdomen y tejido subcutáneo [Jiménez Gómez, et al., .]. Se ha mostrado en diveresas investigaciones que el consumo elevado de hidratos de carbono favorece estados de hipertrigliceridemia, y consecutivamente condiciona

disminución de colesterol HDL, con aumento de VLDL. Este mecanismo se debe a que los carbohidratos rápidamente digeribles en forma de monosacáridos que saturan las rutas metabólicas de transporte y metabolismo de los mismos, tienden a exacerbar hiperlipidemia post pradial no quilomicrónica. En sujetos con RI se ha mostrado, que la respuesta lipémica post pradial aumenta con las alteraciones metabólicas en las vías de carbohidratos sobre todo cuando se consumen alimentos con alto índice glucémico (IG); es dichos sujetos la alteración metabólica es más profunda, alterando 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 esteatosis [González-Chávez et al., 2008].

1.7 VALORACIÓN DIAGNÓSTICA DEL SÍNDROME METABÓLICO

En la práctica clínica la principal evaluación de los pacientes se basa en parámetros antropométricos como la somatometría, midiendo peso, talla y cálculo del índice de masa corporal de acuerdo a la ecuación de Quetelet (IMC= peso / Talla^2) con lo cual se establecen parámetros de sobrepeso y obesidad, factores importantes de riesgo cardiometabólico, SM, DM entre otras enfermedades, sin embargo, estudios epidemiológicos de las últimas dos décadas han demostrado factores de riesgo más puntuales como: la distribución de grasa corporal y su localización intraabdominal en exceso; es por ello que se incluye la medición de cintura-cadera; otro parámetro importante de evaluación es la de signos vitales como lo es tensión arterial, puesto que la detección de hipertensión se le ha relacionado con dichas patologías [Alberto Campos, 2012].

En cuanto a parámetros bioquímicos y clínicos, se requiere la elaboración de una historia clínica detallada que incluya información sobre los antecedentes familiares, personales patológicos y no patológicos con repunte en información sobre alimentación, desarrollo y tipo de actividad física; además de valoraciones

serológicas de dislipidemias, estado aterogénico y caracterización de las lipoproteínas (VLDL, HDL y LDL) y del estatus de oxidación de las mismas; partículas pequeñas y densas que se asocian con el aumento de riesgo de enfermedad endotelial derivada a patología coronaria cardíaca. Otro de los estudios bioquímicos importantes es la curva de tolerancia a la glucosa (TOG), con cuantificación de insulina en cada uno de los puntos cohorte, para búsqueda intencionada de insulinoresistencia, así como su relación con obesidad central, acantosis nigricans, datos de hiperandrogenismo en mujeres con presencia de acné o hirsutismo así como de aquellos marcadores tempranos de SM, ya que los efectos de una hiperinsulinemia o insulinoresistencia conducen a una disfunción endotelial y estrés oxidativo. [Horacio Carbajal y Martín R. Salazar, 2012]

Asi mismo existen diferentes métodos para medir la sensibilidad tisular a la acción de la insulina, muchos de ellos requieren de condiciones controladas por lo que son costosos y se utilizan solo en investigación, por lo que existen ecuaciones a partir de los niveles séricos de insulina y glucosa en ayuno o de resultados de una TOG. Es común encontrar contradicciones en cuanto marcadores genéticos, sin embargo se han asociado diversas patologías inflamatorias, autoinmunes y condicionantes de estrés oxidante; así como mutaciones, deleciones, translocaciones y polimorfismos, asociados a una prueba diagnóstica específica, por lo que idealmente los criterios deben establecer el diagnóstico base de SM para identificar a la población con alto riesgo e idealmente estos deben ser aplicables a la práctica clínica cotidiana [Mead, J.F., et al.,1986].

1.8 REGULACIÓN BIOQUÍMICA DE LA ALIMENTACIÓN NORMOCALÓRICA.

El organismo mantiene equilibrio de energía por medio de ciclos de alimentación diarios y a través de períodos en los que la demanda de energía aumenta debido al esfuerzo físico, y cuando el suministro de energía se agota debido a la privación de nutrientes. Durante un día típico, varias comidas son consumidas conduciendo a períodos de tiempo de varias horas postprandiales, donde hay una ganancia

neta de energía. Donde la maquinaria molecular involucra ritmos circadianos específicos que involucran la retroalimentación transcripción – traducción, que en el caso de componente alimenticio se halla en el núcleo supraquiasmático (SCN) del hipotálamo, regulando la mayoría de las células en órganos y tejidos [Kohsaka y Bass, 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 esteroles y gluconeogénesis; lo cual sugiere una pérdida del reloj circadiano celular [Oishi et al., 2003, Yang et al., 2006, Zvonic et al., 2006 and Panda et al., 2002]. Estás características que vinculan el estado nutrimental 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 et al., 2006; Kohsaka et al., 2007]. Estos son estados rápidos que conducen a la realimentación. La capacidad del cuerpo para mantener el equilibrio de energía, se centra sobre un conjunto de órganos y tejidos periféricos que digieren, convierten, envían y almacenan nutrientes y energía en páncreas, hígado, tejido adiposo, músculo y tracto gastrointestinal.

En este sentido, el cerebro ejerce una influencia directa en el sobre consumo calórico, ya que las hormonas secretadas al torrente sanguíneo por los diferentes tejidos involucrados como resultado del proceso de absorción y resguardo energético llegan al hipotálamo directamente al núcleo arcuato propiciándole información de la cantidad de resguardo graso y del balance energético corporal, en respuesta las neuronas del núcleo arcuato responden con la secreción de neuropéptidos con instrucciones hacia otros centros de control los cuales estimulan o suprimen el apetito de los animales, lo que sugiere que el hipotálamo puede actuar como un centro de regulación del balance energético negativo, es decir, sin ganancia energética por ingesta. Varias condiciones se deben cumplir para este tipo de regulación tenga lugar a la retroalimentación negativa. Primero las intensidades de señal, medida por las cantidades de insulina y leptina

liberadas a la circulación, deben ser proporcionales a la cantidad de grasa y carbohidratos absorbidos y resguardados. A continuación, la cantidad de hormonas que entra en el sistema nervioso central proveniente de la circulación debe reflejar la cantidad de grasa corporal, y el tercero en respuesta al aumento de la señalización que tiene que haber una respuesta de comportamiento negativo, reduciendo el consumo de alimento [Wynne et al., 2005]. A través de la secreción de neuropéptidos tales como el transcripto regulador de cocaína y anfetamina, la pro-opiomelanocortina, y positivo a través del neuropéptido Y [Konturek et al., 2005; Wynne et al., 2005].

En el estado de alimentación, nutrientes - hidratos de carbono, grasas y aminoácidos - se absorben, son biotransformados, ocupados y el resto almacenados. El balance energético es complementado por tejido adiposo el cual degrada triglicéridos proporcionando el suministro de ácidos grasos y glicerol a tejidos periféricos como el músculo, el cual utiliza y oxida a los ácidos grasos, produciendo también cuerpos cetónicos, los cuales son utilizados por corazón, pulmones y cerebro. [Martin Beckerman, 2009].

Así mismo, en respuesta al aumento de la circulación de glucosa, el páncreas secreta insulina que sirve como una señal de arranque para diferentes rutas metabólicas en tejidos periféricos. Por una parte mientras el hígado recoge y amacena la glucosa en forma de glucógeno, el remanente de las rutas de obtención energética, entra a la biosíntesis de triglicéridos que son empaquetados en partículas grandes, transportables conocidas por sus siglas en inglés como fracciones del colesterol VLDL que los conducen a tejido adiposo y músculo principalmente, tal como se detallará más adelante [Martin Beckerman, 2009]. En el estado de ayuno, los nutrientes son tomados de fuentes energéticas que residen en los tejidos periféricos primordialmente adipocitos, movilizándose para mantener la homeostasis energética.

Este estado se inicia mediante reguladores hormonales dentro de los que de forma relevante juega un papel importante la liberación de glucagón del páncreas. Mientras que el hígado libera su almacenaje de glucosa/glucógeno e inicia rutas gluconeogénicas, oxidación de ácidos grasos, con generación de cuerpos cetónicos como una alternativa y/o complemento del suministro energético ante la disminución de glucosa. Esto se logra mediante la conversión de glucógeno a glucosa (glucogenólisis), o por la novosíntesis de glucosa a partir de fuentes diferentes a carbohidratos (gluconeogénesis), además se inhibe tanto glicólisis como glucogénesis. Por el contrario, ante el incremento de glucosa sanguínea, el páncreas responde liberando al medio a la hormona insulina, lo cual implica una contra respuesta hepática, similar pero en menor grado a estados de consumo, en los cuales de forma similar a momento en donde la alimentación es constante, se conduce a una elevación de la glucosa circulante e insulina dirige acciones para la reabsorción hepática de glucosa su correspondiente almacenaje, de esta manera se puede definir el ciclo homeostático de la glucosa [Martin Beckerman, 2009]

En condiciones clínicamente sanas en el organismo, la mayoría de estas señales orexogénicas y anorexigénicas son coordinadas hormonalmente tal como se mencionó anteriormente, éstas se pueden descoordinar en patologías como SM.

Las alteraciones evocadas en el metabolismo varían a corto, mediano y largo plazo vinculándose a estados alimentarios rápidos y de sobreingesta, pero también en periodos de larga duración, inicialmente como parte de la estrategia metabólica asociadas a estados de salud y enfermedad. [Martin Beckerman, 2009]

1.9 FISIOPATOLOGÍA DEL SÍNDROME METABÓLICO POR DESEQUILIBRIO ENERGÉTICA.

La génesis de enfermedades metabólicas como es síndrome metabólico y DM2 no puede atribuirse a un solo mecanismo fisiopatológico, ya que además de la

combinación de factores genéticos y ambientales que promueven la resistencia a la insulina (que por sí sola no es suficiente para inducir la aparición de DM2), es necesario la coexistencia de un efecto considerable de la función secretora de las células beta del páncreas. [García Alcalá et al., 2011]

La insulina es una hormona con múltiples funciones orgánicas. En la mayor parte de las células, la insulina se une a un receptor transmembranal de la superfamilia de la tirosina cinasa y facilita la entrada de la glucosa mediante la activación de una proteína transportadora (GLUT). También en ciertos tejidos estimula la gluconeogénesis y la glucólisis, la captación de aminoácidos y la síntesis y degradación de proteínas. En el metabolismo de los lípidos, la insulina estimula en el hígado y en el tejido adiposo la síntesis de ácidos grasos y TG, así como la lipólisis. Cuyo mecanismo se mencionará a detalle más adelante. [García Alcalá et al., 2011]

En condiciones como del síndrome metabólico estas regulaciones fallan, alterando tanto la respuesta hormonal como la neuronal, y repercutiendo en el manejo de los metabolitos energéticos los cuales después de ser absorbidos iniciaron la respuesta neuro-endócrina, estos son tanto los carbohidratos representados por la glucosa, como los lípidos cuyos representantes energéticos están dados por los triglicéridos y los ácidos grasos libres [Guilherme et al., 2008; Schellong et al., 2013; Denis et al., 2014].

El estado hiperinsulinemico compensatorio a incrementos en el consumo calórico por glucosa es bien entendido, de hecho se ha referido que las alteraciones de la fase tardía de la insulino secreción, sin disminución del carbohidrato, es decir, trastorno de la tolerancia a la glucosa (IGT, por sus siglas en inglés), no solo son predictores de la presencia de hiperinsulinemia, de hecho confirman la sobre secreción por las células beta pancreáticas, propiciando estados reconocidos de resistencia a insulina hepato-muscular [DeFronzo, 2004; Abdul-Ghani et al., 2007]. Aunque estudios más recientes confirman que la IGT, presenta una mayor correlación más bien con la resistencia músculo-adipositaria, ya que estos tejidos

dependen de la correcta secreción y censo de la hormona para lograr una correcta señalización para la translocación de GLUT4 y recaptura del carbohidrato, y por lo tanto la resistencia a insulina muscular y adipocitaria conlleva a la pérdida del consumo de glucosa por estos tejidos [Han et al., 2003]. Así mismo, la insulino resistencia muscular propicia una reducción en la formación de glucógeno y menor oxidación de glucosa [Shulman et al., 1990]. En este punto, también se sabe que cuando los tejidos dependientes de insulina no son capaces de mantener la homeostasis de la glucosa, así que los tejidos dependientes de la hormona tratan de compensarlo ya que primordialmente presentan GLUT2, transportadores dependientes de la concentración de glucosa y no de la actividad de insulina, por lo que de inicio mantienen saturadas la vías de absorción generando lipogénesis de *novo*.

Para ello el exceso de glucosa es metabolizada a acetil-CoA, que es el mayor sustrato para la síntesis de ácidos grasos, el primer paso para ello es la carboxilación acetil-CoA lo que conlleva a la síntesis de malonil-CoA y la enzima que cataliza esta reacción, la acetil-CoA carboxilasa [ACC, Tong and Harwood, 2006], es el sitio más importante de la regulación de la síntesis de ácidos grasos. Como otras enzimas que transfieren CO_2 a sustratos, la ACC requiere como co-factor a la biotina. La tasa de síntesis de ácidos grasos se controla por el equilibrio entre la ACC monoméricas y la ACC polimérica, por lo que la actividad de la enzima requiere polimerización. Este cambio conformacional es incrementado por el citrato que por medio de la ATP citrato-liasa forma más acetil-CoA, esta enzima es crítica en el acople de las vías glicolítica y la síntesis de ácidos grasos [Kim, 1997], e inhibido por los ácidos grasos de cadena larga. El transportador de grupos acetil (y grupos acilo para alargamiento) durante la síntesis de ácidos grasos es también un grupo prostético fosfopantoténico, sin embargo, está unido a un hidroxilo de serina en el complejo enzimático de síntesis. La porción transportadora del complejo de síntesis se llama proteína transportadora de acilos (ACP). La acetil-CoA y la malonil-CoA son transferidas a la ACP por acción de la transacilasa acetil-CoA y la transacilasa malonil-CoA, respectivamente. La unión de estos átomos de carbono a la ACP permite que estos entren al ciclo de la

síntesis de ácidos grasos. La síntesis de ácidos grasos a partir de la acetil-CoA y de la malonil-CoA se hace por acción de la sintasa de ácidos grasos [FAS; Chirala and Wakil, 2004]. La enzima utiliza a la acetil-CoA como un cebador y al malonil-CoA como un donante de un par de carbonos, en presencia de NADPH como agente reductante, el ácido graso resultante es el ácido palmítico (C16:0), aunque también puede sintetizarse ácido esteárico. En este punto se acopla la ∆9-desaturasa o esteroil-CoA desaturasa que está considerada como una enzima lipogénica, cataliza la introducción de un doble enlace ∆9 en la cadena acilada del ácido grasa saturado como lo es el ácido palmítico (C16:1n-7) o ácido oleico (C18:1n-9), en el hígado la actividad de esta enzima es bien documentada [Heinemann and Ozols, 2003; Heinemann et al., 2003]. Cabe mencionar que este paso se lleva a cabo en retículo endoplásmico ya que la enzima se co-localiza con el complejo NADH-citocromo b5 reductasa y citocromo b5, ambos requeridos para la actividad de ∆9-desaturasa [Miyazaki and Ntambi., 2003; Chu et al., 2006; Sampath et al., 2007]. Posterior a este paso entran en acción elongasas y ácido grasos poli-insaturados desaturasas (PUFA ∆6 desaturasa y PUFA ∆5 desaturasa), las cuales no son clasificadas usualmente como enzimas lipogénicas, sin embargo, juegan un papel crítico en la síntesis de una variedad de ácidos grasos o bien modificando los ácidos grasos producidos de forma endógena (lipogénesis) o exógenamente (dietéticos). La elongación ocurre también en el retículo endoplásmico en donde las elongasas adicionan 2 carbonos a los sustratos de acil-CoA, usando para ello malonil-CoA, las elongasas son limitantes en el proceso y actúan dentro de un complejo miltiproteico que incluye a la 3-ceto acil-CoA reductasa y la tras-2,3-enoil-CoA reductasa [Leonard et al., 2004], aunque todas ellas pertenecen a la familia Elovl, en el hígado se hallan las isoformas de Elovl 1, 2, 5 y 6, con papeles diferenciales en la biosíntesis de ácidos grasos poli-insaturados (PUFA's), saturaciones e insaturaciones, la isoforma 6 controla el balance entre ácidos grasos de 16 o 18 carbonos jugando un rol muy particular en la obesidad y la resistencia a insulina [Matsuzaka et al., 2007]. En general, tanto las elongasas como las desaturasas son usadas en la ruta sintética de glicerolípidos que resultan al final de cuentas en una sobre producción de

triacilgliceroles a partir de sobre consumo de carbohidratos de la dieta, que en estas condiciones es ampliamente reconocida la presencia de hiperinsulinemia.

La formación de los triglicéridos se produce a través de la acilación secuencial sobre un glicerol-3-fosfato que es previamente desfosforilado en la membrana del retículo endoplásmico. El glicerol-3-fosfato proviene de la ruta glucolítica que se mantiene sobre saturada por el exceso del consumo de carbohidratos, por la desregulación insulínica promovida por la propia hiperinsulinemia y resistencia a la hormona, y por el cambio de las señales intracelulares que se general al desregular a familias factores de transcripción como las proteínas de unión a elementos reguladores de esteroles (SREBP's) y las proteínas de unión a elementos reguladores de carbohidratos (ChREBP's), ambos estimula las rutas lipogénicas, SREBP por estímulos de exceso de ácidos grasos e insulina, y los ChREBP por glucosa e hiperinsulinemia [Nagle et al., 2009]. El paso de formación de triglicéridos a partir del glicerol-3-fosfato está dado por la glicerol-3-fosfato aciltransferasa (GPAT), enzima que cataliza la adición de la primera cadena de ácido graso para formar un ácido lisofosfátídico (LPA). En seguida la acilglicerol-3-fosfato aciltransferasa (AGPAT) o LPA aciltransferasa (LPAAT) que son enzimas aciladoras de LPA forman ácido fosfatídico (PA), el cual es sustrato para la enzima PA fosfohidrolasa (PAP) enzima comúnmente conocida como lipin-proteína. La remoción del grupo fosfato del PA por lipinas genera diacilglicerol (DAG), estas son aciladas por la diacilglicerol aciltransferasa (DGAT) enzima formadora de triglicéridos. Considerando que la desfosforilación de PA es el principal camino para general DAG en la mayoría de las células, aunque existen caminos alternativos en la generación de DAG, incluyendo la acilación de monoacilgliceroles (MAG), esta reacción es llevada a cabo por la monoacilglicerol aciltransferasa (MGAT) [Schweitzer and Finck, 2014].

Por otro lado, cabe mencionar que otras biomoléculas de importancia bioquímica como los fosfolípidos, se encuentran presentes principalmente en las membranas biológicas, cumplen funciones vitales en la célula regulando la permeabilidad celular, interviniendo en la solubilización de compuestos poco polares, en el

proceso de coagulación sanguínea, formando parte de la vaina de mielina de neuronas y de partículas transportadoras de electrones, etc. Son lípidos compuestos por ésteres de ácidos grasos, fosfato y en general de una base nitrogenada. Se pueden consideran dos grupos diferentes: Los glicerofosfolípidos y las esfingomielinas en donde interviene, como molécula base para la formación de los ésteres de ácidos grasos, el glicerol o la esfingosina respectivamente. Mead, J.F., et al., 1986

Estos componentes lipídicos, son el mayor constituyente de la lipoproteínas, a nivel plasmático la se pueden detectar por la hidrólisis del fosfolípido por medio de la fosfolipasa D y la colina liberada es secuencialmente oxidada por la colina oxidasa a betaína, con la simultánea producción de peróxido de hidrógeno, que en presencia de peroxidasa logra un acoplamiento oxidativo a la 4-Aminofenazona y al diclorofenol formando una quinonamina coloreada, por lo que de la reacción podemos deducir que la fosfatidilcolina es el principal fosfolípido en circulación, el cual es el principal componente de las lipoproteínas, especialmente de VLDL y HDL, en las que cumple primordialmente funciones estructurales en conjunto con la esfingomielina (otro, fosfofolípido). En el retículo endoplásmico de los hepatocitos (aunque no es en la única célula que se sintetiza), se lleva a cabo la síntesis de ambos fosfolípidos [Fisher and Ginsberg; 2002]. A pesar que la colina no es sintetizada en las células animales, es adquirido de la dieta como un nutriente esencial, y obtenido de los lípidos consumidos. Una vez que es absorbida por las células la colina es inmediatamente fosforilada por una colina cinasa presente en el citoplasma, por lo que la fosfocolina es un sustrato que reacciona con la citidin trifosfato (CTP), formando citidin-difosfocolina. La membrana del retículo endoplásmico mantiene unida a la enzima CDP-colin 1, 2 diacilglicerol colinfosfotransferasa la cual cataliza la reacción con el *sn*-1, 2 -diacilglicerol para formar fostatidilcolina que puede formar parte esencial de cualquier membrana o de los fosfolípidos de las lipoproteínas [Fisher et al., 2001]. Esta fusión es importante ya que el *sn*-1, 2 – diacilglicerol es obtenido de la ruta de síntesis de los triglicéridos cuando existe como antes se explicó un desvío en la ruta glicolítica la cual genera un incremento de glicerol-3-fosfato, que

consecutivamente se transformara a ácido fosfatídico y triglicéridos: el precursor *sn*-1, 2 – diacilglicerol, es ácido fosfatídico que es transformado por la enzima ácido fosfatídico fosfatasa (también llamada: fosfatidato fosfatasa o lípido fosfato fosfatasa o fosfatidato fosfohidrolasa). Esta enzima es importante en la producción de diacilgliceroles como intermediarios esenciales en la biosíntesis de triglicéridos [Carman and Han, 2009].

Como ya se ha mencionado convergentemente las vías lipogénicas coinciden con las de degradación de glucosa en un exceso de citrato vertido al citoplasma [Kim, 1997], este da paso a la formación del acetil-CoA por medio de la ATP citrato-liasa, el siguiente paso es el ataque de una acetoacetil-CoA tiolasa, lo que trae como resultado la formación de una acetoacetil-CoA, que finalmente por la acción de 3-hidroxi-3-metilglutaril sintetasa da paso a una hidroxi-3-metilglutaril-CoA, el sistema enzimático que permite la formación de la última molécula es conocido como complejo AACT/HMGS [Weber y Bach, 1994]. En secuencia, la hidroxi-3-metilglutaril-CoA en el retículo endoplásmico de los hepatocitos es biotransformada a mevalonato por una HMG-CoA reductasa en presencia de dos moléculas de NADPH como cofactor, el mevalonato es entonces activado por dos fosforilaciones sucesivas (catalizada por la mevalonato cinasa, y fosfomevalonato cinasa), produciendo 5-pirofosfomevalonato. En los seres humanos, mevalonato quinasa reside en el citosol lo que indica que no todas las reacciones de la síntesis de colesterol son catalizadas por enzimas asociadas a la membrana como originalmente fue descrita [Wanders and Romeijn, 1998]. Después de la fosforilación, una descarboxilación dependiente de ATP produce la isopentenil pirofosfato (IPP), una molécula activa de isoprenoide conocida como Isopentenil pirofosfato la cual está en equilibrio con su isómero, el dimetil-alil pirofosfato (DMPP) [Brown and Goldstein, 1980]. Una molécula de IPP se condensa con una molécula de DMPP a geranil pirofosfato (GPP). GPP se condensa aún más con otra molécula de IPP para dar farnesil pirofosfato (FPP) [Case et al., 1995]. Por último, la enzima que requiere NADPH, la escualeno sintetasa cataliza la cabeza a la cola la condensación de dos moléculas de FPP, determinando el rendimiento de

la formación de escualeno [Fukuchi et al., 2003]. Al igual que la HMGR, la escualeno sintetasa está estrechamente asociada con el retículo endoplásmico, y en ambos casos un inductor enzimático es la permanente señal generada por insulina, la cual es acentuada en estados de resistencia y síndrome metabólico [Do et al., 2009]. El escualeno experimenta una ciclización de dos etapas para generar el lanosterol [Charlton-Menys and Durrington, 2007]. La primera reacción es catalizada por la escualeno monooxigenasa [Gils et al., 2011]. Esta enzima utiliza NADPH como cofactor para introducir el oxígeno molecular como epóxido en el 2,3 posición de escualeno. A través de una serie de 19 reacciones adicionales, lanosterol se convierte en colesterol [Bae et al., 1999; Miao et al., 2002]. El colesterol obtenido de esta vía de síntesis puede ser utilizado en tres grandes rubros metabólicos, 1) como parte de la formación y secreción de sales biliares, 2) como sustrato formador de esteroides y hormonas relacionadas y 3) como intercambiador entre las lipoproteínas HDL hacia las VLDL, IDL y LDL que finalmente lo distribuyen a otros tejidos.

Fig. 1.- Relación de las rutas biosintéticas de lípidos a partir de la saturación glucolítica.

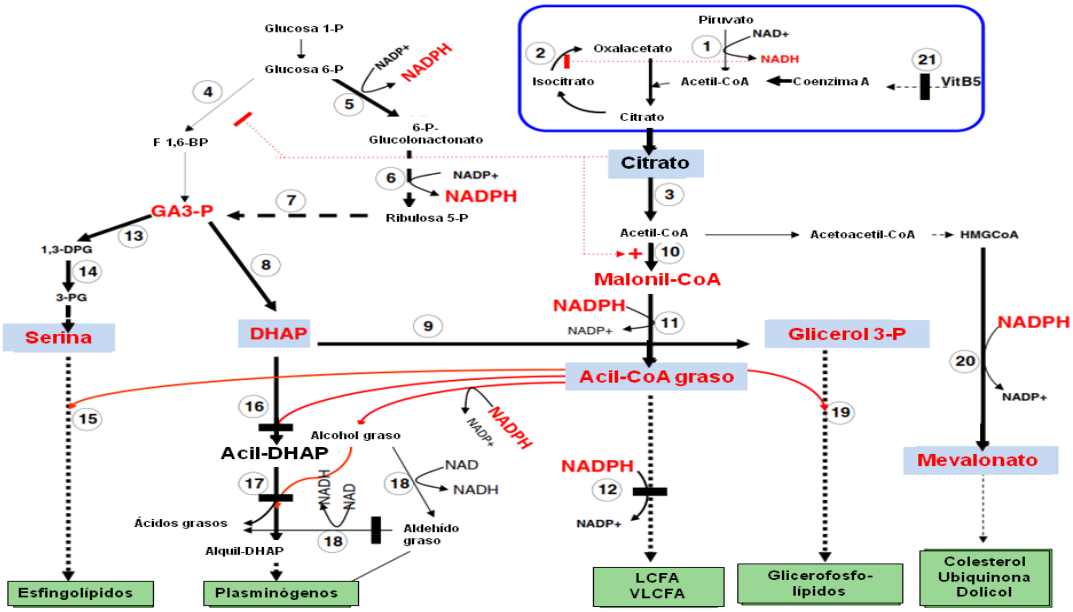


Fig. 1.- Relación de las rutas biosintéticas de lípidos a partir de la saturación glucolítica. Tomado y modificado de . Lamari & F. Mochel & F. Sedel & J. M. Saudubray. Disorders of phospholipids, sphingolipids and fatty acids biosynthesis: toward a new category of inherited metabolic diseases. J Inherit Metab Dis (2013) 36:411–425

Las lipoproteínas son partículas esféricas, las cuales son paquetes circulantes termodinámicamente estables. El core o núcleo de las partículas contiene lípidos no polares hidrofóbicos, triglicéridos y ésteres de colesterol, y en la superficie presentan lípidos hidrofílicos, fosfolípidos y colesterol libre, así como péptidos llamados apolipoproteínas, en condiciones variables. Las apolipoproteínas mantienen funciones realmente importantes en el ensamble secreción y metabolismo periférico de las partículas lipoproteicas, el hígado secreta VLDL la cuales se encargan del reparto a la periferia de los triglicéridos generados en el hígado, las grandes cantidades de VLDL son convertidas a lipoproteinas de baja densidad (LDL), las cuales son el mayor transporte de colesterol esterificado hacia diferentes tejidos. En contraste las HDL (High Density Lipoprotein) tienen como una de sus primordiales funciones remover el colesterol de los tejidos periféricos y regresarlo al hígado lo que se conoce como transporte reverso del colesterol, y en el que unas ves en el tejido se le confina a una actividad particular como las antes mencionadas [Kozlitina et al., 2011; Choi and Ginsberg, 2011].

En el retículo endoplásmico rugoso (RER) de los hepatocitos y enterocitos (aunque nos centraremos en el primero), comienza el ensamble de las lipoproteínas de transporte para redistribuir los lípidos hidrofóbicos anteriormente sintetizados, las VLDL son conformadas por una lipoproteína conocida como apoB-100, la cual consiste en una proteína de 4,536 a.a. que requiere de un proceso sincronizado para su maduración en los compartimentos del RER en donde las apoB-100 nacientes forman un complejo con la asistencia de la proteína microsomal transferidora de triglicéridos (MTP), esta proteína aunque no es una apolipoproteína juega un rol trascendental en el metabolismo de las apoB [Hussain et al., 2003], ya que existe como un heterodímero a través de un enlace no covalente con una proteín-disulfuro isomerasa que es una proteína residente del RER [Wetterau et al., 1991] la MTP es homologa con la apoB (20 – 40%, dependiendo de la especie) lo que sugiere un origen evolutivo en conjunto; además la MTP por dicha homología une a la apoB a la membrana del RER, mientras madura y al coadyuva al correcto plegamiento de la apoB, cabe mencionar que en la resistencia a insulina y el síndrome metabólico el cual es

caracterizado por un incremento de VLDL, existe inhibición del represor de la MTP por lo que incrementa no solo en concentración, sino también en actividad, lo que en conjunto lleva a una mayor síntesis de VLDL ya que las rutas de producción de triglicéridos también se encuentran incrementadas [Lin et al., 1995; Allister et al., 2005; Kamagate and Dong, 2008]. En este sentido, varios factores de transcripción positivos para apoB se hallan incrementados dentro de los que se encuentran los factores nucleares hepáticos (HNF), C/EBP (CCAAT/enhancer binding protein), y los SREBP1-c, los cuales se hallan incrementados en el síndrome metabólico [Shimomura et al., 1998; Oral and Chan, 2010; Garg, 2011]. Cabe mencionar en este punto del ensamble de las VLDL, que existen dos diferentes tipos de apolipoproteínas, las que son intercambiables y las que no lo son, las ApoB pertenecen al grupo de las apolipoproteínas no intercambiables, las que sí se pueden intercambiar son las apoA, apoC y apoE [Narayanaswami and Ryan; 2000]. La característica dominante en las apolipoproteínas intercambiables es su estructura secundaria, estas proteínas contienen 11 – 22 secuencias de a.a. repetidas que permiten que su plegamiento sea de tipo α-hélices con características anfipáticas, esta propiedad biofísica de fases polares y no polares orientadas a lo largo del eje de las hélices, permite una estructura organizacional que se asocia a los lípidos que transportan y a las proteínas plasmáticas de tipo acuoso. Dentro de este grupo de apolipoproteínas se halla la apoC-III, la cual es una glicoproteína de 79 a.a. producida por el hígado principalmente y ensamblada a VLDL y HDL [Jiang et al., 2013]. En plasma la mayor cantidad de apoC-III está fuertemente asociada a la cantidad de triglicéridos, y aunque en el plasma es un inhibidor de la lipoprotein lipasa (enzima hidrolítica de triglicéridos para su absorción tisular), en el RER durante el ensamble de las VLDL coadyuva en el en resguardo y estimula la secreción hepática de las VLDL ricas en triglicéridos [Sundaram et al., 2010]; además estimula la incorporación de triglicéridos novosintetizados en compartimentos microsomales y facilita la expansión de las VLDL, haciendo que estas puedan coexistir como subfracciones de la 1 – 6 [Sundaram et al., 2010]. Esta apolipoproteína es estimulada por los influjos de glucosa a pesar de la coexistencia de inhibidores transcripcionales, siendo un

marcador ineludible en el diagnóstico de síndrome metabólico [Caron et al., 2011]. Otra de las apolipoproteínas importantes en el ensamble de las VLDL es la apoE, esta es una proteína de 299 a.a. inicialmente descrita como una apoproteína intercambiable que modula el metabolismo lipoproteico por Mahley en 1988, esta se halla asociada tanto a las VLDL, como a las HDL, aunque el hígado no es el único lugar de síntesis, también puede ser expresada en el cerebro, bazo, pulmones, glándulas adrenales, ovario, riñones y macrófagos, en tres isoformas distintas [Hauser et al., 2011]. En circulación su papel es contribuir al aclaramiento de las lipoproteínas cuando los ligandos específicos fallan (apoB o apo A), sin embargo en el proceso de ensamble es determinante su papel, ya que favorece la maduración de las apoB y el ensamble de las VLDL en los hepatocitos, favoreciendo su excreción [Mensenkamp et al., 2001; Gusarova et al., 2007]. Otras apoproteínas pueden ser incluidas en el ensamblaje de las VLDL, apoC-I y apo C-II, no son de relevancia en el ensamble de las VLDL y pueden de hecho ser intercambiadas una vez que se hallan en torrente sanguíneo, sin embargo, una proteína que si es indispensable para la fusión completa de las VLDL, es la triglicérido hidrolasa 1 (TGH1), esta enzima que es adicionada en la última porción del RER es determinante ya que en el paso de las cisternas del Golgi y después de glicosilar, fosforilar y acilar a la apoB, la MTP y la TGH1 propician un paso mediado por hidrólisis de triglicéridos y restos de microsomas del retículo endoplásmico liso (REL), hacia las vesículas secretoras que re-empaquetan en el *trans*-Golgi a las VLDL, proporcionando las condiciones de fosfolípidos y colesterol no esterificado y del cual surgen las VLDL maduras y las cuales son vertidas al torrente circulatorio [Gibbons, 1990].

Fig. 2.- Síntesis y secreción de VLDL.

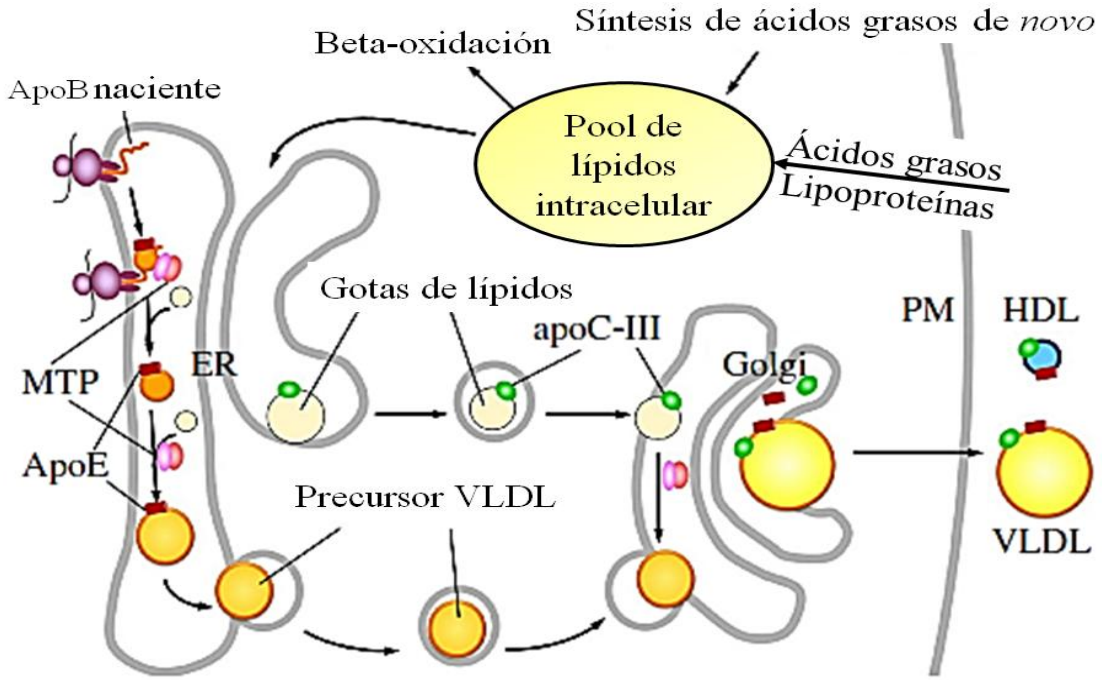


Fig. 2.- Síntesis y secreción de VLDL. Tomado y modificado de . Zhenghui Gordon Jiang, Simon C. Robson, Zemin Yao. Lipoprotein metabolism in nonalcoholic fatty liver disease. The Journal of Biomedical Research, 2013, 27(1):1-13.

Otra lipoproteína importante en la homeostasis de los triglicéridos y el colesterol es la HDL, esta es sintetizada en el intestino e hígado, siendo en este último la fuente de mayor producción y vertimiento a nivel circulante. En general las HDL son formadas y secretadas como partículas discoidales constituidas por una bicapa de fosfolípidos y colesterol libre o no esterificado. Su mayor apolipoproteína es la apoA-I, que actúa como cofactor para la lecitin-colesterol-acil transferasa (LCAT), la cual también se produce en el hígado y cataliza la transferencia de un ácido graso proveniente de una lecitina al colesterol libre para producir esteres de colesterol. Por lo que, las HDL pueden adquirir colesterol libre de los tejidos periféricos, el cual es esterificado y conducido al core de la molécula modificando su forma primaria helicoidal para convertirse en formas esféricas circulantes de tamaño variable (8 – 10 nm) y de densidad variable 1.063–1.21 g/mL, así como en las VLDL coexisten subclases, las HDL también las presentan, las más frecuentes

las subclases 2 y 3 dentro de las cuales HDL3c son de 7.2–7.8 nm de diámetro; HDL3b, 7.8–8.2 nm; HDL3a, 8.2–8.8 nm; HDL2a, 8.8.– 9.7 nm; and HDL2b, 9.7–12.0 nm. [Kontush et al., 2003, 2015; 2012; Chantepie et al., 2012].

Las proteínas que componen a las HDL pueden dividirse en algunos grupos principales los cuales incluyen apolipoproteínas, enzimas, proteínas transferidoras de lípidos, proteínas de respuesta de fase aguda, componentes del complemento, inhibidor de proteinasas, dando un total de más de 80 proteínas acopladas a las HDL [Heinecke, 2009; Davidsson, 2010; Shah, 2013]. A pesar de contener o transportar a todas estas proteínas, el estudio de las HDL es generalmente centrado al estudio de las apolipoproteínas; la más importante de ellas es la apoA-I tanto estructuralmente como funcionalmente, correspondiendo al 70% del total de proteínas presentes en las HDL [Asztalos and Schaefer 2003a, b; Schaefer et al., 2010]. La función principal de la apoA-I es interaccionar y activar los receptores celulares de LCAT, con lo cual se expresa la actividad anti-aterogénica de las HDL. La apoA-I presenta la clásica característica anfipática y contiene 8 dominios de α-hélices con estas características de 22 a.a. y dos repeticiones de 11 a.a también le dan la ambivalencia acuosa y además le dan propiedades tipo detergente, sin ser fija ya que se ha encontrado incluso en quilomicrones y VLDL. La apoA-II es la segunda proteína más abundante (15 – 20%), esta es más hidrofóbica que la apoA-II, circula como un homodímero compuesto por dos cadenas polipeptídicas idénticas conectadas por un puente disulfuro en la posición 6. La apoA-II sirve como ancla para otras apolipoproteínas ricas en cisteínas y le confiere estabilidad a las HDL [Shimano, 2009; Puppione et al. 2010]. La apoA-IV, es una glicoproteína que posee la mayor característica hidrofílica por lo que se puede intercambiar fácilmente a otras lipoproteínas, aunque también puede coexistir libre en circulación, esta apoproteína contiene 13 ciclos repeticiones de 22 a.a. nueve de las cuales son α-hélices con características anfipáticas y pueden servir como unión entre dominios lipídicos, esta es únicamente sintetizada en el intestino, por lo que viaja en quilomicrones. ApoC-I por su parte es sintetizada en el hígado, es una de las que une fuertemente a los ácidos grasos libres y moléculas de tipo catiónico, además de ser la que activa a LCAT e inhibe a la

lipasa hepática y a la CETP. ApoC-II también unida a las HDL es una activadora de lipasas de triglicéridos como la lipoprotein lipasa (LPL). ApoC-III, por el contrario en un inhibidor natural de LPL y lipasa hepática disminuyendo la recaptura de quilomicrones en el hígado e [Allan and Taylor 1996; Kim et al. 2008]. La apo D por su parte, es una glicoproteína asociada a fuertemente a HDL, aunque en muchos tejidos es expresada (primordialmente, hígado e intestino). Aunque la apo D no posee la estructura típica de las apolipoproteínas ya que pertenece a la familia de las lipocainas las cuales incluyen a las proteínas fijadores de retinol, lactoglobulina y uteroglobulina. Las lipocainas son pequeñas proteínas transferidoras de lípidos con una limitada secuencia de aminoácidos idéntica pero con una estructura terciaria en común conservada un pliegue de barril beta el cual funciona como ligando hidrofóbico con alta afinidad por ácido araquidónico. Las apoD forman un heterodímero con las apoA-II y sirven como fuente de anclaje de la LCAT [Rassart et al., 2000]. Las apoE es clave en las estructura de las HDL al ser un componente glicoproteico que sirve como ligando con los receptores apoB/apoE y asegura la unión a glicosaminoglicanos de la superficie celular de lipoproteínas. De manera similar, la apoA-II, apoE contiene 8 repeticiones de α-hélices con características anfipáticas y condiciones de detergente hacia fosfolípidos [Lund-Katz and Phillips, 2010]. Una proteína que limita el paso de la transferencia lipídica es la apoF la cual inhibe a la CETP [Lagor et al. 2009]. apoH, se une a varios tipos de moléculas cargadas negativamente y previene activación de la cascada intrínseca de la coagulación, ya que actúa como carroñera de fosfolípidos de membranas celulares dañadas, así que también posee características de anti-agregante plaquetario, conjuntamente con apoJ puede mediar la eliminación de células en apoptosis [de Silva et al., 1990a, b]. ApoI-L son apolipoproteínas encargadas de regular apoptosis de forma intracelular [Zhaorigetu et al., 2008]. apoM es el regulador del péptido señal que determina la secreción de las HDL, aunque también ha mostrado unión a esfingosina-1 fosfatasa, importante en el ensamble de las HDL [Axler et al., 2008; Christoffersen et al., 2008; Dahlback and Nielsen, 2009; Christoffersen et al., 2011].

La síntesis de las HDL comienza con la estimulación de las proteínas reguladoras de eflujo de colesterol codificadas en el gen *ABCA1*, las proteínas reguladoras que emergen de la decodificación genética se conocen como ABCA1 cassette transportador A1 de unión a ATP, que sirven como ancla para las apolipoproteínas antes enmarcadas logrando el ensamblaje de la lipidación en las apolipoproteínas, es decir, se unen de manera primaria a los fosfolípidos y regulan el crecimiento gradual [Yokoyama, 2006]. Conjuntamente a esta señal de generación proteica, la estimulación o inhibición de PKC modula el contenido de colesterol en las HDL, ya que el colesterol compartamentado en lipoproteínas usado para la esterificación del acil-CoA por la colesterol aciltransferasa (ACAT) decrecen recíprocamente respecto del incremento en el contenido de colesterol en las HDL [Li and Yokoyama, 1995; Li et al., 1997].

La apoA-I que es una proteína de 28 kD y 243 a.a., también se une al cassette ABCA1 y es el “switch” de la LCAT, dando como resultado la conversión discoidal a esférica de las HDL [Frank and Marcel, 2000]. Tanto ABCA1 como apoA-I, se afectan mutuamente en cuanto al eflujo de lípidos, en el paso limitante en el aparato de Golgi, en este punto también cabe resaltar que debe haber una regulación fina de la expresión de caveolina 1, la cual coopera en la regulación del eflujo del colesterol [Lin et al., 2007]; aunque es claro que el eflujo vía ABCA1 no es esencial para la formación de las partículas pre-β de HDL, sin embargo, estas pre-β son el mejor sustrato para las ABCA1 con lo que pueden llenar conjuntamente el contenido de fosfolípidos y colesterol, formando las HDL discoidales [Arakawa et al., 2000]. En este punto existe la agregación de la LCAT a las HDL nacientes, esta enzima de 416 a.a. no solo funciona en el plasma para formar la mayoría de los esteres de colesterol, por la transferencia de un ácido graso de la lecitina (fosfatidilcolina) al grupo 3-hidroxil del colesterol por mecanismos facilitados por las proteínas de las familias ABC’s y SRBI, sino que también funciona como la principal enzima que participa en el intercambio de las HDL con las células de la periferia en el intercambio reverso del colesterol, así que con esta acción protege de la formación de ateromas. La enzima es activada mayormente por la apoA-I, aunque también puede ser activada por las apoA-IV,

apoC-I y apoE [Jonas et al., 1991; Steinmetz et al., 1985]. En este punto existe una actividad concertada entre la LCAT y la LPL (que hidroliza el core de las VLDL) y proporcionan mayor cantidad de fosfolípidos lo cual incrementa el tamaño de las HDL transformando de α-3 a α-2 HDL, pero además es una señal para la adición de apoA-II. El siguiente punto crítico es el eflujo de colesterol libre, el cual es regulado por la expresión de las ABCG1, proteínas que tienen la habilidad de enriquecer el pool de colesterol de la membrana, por lo que dicho incremento conlleva a un mayor flujo de fosfolípidos a la superficie de la HDL en formación (generalmente, HDL_3), las proteínas ABCG1 cobran relevancia en el crecimiento de las HDL [Kennedy et al., 2000; Klucken et al., 2000; Sankaranarayanan et al., 2009]. El último paso determinante en la formación de las HDL es la agregación de la CETP, la cual regula el intercambio de colesterol esterificado a las VLDL y en su lugar se ganan triglicéridos (aunque cabe mencionar que no de forma estequiométrica), y como resultado se pueden formar HDL pequeñas y enriquecidas con triglicéridos, las cuales son el mejor sustrato para la lipasa hepática (HL). La CETP puede mediar tanto el transporte de CE como de triglicéridos y en menor medida el de fosfolípidos. Posteriormente es secretada por vía caveolinas a torrente circulatorio [Kingwell et al., 2014].

Cuando los niveles de VLDL son elevados, la CETP media la transferencia del core lipídico de las HDL a las VLDL, lo cual excede el transporte de triglicéridos de las VLDL a HDL, generando un incremento de colesterol esterificado en las VLDL y una gran cantidad de triglicéridos en las HDL haciéndolas estructuralmente lábiles, por lo que las HDL deben perder tamaño para ganar estabilidad, haciéndolas más susceptibles a presentar aclaramiento renal [Rye et al., 1997].

Fig. 3.- Regulación de las HDL, del anabolismo al catabolismo.

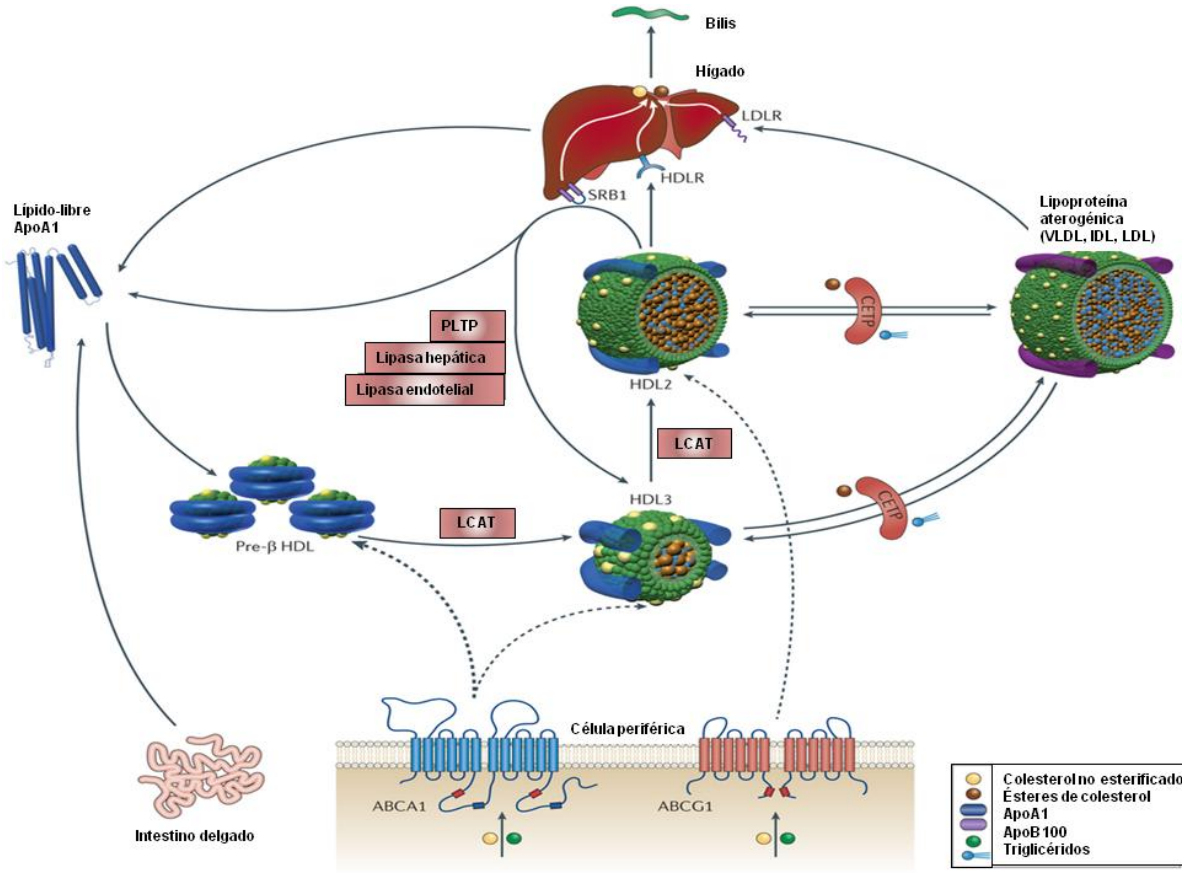


Fig. 3.- Regulación de las HDL, del anabolismo al catabolismo. Tomado y modificado (hay que cambiarlo al español) de Kingwell et al., HDL-targeted therapies: progress, failures and future. Nature Reviews Drug Discovery 13, 445–464.

De manera natural, un incremento en el consumo de carbohidratos estimula como ya se ha explicado una mayor síntesis de ácidos grasos, los cuales al seguir la vía secretoria en forma de triacilgliceroles, son eliminados del tejido hepático en forma de VLDL, estas VLDL son hidrolizadas por la LPL en diferentes tejidos lo que provoca la liberación de ácidos grasos; los principales tejidos que llevan a cabo estas acciones son el tejido adiposo que lo utiliza para su resguardo y el tejido muscular que lo utiliza para la obtención de energía [Holvoet et al., 2008]. La LPL se halla unida a los lechos capilares del endotelio de diferentes tejidos, primordialmente requiere de apoC-II como cofactor para ser activada y finalmente son extraídas cantidades limitadas según el consumo celular de triglicéridos, para

parar la hidrólisis apoC-III juega un rol de suma importancia; una vez eliminados triglicéridos de las VLDL estas se conocen como IDL (del inglés, Intermediate density Lipoproteins), estas al seguir su trayecto en circulación continúan perdiendo triglicéridos y ganado CE donado por las HDL, hasta convertirse en LDL, las cuales son tomadas en diversos tejidos (primordialmente hígado), mediante el receptor de LDLR y catabolizadas.

En estado de RI y SM, el rol de las VLDL es transportar el exceso de energía en forma de triglicéridos fuera del hígado, por lo que la producción de los mismos en aparente control glicémico es una señal de hiperconsumo calórico, ya que el ensamble y secreción de las VLDL es un proceso sustrato dependiente que es finamente regulado por la capacidad de síntesis de triglicéridos hepáticos [Fisher and Gisnberg, 2002; Fisher et al., 2001, Olofsson et al., 2000]. La síntesis hepática de triglicéridos es dependiente de la reabsorción de ácidos grasos unidos a albúmina; recaptura de VLDL y quilomicrones e hidrólisis subsiguiente del centro de triglicéridos, y de la tasa de lipogénesis de *novo*. En este sentido, la recaptura de ácidos grasos por el hígado puede estimular la ruta de señales de síntesis para las VLDL [Zang et al., 2004]. En este momento es de suma importancia considerar la señalización de insulina en la secreción central regulada por el flujo de nutrientes, el cual llega al hígado y que en estados de resistencia a insulina pierde la coordinación de señales reguladores sobre el flujo de ácidos grasos hacia el hígado, la *novo* síntesis lipídica, así como la tasa de oxidación hepática y la síntesis de proteína transferidora de triglicéridos microsomal, todos ellos favorecidos en estados de síndrome metabólico. Así mismo, se producen dos alteraciones esenciales: la disminución en la captación de glucosa e incremento en la absorción y metabolismo de AGL por el músculo, además de la pérdida en la supresión para la liberación de AGL y glicerol desde los adipocitos [Lelliot and Vidal Puig, 2004]. También es importante considerar que de manera normal, la insulina estimula la actividad LPL por incremento de en la producción en la proteína y de los niveles de su mensajero, sin embargo, cuando existe RI la actividad de la LPL disminuye en músculo esquelético, lo que sugiere un defecto en su regulación y consecutivamente presenta una cascada de anormalidades,

resultando en una disminución del aclaramiento de las VLDL [Miyashita, 2002]. Además, el aumento de AGL en suero conlleva al hígado a sintetizar fracciones más grandes de VLDL que son vertidas al plasma; las fracciones de VLDL 3, 4, 5 y 6 tardan mayor tiempo en ser eliminadas de plasma lo que fomenta el incremento de la fracción LDL; [Boden, 2003]. Otro aspecto a considerar en el incremento de las LDL, es que la acción disminuida de insulina en diversos tejidos repercute tanto en los receptores LDLR como en los LRP, y teóricamente pueden contribuir al incremento de lipemia postprandial característica del síndrome metabólico, así mismo se pueden dar fenómenos de saturación funcional de ambos receptores [Routolo and Howard, 2002]. Como ya se ha mencionado, los estados de insulino resistencia incrementan la concentración y retardan la depuración de las VLDL induciendo un incremento en el intercambio entre ésteres de colesterol en LDL y triglicéridos en las VLDL, mediado por CETP. Este intercambio promueve partículas de LDL enriquecidas en triglicéridos, las cuales son lipolizadas por HL, generando partículas pequeñas y densas de LDL. Las actividades de HL y CETP se hallan incrementadas en el SM, este proceso es altamente aterogénico, ya que las LDL cortas y densas también son susceptibles de oxidación y glicación en presencia de concentraciones elevadas de glucosa circulante, lo cual puede conducir a un incremento en la producción de anticuerpos contra apoB-100 modificadas, formando inmunocomplejos. Todas estas modificaciones pueden resultar en un decremento de LDLR [Lund-Katz et al., 1998]. Las LDL modificadas son preferencialmente adquiridas por los receptores carroñeros en los macrófagos, aumentando la tasa de consumo normal y lo que puede conducir a problemas ateroscleróticos. La relación del incremento de LDL plasmáticas, sobre todo de las subclases cortas, densas y oxidadas, así como el incremento de insulina circulante es una medida inequívoca de insulinorresistencia, que se ha demostrado en diversas poblaciones, así como la disminución de HDL. Existen varias situaciones por las cuales pueden disminuir las HDL en estados de insulino resistencia y síndrome metabólico. El más aceptado es la formación de partículas pequeñas y densas de LDL que conllevan a la formación de partículas pequeñas y densas de HDL que como ya se ha explicado son más inestables y depurables en

riñón, por lo que el regreso de las diferentes apolipoproteínas que las conforman a hígado es limitado y disminuye la síntesis paulatinamente, ya que la diferentes lipoproteínas circulantes se convierten todas ellas en lipoproteínas ricas en triglicéridos (TRL). La mayoría de los estudios presenta datos de una correlación inversa entre concentraciones de VLDL y HDL, por disminución de transferencia de apolipoproteínas y fosfolípidos de las TRL a los compartimentos de HDL. Adicionalmente, la depuración retardada de TRL facilita el intercambio mediado por CETP entre colesterol esterificado en las HDL y triglicéridos de las VLDL, el incremento de la actividad de HL en estados de insulino-resistencia, produce pequeñas partículas de HDL, de las cuales es favorecido su aclaramiento, que es observado en pacientes pobremente controlados con diabetes mellitus tipo 2, conjuntamente a esto se ha observado un incremento en la glicación de la mayoría de las apolipoproteínas presentes en las HDL, como lo es la apoA-I; evidencia también mostrada por la reacción de fructosamina que se halló incrementada en todas las cepas analizadas en el presente estudio [Routolo and Howard, 2002]. Finalmente, la insulina puede tener efectos directos sobre la producción de la apoA-I, incluso en la secreción de las HDL nacientes, ya que las subclases desfavorecidas en la insulino resistencia son las HDL_2 y se secretan las HDL pequeñas (HDL_3), por lo que el contenido de apoA-I es menor y su actividad anti-aterogénica es correspondiente [van't Hooft et al., 2001].

Por otro lado, Los AGL también intervienen en el fenómeno de insulino-resistencia tanto a nivel periférico (muscular) como en el hígado. Asimismo se vincula a la elevación de los AGL con otros factores de riesgo cardiovascular, como las dislipidemias, la hipertensión arterial y la hiperuricemia. En la actualidad también se les relaciona con la declinación funcional de las células β. En los últimos años, el criterio de que existe un fallo en la supresión de la lipólisis y que fisiológicamente debería producirse por actividad de la insulina es cada vez más claro. Se ha encontrado una estrecha relación entre la elevación de los AGL plasmáticos, el aumento en el músculo de las grasas intramiofibrilares y la insulino-resistencia. Bajo el concepto de que la anormalidad de los ácidos grasos libres (AGL) es la causa en la etiopatogenia del SM e IR, bajo el hecho de que el

"ciclo glucosa-ácidos grasos" une a los metabolismos glúcido y lipídico. Se ha estimado que estas rutas anabólicas y catabólicas están ubicadas en el centro de la regulación del uso energético corporal, ya que el aumento en la oxidación de las grasas en ayunas (que se acompaña de un bajo nivel de insulina) sirve para aportar energía, pero además para disminuir la captación de glucosa por el músculo y preservar así los niveles de la glucemia, especialmente para proveer de energía al cerebro. En cambio, cuando se absorben nutrientes, la insulina se eleva y estimula el depósito de glucosa en el glucógeno e inhibe la lipólisis, promoviendo el depósito de fuentes de energía por carbohidratos y no por lípidos [Randle et al., 1963].

Se ha demostrado que la elevación aguda de los AGL y su flujo hacia el músculo frenan la utilización de glucosa estimulada por insulina, pues hay competición de sustratos energéticos entre el carbohidrato y los AGL. Tanto en pacientes delgados como obesos, se ha mostrado que cuando se dan estas condiciones existe falla en la actividad antilipolítica de la insulina en adipocitos, sobre todo en enzimas como lipasa sensible a hormona (HSL), dando como resultado alteraciones con grado variable agravadas por los disturbios en los AGL [Bays et al., 2004; Reaven, 1995]. Los AGL contribuyen a la acumulación ectópica en músculo e hígado como una constante que causa lipotoxicidad y alteraciones de la actividad de las células β pancreáticas [DeFronzo, 2004]. Desde el punto de vista metabólico las dislipidemias se hallan asociadas a desordenes de transporte y manejo celular, esencialmente la sobre ingesta calórica y la disminución en la quema energética condicionan dicha descompensación evidenciada hormonalmente por desregulaciones de insulina y leptina, la ruptura en la comunicación hormonal conlleva a la perdida de la homeostasis celular, lo que provoca un “metabolismo viciado”, mayor consumo calórico, mayor desorden metabólico, mayor resistencia a hormonas con hipersecreción de las mismas, lo que condiciona a tener una mayor cantidad de lípidos circulantes [Unger y Orci, 2001].

1.10 DINÁMICA BIOQUÍMICA EN EL TEJIDO ADIPOSO

El tejido adiposo visceral presenta una ubicación perimetral a los órganos de la cavidad abdominal, al tejido adiposo visceral se le subdivide en omental y mesentérico el cual se ha descrito que metabólicamente es más activo que el tejido adiposo subcutáneo en relación a los procesos de lipogénesis y de lipólisis [Kershaw and Flier, 2004]. Debido a su ubicación y distribución, se encuentra en contacto con los tejidos metabólicamente activos más importantes del cuerpo, además, su vascularidad está sujeta a irrigación portal, con lo cual los ácidos grasos liberados llegan fácilmente al hígado, constituyendo así un aporte directo de energía para el metabolismo general. Diversos estudios indican el papel decisivo que juega la liberación incrementada y desregulada de ácidos grasos desde el tejido adiposo visceral a nivel sistémico, promoviendo el desarrollo de insulinorresistencia hepática, hiperinsulinemia, asociándose a su vez con la mayor prevalencia de patologías cardiovasculares, dislipidemias, disglicemias e hipertensión arterial [Bakker et al., 2004].

El proceso de liberación en el adipocito, involucra a la lipólisis, un proceso durante el cual los triglicéridos almacenados se hidrolizan hasta glicerol y ácidos grasos, efecto dirigido y limitado por lipasa hormona sensible (HSL). Esta enzima se encarga de catalizar la hidrólisis a triacilglicéridos a monoacilglicéridos, para que posteriormente la enzima monoacilglicerol lipasa produzca el último ácido graso libre. La HSL se encuentra regulada por una cinasa dependiente de adenosi-monofosfato cíclico (AMPc), razón por la que, todos los agentes que estimulen a la enzima adenilato-cinasa y aumenten la formación de AMPc, estimulan la lipólisis. Aunque no es la única vía de inducir lipólisis en el tejido adiposo [Langin, 2006].

La hidrólisis de los triglicéridos resguardos en las células grasas (en una gota de lípidos fuertemente resguardada), su rompimiento es un fenómeno complejo. Un mol de triglicéridos se rompen de forma gradual en diglicéridos y monoglicéridos, hasta genera 3 moles de AGL y mol de glicerol. Se ha observado que este fenómeno es llevado a cabo por la HSL, el primer paso a diglicéridos es 10 veces más lento el paso a monoglicéridos. La HSL es también responsable de la

hidrólisis del colesterol y ésteres retinoicos, y aunque los modelos *in vitro*, han mostrado que la HSL tiene la capacidad de hidrolizar monoglicéridos*, in vivo*, esta actividad es casi exclusiva de la lipasa de monoglicéridos [Reis et al., 2008]. La activación de la HSL por su parte requiere la fosforilación de la protreín cinasa A (PKA), a través de modulación de catecolaminas e insulina que regulan la cantidad de AMPc [Tholon et al., 2002]. La fosforilación de PKA inducida por las vías adrenérgicas, resulta en la fosforilación de HSL y su translocación a las vesículas resguardadoras de lípidos en donde comienza la lipólisis. A pesar de que la HSL es tradicionalmente contemplada como la enzima hidrolítica por excelencia se han encontrado otras enzimas capaces de promover la hidrólisis de triglicéridos en el adipocito. En los últimos años, las nuevas lipasas del tejido adiposo han sido identificadas y caracterizadas. Todas son esterasas de serina que albergan un elemento estructural común de tipo plegable como la alfa/beta-hidrolasa, y una tríada catalítica conservada que se compone de el motivo pentapeptídico *GXSXG,* así como un aspartato o glutamato activa (D/E)GG tripéptido con una histidina activa (H). Estudios para determinar la contribución relativa de cada enzima para la lipólisis de los adipocitos están en curso [Duncan et al., 2007]. Una de estas enzimas es la desnutrina una proteína de 54 kD que presenta el dominio pentapeptídico *GXSXG* conservando la serina característica de las alfa/beta hidrolasas, además conserva un aspartato que aparece en el motivo *DX(G/A)*, y una región rica en glicinas [Villena et al., 2004], esta proteína también ha sido llamada lipasa adipocitaria de triglicéridos (ATGL). La regulación nutrimental de ATGL es soportada por el hecho de que esta enzima moviliza resguardos de triglicéridos en respuesta a una demanda energética incrementada, indicando alteración en la regulación de lipólisis la cual no es compensada por otras lipasas [Zimmermann et al., 2003]. Otras enzimas capaces de lograr la hidrólisis de triglicéridos son las triacilglicerol hidrolasas (TGH); [Birner-Gruenberger et al., 2005], esta es una proteína de 60 kD conocida por su actividad de lipasa microsomal que contiene la triada catalítica y un sitio activo de serina, localizado en el motivo *GXSXG* [Lehner and Vance, 1999]. La TGH muestra actividad sobre triglicéridos de cadena larga, mediana y corta, y también se han mostrado

actividad hidrolítica sobre ésteres neutrales de colesteril [Natarajan et al., 1996], pero no presenta actividad de fosfolipasa o actividad de acil-CoA tioesterasa [Lehner y Vance, 1997]. Adiponutrina es otra enzima de 45 kDa que contiene un dominio patatina que es altamente expresado en proteínas del tejido adiposo [Baulande et al., 2001]. Esta enzima mantiene una alta homología con la secuencia de desnutrina, incluyendo la serina en la posición *GXSXG* y un motivo sitio activo de DGG. En contraste a la desnutrina, la sobreexpresión de adiponutrina no afecta la hidrólisis de triglicéridos [Lake et al., 2005], lo que sugiere que la proteína puede poseer actividades principales diferentes a la hidrólisis, como por ejemplo la actividad de aciltransferasa [Jenkins et al., 2004], por lo que se considera que su papel es más importante en el anabolismo que en el catabolismo. Por último, se han podido reconocer otras lipasas de triglicéridos reconocidas como GS2 y enzimas relacionadas, las cuales han mostrado actividad de triolein hidrolasas [Jenkins et al., 2004; Lake et al., 2005].

Todas estas enzimas hidrolíticas se enfrentan a un grupo proteico que limitan la gota lipídica, estas son las perlipinas, las cuales proveen una barrera que restringe el acceso a la lipasas de triglicéridos [Brasaemble, et al., 2000]. Los estímulos mediados por la fosforilación de PKA y la cinasa de AMPc generan en seis sitios diferentes fosforilaciones secundarias. La isoforma A de perlipina es altamente regulada por estímulos lipolíticos que actúan a través de rutas del receptor beta adrenérgico/adenilato ciclasa [Souza et al., 2002; Sztalryd et al., 2003; Tansey et al. 2004]; la perlipina A también puede influenciar la lipólisis por la regulación en la distribución y arquitectura de las gotas lipídicas dentro de los adipocitos, evitando la dispersión, esta es prevenida, por una expresión estable de perlipina A permanece sin ser fosforilada en 6 diferentes sitios potenciales característicos de serinas [Marcinkiewicz et al., 2006]. La activación de perlipina A, mediada por la fosforilación de PKA, puede incrementar la lipólisis por el aumento del área de superficie de gotas lipídicas neutrales accesibles para las lipasas, esto es secundario a la fosforilación en las serinas [Moore et al., 2005]. Otras proteínas que son determinantes en los eventos lipolíticos son las proteínas de unión a ácidos grasos del tejido adiposo (aFABP/ALBP/aP2), estas son miembros de las

proteínas citosólicas de unión a lípidos que acarrean ácidos grasos y ácido retinoico en adipocitos [Matarese and Bernlohr, 1988]. Las tasas máximas de lipólisis requieren la remoción de ácidos grasos de los adipocitos en pro de prevenir la acumulación de productos de reacción y el correspondiente feedback de inhibición de lipasas. La aFABP/ALBP/aP2 se ha postulado que actúa como una chaperona molecular que facilita el movimiento de los ácidos grasos fuera de los adipocitos, acto seguido de su liberación de los resguardos de triacilgliceroles por lipasas [Coe et al., 1999].

Otra proteína asociada a la gota lipídica es la caveolina-1 [Robenek et al., 2004], esta es regulada por el AMP cíclico, ya que la transducción de las señales mediadas por este regulan los efectos de caveolina 1 en la lipólisis [Razani et al., 1999]. La caveolina 1 se ha demostrado en directa interacción con las subunidades catalíticas de PKA para inhibir las señales dependientes de AMPc en vivo, lo que demuestra que la caveolina-1 puede facilitar la fosforilación mediada por PKA sobre la perlipina contribuyendo a la lipolisis [Cohen et al., 2004].

El fenotipo tipo obesidad que se crea a partir del consumo de la dieta hipercalórica incrementa la lipólisis basal, pero con un decremento en la estimulación por catecolaminas [Reynisdottir et al., 1995; Klannemark et al., 1999]. Adicionalmente, la alteración en la sensibilidad a insulina en adipocitos causa cambios en la señalización, los cuales incluyen una potenciación del estatus lipolítico. Los cambios en dicha señalización incluyen disminución de los supresores lipolíticos, generalmente dados en tejido adiposo visceral; estos eventos también influyen directamente en la regulación de la homeostasis de la glucosa [Albu el al., 1999; Howard et al., 1984]. Conjuntamente, se ha reportado que la leptina una hormona secretada por adipocitos, la cual estimula la lipólisis en tejido adiposo.

Fig.4.- Regulación de la lipólisis en el tejido adiposo blanco.

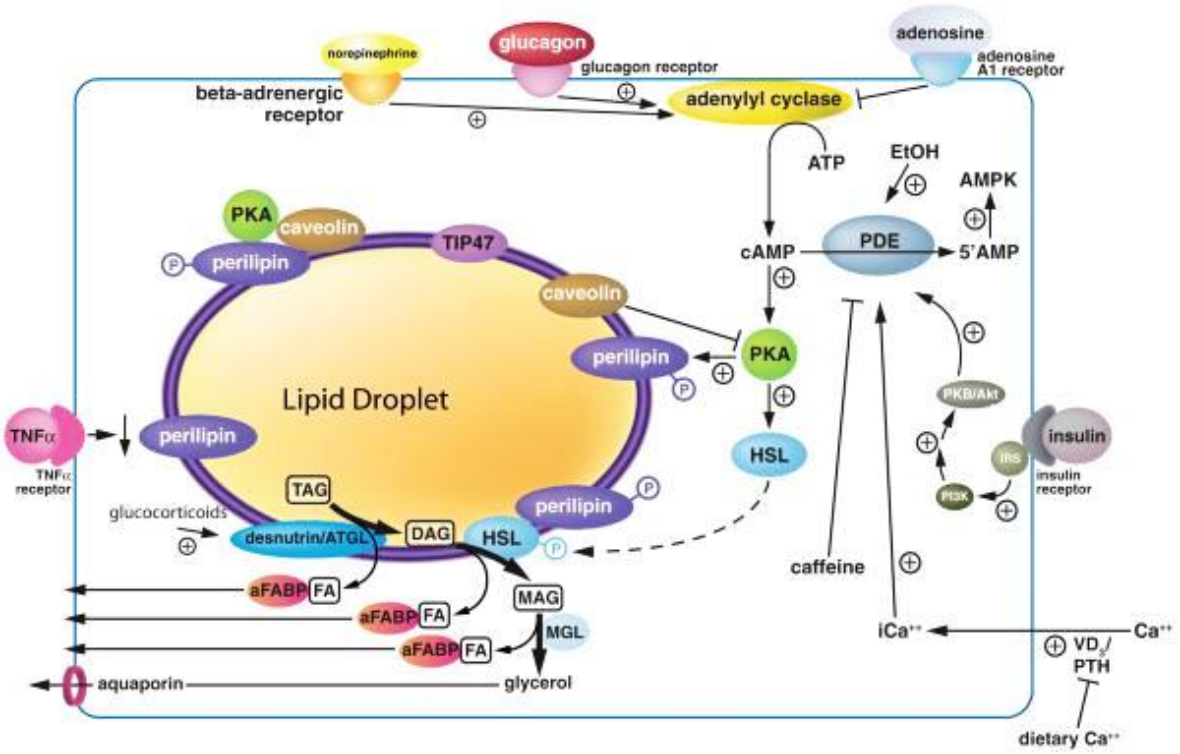


Fig.4.- Regulación de la lipólisis en el tejido adiposo blanco. Tomado y modificado (hay que cambiarlo al español) de Duncan et al., Regulation of Lipolysis in Adipocytes. Annu Rev Nutr. 2007; 27: 79–101

1.11 CONSECUENCIAS DE DESBALANCE METABÓLICO Y RESISTENCIA A INSULINA

La glucosa alterada en ayunas (IFG, por sus siglas en inglés) fue definida por la Asociación Americana de Diabetes como un punto intermediario entre la clasificación de sujetos con niveles normales de glucosa y sujetos con diabetes [ADA, 1997]. La prevalencia de IGT e IFG varía considerablemente de acuerdo a los grupos étnicos (razas o cepas en el caso del presente estudio). También es diferente entre edades y sexos; la prevalencia de ambos desordenes metabólicos incrementa conforme avanza la edad. IGT es más frecuente en mujeres que en varones aunque la mayoría de las publicaciones se basa en concentraciones de entre 110 – 126 mg/dL, a partir del año 2013, esta característica disminuyó a rangos de ente 100 – 126 mg/dL [ADA, 2004]. En la mayoría de los estudios en modelos animales y en humanos la IFG se caracteriza por severa insulino

resistencia que a largo plazo desarrollan diabetes. En ambos casos la IFG y la IGT se presentan con características heterogéneas en cuanto a la clínica de los pacientes, e incluso con alteraciones metabólicas variables, sin embargo, hay rasgos característicos de complicaciones cardiovasculares en los sujetos de estudio, por lo que la IFG y la IGT se han considerado como predictores de alto riesgo para el desarrollo de estas patologías, ya que presentan fuerte asociación con hipertensión e hipertrigliceridemia progresiva, así como con disminución de las lipoproteínas HDL [Davies et al., 2000; Hetdgaard et al., 2004; Blake et al., 2004]. Característicamente, la IFG muestra alteraciones en ayuno de la glucosa, sin embargo al dar un carga de 75g de glucosa anhidra en 10 Oz, esta no es diferente de un sujeto normotolerante e incluso pueden observarse concentraciones de glucosa por debajo de los 140 mg/dL dentro de los primeros 30 – 60 min, y a los 120 min se hallan valores de glucosa por debajo de la concentración de partida, por lo que es establecido que este grupo de pacientes presenta una marcada resistencia hepática a la insulina, pero condiciones de normales a incrementados en la sensibilidad muscular a la hormona. Lo cual es justificado ya que los pacientes con IFG decrecen en la secreción insulínica de primera fase 0 – 10 min, también de fase temprana antes de los 30 min y una secreción normal en la segunda fase de 60 – 120 min. La combinación de la resistencia a insulina hepática primordialmente, con el defecto en la secreción de la hormona, resulta en un exceso de la producción de glucosa hepática (gluconeogénicos, glucogénicos y gluconenolíticos), y por lo tanto este tipo de defectos pseudo-hiperglicémicos. La respuesta muscular normal a insulina compensa los defectos hepáticos [Nathan et al., 2007].

1.12 RESISTENCIA A INSULINA Y SÍNDROME METABÓLICO

El exceso de tejido adiposo está asociado a disturbios metabólicos y enfermedades como el síndrome metabólico. Paradójicamente, el tejido adiposo “alterado” se manifiesta de una manera similar al “normal”, sin embargo existen profundas alteraciones tanto en la señalización como en el metabolismo [Rask-Madsen and Khan, 2012]. Aunque los trastornos lipodistróficos representan una

variedad de estados fisiopatológicos subyacentes, en los que convergen complicaciones metabólicas asociadas en común a obesidad como: síndrome metabólico, resistencia a insulina, complicaciones cardiovasculares, alteraciones pancreáticas, inflamación, etc. La comprensión de la fisiopatología de estas alteraciones en pacientes y modelos paralelos como lo es la lipodistrofia de animales, apunta hacia el concepto de una masa de tejido adiposo que “cumple” con las necesidades de energía del organismo, pero que además resguarda de manera abundante los principales componentes que son triglicéridos [Blüher et al., 2002]. El exceso de grasa abdominal, en particular de la perivisceral o intraabdominal de alto dinamismo (o sea con intensa lipólisis) produce una plétora de AGL que llega al hígado vía porta. Cuando hay sobrecarga hepática de AGL ocurren tres fenómenos principales: aumenta la producción de VLDL cargadas de triglicéridos y de apolipoproteína B (aterogénicas); se incrementa la gluconeogénesis hepática, y disminuye fuertemente la capacidad de aclaramiento de la insulina, que llega también por vía porta. Todos estos fenómenos que ya se han ido describiendo, generan estados hipertróficos (ganancia en el tamaño del adiposito) e hiperplásicos (incremento en el número de células adipocitarias [Arner et al., 2010]. Aunque está bien establecido que aumenta el promedio el volumen de las células grasas con el aumento de la masa grasa corporal, hay una gran variación interindividual en el tamaño de las células grasas, independientemente de la cantidad absoluta de tejido adiposo. Las personas obesas pueden tener muchas células de grasa más pequeños (es decir, hiperplasia) o menos, pero más grande, los adipocitos (es decir, hipertrofia) [Krotkiewski et al., 1975]. En este sentido se considera que la grasa visceral es la más diabetogénica ya que evoca una gran cantidad de señales inflamatorias, niveles incrementados de proteína C reactiva, TNF-α e IL-6 se han encontrado incrementados en modelos animales y humanos con obesidad central, la cual al ser eliminada mediante dietas, ejercicio o diferentes administraciones farmacéuticas, mejora la resistencia a insulina, hipertensión arterial y disglucemias asociadas [Trayhurn and Wood, 2005]. En adultos y jóvenes con sobre peso estos mismos factores inflamatorios han sido detectados, y al eliminar el estímulo del sobre peso, también muestran mejoras

importantes, sobre todo en los niveles de proteína C reactiva e IL-6 [Florez et al., 2006].

El TNF-α de tejido adiposo produce una serie de otras adipocinas con efectos bien descritos en el metabolismo y la inflamación. La resistina, adiponectina, leptina, y quimiotáctica de monocitos proteína-1 (MCP-1) se encuentran entre un grupo de proteínas secretadas a partir de tejido adiposo con funciones inmunomoduladoras [Yu and Ginsberg, 2005]. La producción y secreción de estas adipoquinas se alteran durante la obesidad, lo que resulta en un perfil de secreción proinflamatoria o más aterogénico. De hecho, mientras que la secreción de MCP-1, resistina, y otras citocinas proinflamatorias se incrementa por la obesidad, la secreción de la adiponectina adiposo proteína anti-inflamatorio se reduce [Kadowaki and Yamauchi, 2005]. Aunque el aumento de los depósitos de grasa visceral y la hipertrofia de adipocitos se han relacionado con un mayor grado de inflamación del tejido adiposo, hasta hace poco se conocía sobre las vías exactas que conducen a un estado proinflamatorio de tejido adiposo en los individuos obesos, permaneciendo sin identificar. Sin embargo, recientemente mucha atención se ha desviado a la función de los macrófagos. Los Macrófagos infiltrados, que son parte de la fracción vascular del estroma de tejido adiposo, son posteriormente responsables de la producción de una amplia variedad de proteínas proinflamatorias incluyendo MCP-1, TNF, y la interleucina-6 (IL-6). El desarrollo de la resistencia a la insulina en los adipocitos está reconocido que se encuentra estrechamente vinculada a la infiltración de macrófagos. Sin embargo, cómo es que la entrada de los macrófagos en el tejido adiposo blanco (WAT) conduce a la resistencia sistémica a la insulina aún no está claro, aunque se cree cada vez más que la secreción alterada de adipocinas por WAT durante la obesidad puede representar una pieza importante del rompecabezas [Stienstra et al., 2007].

Uno de los tejidos que se ve afectada por la secreción proinflamatoria del tejido adiposo es el hígado. La activación crónica del regulador maestro de la inflamación factor nuclear-kB (NF-kB) por citoquinas ha estado directamente relacionado con el desarrollo de la resistencia a la insulina en el hígado [Arkan et

al., 2005; Cai et al., 2005]. También se ha demostrado que la sobre expresión de MCP-1 tejido adiposo específico, aumenta el contenido de triglicéridos hepática. Aunque la esteatosis es una ocurrencia común en personas obesas, el papel del tejido adiposo inflamado en el desarrollo de esteatosis se sigue estudiando. Para el propio tejido adiposo, una consecuencia del estado inflamatorio es elevada resistencia a la insulina. Las citocinas proinflamatorias se han demostrado que interfiere directamente con las vías de señalización de insulina [Greenberg and Obin, 2006]. Por ejemplo, TNF provoca resistencia a la insulina mediante la inhibición de la fosforilación de tirosina del receptor de insulina sustrato-1 [IRS-1, Hotamisligil, 2003]. Otros mecanismos de inhibición de IRS-1 fosforilación por mediadores inflamatorios incluyen la activación crónica de JNK, PKC, e IKK [Agirre et al., 2002; Nguyen et al 2005; Gao et al., 2002].

El exceso de oferta de glucosa podría inhibir la oxidación celular de grasas y favorecer la acumulación de lípidos ectópicos que deprimen el transporte de glucosa y así exacerban la resistencia a la insulina [Boden and Jadali, 1991; Boden and Chen 1995].

Una gran parte de la preocupación por el vínculo entre la disfunción adipocitaria y el SM y DM2 se refiere a que existe evidencia de que las grasas se sitúan en órganos y tejidos no preparados para su depósito, en lugar de hacerlo en su sitio natural: el tejido adiposo. Esos depósitos grasos se ubican en órganos magros como los músculos esqueléticos, el miocardio, los vasos sanguíneos, el hígado, el riñón y el páncreas. Así, por ejemplo se ha descrito que se encuentra aumentado el contenido de triglicéridos dentro del músculo esquelético de obesos y diabéticos, constituyendo un fortísimo predictor de insulino resistencia [Kelley and Goodpaster, 2001].

1.13 PATOLOGÍAS SECUNDARIAS DEL SÍNDROME METABÓLICO

El aumento del riesgo cardiovascular asociado al SM puede deberse a la suma de los componentes que constituyen factores de riesgo independientes:

- Consumo de dietas hipercalóricas
- Disglucemia.
- Dislipemia.
- Obesidad.
- Resistencia a la insulina.

El perfil arterogénico, con aumento de VLDL, disminución de HDL y presencia de LDL con partículas pequeñas y densas se asocia a un aumento en el riesgo de enfermedad coronaria cardíaca. El evento inicial de la ateroesclerosis lo constituye la disfunción endotelial; como consecuencia de ello aumenta la permeabilidad a monocitos circulantes y a LDL nativas, los que ingresan a la pared vascular. Una vez en el interior, el monocito se transforma en macrófago y la LDL nativa es oxidada. El macrófago expresa receptores scanvenger que capta con alta afinidad las LDL oxidadas y acumula colesterol en forma no regulada, conduciendo a la formación de células espumosas, que van a constituir la estría lipídica. La estría, impregnada en células espumosas secreta gran cantidad de proteínas proinflamatorias que van a desencadenar un estado inflamatorio crónico. Las LDL, que ingresan por el aumento en la permeabilidad vascular, se oxidan y son captadas por los macrófagos. El macrófago activado libera TNF alfa e interleucinas, lo que desencadenará un estado proinflamatorio. Finalmente se activará el proceso de coagulación, la producción de factores de crecimiento y la proliferación de células musculares lisas. La hipertensión ha sido incluida como criterio diagnóstico en todas las definiciones de SM, desde que a este último se ha relacionado significativamente con riesgo cardiovascular el evento final; el rompimiento de una placa inestable desencadenaría el evento coronario. [Carlos Calvo M, 2012].

1.14 MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE ALTERACIONES METABÓLICAS.

Para el estudio de enfermedades que ya fueron mencionadas, se interponen impedimentos para su entendimiento, desarrollo y tratamiento de cada una de estas alteraciones metabólicas, ya que se ve involucrada la heterogeneidad genética, una esperanza de vida larga, una amplia diversidad de estilos de vida, relativa inaccesibilidad a tejidos u órganos, y consideraciones de tipo ético [J. Arias-Díaz y J. Balibrea, 2007]. Es por ello, que los estudios en modelos animales constituyen una valiosa herramienta para comprender los procesos fisiopatológicos asociados a diversas enfermedades metabólicas. [Ayala I., Fernández-Pardo J. et al. , 2008].

Aunque las técnicas de biología molecular se han vuelto más importantes para aclarar los mecanismos de las enfermedades, la importancia de los modelos animales no ha cambiado. Se necesitan modelos animales para revelas el subyacente fisiopatológico de las enfermedades metabólicas; este enfoque proporciona información que es la clave para el desarrollo de nuevas terapias y fármacos para tratar y gestionar estas enfermedades [Tomohiko Sasase, et al., 2013].

Una gran parte de las investigaciones se desarrollan en roedores (ratones y ratas principalmente), dada su similitud biológica con el hombre; y el conocimiento que se tiene en el campo genético, molecular, enzimática por mencionar algunos de estas especies [Ayala I., Fernández-Pardo J. et al. , 2008].

Hoy en día, se han reportado los últimos modelos experimentales con información actualizada sobre fisiopatología. Entre los nuevos modelos animales dietéticos se tienen la rata SDT y sus diversas cepas, por ejemplo, se tiene entre ellos a los modelos de los no obesos, T2D, la cual muestra hiperglucemia severa e hipoinsulinemia. Entre otros modelos se mencionan a la rata diabética Torii, que es un murino ob(-), db (+), la cual desarrolla complicaciones diabéticas graves, tales como retinopatía biabética, neuropatía diabética periférica y osteoporosis;

otro modelos utilizado es la rata inNIDDMofOLETF y inOLETF los cuales son los responsables de la DM no dependiente. otros trabajos de investigación ayu [Tomohiko Sasase, et al., 2013].

La decisión acerca del modelo a usar para un experimento en particular, es a menudo multifactorial, por lo que sería ideal llevarlos a cabo en diversos modelos animales, teniendo en cuenta que ninguno de ellos refleja por completo la complejidad de las enfermedades metabólicas en humanos. Sin embargo, si es imprescindible el uso de estos roedores para poder entender, describir e interpretar los procesos fisiológicos y patológicos de diversas enfermedades que se le puedan inducir a cada animal. Para ello, es comúnmente el uso de diversas cepas de las cuales se posee un previo conocimiento y estudio detallado de las mismas.

Entre los modelos más empleados, se pueden mencionar a las cepas de ratas Wistar, Long Evans (LE), Sprague-Dawley (SD), Zucker, la rata Goto-Kakizaki, NUD, la rata OLETF (Otsuka LETokushima) [J. Arias-Díaz y J. Balibrea, 2007], entre otras, que son comúnmente utilizadas para el desarrollo de enfermedades como DM2, Obesidad, SM e intolerancia a la glucosa. Ejemplo del uso de los modelos anteriores, la cepa SD tiene como característica el desarrollo de obesidad central pero no el de DM [Harlan Laboratories] y la cepa LE caracterizada por el desarrollo de obesidad central, sobrepeso y desarrollo espontáneo de DM2 [Harlan Laboratories]. Así mismo, el uso de ratones es frecuente para estudio de estas alteraciones metabólicas ya mencionadas, entre los cuales se tiene al ratón de la cepa db/db, ratón ob/ob y el Agouti, como los más reportados en la literatura [J. Arias-Díaz y J. Balibrea, 2007].

No obstante, el uso de modelos animales soslaya algunos de estos problemas, sin embargo, la extrapolación de resultados de animales al hombre (y viceversa) conlleva cierto riesgo [Ayala I., Fernández-Pardo J. et al, 2008]. Las ventajas en la experimentación animal han permitido obtener gran cantidad de información valiosa acerca de la patogénesis de la enfermedad desde décadas atrás. Ejemplo

de ello, es que en 1922, Banting, Best, Collip y sus colaboradores publicaron su histórico artículo descubriendo la cura de DM en un perro [Ayala I., Fernández-Pardo J. et al. , 2008]. A partir de entonces, se utilizaron ampliamente tanto perros como animales de otras especies para analizar diversos parámetros biológicos y fisiológicos de la diabetes y otras enfermedades. Otro de los ejemplos sobre el uso de modelos animales es el estudio de las dietas que contiene alta cantidad de sacarosa y fructosa que pueden conducir a una hipertrigliceridemia en ciertas condiciones (Frayn y Kingman, 1955) [Am J Clin Nutr.,1995]. En ambos casos, la fructosa promueve la síntesis hepática de triacilgliceroles y su liberación en plasma en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Así mismo dentro de la misma línea de estudio del daño producido por el consumo de ciertos carbohidratos, las ratas macho Wistar han mostrado ser vulnerables al desarrollo de hígado graso inducido por la fructosa, y se les considera un modelo aceptado para el estudio de síndrome metabólico [Ayala I., Fernández-Pardo J. et al. , 2008, Am J Clin Nutr.,1995].

Como estos ejemplos se encuentran innumerables investigaciones y descubrimientos que se podrían mencionar en este apartado, sin en cambio, con ello se justifica la importancia del uso de modelos animales para la investigación clínica y médica, que ayuda al estudio de enfermedades o de los posibles tratamientos o terapias e incluso el desarrollo de curas para ciertas enfermedades.

1.15 DIETAS UTILIZADAS PARA EL DESARROLLO DE ENFERMEDADES PATOFISIOLÓGICAS EN MODELOS MURINOS.

Como se ha venido mencionando, otros de los factores de riesgo que últimamente ha causado gran impacto sobre la sociedad, es la parte nutricional, principalmente una dieta hiperglúcida y/o hipercalórica, ya que recientes estudios epidemiológicos, demuestran que la ingesta del alimento con estas características podría generar trastornos en el metabolismo de lípidos y carbohidratos, ocasionando así alteraciones que conlleven al desarrollo de enfermedades

metabólicas como lo es SM y DM2. Es así que, para poder entender fisiológica y bioquímicamente estos desbalances, se han diseñado diversas dietas en las que los efectos de su consumo se demostraran en modelos animales, cuyas características anatómicas y metabólicas se asemejen al humano.

Entre algunos trabajos importantes de investigación en donde son utilizadas ciertos tipos de dietas, se pueden mencionar algunos ejemplos, tal es el caso del uso de fructosa como edulcorante en una dieta, cuyo propósito es demostrar a través de la inducción excesiva de este sacárido (66% de fructosa en la dieta) en modelos murinos, el origen de alteraciones patológicas como SM, o bien, conocer específicamente alguna patología que es componente de esta alteración, como es el caso de sobrepeso, hipertensión arterial (HTA), resistencia a la insulina, dislipidemias, por mencionar algunas [I S Hwang, et al., 1987]; cuyos resultados son extrapolados al hombre con el sobreconsumo de bebidas edulcoradas con fructosa y sustitutos de glucosa de uso de pacientes diabéticos [Havovi Chichger, 2011].

Otras dietas utilizadas son las de alto contenido calórico y lipídico, cuya finalidad es de igual manera demostrar el desarrollo de enfermedades metabólicas con el sobreconsumo del alimento por diversos modelos animales (ratas o ratones) según su intención de trabajo de investigación, tal es el caso del estudio de relación de la obesidad inducida en ratas con una dieta alta en grasas con cambios en la microbiota intestinal y la inflación intestinal, la cual ha planteado la hipótesis de que el aumento en el peso corporal se asocia con un aumento en la capacidad de la microbiota para extraer los nutrientes de la dieta y en la inducción de cambios metabólicos en el huésped, tales como el aumento de la oxidación de ácidos grasos en el músculo y el aumento de almacenamiento de triglicéridos en el hígado [Claire Barbier de La Serre et al., 2010].

Otro estudio importante cuyo objetivo principal fue el uso de una dieta grasa, es el de la Influencia de la composición de esta dieta en el desarrollo de la resistencia a

la insulina en ratas, cuyo trabajo concluye que ciertos ácidos grasos y el medio ambiente en el que se presentan los lípidos de una dieta alta en grasa determina la sensibilidad a la insulina en los roedores [Leonard H Storlien, 2010].

Estos son algunos ejemplos que se pueden citar en donde el uso de dietas diversas son el componente principal de sus trabajos de investigación. Sin embargo, a pesar de que cada una de éstas sea diseñada por el investigador, debe cumplir con los requisitos de acuerdo a las especificaciones de nutrientes recomendados por laboratorios que se encargan de fabricar alimento para roedores, tal es el caso del manual de alimento de ratas de laboratorios recomendado por la Academia Nacional de Ciencias y laboratorios Harlan [*André F. Nascimento* et al., 2008; Harlan Laboratories, 2009]. Este último laboratorio, es el de más demanda por la investigación, ya que su variado tipo de alimento, cumple con los componentes globales nutricionales para los murinos, como vitaminas, minerales, grasas, fibra, etc, y los cuales están certificados por la ISO9001-2000. [Harlan Laboratories, 2009].
Las dietas más utilizadas con la 5001, cuyos ingredientes van de 23% de proteínas, 5% de grasas y 3 kcal/g, siendo una dieta normocalórica sin ningún efecto patológico en los roedores. Sin en cambio, otra dieta que es de componente hiperlipídico, contiene 1.5% más grasas que la dieta 5001 y frecuentemente utilizada para inducción de alteraciones metabólicas como dislipidemias. El resto de las dietas varía el porcentanje de su composición de algunos ingredientes y su uso dependerá de la cantidad de cada uno de estos y el efecto que podría causar el consumo progresivo de ellos [Harlan Laboratories, 2009].

Este tipo de dietas no son reflejo fiel de lo que sucede en la población mundial, ya que son los carbohidratos los que se consumen mayoritariamente en la dieta, y un sobre consumo de los mismos provoca alteraciones fenotípicas de las enfermedades de estudio.

Es por esto que se ha diseñado una dieta hiperglúcida hipercarcalórica, capaz de inducir dichos desordenes metabólicos y que provea de información mas apegada a lo que sucede en el humano, con lo que los grupos enfocados a la investigación de dichas patologías obtengan ventaja experimental sobre el comportamiento bioquímico y celular de la patofisiología de entes epidemiológicos en estudio.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La pandemia del SM ha tomado tintes alarmantes a nivel mundial, considerando que cuenta con un origen multifactorial, su estudio es considerado uno de los más complicados, ya que existe injerencia y efecto de uno o más trastornos adicionales al desorden inicial (sus comorbilidades). Su prevalencia es variable dependiendo de los criterios diagnósticos empleados, en general los datos estadísticos muestran su presencia en el 23.7% de la población mundial; esta puede variar ampliamente en diferentes poblaciones siendo de hasta 58.3% en poblaciones México-Americanas. a nivel global que ofrecen datos de prevalencia del síndrome metabólico, oscilando entre 13 y 42 %, según la población de origen y los criterios utilizados [Quiróz Cortés, 2014], mismas que afectan a nivel mundial aproximadamente 1,400 millones con características de sobrepeso y 500 millones con obesidad, según la Encuesta Nacional de Salud (2012) [15] y expertos de la Organización de Naciones Unidad para la agricultura y Alimentación (FAO).

Por lo que en el mes de julio del 2013 fue declarado México en primer lugar en obesidad nivel mundial dejando atrás a países más desarrollados como Estados Unidos, ya que 7 de cada 10 mexicanos presenta sobrepeso a causa de una mala alimentación, siendo esto, un problema alarmante económico y de salud pública según informe de la ONU [20]. Los principales condicionantes de obesidad son el sedentarismo y alimentación hipercalórica, esta última con índices altos de carbohidratos, convirtiéndose así en una dieta hiperglúcida hipercalórica, con impacto epigenético en el desarrollo de patologías asociadas a síndrome metabólico. Por lo que se plantea la siguiente pregunta:

¿Es la dieta hiperglúcida e hipercalórica uno de los factores determinantes para el desarrollo de SM en modelos animales con diferente susceptibilidad genética?

JUSTIFICACIÓN

El SM es considerado como una constelación de factores de riesgo lipídicos con impacto en el comportamiento glicémico y viceversa, que pueden aparecer de forma simultánea o secuencial en un mismo individuo con manifestaciones de un estado de resistencia a la insulina cuyo origen puede ser genético. No se trata de una simple enfermedad, sino de un grupo de problemas de salud causados por la combinación de factores genéticos y factores asociados al estilo de vida, mencionando entre ellos a una mala dieta, como lo es la sobrealimentación y la ausencia de actividad física; de forma que el exceso de grasa corporal y la inactividad física favorecen al desarrollo de insulinorresistencia.

Sin embargo, se pueden encontrar innumerables estudios y experimentos en el origen de enfermedades metabólicas como lo es la obesidad y DM2, involucrando factores como dietas solamente altas en grasas, o en carbohidratos; en cambio, no hay reportes de estudios que involucren una dieta combinada alta en glúcidos y calorías, cuya consecuencia sea el desarrollo de SM a corto o mediano plazo; esta combinación de alimentos ha sido en los últimos años la más común en la alimentación de la población de países desarrollados y en vías de desarrollo como en México, siendo esto un dato importante a nivel mundial, ya que no se ha puesto atención sobre el impacto de este tipo de dietas que puede tener sobre la salud tanto en niños como en adultos. Mediante modelos murinos con grados variables de susceptibilidad genética es posible probar el impacto de dicha dieta, con lo que se aportaría nuevo conocimiento, con mayor apego al proceso fisiopatológico en humanos; creando un modelo de estudio adecuado para probar blancos terapéuticos y estrategias de tratamiento, que conlleven a limitar el avance de consecuencias naturales en la evolución de la enfermedad.

OBJETIVO GENERAL

Establecer mediante una dieta hiperglucida hipercalorica, un síndrome metabólico en cepas de ratas con diferente susceptibilidad genética.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

En las diferentes cepas de ratas (Wistar, Sprague Dawley y Long Evans) expuestas a la dieta hiperglucida hipercalorica:

- Evaluar los cambios zoométricos relacionados con el desarrollo de SM.
- Determinar los cambios metabólicos de carbohidratos asociados a SM.
- Determinar los cambios metabólicos de lípidos asociados a SM.

HIPÓTESIS

Hipótesis nula

La alimentación temporal con una dieta Hiperglúicida Hipercalórica en cepas de ratas con diferente susceptibilidad genénita no genera SM.

Hipótesis alternativa

La alimentación temporal con una dieta Hiperglúicida Hipercalórica en cepas de ratas con diferente susceptibilidad genénita genera SM.

2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Tipo de estudio

Prospectivo, analítico, observacional, de cohorte, transversal y experimental.

2.1 Definición del universo

60 ratas macho (20 ratas Wistar, 20 ratas Long-Evans y 20 ratas Sprague Dawley) con un peso inicial de 100 g

2.2 Tamaño de la muestra

60 ratas macho de diferentes cepas.

2.3 Definición del grupo control

Grupo control conformado por 30 ratas macho de las cuales 10 pertenecerán a la cepa Wistar, 10 LE, 10 S-D, y las cuales serán alimentadas durante todo el curso experimental con dieta balanceada (Harlan 5001).

2.4 Variables y definición de variables

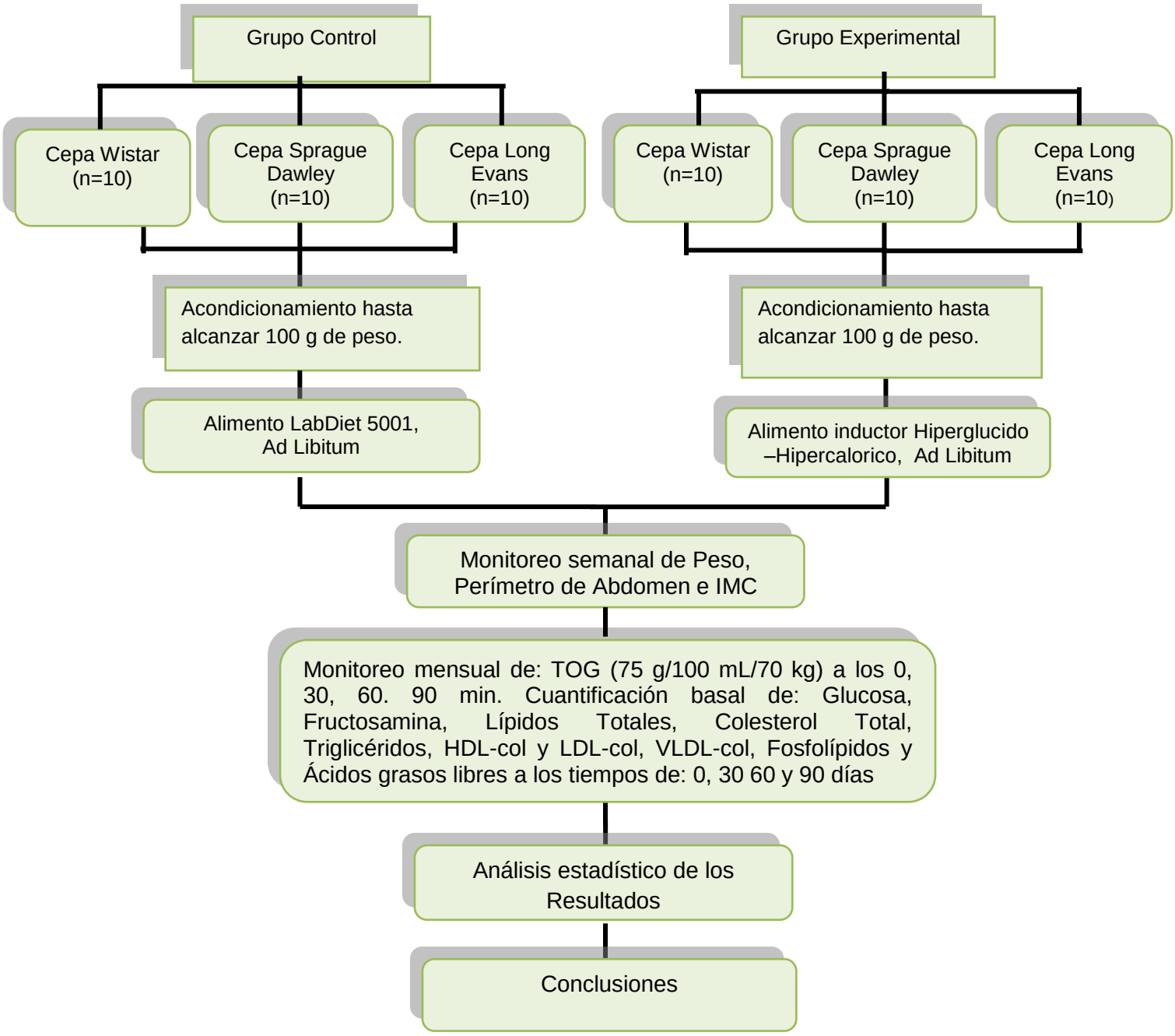
Independientes: Edad y sexo.

Dependientes: Valores de glucosa basal y durante la administración de una carga del carbohidrato, lípidos totales, triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, fructosamina sérica, peso, IMC, perímetro de abdomen y talla.

2.5 Manejo estadístico de los datos y pruebas estadísticas

Los resultados fueron expresados como la media ± el error estándar de la media (EEM) y evaluados e interpretados por una prueba estadística de *"t"* de Student a un nivel de significancia de $p \leq 0.05$.

3. DIAGRAMA DE TRABAJO



4. METODOLOGÍA

Animales empleados en el proyecto.

Para este proyecto se emplearon ratas macho de diferentes cepas, divididas aleatoriamente en dos grupos, el control y el grupo experimental. Teniendo así en el grupo experimental un total de 30 ratas: 10 ratas de la cepa Wistar, 10 ratas de la cepa Sprague-Dawley y 10 ratas de la cepa Long Evans. Por otro lado, para el grupo control se emplearon 30 ratas macho, con el mismo número de ratas para cada una de las cepas mencionadas anteriormente.

Estos animales tuvieron la característica de tener un peso inicial aproximado de 100 g; todas provenientes del Bioterio Claude Bernard de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, las cuales se mantuvieron bajo condiciones controladas de acondicionamiento por un periodo de 15 días, con ciclos de luz, obscuridad de 12 horas y temperatura de 19 -26 °C. mantenidas en cajas de policarbonato con una cama de serrín con disponibilidad de alimento y agua *"Ad libitum"*. Los dos grupos divididos por cada cepa, se sometieron a diferentes condiciones de alimentación: el grupo control se mantuvo con una dieta a base de pellets balanceados (LabDiet 5001) y agua a libre consumo. El grupo problema o experimental, fue sometido a una dieta Hiperglúcida – Hipercalórica y agua. Cada procedimiento se siguió de acuerdo a la "Guía para el Ciudadano y uso de animales de Laboratorio" de México y aprobados por el Comité Institucional para el Ciudadano y Uso de Animales.

Composición de las dietas empleadas para cada grupo utilizado en el proyecto.

<u>Dieta balanceada para el consumo de animales de laboratorio (LabDiet 5001):</u>

10 g de dieta balanceada contiene:
4.87g de carbohidratos = 19.48 Kcal
2.39g de Proteínas = 9.56 Kcal

0.5g de Lípidos= 4.5 Kcal

0.51g de fibra = 1.0 Kcal

0.7g de cenizas.

Total: 34.54 Kcal

Dieta HH, inductora de SM:

10 g de la dieta hiperglúcida - hipercalórica contiene:

7.14 g de carbohidratos =28.6 Kcal

0.73 g de Proteínas = 2.92 Kcal

0.58 g de Lípidos=5.22 Kcal

0.0 g de fibra = 0 Kcal

0.35 g de cenizas.

Total= 36.74 Kcal.

Ambas dietas cumplen con las cantidades mínimas necesarias de sustratos energéticos aprovechables, según lo indicado por la Guía Internacional para el Cuidado y Manejo de Animales de Laboratorio.

Ingredientes para preparar la dieta HH:

- 3.943 kg de harina de trigo San Blas.
- 1.96 kg de azúcar refinada.
- 0.49 kg de azúcar glass.
- 0.27 kg de polvo para merengue
- 0.7 kg de mantequilla.
- 0.28 kg de sales.
- 0.07 kg de salvado.

Zoometría (Peso, talla, índice de masa corporal, diámetro de abdomen y porcentaje de grasa).

A las 60 ratas de las cepas ya mencionadas se les monitoreó semanalmente con diferentes medidas corporales. El peso fue medido con una balanza digital tarada con una caja de policarbonato y serrín. La talla y el diámetro del abdomen se realizó con ayuda de una cinta métrica flexible. La medida de la talla fue tomada de la base de la cola a la punta de la nariz, y la segunda se realizó tomando como referencia la zona del diafragma como límite superior y el pliegue de piernas como límite inferior (zona abdominal). El IMC se calculó con la fórmula de peso entre el cuadrado de la talla. El porcentaje de grasa fue determinado con base al Índice de Lee, cuya fórmula consiste en la división de peso elevado a 0.33 entre la talla y a su vez este cociente es multiplicado por cien.

Obtención de la muestra sanguínea

Para la obtención de las muestras sanguíneas, cada rata fue sometida a un ayuno de entre 4 y 5 horas. Posteriormente, se hizo uso del anestésico ketamina + xilazina a una dosis de 0.2 mL/100 g a través de vía intraperitoneal y así obtener así las muestras sanguíneas vía cardiaca, utilizando una jeringa de 1 mL y una aguja de 30 G por ½". Para dicho procedimiento, se colocó y fijó a cada rata en una charola de disección en posición decúbito dorsal y se procedió a realizar la punción cardiaca obteniendo aproximadamente 500 µL de su sangre total.

Una vez obtenida la sangre total, se colocó en tubos eppendorf y se centrifugó a 9000 r.p.m. por 10 minutos para separar el suero del paquete celular. Una vez obtenidos los sueros, se prosiguió a la medición de Glucosa, Fructosamina, y lípidos como Triglicéridos, Colesterol total, Colesterol HDL, Colesterol LDL, Lípidos totales, Ácidos Grasos Libres y Fosfolípidos.

Determinación de la concentración de ácidos grasos libres.

En el primer paso de la determinación de ácidos grasos libres, éstos fueron activados por la acil-CoA sintetasa, en presencia de ATP y coenzima A, produciendo acil-CoA, AMP y pirofosfato inorgánico. La acil-CoA formada es

oxidada por un acil-CoA oxidasa a enoil-CoA con producción simultánea de peróxido de hidrógeno, el cual es acoplado a una reacción oxidativa con 4-aminoantipirina y 2,4-dibromofenol en presencia de peroxidasa, formando un cromóforo el cual tiene su máximo de absorbancia a 505 nm. Ya que la presencia de coenzima A libre no reactante es un inhibidor de la reacción de la peroxidasa, los grupos sulfonilos de la coenzima son bloqueados con N-etilmaleimida después del primer paso.

Determinación de Colesterol total.

La concentración sérica de colesterol total, se realizó por química líquida en la que los ésteres de colesterol reaccionan con un colesterol esterasa dando como resultado colesterol y ácidos grasos libres, el colesterol resultante se oxida mediante una colesterol oxidasa, esta reacción tiene como productos colesterol-3-ona y peróxido de hidrógeno, este último se acopla a una reacción como 4-aminoantipirina y fenol coordinada por una peroxidasa obteniendo como producto final coloreado quinaimina el cual se detecta por espectofotometría a una longitud de onda de 505 nm.

Determinación del Colesterol HDL reactivo precipitante

El colesterol de las proteínas de baja densidad (LDL), las de muy baja densidad (VLDL) y los quilomicrones es hidrolizado por una colesterol oxidasa mediante una reacción enzimática acelerada no formadora de color. El detergente presente en el reactivo solubiliza el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) de la muestra. El colesterol HDL se cuantifica espectofotométricamente mediante las reacciones acopladas descritas a continuación. El colesterol esterificado se hidrata mediante una colesterol esteras, dando como resultado colesterol y ácidos grasos libres, el colesterol resultante sufre una semioxidación e hidratación por una colesterol oxidasa, dando como resultado colestenona y peróxido de hidrógeno, este se acopla a una reacción coordinada por una peroxidasa con 4-quinonaimina, que presenta color y este es detectado por espectofotometría a longitud de onda de 505 nm.

Determinación de Colesterol LDL reactivo precipitante

Las lipoproteínas de baja densidad (LDL) presentes en la muestra, precipitan en presencia de polivinil. La concentración de colesterol LDL se calcula por diferencia entre los valores de colesterol en el suero y el sobrenadante obtenido tras la precipitación. El colesterol se cuantifica espectrofotométricamente mediante las reacciones acopladas descritas a continuación:

La determinación se realiza en dos pasos:

1.- *Eliminación de lipoproteínas no-LDL*

2.- *Medición de LDLc*

La medición de la reacción fue realizada en suero y analizada por un cambio en la absorbancia la cual fue medida por en el espectofotómetro BT-330 de Byosistem a 600 nm.

Determinación de fosfolípidos

La determinación de la concentración de estas moléculas lipídicas tiene como principio en que los fosfolípidos son hidrolizadas por la fospolipasa D y la colina liberada es secuentemente oxidada por la colina oxidasa (CHO) a betaína, con la simultánea producción de peróxido de hidrógeno acopla axidativamente a la 4-Aminofenazona (4-AF) y al diclorofenol formando una quinonamina coloreada. Estas determinaciones ayudarían para el diagnóstico de posibles alteraciones hepáticas, principalmente ictericias obstructivas.

La medición de la reacción fue realizada en suero y analizada por un cambio en la absorbancia la cual fue medida por en el espectofotómetro BT-330 de Byosistem a 505 nm.

Determinación de Lípidos totales

La concentración de lípidos totales existentes en el suero o plasma de las muestras colectadas, pueden ser medidas por espectrofotometría, posterior a la extracción de la fracción lipídica por medio de una semidigestión ácida con H_2SO_4, la cual libera a lípidos unidos a proteínas y por medio de un gradiente de densidad

se encuentran en la fase superior del homogenado (colesterol total, triglicéridos, fosfolípidos y ácidos grasos libres principalmente), esta fase se hace reaccionar con ácido vainillinico, el cual por reacciones acopladas genera un compuesto coloreado, que de acuerdo a su absorbencia proporcionan la concentración contenida en el espécimen primario.

Determinación de la concentración de Triglicéridos

Los niveles de triglicéridos séricos fue determinada por química líquida mediante reacciones acopladas que corresponde a una reacción coloreada que se evalúa por espectrofotometría, cuyo fundamento consiste en que los triglicéridos se hidratan mediante una lipoproteinlipasa (LPL) liberando glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por GPO.

Al final, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja que es mediada a una longitud de onda de 505 nm.

Determinación de Glucosa sérica.

A los animales de experimentación que conformaron los grupos control y problema, se les monitoreó los niveles de glucosa en las condiciones ya antes mencionadas, esto fue al inicio del experimento (tiempo basal) y posteriormente cada 30 días, hasta el tercer mes.

Posterior a la obtención de la muestra, centrifugación y separación del suero, fue analizado por el método de glucosa oxidasa peroxidasa en un espectofotómetro BT-330 de Byosistem, cuyo fundamento es el siguiente:

La glucosa presente en la muestra origina, según las reacciones acopladas descritas a continuación, un complejo que se coloreado que se cuantifica por espectofotometría.

Determinación de Fructosamina

La fructosamina es una prueba que determina la concentración en mmol/L de proteínas glicadas a partir de la reacción con nitro blue de tetrasolium, siendo consecuencia de la oxidación no enzimática de la glucosa sobre algunas proteínas, caracterizada por la formación de bases de Schiff y finalizando con el incremento de productos de Amadori. La medición de la reacción fue realizada en suero y analizada por un cambio en la absorbancia la cual fue medida por en el espectofotómetro BT-330 de Byosistem.

Prueba de tolerancia oral a la Glucosa (TOG).

Este protocolo consistió en evaluar en cada rata la tolerancia oral a la glucosa con una solución de 75 g de glucosa en 100 mL por cada 70 kg de peso en los tiempos 0, 30, 60 y 90 minutos de igual manera realizada al inicio del experimento y repetida cada 30 días hasta el 3° mes. Posterior a la obtención del suero, este fue analizado por el método de glucosa oxidasa peroxidasa en un espectofotómetro BT-330 de Byosistem.

La finalidad de esta prueba fue conocer el comportamiento metabólico de este carbohidrato administrado, desde su adsorción y distribución a través de los diferentes órganos involucrados dependientes e independientes a la insulina, hormona encargada de la regulación de la glucosa la cual es secretada por el páncreas.

5. RESULTADOS

TABLA 1.- Datos Zoométricos de las 3 cepas expuestas a la dieta HH durante 3 meses.

	0 días			30 días		
	W	SD	LE	W	SD	LE
Peso (Kg)	161.9±9	179.0±13	163.7±4	**232.7±13.6**	227.5±15	**278.5±4**
	158.0±2.5	175.8±4	168.8±2.5	**202.8±3.2***	212.0±7	**213.0±5.5***
Talla (cm)	17.1±0.3	17.7±0.4	17.7±0.3	23.5±0.2	24.0±0.16	23.9±0.24
	17.2±0.2	17.3±0.5	17.5±0.4	23.7±0.2	24.0±0.14	24.2±0.24
IMC (g/cm2)	0.5±0.06	0.6±0.06	0.5±0.03	0.4±0.03	0.4±0.03	**0.5±0.01**
	0.5±0.02	0.6±0.04	0.5±0.03	0.4±0.01	0.4±0.01	**0.4±0.01***
Diámetro de abdomen (cm)	10.4±0.2	11.1±0.3	11.5±0.3	11.9±0.2	12.6±0.3	13.8±0.4
	10.7±0.3	11.1±0.3	11.5±0.3	11.8±0.2	12.6±0.3	14.5±0.1
% de grasa corporal	31.3±1.0	31.3±1.0	30.5±0.7	25.6±0.5	25.0±0.6	**26.9±0.2**
	31.1±0.6	32.0±1.1	31.7±0.7	24.5±0.3	24.4±0.3	**24.5±0.3***

	60 días			90 días		
	W	SD	LE	W	SD	LE
Peso (Kg)	**310.7±11**	**302.1±9.8**	**339.4±9**	**364.6±9.7**	347.2±7	**390.1±6**
	245.1±9*	**263.4±15***	**282.9±9***	**313.9±11***	349.4±10	**357.8±8***
Talla (cm)	24.7±0.16	25.0±0.14	25±0.17	25.9±0.24	25.6±0.2	25.9±0.1
	24.7±0.13	25.2±0.08	25±0.18	25.7±0.19	25.5±0.16	25.7±0.2
IMC (g/cm2)	**0.5±0.03**	**0.5±0.02**	**0.5±0.02**	0.5±0.02	0.5±0.01	**0.57±0.01**
	0.4±0.02*	**0.4±0.02***	**0.4±0.01***	0.5±0.01	0.5±0.02	**0.52±0.01***
Diámetro de abdomen (cm)	13.1±0.2	13.5±0.3	14.6±0.2	14.8±0.2	15.0±0.1	15.3±0.2
	13.2±0.2	13.5±0.2	14.7±0.3	15.2±0.2	15.3±0.2	15.5±0.2
% de grasa corporal	**26.5±0.5**	**26.3±0.3**	**27.4±0.2**	27.3±0.4	26.9±0.3	27.5±0.2
	24.8±0.3*	**25±0.5***	**25.8±0.3***	25.4±0.3	26.5±0.6	27.7±0.2

GRUPO CONTROL ☐ GRUPO EXPERIMENTAL ☐

Los resultados están expresados como la media ± el Error Estándar de la Media. (*)Significativamente diferentes (P≤0.05). IMC= Índice de masa corporal. W=Wistar. SD= Sprague Dawley. LE= Long Evans. HH= Hiperglúcida-Hipercalórica.

De acuerdo a los criterios establecidos por la ATP III, para detectar una desregulación metabólica en humanos; se toman parámetros equiparables con la antropometría humana como peso, talla, índice de masa corporal (IMC), y perímetro de cintura; que en su conjunto se han relacionado con alteraciones del metabolismo lipídico y de carbohidratos. Es por ello, que con base en estos criterios, se hicieron mediciones en animales con diferente "susceptibilidad genética", con la finalidad de detectar el impacto sobre su regulación tanto metabólica como zoométrica, incorporando el porcentaje de grasa y diámetro de

abdomen (similar a perímetro de cintura), obteniéndose así los resultados arrojados en la Tabla 1.

El peso de las tres cepas de estudio, no mostraron diferencias significativas en la conformación de grupos (tiempo cero), al designarlos como controles y experimentales; A los treinta días de exposición a la dieta HH, mostró un impacto negativo sobre el peso y el IMC que lo correlaciona en dependencia; encontrándose diferencias significativas en la cepa Wistar (W) del 12.85% ,mientras que la cepa Long Evans (LE) mostró una disminución del 23.5% y del 28.8% respecto a sus controles; mientras que en el segundo mes, las tres cepas presentaron una disminución en ambos parámetros en un 21.1% y 23.1% la cepa W, 12.8% y 22.2% la cepa Sprague Dawley (SD) y del 16.7% en ambos casos para la cepa LE. El comportamiento a los noventa días mostró una completa recuperación tanto del peso, como del IMC para la cepa SD; y parcial en las cepas W (13.9% y 12.7%) y LE (8.3% y 6.9%). Por otro lado, en las mediciones de talla, diámetro de abdomen no mostraron diferencia significativa a lo largo del estudio en ninguna de las tres cepas. El % de grasa tuvo impacto negativo en el segundo mes en las tres cepas, mostrando diferencias de un 5.3% en W, 4.5% en SD y 5.8% en LE. La evidencia muestra que los animales consumen menor cantidad del alimento hipercalórico, el cual satisface las necesidades energéticas de los animales, pero no proporciona las suficientes macromoléculas para el desarrollo de tejido no adiposo que impacte sobre el IMC (principalmente músculo), ya que tanto el resguardo central como el porcentaje de grasa corporal se mantienen sin diferencias a lo largo del estudio.

TABLA 2.- Datos Bioquímicos de las 3 cepas expuestas a la dieta HH durante 3 meses.

	0 días			30 días		
	W	SD	LE	W	SD	LE
Triglicéridos (mg/dL)	51.6±1.5	55.7±0.9	53.5±1.6	65.9±1.0	59.6±1.8	46.2±2.2
	50.1±2.9	55.1±3.0	50.7±1.1	120.4±11.3*	111±8.6*	45.8±3.7
Colesterol Total (mg/dL)	78.0±0.7	70.3 ±0.9	60.4±0.5	83.8±1.0	70.5±1.4	56.8±1.2
	78.2±2.9	68.3±1.2	60.5±1.0	94.6±3.9*	92.2±2.7*	63.1±1.2*
Fosfolípidos (mg/dL)	19.6±4.0	23.7±1.7	31.6±1.7	11.4±2.3	23.9±5.6	37.9±6.4
	18.7±3.4	30.3±5.9	31.7±2.4	38.9±5.5*	65.5±14.8*	95.8±14.8*
Lípidos totales (mg/dL)	146.6±1.2	146.6±1.1	143.2±0.6	162.6±1.9	150.6±3.0	137.4±5.2
	150.0±4.3	147±2.3	144.5±1.8	252.2±14.5*	252.2±11.3*	204.2±10.3*
Fructosamina (mmol/L)	43.3±0.9	40.8±0.8	41.8±0.8	47.9±0.4	43.5±0.9	46.5±1.8
	45.3±2.6	43.3±1.7	42.6±1.5	49.9±4.4*	49.6±3.8*	56.3±2.3*
Glucosa basal (mg/dL)	90±2.2	102.8±1.1	82.8±2.0	92.8±0.5	99.2±3.0	98.4±0.9
	86.7±1.5	101.6±1.8	84.4±2.2	101.2±2.1	117.2±5.8*	100.2±4.5
	60 días			**90 días**		
	W	SD	LE	W	SD	LE
Triglicéridos (mg/dL)	65.3±1.0	61.8±1.2	56.2±1.2	66.6±1.5	63.7±1.2	63.2±1.3
	109.1±7.9*	110.9±3.5*	54.3±2.6	149.4±9.2*	157.7±5.7*	72.5±2.7*
Colesterol Total (mg/dL)	89.1±1.2	71.1±1.5	57.0±1.3	92.9 ±1.9	69.0±1.4	58.2±1.0
	84.5±2.6	88.8±1.2*	64.8±2.2*	94.9±3.1	91.7±1.3*	66.7±1.8*
Fosfolípidos (mg/dL)	31.8±9.0	16.7±3.0	30.0±7.4	45.6±7.2	21.9±4.1	30.9±4.7
	111.3±13.8*	55.9±16.9*	194.7±17.2*	261.5±16.6*	57.7±13.0*	280.3±6.6*
Lípidos totales (mg/dL)	188.0±7.6	148.6±2.3	142.5±7.5	205.7±9.6	155.0±2.3	153.2±1.6
	323.0±13.3*	255.0±14.5*	306.0±10.4*	503.4±18.2*	308.5±9.7*	413.2±7.8*
Fructosamina (mmol/L)	45.6±1.3	41.8±0.9	44.6±0.7	44.5±0.7	41.8±0.3	41.2±0.6
	58.5±2.6*	68.5±2.0*	63.8±4.0*	77.3±5.3*	82.6±3.3*	72.3±1.9*
Glucosa basal (mg/dL)	96.8±2.1	106.0±1.8	99.0±0.8	99.8±4.1	106.6±0.9	107.2±1.5
	123±3.0*	127.6±2.6*	105.6±5.5	168.7±2.5*	135.7±6.3*	111.4±4.4

GRUPO CONTROL ▭ GRUPO EXPERIMENTAL ▭

Los resultados están expresados como la media ± el Error Estándar de la Media. (*)Significativamente diferentes (P≤0.05). IMC= Índice de masa corporal. W=Wistar. SD= Sprague Dawley. LE= Long Evans. HH= Hiperglúcida-Hipercalórica.

En este sentido y de acuerdo con los paneles de expertos que emiten los criterios que caracterizan al síndrome metabólico (SM), conjuntamente a las mediciones zoométricas, se encuentran parámetros séricos clave los cuales identifican desórdenes metabólicos como dislipidemias y disglucemias, características del SM. Por lo que se realizó el perfil de lípidos séricos, los cuales se presentan en la Tabla 2. Los lípidos son compuestos orgánicos cuya función más importante es la de actuar como componente energético, así como de formar las membranas celulares. Poseen un extraordinario rendimiento energético, por lo que su almacenaje se ve favorecido en notables cantidades dentro del tejido adiposo. Otras funciones: son constituyentes biológicos formando estructuras adiposas

protectoras de los órganos internos, y proveen compuestos importantes en la formación de diversas hormonas. Gran parte del interés en el estudio de estos compuestos se debe a la conexión entre hiperlipemia y arteriosclerosis, diabetes y enfermedad cardiaca. En conjunto los lípidos (Triglicéridos, Colesterol y Fosfolípidos), se pueden agrupar y cuantificar en una determinación sérica conocida como lípidos totales séricos. En el presente estudio su determinación fue para destacar alteraciones metabólicas en las tres diferentes cepas utilizadas, teniendo como resultado el incremento de éste en el transcurso de los días. A los 30 días las tres cepas expuestas a la dieta HH mostraron diferencias significativas al haberse elevando los niveles de lípidos totales, es decir, la cepa W tuvo un 55%, 67.5% en SD y 48.6% en LE. A los 60 días se presentó en un 71.8% de incremento en la cepa W, 71.6 % en la SD y un 114.7% en la LE; y al tercer mes de exposición, el incremento se presentó en un 144.6% en W, 99.03% en SD y 169.65% en LE. Este incremento puede estar relacionado con una o varias de las fracciones que los componen, y que corresponden a triglicéridos, colesterol y fosfolípidos. Por lo que estos fueron cuantificados.

El primero de los lípidos que se decidió analizar fue los triglicéridos, ya que estos son novo-sintetizados tanto por el enterocito como por el hígado (vía exógena y endógena) ante el aumento en el consumo de glucosa; y su elevación sérica posterior al ayuno es considerada un biomarcador de desorden metabólico endógeno. Las cepas W y SD expuestas a la dieta HH observaron una clara hipertrigliceridemia durante el tiempo de exposición que correspondió al 82.7 y 86.2% en el primer mes, para el segundo fue de 66.9 y 79.4% y al tiempo cohorte de 3 meses fue de 124.3 y 147.5%. Mientras que la cepa LE mostró diferencias séricas en el biomarcador únicamente al tercer mes de exposición a la dieta HH, sin embargo este fue mínimo aunque significativo con apenas un 14.7%. De acuerdo a la característica genética de cada cepa de ratas estudiadas se pudo observar un comportamiento específico del impacto en el consumo elevado de carbohidratos, sobre otras macromoléculas; la cepa LE que *per se* presenta un genotipo de obesidad (+) y diabetes (+), esta hasta cierto punto ésta capacitada para el manejo de este tipo de moléculas altamente energéticas; mientras que la

cepa SD con genotipo obesidad (+) y diabetes (-), presentó un resguardo permanente el cual no afectó de manera su peso corporal, sin embargo, mostró alteraciones séricas; finalmente la cepa W con genotipo obesidad (-) y diabetes (-), fue la que mayores estragos presentó, disminuyendo su peso corporal con incremento marcadamente progresivo de triglicéridos circulantes. Finalmente, las tres cepas mostraron evidencias del incremento sérico del biomarcador.

Concomitante al incremento de triglicéridos plasmáticos se ha asociado el incremento del colesterol total, por fenómenos de transporte que serán detallados más adelante. Frecuentemente, esta asociación forma parte del diagnóstico en problemas metabólicos y alteraciones cardiovasculares severas. La Tabla 2 muestra los resultados observados del metabolito a nivel plasmático posterior al consumo de la dieta hipercalórica. A 30 días de consumo, las 3 cepas de ratas mostraron incrementos significativos respecto a sus controles, los cuales correspondieron en la cepa W al 12.8%, en la cepa SD al 30.8% y en la cepa LE al 11.10%. Mientras que a los 60 y 90 días de consumo continuo, las diferencias sólo se presentaron en las cepas SD en un 24.9% y 32.9% respectivamente, y de 13.75 y 14.6% en cepa LE; mientras que la cepa W después del primer mes no mostro diferencias significativas. Los datos muestran que las cepas con fenotipo de obesidad positivo son los que se asocian al incremento del lípido, el cual se ha involucrado frecuentemente en el SM y con la aceleración sinérgica de estados inflamatorios de alteración en la fibrinólisis, ambos con repercusión y daño cardiovascular.

Otro biomarcador importante son los fosfolípidos en suero, ya que es un indicador clínico importante para el diagnóstico de alteraciones hepáticas y es uno de los principales componentes de las moléculas trasportadoras de lípidos, conocidas como lipoproteínas. Los resultados mostraron cambios considerables conforme a su grupo control en cada una de las tres cepas a partir del primer mes de inducción de la dieta HH, con una diferencia significativa del 240.6% en W, 174.14% en SD y 152.9% en LE; 30 días después, estos valores se elevaron aún más presentando un 250, 234.7 y 549% respectivamente (W, SD y LE); y para el

tercer mes la dieta impactó significativamente permanenciendo la elevación de estos componentes en un 473.5% en W, 163.5% en la cepa SD y 806.9% en LE.

Los resultados sugieren estados de desregulación metabólica y resistencia a insulina, los cuales ya han sido correlacionados con una asociación moderada del incremento de triglicéridos, pero fuertemente con el incremento de los ácidos grasos libres.

Gráfico 1.- Comportamiento de las Fracciones de Colesterol y Ácidos Grasos Libres (AGL) en la Cepa Wistar durante el tiempo de exposición a la Dieta HH.

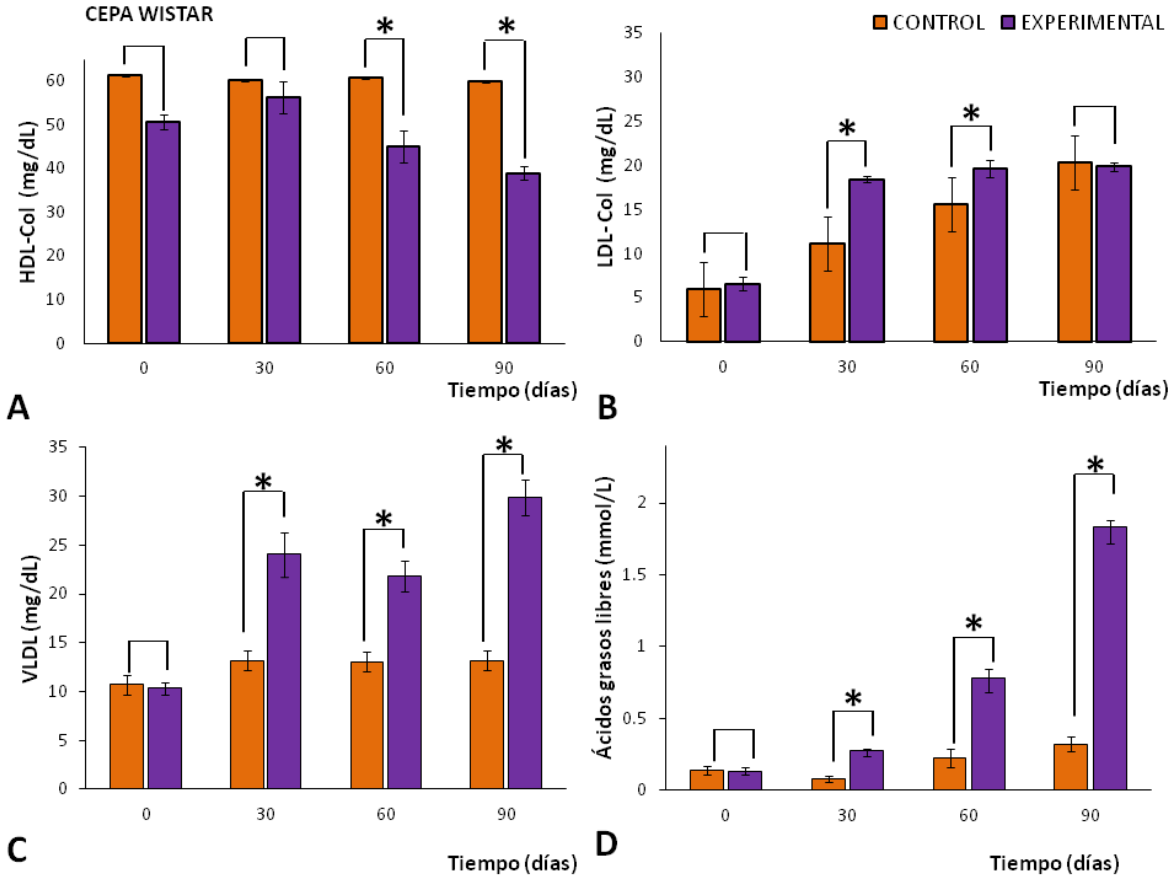


Gráfico 1.- Comportamiento de las Lipoproteínas y Ácidos grasos libres de la cepa Wistar a diferentes tiempos de exposición de la dieta HH. En este gráfico se tiene la variación del comportamiento metabólico en la cepa Wistar en dos grupos utilizados, el experimental que fue inducido por la dieta HH marcados con color morado y el grupo control que se mantuvo con dieta normal (LabDiet 5001) marcados de color naranja. En la imagen A muestra la comparación metabólica del HDL-Col. En la imagen B se observa la comparación de grupos del LDL-Col, mientras que la imagen C muestra el comportamiento del VLDL-Col. En la imagen D se tiene la medición de la concentración de los Ácidos grasos libres tanto del grupo control, como experimental. Estos comportamientos fueron medidos desde el día cero hasta los 90 días y por lo tanto, cada 30 días. Los resultados están expresados como la media ± la desviación estándar. *Significativamente diferentes ($p<0.05$).

El gráfico 1 refleja el comportamiento de las fracciones de colesterol y la cuantificación de los ácidos grasos libres parámetros indispensables en la caracterización bioquímica del SM y DM2 en la cepa Wistar. Las fracciones del colesterol corresponden a: colesterol de alta densidad (HDL), colesterol de baja densidad (LDL) y colesterol de muy baja densidad (VLDL). Dichas fracciones son las encargadas de distribuir a los lípidos a diferentes tejidos blanco como el músculo y tejido adipocitario, para el caso de los triglicéridos y en la ruta reversa del colesterol las LDL y HDL reparte las fracciones esterificadas a diversas glándulas y las no esterificadas a hígado respectivamente. Los resultados obtenidos muestran en el gráfico 1A la concentración sérica de HDL la cual fue decayendo en el grupo experimental respecto a su grupo control conforme avanzaban los días de la inducción de la dieta, teniendo así que a los 60 días hubo diferencias significativas en la disminución de la concentración de HDL en un 25.9% y a los 90 días las diferencias fueron de 35%. En 1B, se representa la concentración sérica del LDL, cuyos niveles fueron aumentando a partir de los 30 días de inducción (39.7%) y de un 35.64% a los 60 días, sin mostrar diferencia al día 90. En 1C, se observa la concentración de VLDL la cual fue aumentando notoriamente, con una diferencia significativa del 82% a los 30 días, de 66.9% a los 60 días y del 127.2% en los últimos 30 de exposición. Mientras que en el gráfico 1D, se presentan los niveles de AGL, con una elevación significativa desde los 30 días de inducción de la dieta, con un 239.1%, 247.9% a los 60 días y 470% a los 90 días. Confirmando la susceptibilidad de la cepa.

Gráfico 2.- Comportamiento de las Fracciones de Colesterol y Ácidos Grasos Libres (AGL) en la Cepa Sprague Dawley durante el tiempo de exposición a la Dieta HH.

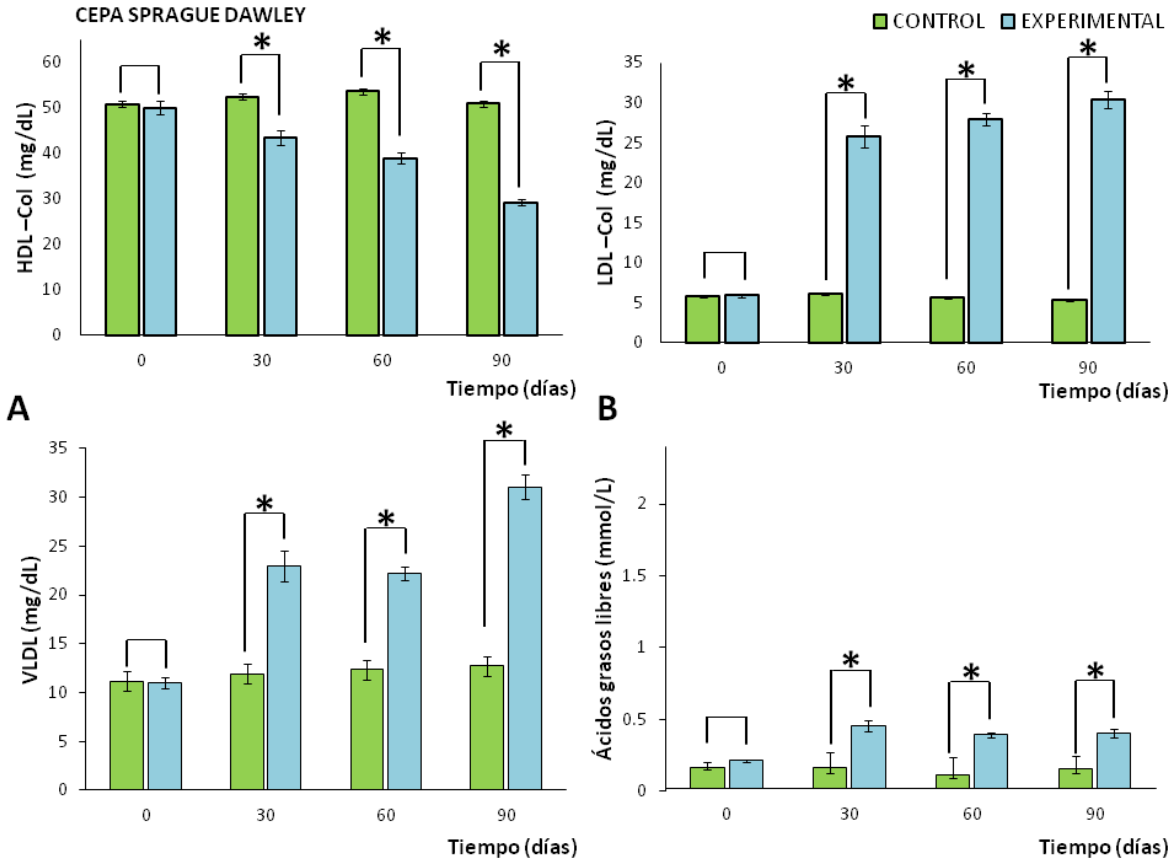


Gráfico 2.- Comportamiento de las Lipoproteínas y Ácidos grasos libres de la cepa Sprague Dawley a diferentes tiempos de exposición de la dieta HH. En este gráfico se tiene la variación del comportamiento metabólico en la cepa SD en dos grupos utilizados, el experimental que fue inducido por la dieta HH marcados con color azul y el grupo control que se mantuvo con dieta normal (LabDiet 5001) marcados de color verde. En la imagen A muestra la comparación metabólica del HDL-Col. En la imagen B se observa la comparación de grupos del LDL-Col, mientras que la imagen C muestra el comportamiento del VLDL-Col. En la imagen D se tiene la medición de la concentración de los Ácidos grasos libres tanto del grupo control, como experimental. Estos comportamientos fueron medidos desde el día cero hasta los 90 días y por lo tanto, cada 30 días. Los resultados están expresados como la media ± la desviación estándar.
*Significativamente diferentes ($p<0.05$).

En este conjunto de gráficos se pueden observar las cuatro determinaciones de las diferentes lipoproteínas y AGL que se le realizaron a la cepa SD. En el gráfico 2A se tiene que la determinación sérica del HDL la cual decae paulatinamente en el grupo experimental respecto a su grupo control, teniendo así que a los 30 días tuvo una disminución significativa del 17.04%, a los 60 días la diferencia fue del 27.3% y finalmente a los 90 días la diferencia fue del 42.6%. En el gráfico 2B, se

observa la determinación sérica de las concentración de LDL, esta fracción presentó un aumento significativo a partir de los 30 días del 325%, del 391.2% a los 60 días, y del 469.2% a los 90 días. El gráfico 2C, muestra que las concentraciones de VLDL presentaron a los 30 días de ingesta de la dieta una elevación del 92.7%, del 79.3% a los 30 días posteriores y finalmente con una diferencia significativa en el aumento de esta lipoproteína en los últimos 30 días del 144.8%. Finalmente, en el gráfico 4D en donde se muestran los niveles de los AGL séricos, éstos aumentaron su concentración a los 30 días con una diferencia del 172.9%, a los 60 días aumentó su concentración en un 235% y finalmente, a los 90 días, el nivel de AGL incrementó en un 168.4%. Los datos zoométricos en conjunto con los bioquímicos de lípidos permite establecer un establecimiento del daño metabólico ocasionado por la dieta, sin embargo también sugieren que esta cepa es menos propensa a la desregulación insulínica, ya que la producción de AGL no es tan exacerbada como los mostró la cepa Wistar (Ob -), con lo que los datos confirman la pontenciabilidad de resguardo confirmando la tendencia de Ob (+).

En el gráfico 3A se presenta el comportamiento de HDL de la cepa LE, en la que se pudo observar disminución en la concentración dicha fracción desde los primeros 30 días de exposición en un 14.13% y progresivamente 28.7% y 36.36% a los 60 y 90 días del consumo. Mientras que en 3B, los niveles séricos de LDL incrementan y se sostienen desde los 30 días y hasta el final del estudio en 281, 270 y 352.8% respectivamente a sus grupos control. En el gráfico 3C, la determinación de la fracción VLDL no mostró diferencias significativas hasta 90 días de exposición con aumento sérico significativo de apenas un 14.6%, confirmando la evidencia mostrada por los triglicéridos. Sin embargo, caso contrario ocurrió con el metabolismo de los AGL, tal como se muestra en la Figura 3D, en donde los niveles séricos fueron aumentando significativamente ante la inducción de la dieta ya que a los 30 días de exposición los AGL ascendieron hasta un 152.2%, a los 30 días siguientes su elevación correspondió a 548.3%, y finalmente a los 90 días mostró aumento significativo del 805.6%.

Gráfico 3.- Comportamiento de las Fracciones de Colesterol y Ácidos Grasos Libres (AGL) en la Cepa Long Evans durante el tiempo de exposición a la Dieta HH.

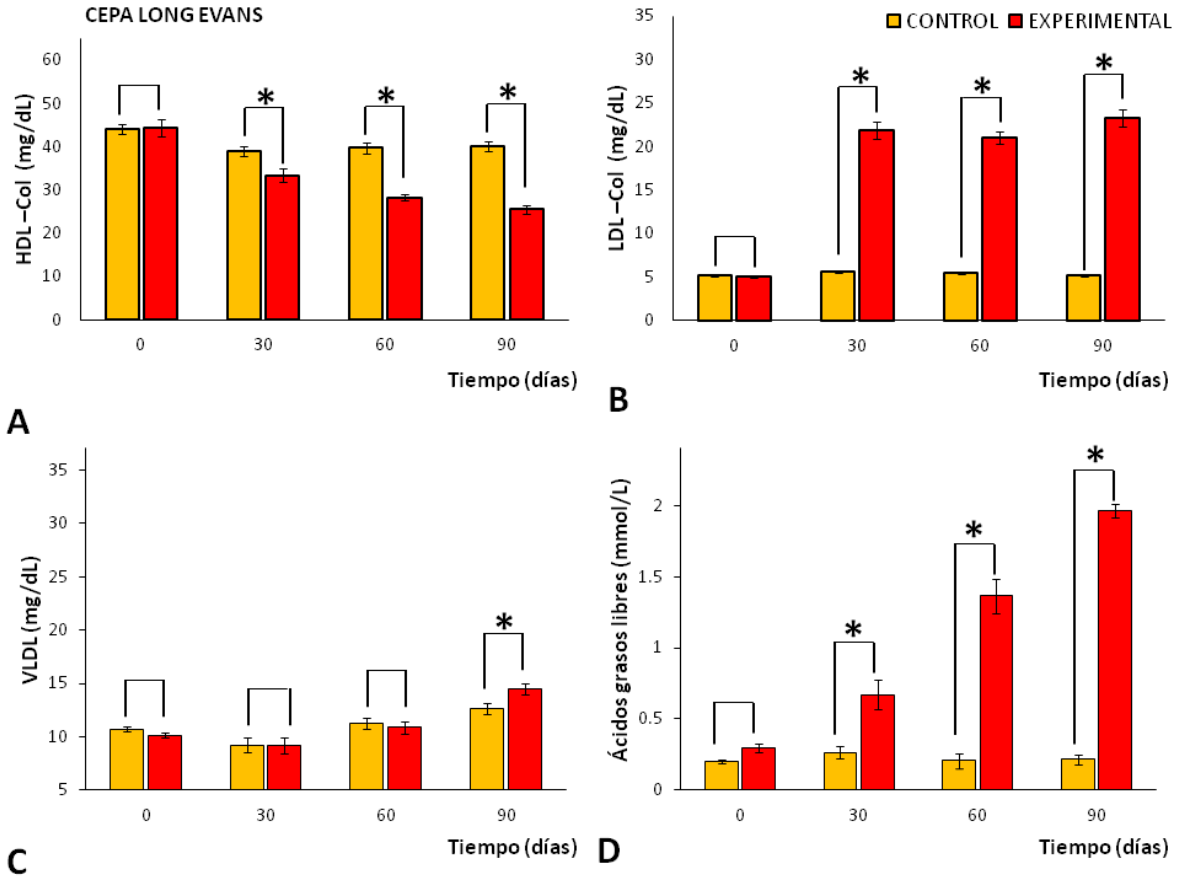


Gráfico 3.- Comportamiento de las Lipoproteínas y Ácidos grasos libres de la cepa Long Evans a diferentes tiempos de exposición de la dieta HH. En este gráfico se tiene la variación del comportamiento metabólico en la cepa LE en dos grupos utilizados, el experimental que fue inducido por la dieta HH marcados con color rojo y el grupo control que se mantuvo con dieta normal (LabDiet 5001) marcados de color amarillo. En la imagen A muestra la comparación metabólica del HDL-Col. En la imagen B se observa la comparación de grupos del LDL-Col, mientras que la imagen C muestra el comportamiento del VLDL-Col. En la imagen D se tiene la medición de la concentración de los Ácidos grasos libres tanto del grupo control, como experimental. Estos comportamientos fueron medidos desde el día cero hasta los 90 días y por lo tanto, cada 30 días. Los resultados están expresados como la media ± la desviación estándar.
*Significativamente diferentes ($p<0.05$).

Evidenciadas las alteraciones en la bioquímica lipídica características del SM, y de acuerdo con lo descrito por los paneles de expertos, también es factible el desarrollo de disglucemias, que pueden mostrarse en situaciones de ayuno o en la respuesta postprandial. Dicha alteración puede ser cuantificada por una curva de tolerancia oral a glucosa con una carga de 75 g de glucosa disuelta en 100 mL por cada 70 Kg de peso del animal, en cada mes de duración del protocolo. En el

gráfico 4A, se muestra el comportamiento de este metabolito en el tiempo cero en el cual los grupos de la cepa Wistar fueron separados al azar entre controles y expuestos a la dieta HH; observándose que al momento de la conformación los grupos mostraron similitud en el comportamiento del área mostrada por la cuantificación de glucosa a los diferentes tiempos de análisis (0, 30, 60 y 90 minutos) manifestando homogeneidad de absorción y distribución del carbohidrato. Sin embargo, a los 30 días de exposición, aunque la glucosa basal es ligeramente más elevada en el grupo experimental, no es significativamente diferente, a los 30 min post-carga se presenta una diferencia del 6.93% por debajo de la curva del control, lo cual sugiere existencia de hiperinsulinemia. A los 60 y 90 minutos, por el contrario, mostraron incrementos significativos del 8.3 y 61.9% respectivamente, mostrando alteración en los tejidos dependientes de insulina. A los 60 días en el gráfico 4C, el comportamiento de TOG presenta al minuto cero una hiperglucemia significativa del 27.06%, sin cambios a los 30 min y un aumento significativo del 19.8 y 45.2% a los 60 y 90 min respectivamente. Finalmente esta cepa presentó a los 90 días de la exposición a la dieta un curva de respuesta significativamente elevada respecto al grupo control, con niveles glicémicos a los tiempos 0, 30, 60 y 90, correspondieron a 69, 33.4, 47.4 y 61.6% respectivamente. Lo cual confirma la desregulación metabólica mostrada en los lípidos y zoometría con relación al consumo de la dieta hiperglúcida.

Respecto a la cepa Sprague-Dawley, al seleccionar los grupos se pudo constatar que presentaron comportamientos similares en cuanto a la respuesta a la carga de carbohidratos al momento de exponer a la dieta, lo cual se puede observar en el gráfico 5A. Mientras que al primer cohorte de 30 días el grupo de exposición (Figura 5B) mostró con un aumento de glucosa en condiciones basales (18.14% sin ser significativo) e hiperglucemias significativas a los 60 y 90 min que correspondieron a un 34.8 y 30.6%. A los 60 días de exposición la Figura 5C, exhibe hiperglicemia basal 20.37%, y a los 90 min del 32.8%. Finalmente, la Figura 5D, presentó hiperglicemias constantes a lo largo de la curva, con valores significativamente elevados desde el minuto 0 hasta los 90 min de seguimiento que correspondieron a 27.3, 15, 33.5 y 31%, respectivamente.

Gráfico 4.- Comportamiento de la curva de Tolerancia Oral a la Glucosa de la cepa Wistar durante el tiempo de exposición a la Dieta HH.

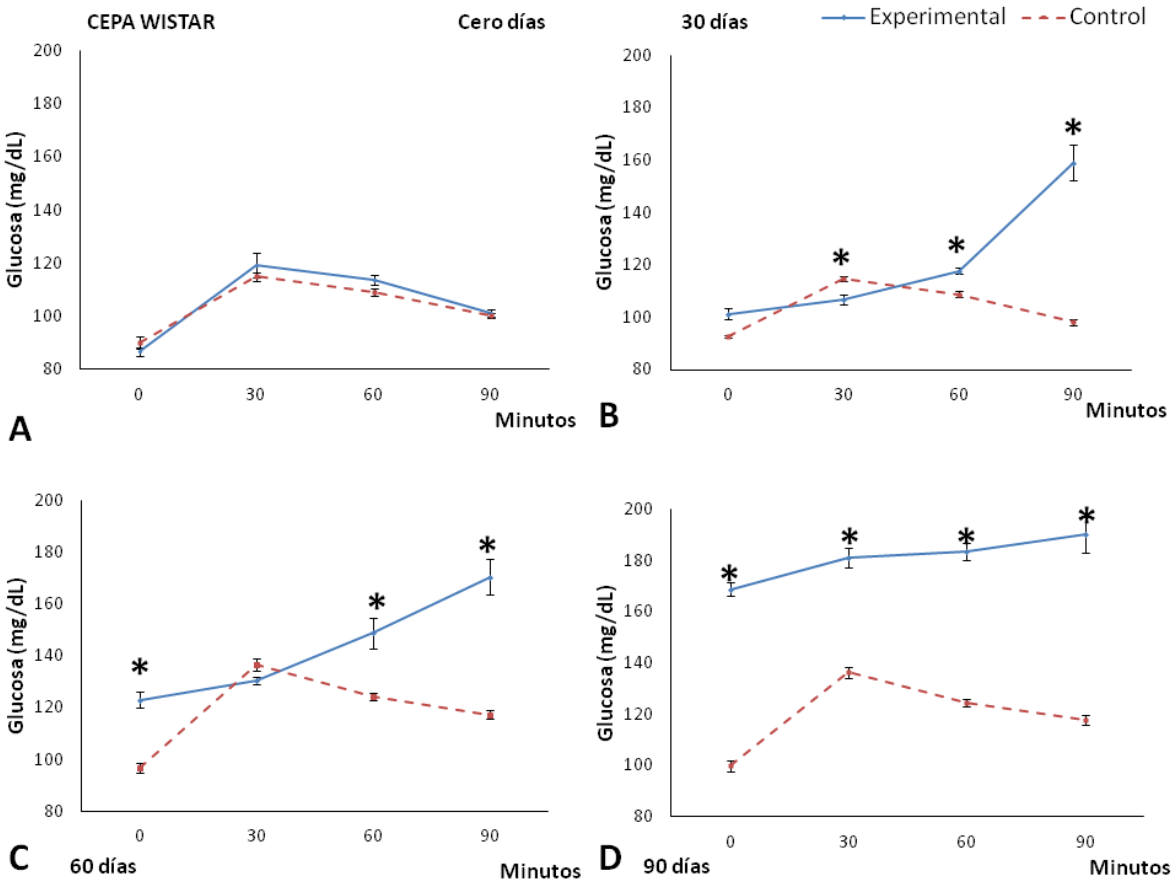


Gráfico 4.- Comportamiento de la Curva de Tolerancia Oral a la glucosa de la cepa Wistar a diferente tiempo de exposición de la dieta HH. Se tiene en este grupo de gráficos la representación de la concentración de la glucosa tanto en el grupo control (línea continua color azul) y el grupo experimental (línea interrumpida color rojo); la cual fue realizada con la inducción de una dosis de Dextrosol a 75 g de glucosa en 100 mL por cada 70 Kg y posteriormente midiendo la concentración de la glucosa sérica cada 30 minutos, monitoreadas cada 30 días hasta el 3º mes. En la imagen A la comparación entre ambos grupos de esta cepa muestran un comportamiento normal, y sin diferencias; en la imagen B, se observan alteraciones en la curva y cuyas diferencias significativas se observaron a los 30 con un decremento de glucosa, y una aumento de ello a los 60 y 90 minutos. En la imagen C, las hiperglucemias tuvieron as diferencias significativas en el minuto 0, 60 y 90. Y finalmente en la imagen D fue notoria el aumento en los niveles glicémico desde el minuto 0 hasta el 90. Los resultados están expresados como la media ± la desviación estándar.
*Significativamente diferentes ($p<0.05$).

Genéticamente, la cepa LE *per se* tiende a presentar elevación en los niveles de glucosa y obesidad, debido a la deficiencia de una hormona encargada de censar la saciedad, por lo tanto, naturalmente ya presentan un daño a la tolerancia la glucosa.

Gráfico 5.- Comportamiento de la curva de Tolerancia Oral a la Glucosa de la cepa Sprague Dawley durante el tiempo de exposición a la Dieta HH.

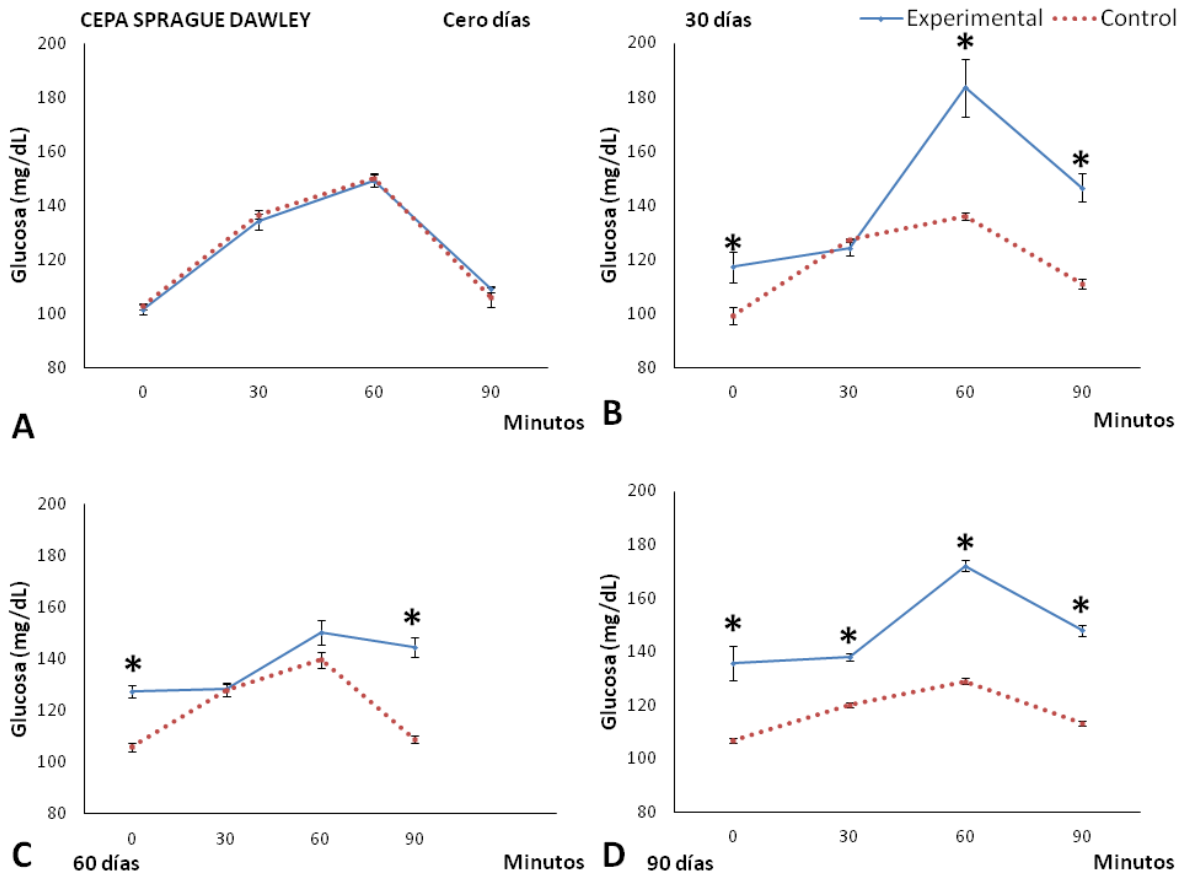


Gráfico 5.- Comportamiento de la Curva de Tolerancia Oral a la glucosa de la cepa Sprague Dawley a diferente tiempo de exposición de la dieta HH. Se tiene en este grupo de gráficos la representación de la concentración de la glucosa tanto en el grupo control (línea continua color azul) y el grupo experimental (línea interrumpida color rojo); la cual fue realizada con la inducción de una dosis de Dextrosol a 75 g de glucosa en 100 mL por cada 70 Kg y posteriormente midiendo la concentración de la glucosa sérica cada 30 minutos, monitoreadas cada 30 días hasta el 3º mes. En la imagen A la comparación entre ambos grupos de esta cepa muestran un comportamiento homogéneo al grupo control; en la imagen B, se observan alteraciones en la curva con la presencia de hiperglicemias y cuyas diferencias significativas se observaron a los 0, 60 y 90 minutos . En la imagen C, las diferencias significativas fueron en el minuto 0 y 90. Y finalmente en la imagen D fue notoria desde el minuto 0 hasta el 90 la desregulación metabólica de este carbohidrato, con elevaciones glicémicas sostenidas. Los resultados están expresados como la media ± la desviación estándar.
*Significativamente diferentes ($p<0.05$).

Al graficar los datos obtenidos en las curvas, se pudo observar que la exposición a la dieta HH presenta alteración en la respuesta de manejo al carbohidrato como se observa en la gráfico 6. Teniendo que al tiempo cero días de exposición de la dieta HH (gráfico 6A) no existen diferencias entre los animales seleccionados para cada grupo.

Gráfico 6.- Comportamiento de la curva de Tolerancia Oral a la Glucosa de la cepa Long Evans durante el tiempo de exposición a la Dieta HH.

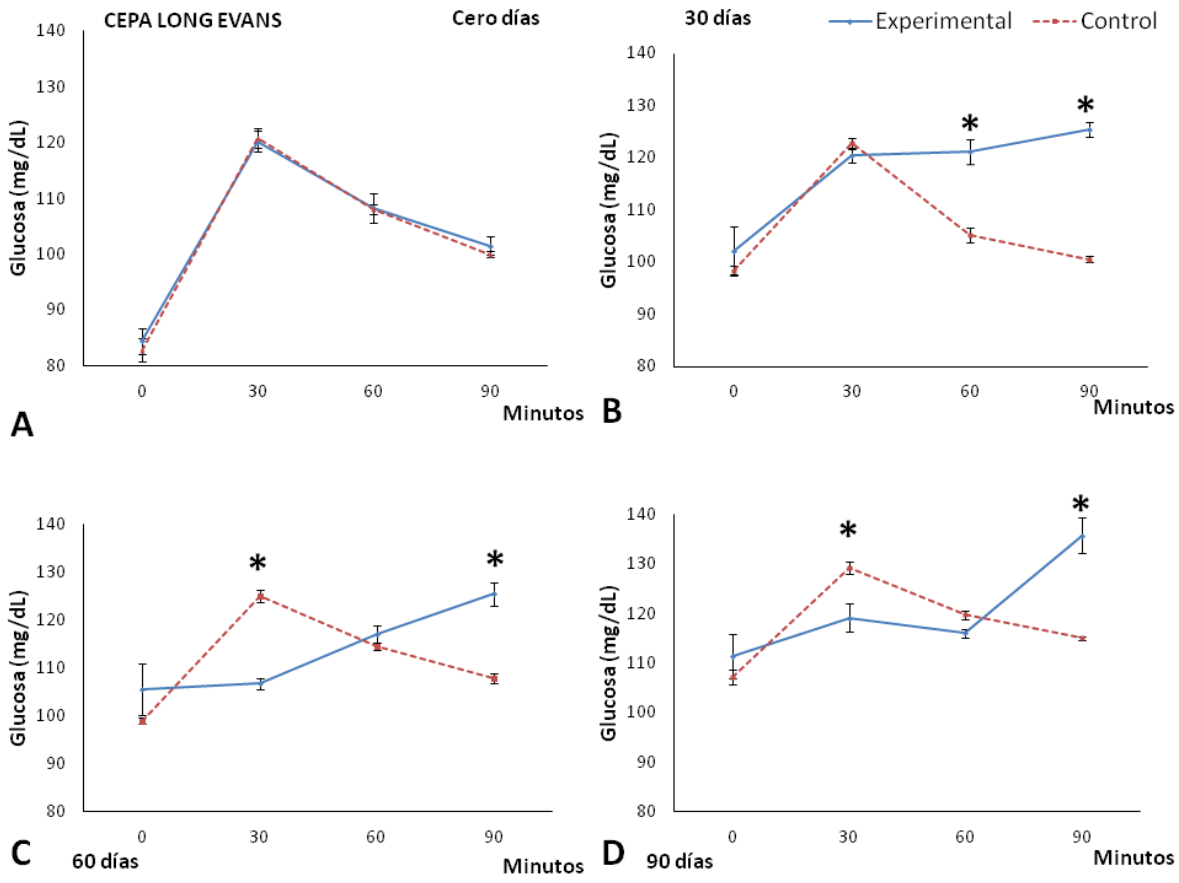


Gráfico 6.- Comportamiento de la Curva de Tolerancia Oral a la glucosa de la cepa Long Evans a diferente tiempo de exposición de la dieta HH. Se tiene en este grupo de gráficos la representación de la concentración de la glucosa tanto en el grupo control (línea continua color azul) y el grupo experimental (línea interrumpida color rojo); la cual fue realizada con la inducción de una dosis de Dextrosol a 75 g de glucosa en 100 mL por cada 70 Kg y porteriormente midiendo la concentración de la glucosa sérica cada 30 minutos, monitoreadas cada 30 días hasta el 3º mes. En la imagen A la comparación entre ambos grupos de esta cepa muestran un comportamiento normal, y sin diferencias; en la imagen B, se observan alteraciones en la curva y cuyas diferencias significativas se observaron hiperglicemias a los 60 y 90 minutos . En la imagen C, las diferencias significativas fueron en el minuto 30 con un decremento del carbohidrato sin embargo una elevación significativa a los 90 min. Y finalmente en la imagen D hubo una elevación de la glucosa en el minuto 30, aunque por debajo de los niveles del grupo control; sin embargo, se observa un aumento significativo del metabolito a los 90 min. Los resultados están expresados como la media ± la desviación estándar.
*Significativamente diferentes ($p<0.05$).

Mientras que en el gráfico 6B correspondiente a los primeros 30 días de exposición, hay una desregulación metabólica de la glucosa en los tejidos dependientes de la acción a insulina característicos de la segunda fase de la curva, es decir posterior al pico máximo observado a los 30 min; y a los tiempos

de 60 y 90 minutos, permanece con hiperglicemias sostenidas, diferentes significativamente respecto a su grupo control (20.3% y 26.41%). En el gráfico 6C correspondiente a los 60 días de exposición a la dieta, el comportamiento glicémico en el grupo experimental, tiene una disminución en su nivel a los 30 minutos de la curva comparado con el grupo control, con una disminución significativa del 14.64% sugerente de estatus pancreáticos hiperreactivos en la secreción insulínica, seguidos de incremento en el carbohidrato el cual fue significativo estadísticamente a los 90 minutos posteriores a la carga en un 16.4%; finalmente, el tiempo cohorte de 90 días representado en el gráfico 6D, mantuvo un comportamiento similar al de los 60 días, resaltando la hiperglicemia al minuto 90 del monitoreo (18.04%), deduciendo con ello un incremento de insuficiencia del control de la glucosa, ya que debe haber un aumento en la secreción de la hormona insulínica.

Así mismo, se ha reportado que concentraciones elevadas tanto en el consumo como en el manejo sérico de la glucosa, pueden promover la formación de bases de Shiff o azometinos y productos de Amadori en proteínas circulantes como la albúmina, produciendo metabolitos comúnmente llamados fructosaminas; estos productos son consecuencia de la glicación proteica favorecida por la oxidación no enzimática de la glucosa mediada por reacciones de Millard. La Tabla 2, muestra que el incremento de fructosamina pudo evidenciarse en las tres cepas desde los 30 días de inducción con la dieta 4.32%, 14% y 21.2% (W, SD y LE), respecto a sus grupos control. Hecho que fue aún más evidente en los tiempos cohorte posteriores. Las tres cepas presenciaron de igual manera la elevación significativa de esta glicoproteína en 28.3% para la cepa W, 63.8% para la cepa SD y 43.05% para la cepa LE a los 60 días; y a los 90 días, la elevación de frutosamina fue del 73.7%, 97.6% y 75.5 %, respectivamente. Lo cual indica que a pesar de que la concentración de glucosa basal no presentase alteración severa, la desregulación postprandial condujo a la formación de productos de glicación no enzimática de proteínas séricas y que todas las cepas son susceptibles a este fenómeno independientemente a la característica genética, pero en dependencia del consumo incrementado de carbohidratos.

6. DISCUSIÓN.

Diferentes criterios de clasificación de SM son tomados por las organizaciones y asociaciones enfocadas al estudio específico de los desordenes metabólicos, en ellos se enmarcan las condiciones ambientales en este caso aunadas a una dieta hipercalórica hiperglúcida, pero también las condiciones genéticas caracterizadas por genotipos de ob(+) y db(-) para la cepa SD, en la cepa LE ob(+) y bd(+) y para la cepa W ob(-) y db(-) según lo descrito en las cartas del productor, Harlan Laboratories.

Por un lado, se ha reconocido que la alteración en las condiciones zoométricas de los modelos animales, es parte importante del desarrollo de un fenotipo similar al SM, dentro de las que se destacan el peso, que es la cantidad de masa total de un individuo la cual se compone del total de músculos, órganos, huesos y tejido graso, como los de mayor relevancia, que a su vez va de la mano con la talla, que para nuestro estudio corresponde a lo largo en centímetros que tiene el sujeto experimental, sin embargo, una índice que correlaciona ambas mediciones e indica la proliferación de la masa corporal en relación a músculo o tejido adiposo, es el índice de masa corporal (IMC), siendo indicador de estatus de sobrepeso o bien obesidad; generalmente, la asociación de alteraciones en el metabolismo se relacionada con la acumulación de grasa regularmente distribuida a nivel visceral abdominal, lo cual su importancia radica en el desarrollo de obesidad central, que en el caso de los modelos murinos es medida por el incremento en el perímetro de abdomen y con ayuda del porcentaje de grasa corporal, dan un diagnóstico zoométrico. El incremento de estos parámetros es atribuible a la respuesta natural al consumo incrementado de carbohidratos en la dieta [Fermin et al., 2006; Michael et al., 1985]. Tal como se observa en la Tabla 1.

El comportamiento del peso de las diferentes cepas mostró que posterior al acondicionamiento de 15 días con alimento LabDiet 5001(dieta normoglúcida normocarlórica), los animales asignados como control y problema presentaron una ganancia de peso y de talla, siendo la cepa W, que genéticamente no presenta dicha predisposición, presentó el menor peso, talla, IMC y perímetro de abdomen,

respecto de las SD y LE; la cepa SD fue la de mayor ganancia en el peso, por lo que generó un mayor IMC, debido a su predisposición genética al desarrollo de obesidad central, mismo que se observó incrementado. La cepa LE a pesar que presenta genéticamente la mayor carga para el desarrollo de obesidad y diabetes, no generó bajo las mismas condiciones de acondicionamiento un peso tan relevante como la cepa SD, sin embargo, la talla no se desarrolló de manera importante, por lo que su IMC fue similar al observado en la SD pero mayor a la cepa W. Por su parte el índice de Lee o porcentaje magro de grasa fue similar en todas las cepa observadas. Los parámetros medidos ponen de manifiesto que las condiciones genéticas relevantes para cada cepa de *Ratus Novergicus* en la etapa de desarrollo o acondicionamiento [Browning y Horton. 2004].

Posterior a la etapa de acondicionamiento a los sujetos designados como grupo problema, se les expuso al consumo de la dieta HH por 30, 60 y 90 días. Al primer punto de cohorte (30 días), la talla de los animales no mostró diferencias entre grupos control y problema de las diferentes cepas, sin embargo, se observó alteración del peso de las 3 cepas, contrario a lo esperado este indicador zoométrico disminuido puede relacionarse a factores de obtención proteica o de comportamiento calórico, con impacto directo sobre el IMC, como fue expuesto en la sección de resultados. Una de las causas principales en la disminución de peso, podría ser explicado por la disminución en el consumo proteico (Rolland-Cachera y cols, 1995), sin embargo la cantidad proteica del alimento diseñado cumple con los requerimientos establecidos para estos nutrientes ya que la dieta tiene las cantidades mínimas necesarias 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]. Otro reflejo de la insuficiencia en la ingesta proteica está relacionado con el pobre desarrollo de la talla, pérdida de la actividad, caída del pelo, intolerancia al frío, daño en piel, hipoproteinemia acompañada de hipoalbuminemia, así como desarrollo de anemia lo cual no sucedió en los animales de experimentación, con excepción de la valoración de la hemoglobina todos los parámetros antes mencionados fueron evaluados sin presentar alteraciones, sin embargo, cabe mencionar que aunque

los resultados no se muestran, se pudo evaluar el hematocrito, el cual no presentó alteración en los animales de estudio; además la coloración de mucosas y tegumentos fue similar entre controles y problemas [Van Staveren et al., 1985].

Es de resaltar que la única cepa en la que se pudo observar disminución de IMC fue en la Long-Evans; la pérdida de IMC está en relación a alteraciones metabólicas severas en las cuales se involucran señales hormonales entre tejidos. La homeostasis de nutrientes está coordinada por el ritmo hormonal diario, la actividad intra-indivual, comportamiento de consumo alimenticio, utilización energética y resguardo de la misma, dada por ciclos diarios de luz/oscuridad, tal como se describió en el capítulo 1. 8 de este trabajo. Por lo que las características genéticas de la cepa Long-Evans propician que un incremento del consumo calórico repercuta en un indicador zoométrico tan importante como es el IMC.

Por otro lado, el alimento diseñado para el presente experimento contiene un 47% más carbohidratos en forma de almidones de fácil digestión, esto quiere decir que, presenta estructura de amilosa en su mayoría (glucosas unidas por enlaces α-1,4 de cadena lineares), por lo que son accesibles para las α-amilasas secretadas tanto en la saliva como a nivel pancreático. La posterior degradación es dada por glucoamilasa, sucrasa e isomaltasa (capaz de romper el enlace α-1,6 de algunos oligosacáridos). Tanto la característica del alimento, como las características del intestino hacen que incremente la absorción de glucosa en cada consumo que realicen los animales de cada una de las cepas analizadas, respondiendo de acuerdo a la susceptibilidad o capacidad genética que posean [Evans et al., 2005], y a las reacciones neurocerebrales que ejerce una influencia directa en el sobre consumo calórico, con respecto al control los cuales estimulan o suprimen el apetito de los animales, tal como se mencionó en el apartado 1.8 [Konturek et.al 2005; Wynne et al., 2005] lo que sugiere que el hipotálamo puede actuar como un centro de regulación del balance energético negativo, a través de la secreción de neuropéptidos [Konturek et al., 2005; Wynne et al., 2005].

En cuanto al manejo de glucosa por las cepas evaluadas, pudimos observar que a los 30 días de consumo de la dieta H-H las cepas presentaron grados variables de alteración en la intolerancia a la glucosa (lo que pone de manifiesto la susceptibilidad genética de cada individuo), y aunque la cepa SD mostró diferencias en cuanto a la glucosa de ayuno respecto a su control, éste se halla dentro de los parámetros de referencia descritos para la cepa (60 – 130 mg/dL; Harlan Laboratories Inc., 2008). La alteración en la tolerancia a glucosa (IGT, por sus siglas en inglés), es un estado pre-diabético reconocido el cual es un punto intermedio entre un manejo homeostático a una carga del carbohidrato y la entidad clínica de la diabetes mellitus tipo 2. Así como la cuantificación de glucosa en una prueba de TOG puede predecir el riesgo de desarrollo de la patología, también la glicación de proteínas puede hacerlo, la prueba de mayor uso al respecto es la fracción A1c de la hemoglobina, sin embargo, también es relevante el uso de fructosamina, que en modelos murinos ha mostrado mejor eficiencia ya que se pueden detectar a corto plazo la producción de glicación no enzimática, que por medio de la reacción de Millard reduce azúcares que se hallan unidos covalentemente a grupos amino libres (bases de Schiff) para formar productos finales de glicosilación avanzada, haciendo ineficientes a las proteínas tanto de membranas, como séricas. Tanto la IGT, como la glicación proteica son entidades están especialmente asociadas con obesidad, especialmente con la de tipo abdominal o visceral, dislipidemia y altas concentraciones de triglicéridos y/o bajos niveles de HDL e hipertensión [American Diabetes Association, 2014; Papaetis, 2014].

El estado hiperinsulinemico compensatorio a incrementos en el consumo calórico por glucosa es bien entendido, de hecho se ha referido que las alteraciones de la fase tardía de la insulino secreción, sin disminución del carbohidrato, es decir IGT, no solo son predictores de la presencia de hiperinsulinemia, de hecho confirman la sobre secreción por las células beta pancreáticas, propiciando estados reconocidos de resistencia a insulina hepato-muscular [DeFronzo, 2004; Abdul-Ghani et al., 2007]. Aunque estudios más recientes confirman que la IGT, presenta una mayor correlación más bien con la resistencia músculo-adipositaria, ya que

estos tejidos dependen de la correcta secreción y censo de la hormona para lograr una correcta señalización para la translocación de GLUT4 y recaptura del carbohidrato, y por lo tanto la resistencia a insulina muscular y adipocitaria conlleva a la pérdida del consumo de glucosa por estos tejidos [Han et al., 2003]. Así mismo, la insulino resistencia muscular propicia una reducción en la formación de glucógeno y menor oxidación de glucosa [Shulman et al., 1990]. En este punto, también se sabe que cuando los tejidos dependientes de insulina no son capaces de mantener la homeostasis de la glucosa, así que los tejidos dependientes de la hormona tratan de compensarlo ya que primordialmente presentan GLUT2, transportadores dependientes de la concentración de glucosa y no de la actividad de insulina, por lo que de inicio mantienen saturadas la vías de absorción generando lipogénesis de *novo*.

Para ello el exceso de glucosa es metabolizada a acetil-CoA, seguida de ella la síntesis de los ácidos grasos, cuyas rutas metabólicas están explícitas en el capítulo 1.9. La formación de los triglicéridos se produce a través de la acilación secuencial sobre un glicerol-3-fosfato que es previamente desfosforilado en la membrana del retículo endoplásmico; de esta manera la desregulación de carbohidratos promueve la novosíntesis de triglicéridos, lo cual sugiere no solo una desregulación del sistema nervioso central al periférico, sino también un desorden neuro-endócrino que repercute en el “feedback” energético entre tejidos, generando un exceso de carga de trabajo a los hepatocitos, los cuales generan características propias de la insulinoresistencia hepática y por lo tanto también del fenotipo bioquímico de síndrome metabólico a los 30 días [Choi and Ginsberg; 2011]. Las cepas de mayor alteración metabólica fueron las de ob(-)/db(-) y ob(+)/db(-), es decir, la Wistar y Sprague-Dawley, mientras la de condición genética para el desarrollo de ob(+)/db(+) no presentó dicho problema.

A pesar que la cepa Long-Evans no desarrolló en los primeros 30 días una mayor cantidad de triglicéridos respecto de la su propio control ante el mayor consumo de carbohidratos, si incrementó fosfolípidos (~3 veces). Estos componentes lipídicos, son el mayor constituyente de la lipoproteínas, a nivel plasmático, lo cual se puede

deducir que la fosfatidilcolina es el principal fosfolípido en circulación, el cual es el principal componente de las lipoproteínas, especialmente de VLDL y HDL, en las que cumple primordialmente funciones estructurales en conjunto con la esfingomielina. En el retículo endoplásmico de los hepatocitos (aunque no es en la única célula que se sintetiza), se lleva a cabo la síntesis de ambos fosfolípidos [Fisher and Ginsberg; 2002]. A pesar de que la colina no es sintetizada en las células animales, es adquirido de la dieta como un nutriente esencial, y obtenido de los lípidos consumidos. [Fisher et al., 2001]. Se puede hipotetizar entonces que en la cepa Long-Evans al sintetizarse una mayor cantidad de fosfolípidos, presentándose incrementados en el suero de los animales que conformaron el grupo experimental, y ya que se encuentran unidos a las lipoproteínas, los triglicéridos y por ende sus lipoproteínas de transporte deberían corresponder, sin embargo, la cantidad de VLDL no fue diferente entre los grupos control y experimental, e incluso las HDL fueron significativamente menores respecto al control por lo que no se justifica el hecho del incremento, sin embargo, las LDL se incrementaron proporcionalmente a los fosfolípidos, por lo que en conjunto estos datos sugieren que la cepa Long-Evans presenta un transporte más eficiente propio de su genética ob(+)/db(+), para transportar triglicéridos a los diferentes tejidos por medio de VLDL siendo los blancos principales el músculo y tejido adiposo, y tejidos como corazón, páncreas y riñón entre otros los secundarios. Por su parte las cepas Wistar y SD, también mostraron incremento de fosfolípidos circulantes, sin embargo estos correlacionaron mejor con el incremento de VLDL y LDL, ya que ambas cepas, pero la SD en mayor proporción, muestran disminución en la concentración de HDL, lo que apoya la hipótesis que existen diferencias en cuanto a susceptibilidad genética a la respuesta metabólica evocada por única variante dietética a las que fueron expuestas.

Por otro lado, también la ruta del exceso en el consumo de carbohidratos puede alterar la cantidad de colesterol total en circulación. Las tres cepas en cuestión presentaron incrementos en los primeros 30 días de exposición a la dieta HH, como ya se ha mencionado convergentemente las vías lipogénicas coinciden con las de degradación de glucosa en un exceso de citrato vertido al citoplasma [Kim,

1997], este da paso a la formación del acetil-CoA por medio de la ATP citrato-liasa, el siguiente paso es el ataque de una acetoacetil-CoA tiolasa, lo que trae como resultado la formación de una acetoacetil-CoA, que finalmente por la acción de 3-hidroxi-3-metilglutaril sintetasa da paso a una hidroxi-3-metilglutaril-CoA, el sistema enzimático que permite la formación de la última molécula es conocido como complejo AACT/HMGS [Weber y Bach, 1994]. El incremento observado entre fosfolípidos, triglicéridos y colesterol forman parte como fracciones de los lípidos totales que como era de esperarse se presentaron incrementados en las diferentes cepas, pero al parecer no con el mismo significado clínico.

Las apolipoproteínas mantienen funciones importantes en el ensamble, secreción y metabolismo periférico de las partículas lipoproteicas, el hígado secreta VLDL la cuales se encargan del reparto a la periferia de los triglicéridos generados en el hígado. Las grandes cantidades de VLDL son convertidas a lipoproteinas de baja densidad (LDL), las cuales son el mayor transporte de colesterol esterificado hacia diferentes tejidos. En contraste las HDL tienen como una de sus primordiales funciones remover el colesterol de los tejidos periféricos y regresarlo al hígado [Kozlitina et al., 2011; Choi and Ginsberg, 2011].

En nuestros resultados se pudo evidenciar un incremento importante de estas fracciones lipoproteicas en las cepas W y SD, la diferencia entre estas dos fueron los fosfolípidos, que en la segunda se hallan en mayor cantidad por lo que los datos sugieren que las VLDL secretadas pudieran haber sido de mayor tamaño, lo que habla de transporte acelerado de resguardo y por lo que en la cepa SD no fue significativa la disminución del peso corporal. Así mismo la evidencia observada en LE de no hallar diferencia entre los controles y problemas, plantea la perspectiva de que esta cepa puede tener una movilidad mucho mayor de VLDL y mejor resguardo [Mensenkamp et al., 2001; Gusarova et al., 2007]

Otra lipoproteína importante en la homeostasis de los triglicéridos y el colesterol es la HDL, por lo que pueden adquirir colesterol libre de los tejidos periféricos, el cual es esterificado y conducido al core de la molécula modificando su forma primaria

helicoidal para convertirse en formas esféricas circulantes de tamaño variable y de densidad variable [Kontush et al., 2003, 2015; 2012; Chantepie et al., 2012].

Cuando los niveles de VLDL son elevados como es el caso de las cepas Wistar y Sprague-Dawley, la CETP media la transferencia del core lipídico de las HDL a las VLDL, lo cual excede el transporte de triglicéridos de las VLDL a HDL, generando un incremento de colesterol esterificado en las VLDL y una gran cantidad de triglicéridos en las HDL haciéndolas estructuralmente lábiles, por lo que las HDL deben perder tamaño para ganar estabilidad, haciéndolas más susceptibles a presentar aclaramiento renal [Rye et al., 1997], esta característica es predominante en las tres cepas analizadas. El método utilizado para este trabajo de tesis, en la determinación de las HDL se basa en reacción con el core de esteres de colesterol, dado que este core presenta un alto contenido en triglicéridos, la técnica muestra una aparente disminución del contenido circulante de HDL, cuando muy probablemente sea el mismo contenido de la lipoproteína pero con un contenido de core diferente, es decir, con alto contenido en triglicéridos [Voros et al., 2013] En este contexto, los resultados presentados muestran en grados variables dependientes de las características genéticas propias de cada cepa, de lo que se conoce dislipidemia de la RI, SM y DM2, en la cual coexisten tres anormalidades lipídicas: Incremento plasmático de VLDL-Triglicéridos, con incremento de apoB-100, bajos niveles de HDL y apoA-I y niveles relativamente normales a francamente altos de LDL, con predominancia en las partículas cortas y densas. Los dos últimos anomalías se asocian con el aumento de los niveles de VLDL en plasma a través de las acciones de la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP), que median el intercambio de lípidos de núcleo (TG y CE) entre las VLDL y HDL o LDL y VLDL [Barter et al., 2003]. Tal como se indica en la Fig.3 del marco teórico .

De manera natural, un incremento en el consumo de carbohidratos estimula como ya se ha explicado una mayor síntesis de ácidos grasos, los cuales al seguir la vía secretoria en forma de triacilgliceroles, son eliminados del tejido hepático en forma de VLDL, estas VLDL son hidrolizadas por la LPL en diferentes tejidos lo que

provoca la liberación de ácidos grasos; los principales tejidos que llevan a cabo estas acciones son el tejido adiposo que lo utiliza para su resguardo y el tejido muscular que lo utiliza para la obtención de energía [Holvoet et al., 2008]; una vez eliminados los triglicéridos de las VLDL estas se convierten en IDL, estas al seguir su trayecto en circulación, continúan perdiendo triglicéridos y ganado CE donado por las HDL, hasta convertirse en LDL, las cuales son tomadas en diversos tejidos como el hígado.

En estado de RI y SM, el rol de las VLDL es transportar el exceso de energía en forma de triglicéridos fuera del hígado, por lo que la producción de los mismos en aparente control glicémico es una señal de hiperconsumo calórico, ya que el ensamble y secreción de las VLDL es un proceso sustrato dependiente que es finamente regulado por la capacidad de síntesis de triglicéridos hepáticos [Fisher and Gisnberg, 2002; Fisher et al., 2001, Olofsson et al., 2000]. También es importante considerar que de manera normal, la insulina estimula la actividad LPL por incremento en la producción en la proteína y de los niveles de su mensajero, sin embargo, cuando existe RI la actividad de la LPL disminuye en músculo esquelético, lo que sugiere un defecto en su regulación y consecutivamente presenta una cascada de anormalidades, resultando en una disminución del aclaramiento de las VLDL [Miyashita, 2002]. Además, el aumento de AGL en suero conlleva al hígado a sintetizar fracciones más grandes de VLDL que son vertidas al plasma; las fracciones de VLDL 3, 4, 5 y 6 tardan mayor tiempo en ser eliminadas de plasma lo que fomenta el incremento de la fracción LDL; este efecto fue observado en las diferentes cepas expuestas a la dieta hipercalórica [Boden, 2003]. Como ya se ha discutido los estados de IR incrementan la concentración y retardan la depuración de las VLDL induciendo un incremento en el intercambio entre ésteres de colesterol en LDL y triglicéridos en las VLDL [Lund-Katz et al., 1998].

Se ha demostrado que la elevación aguda de los AGL y su flujo hacia el músculo frenan la utilización de glucosa estimulada por insulina, pues hay competición de sustratos energéticos entre el carbohidrato y los AGL. Tanto en pacientes

delgados como obesos, se ha mostrado que cuando se dan estas condiciones existe falla en la actividad antilipolítica de la insulina en adipocitos, sobre todo en enzimas como lipasa sensible a hormona (HSL), dando como resultado alteraciones con grado variable agravadas por los disturbios en los AGL [Bays et al., 2004; Reaven, 1995]. Nuestros resultados revelan que coexisten en las tres cepas de estudio incrementos tanto en las LDL circulantes como en los AGL, con alteración y repercusión en la segunda fase de absorción de los carbohidratos que es derivativa de músculo y tejido adiposo, evidencia que nos permite sugerir y argumentar la coexistencia de SM y RI en los animales de estudio desde los primeros 30 días de exposición a los carbohidratos.

Comportamiento similar pudo observarse al siguiente punto de cohorte (60 días) en el IMC, en donde el grupo experimental permanece con el mismo comportamiento del mes anterior (por debajo del control normocalórico), sin embargo estos resultados no afectaron el diámetro de abdomen, aunque se pudo observar un menor porcentaje de grasa y peso corporal, en todas las cepas. Los resultados en la zoometría no mostraron tener efecto sobre el crecimiento y desarrollo, lo que de cierta manera confirma la hipótesis basada en el aspecto calórico que conlleva la ingesta de dieta HH, alterando condiciones metabólicas celulares. Generalmente es asociado el IMC con eventos de sobrepeso y obesidad, sin embargo los sujetos de experimentación mostraron caída del indicador, conjuntamente con el % de grasa corporal, sin pérdida de la grasa visceral o adiposidad central que en este punto en relación es superior a la grasa total, hecho que incrementa la probabilidad de desarrollo de diabetes, hipertensión, hiperlipemia y arterosclerosis [Wajchenberg, 2000].

El tejido adiposo visceral presenta una ubicación perimetral a los órganos de la cavidad abdominal [Kershaw and Flier, 2004]. Debido a su ubicación y distribución, se encuentra en contacto con los tejidos metabólicamente activos más importantes del cuerpo, además, su vascularidad está sujeta a irrigación portal, con lo cual los ácidos grasos liberados llegan fácilmente al hígado, constituyendo así un aporte directo de energía para el metabolismo general.

Diversos estudios indican el papel decisivo que juega la liberación incrementada y desregulada de ácidos grasos desde el tejido adiposo visceral a nivel sistémico, promoviendo el desarrollo de insulinorresistencia hepática, hiperinsulinemia, asociándose a su vez con la mayor prevalencia de diversas patologías [Bakker et al., 2004].

Dados los resultados, estos sugieren que coexiste una severa hiperinsulinemia con resistencia a la acción de la hormona que mantiene un estatus lipolítico, esto confirmado por el exceso de ácidos grasos circulantes en los animales de las tres cepas de estudio. El proceso de liberación en el adipocito, involucra a la lipólisis, un proceso durante el cual los triglicéridos almacenados se hidrolizan hasta glicerol y ácidos grasos, efecto dirigido y limitado por la HSL [Langin, 2006].

Adicionalmente, la alteración en la sensibilidad a insulina en adipositos causa cambios en la señalización, los cuales incluyen una potenciación del estatus lipolítico. Los cambios en dicha señalización incluyen disminución de los supresores lipolíticos, generalmente dados en tejido adipos visceral (el cual no presentó diferencias respecto del control, lo que sugiere fuertemente su desregulación), estos eventos también influyen directamente en la regulación de la homeostasis de la glucosa [Albu el al., 1999; Howard et al., 1984]. Conjuntamente, se ha reportado que la leptina, una hormona secretada por adipocitos, estimula la lipólisis en tejido adiposo. En este sentido la cepa LE se ha reconocido como una cepa que se sobre estimula en la secreción de dicha hormona, lo cual es evidente en nuestros resultados ya que esta cepa fue la que mayor alteración mostro en dicho rubro hasta los 60 días de exposición.

Lo observado en cuanto a la regulación de glúcidos por las tres cepas (aunque LE en menor grado), fue una alteración a la tolerancia de glucosa (IGT), sumada a una alteración en la glucosa de ayuno (IFG). [Davies et al., 2000; Hetdgaard et al., 2004; Blake et al., 2004]. Característicamente, la IFG muestra alteraciones en ayuno de la glucosa, sin embargo al dar un carga de 75g de glucosa anhidra en 100 mL, esta no es diferente de un sujeto normotolerante he incluso hasta pueden observarse concentraciones de glucosa por debajo de los 140 mg/dL dentro de los

primeros 30 – 60 min, y a los 120 min se hallan valores de glucosa por debajo de la concetración de partida, por lo que es establecido que este grupo de pacientes presenta una marcada resistencia hepática a la insulina, pero condiones de normales a incrementados en la sensibilidad muscular a la hormona. Lo cual es justificado ya que los pacientes con IFG disminuye en la secreción insulínica de primera fase 0 – 10 min, también de fase temprana antes de los 30 min y una secreción normal en la segunda fase de 60 – 120 min. La combinación de la resistencia a insulina hepática primordialmente, con el defecto en la secreción de la hormona, resulta en un exceso de la producción de glucosa hepática (gluconeogénicos, glucogénicos y gluconenolíticos), y por lo tanto este tipo de defectos pseudo hiperglicémicos. La respuesta muscular normal a insulina compensa los defectos hepáticos [Nathan et al., 2007]. El reflejo del daño metabólico se asentuó con la evidencia de glicación proteica y dislipidemias marcadas con incremento en triglicéridos las VLDL (aunque la cepa LE no mostró ninguna de las dos carcterísticas), LDL y ácidos grasos, así como la caída en las HDL, que dicho sea de paso en la cepa W fue tan grave que inclusive disminuyó el colesterol circulante, manteniéndolo en niveles inferiores a lo mostrado por los controles.

En los últimos 30 días de experimentación, ya es evidente el impacto que tuvo la dieta HH sobre el metabolismo de los murinos, principalmente de tipo lipídico, y esto es porque tanto el peso como el IMC aumentaron significativamente, así como el incremento del diámetro de abdomen y le porcentaje de grasa, resaltando nuevamente la cepa LE, después la cepa SD y W finalmente, sin embargo, a pesar de la tendencia natural del desarrollo de obesidad central de éstas primeras dos cepas, y por consiguiente a la capacidad de almacenamiento de lípidos en tejido, su metabolismo ya está siendo alterado notoriamente con el incremento de diámetro abdominal, indicando ya con ello, una desregulación en la lipogénesis, lo cual conlleva a otras alteraciones en la síntesis de metabolitos (carbohidratos y lípidos por resaltar algunos), por lo que, con ayuda de otros parámetros de tipo sérico, se determinará este proceso de desregulación y todo gracias a la ingesta de la dieta con un elevado índice calórico y glucémico,

En los últimos 30 días de experimentación, ya es evidente el impacto que tuvo la dieta HH sobre el metabolismo de los murinos, principalmente de tipo lipídico, y esto es porque tanto el peso como el IMC aumentaron significativamente, así como el incremento del diámetro de abdomen y le porcentaje de grasa, resaltando nuevamente la cepa LE, después la cepa SD y W finalmente, sin embargo, a pesar de la tendencia natural del desarrollo de obesidad central de éstas primeras dos cepas, y por consiguiente a la capacidad de almacenamiento de lípidos en tejido, su metabolismo ya ha sido alterado notoriamente con incremento del diámetro abdominal, indicando ya con ello, una desregulación en la lipogénesis [Riccardi et al., 2004].

El exceso de grasa abdominal, en particular de la perivisceral o intraabdominal de alto dinamismo (o sea con intensa lipólisis) produce una plétora de AGL que llega al hígado vía porta. Cuando hay sobrecarga hepática de AGL ocurren tres fenómenos principales: aumenta la producción de VLDL cargadas de triglicéridos y de apolipoproteína B (aterogénicas); se incrementa la gluconeogénesis hepática, y disminuye fuertemente la capacidad de aclaramiento de la insulina, que llega también por vía porta. Todos estos fenómenos que ya se ha ido describiendo, generan estados hipertróficos (ganancia en el tamaño del adiposito) e hiperplásicos (incremento en el número de células adipocitarias [Arner et al., 2010].

Aunque está bien establecido que aumenta el promedio el volumen de las células grasas con el aumento de la masa grasa corporal, hay una gran variación interindividual en el tamaño de las células grasas, independientemente de la cantidad absoluta de tejido adiposo. Las personas obesas pueden tener muchas células de grasa más pequeños (es decir, hiperplasia) o menos, pero más grande, los adipocitos (es decir, hipertrofia) [Krotkiewski et al., 1975]. En este sentido se considera que la grasa visceral es la más diabetogénica ya que evoca una gran cantidad de señales inflamatorias, niveles incrementados de proteína C reactiva, TNF-α e IL-6 se han encontrado incrementados en modelos animales y humanos con obesidad central, [Florez et al., 2006].

Cabe mencionar que la única cepa que presentó recuperación absoluta del peso fue la cepa SD, sin embargo tanto la cepa W como la LE aunque permanecieron bajas de peso, mostraron un incremento muy importante del porcentaje graso, mientras que la cepa SD no lo mostró, aunque a pesar de ello ninguna de las tres cepas mostró mayor perímetro de abdomen. Es de resaltar que las cepas W y SD presentaron alteraciones severas en la tolerancia de la glucosa, cayendo en hiperglicemias severas, sobre todo la cepa W, mientras que la cepa LE mantuvo el estatus de IGT hasta el final del estudio, por lo que se hace muy evidente que cada cepa y su carga genética responden en algunos parámetros de forma similar y en otros de forma divergente, lo que concuerda con la presencia en grados variables de IR. [De Fronzo, 2004].

Una gran parte de la preocupación por el vínculo entre la disfunción adipocitaria, el SM y DM2 se refiere a que existe evidencia de que las grasas se sitúan en órganos y tejidos no preparados para su depósito, en lugar de hacerlo en su sitio natural: el tejido adiposo [Kelley and Goodpaster, 2001]. Por lo que, los paneles de expertos para el estudio de alteraciones metabólicas, mencionan que ante la presencia de parámetros antropométricos o zoométricos, coexisten alteraciones de algunas macromoléculas plasmáticas involucradas en el balance y distribución energético en el organismo; tal es el caso de Lípidos Totales, triglicéridos, colesterol total, así como de sus fracciones de lipoproteínas transportadoras y glucosa. Las tres cepas expuestas a la dieta HH, mostraron la mayor desregulación en cuanto a glicación proteíca y lipídica, mostrando incrementos importantes en los lípidos totales y sus fraciones de triglicéridos, fosfolípidos y colesterol (con excepción de la cepa W en el último rubro), con ello los datos sugieren que en estados reconocidos bioquímicamente como SM se producen dos alteraciones esenciales: la disminución en la captación de glucosa e incremento en la absorción y metabolismo de AGL en el músculo, además de la pérdida en la supresión para la liberación de AGL y glicerol desde los adipocitos [Lelliot and Vidal Puig, 2004; Olefsky, 1976; Molina et al., 1989; Carnie et al., 1979]. Generando un metabolismo alterado que se repite cíclicamente y que incrementa conforme al tiempo de exposición de un sobre consumo calórica, convirtiéndose

en una espiral viciosa, lo que lleva también a que las lipoptroteínas transportadoras también mostraran la mayor desregulación, y de las cuales las tres cepas mostraron a “los cuatro mosqueteros de Reaven” [Reaven, 1995], hipertrigliceridemia con incremento de VLDL, lo que conllevó a presentar un mayor número de LDL circulantes, que a largo plazo condicionó la disminució de las HDL, circunstancias creadas por el incremento incipiente de AGL; fenotipo bioquímico caracteístico del síndrome X de Reaven, mejor conocido como SM.

7. CONCLUSIÓN

Se pudo establecer que bajo el consumo de una dieta hipercalórica – hiperglúcida, diferentes cepas de *Ratus novergicus* con características genéticas diferentes como lo es la cepa Wistas ob(-)/db(-), Sprague-Dawley ob(+)/db(-) y Long-Evans ob(+)/db(+), la zoometría de las mismas observo cambios importantes, desde la reducción de peso en los primeros 30 días de consumo, lo cual sugiere fuertemente alteraciones en la señalización en el núcleo hipotalámico encargado de la respuesta anorexigénica y que repercutió con mayor severidad en la cepa Long-Evans causándole además disminución tanto en el IMC y porcentaje graso. A los 60 días se puede concluir estados lipolíticos y de quema calórica (primordialmente lipídica) severos que llevan a la caída del IMC y el porcentaje de grasa en todas las cepas. Y a los 90 días, los resultados son concluyentes en las cepas Wistar y Long-Evans en las que se pudo observar que la consecuencia del consumo de la dieta hipercalórica es el incremento del porcentaje de grasa. Todos estos cambios se realizaron sin pérdida de la adiposidad abdominal visceral, que es la grasa referida como inductora de diabetogénesis, por lo que se puede concluir que la dieta HH, logra en un periodo de 90 días de consumo establecer un estatus zoométrico similar al propuesto para el síndrome metabólico.

Los cambios bioquímicos en los carbohidratos son más contundentes, ya que una glicación proteica fue establecida desde los primeros 30 días de exposición a la dieta por la cepa Wistar y a partir de los 60 días de consumo por todas las cepas manejadas, lo que es condicionado por conductas hiperglicémicas sostenidas; así mismo, se puede concluir que existieron grados variables de alteraciones metabólicas reconocidas en el síndrome metabólico, como lo son estados de alteración en la tolerancia a glucosa y alteración de la glucosa basal (IGT e IFG, respectivamente).

Alteraciones lipídicas características del fenotipo bioquímico reconocido como síndrome metabólico, aparecieron en todas las cepas en grados variables, de los que se pueden mencionar incrementos séricos de lípidos totales, ácidos grasos libres, fosfolípidos, triglicéridos y colesterol, así como, fracciones de las lipoproteínas VLDL y LDL, y la caída de la fracción HDL. Concluyendo que el incremento de ácidos grasos libres es el fenómeno más temprano y de mayor agresión metabólica y su presencia crónica condiciona al correcto funcionamiento sistémico. También cabe mencionar, que al contrario de lo que se piensa de las fracciones VLDL y LDL en principio se deben considerar como una respuesta normal al tipo de metabolismo condicionado por el alto consumo de carbohidratos, sin embargo a largo plazo este fenotipo es perjudicial, siempre y cuando coexista la "caída" de las HDL, y que en éstas fracciones, en pacientes con VLDL y LDL elevadas e hipertrigliceridemia, se debiese analizar el contenido de triacilgliceroles para establecer como punto de alteración metabólica de HDL inestables, o como se conocen comúnmente: cortas y densas.

Finalmente, se puede concluir que la carga genética y la predisposición a ciertos fenotipos es de suma importancia, sin embargo, el consumo de la dieta hiperclórica logró el mayor desbalance en la cepa menos predispuesta para ello (Wistar), y contrariamente a lo esperado la cepa de mayor predispoción (Long-Evans), fue en la que menos impacto bioquímico mostro el consumo de la misma, lo que confirma que el "factor ambiental o epigenético" es de gran relevancia al estudiar patologías en modelos animales, ya que difícilmente se comportarán como el humano en el 100% de las características a investigar.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. A.E. Leonard, S.L. Pereira, H. Sprecher, Y.S. Huang. Elongation of long-chain fatty acids. Prog. Lipid Res., 43 (2004), pp. 36–54
2. Abdul-Ghani M.A., DeFronzo R.A. Williams K. and Stern M. 2006. Risk of Progression to Type 2 Diabetes Based on Relationship Between Postload Plasma Glucose and Fasting Plasma Glucose. Diabetes Care 29:1613–1618.
3. Abdul-Ghani MA, Tripathy D, DeFronzo RA. Contributions of beta-cell dysfunction and insulin resistance to the pathogenesis of impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose. Diabetes Care.2006;29:1130–1139.
4. Adilson Guilherme, Joseph V. Virbasius, Vishwajeet Puri, and Michael P. Czech. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. Nat Rev Mol Cell Biol. May 2008; 9(5): 367–377.
5. Aguirre V, Werner ED, Giraud J, Lee YH, Shoelson SE, White MF. Phosphorylation of Ser^{307} in insulin receptor substrate-1 blocks interactions with the insulin receptor and inhibits insulin action. Journal of Biological Chemistry. 2002;277(2):1531–1537
6. Akira Kohsaka, Aaron D. Laposky, Kathryn Moynihan Ramsey, Carmela Estrada, Corinne Joshu, Yumiko Kobayashi, Fred W. Turek and Joseph Bass. 2007. High-Fat Diet Disrupts Behavioral and Molecular Circadian Rhythms in Mice. Cell Metabollism. Volume 6, Issue 5, 7 November 2007, Pages 414–421.
7. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes
8. AlbertoCampos, Síndrome Metabólico: un problema de salud con múltiples definiciones, Rev Méd Electrón [Internet]. 2012 Mar-Abr [citado: fecha de acceso];2012, 34(2). 200-209
9. Albu JB, Curi M, Shur M, Murphy L, Matthews DE, Pi-Sunyer FX, Systemic resistance to the antilipolytic effect of insulin in black and white women with visceral obesity. Am J Physiol. 1999 Sep; 277(3 Pt 1):E551-60
10. Allan CM, Taylor JM (1996) Expression of a novel human apolipoprotein (apoC-IV) causes hypertriglyceridemia in transgenic mice. J Lipid Res 37(7):1510–1518.
11. Allister EM, Borradaile NM, Edwards JY, Huff MW. Inhibition of microsomal triglyceride transfer protein expression and apolipoprotein B100 secretion by the citrus flavonoid naringenin and by insulin involves activation of the

mitogen-activated protein kinase pathway in hepatocytes. Diabetes 2005; 54: 1676-83.
12. alternative definition of an insulin resistance syndrome. Diabetes Metab.
13. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance
14. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2014. Diabetes Care Volume 37, Supplement 1, January 2014.
15. André F. Nascimento, Mário M. Sugizaki, André S. Leopoldo, Ana P. Lima Leopoldo, Renata A. M. Luvizott o, Célia, R. Nogueira, Antonio C. Cicogna, A Hypercaloric Pellet-Diet Cycle Induces Obesity and Co-Morbidities in Wistar Rats
16. André F. Nascimento; Mário M. A Hypercaloric pellet-diet cycle induces obesity and co-morbidities in wistar rats. Arq Bras Endocrinol Metab vol.52 no.6 São Paulo Aug. 2008
17. Antonio González-Chávez,* Luis Simental,** Sandra Elizondo-Argueta,***
18. Arakawa R, Abe-Dohmae S, Asai M, Ito JI, Yokoyama S. (2000). Involvement of caveolin-1 in cholesterol enrichment of high density lipoprotein during its assembly by apolipoprotein and THP-1 cells.. J Lipid Res 41:1952–1962.
19. Arkan MC, Hevener AL, Greten FR, Maeda S, Li ZW, Long JM, Wynshaw-Boris A, Poli G, Olefsky J, Karin M, IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. Nat Med. 2005 Feb; 11(2):191-8.
20. Arner E, Westermark PO, Spalding KL et al (2010) Adipocyte turnover: relevance to human adipose tissue morphology. Diabetes
21. Arq Bras Endocrinol Metab, 2008; 52/6:968-974)
22. Art. México es el país 'más obeso' del mundo, según un informe de la ONU, CNN, julio de 2013
23. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2003 Oct 1;23(10):1881-1888.
24. Asztalos BF, Schaefer EJ (2003a) High-density lipoprotein subpopulations in pathologic conditions. Am J Cardiol 91(7A):12E–17E
25. Asztalos BF, Schaefer EJ (2003b) HDL in atherosclerosis: actor or bystander? Atheroscler Suppl 4 (1):21–29
26. Axler O et al (2008) Apolipoprotein M associates to lipoproteins through its retained signal peptide. FEBS Lett 582(5):826–828.
27. Ayala I., Fernández-Pardo J. y Colaboradores, MODELOS ANIMALES EXPERIMENTALES DE ENFERMEDAD DE HÍGADO GRASO Y SÍNDROME METABÓLICO,. AN. VET. (MURCIA) 24: 5-16 (2008).
28. Balkau B, Charles MA, Drivsholm T, Borch-Johnsen K, Wareham N, Yudkin JS,

29. Barter PJ, Brewer HB Jr, Chapman MJ, Hennekens CH, Rader DJ, Tall AR, Cholesteryl ester transfer protein: a novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2003 Feb 1; 23(2):160-7.
30. Baulande S, Lasnier F, Lucas M, Pairault J, Adiponutrin, a transmembrane protein corresponding to a novel dietary- and obesity-linked mRNA specifically expressed in the adipose lineage. J Biol Chem. 2001 Sep 7; 276(36):33336-44.
31. Bays H, Mandarino L, DeFronzo RA. Role of the adipocyte, free fatty acids, and ectopic, fat in pathogenesis of type 2 diabetes mellitus: peroxisomal proliferator-activated receptor agonsits provide a rational therapeutic approach. J Clin Endocrinol Metab 2004;89: 463–78.
32. Bernardo Hernández Prado, Ricardo Uauy, Salud pública de México, 50 aniversario, 1959, 2009, vol. 51-2009
33. Biochem Biophys Res Commun. 1998 Jun 29;247(3):663-7.
34. Biophysical Journal Volume 82 March 2002 1429–1444.
35. Birner-Gruenberger R, Susani-Etzerodt H, Waldhuber M, Riesenhuber G, Schmidinger H, Rechberger G, Kollroser M, Strauss JG, Lass A, Zimmermann R, Haemmerle G, Zechner R, Hermetter, The lipolytic proteome of mouse adipose tissue, A Mol Cell Proteomics. 2005 Nov; 4(11):1710-7.
36. Blake DR, Meigs JB, Muller DC, Najjar SS, Andres R, Nathan DM: Impaired glucose tolerance, but not impaired fasting glucose, is associated with increased levels of coronary heart disease risk factors: results from the Baltimore Longitudinal Study on Aging. Diabetes 53:2095–2100, 2004
37. Blüher M, Michael MD, Peroni OD, Ueki K, Carter N, Kahn BB, Kahn CR, Adipose tissue selective insulin receptor knockout protects against obesity and obesity-related glucose intolerance. Dev Cell. 2002 Jul; 3(1):25-38.
38. Boden G and Chen X. 1995. Effects of fat on glucose uptake and utilization in patients with non-insulin-dependent diabetes. J Clin Invest. 96: 1261-1268.
39. Boden G and Jadali F. 1991. Effects of lipid on basal carbohydrate metabolism in normal men. Diabetes. 40: 686-692.
40. Boden G. 2003. Effects of Free Fatty Acids (FFA) on Glucose Metabolism: Significance for Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 111(3): 121-124.
41. Brasaemle DL, Rubin B, Harten IA, Gruia-Gray J, Kimmel AR, Londos C, Perilipin A increases triacylglycerol storage by decreasing the rate of triacylglycerol hydrolysis. J Biol Chem. 2000 Dec 8; 275(49):38486-93.

42. Bronwyn A. Kingwell, M. John Chapman, Anatol Kontush & Norman E. Miller. 2014. HDL-targeted therapies: progress, failures and future. Nature Reviews Drug Discovery 13, 445–464
43. Cai D, Yuan M, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, Shoelson SE, Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. Nat Med. 2005 Feb; 11(2):183-90.
44. Carlos Calvo M., Lípidos y Riesgo Cardiovascular, Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Universidad de Concepción, 2012
45. Carnie JA, Smith DG and Mavris-Vavayannis M. 1979. Effects of insulin on lipolysis and lipogenesis in adipocytes from genetically obese (ob/ob) mice. Biochem J. 184: 107- 112.
46. Caron S, Verrijken A, Mertens I, Samanez CH, Mautino G, Haas JT, et al. Transcriptional activation of apolipoprotein CIII expression by glucose may contribute to diabetic dyslipidemia. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2011; 31: 513-519.
47. Carranza Madrigal J, López Correa SM. El Síndrome Metabólico en México. Med Int Mex 2008;24 (4):251-61
48. Central orchestration of peripheral nutrient partitioning and substrate utilization: Implications for the metabolic síndrome. Diabetes & Metabolism, Volume 40, Issue 3, June 2014, Pages 191-197.
49. Centro de Ciencias de la Salud Universidad Autónoma de Aguascalientes, AÑO 7, NÚM. 21, MAYO-AGOSTO 2012, lux medica.
50. Chantepie S, Bochem AE, Chapman MJ, Hovingh GK, Kontush A. High-density lipoprotein (HDL) particle subpopulations in heterozygous cholesteryl ester transfer protein (CETP) deficiency: maintenance of antioxidative activity. PLoS One. 2012;7(11):e49336.
51. Charlton-Menys V[1], Durrington PN. Squalene synthase inhibitors : clinical pharmacology and cholesterol-lowering potential. Drugs. 2007;67(1):11-6.
52. Chirala SS, Wakil SJ. Structure and function of animal fatty acid synthase. Lipids. 2004 Nov; 39(11):1045-53.
53. Choi SH, Ginsberg HN. Increased very low density lipoprotein (VLDL) secretion, hepatic steatosis, and insulin resistance. Trends Endocrinol Metab. 2011 Sep; 22(9):353-363.
54. Christian Rask-Madsen and C. Ronald Kahn, Tissue-specific insulin signaling, metabolic syndrome and cardiovascular disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol. Sep 2012; 32(9): 2052–2059.

55. Christoffersen C et al (2008) The signal peptide anchors apolipoprotein M in plasma lipoproteins and prevents rapid clearance of apolipoprotein M from plasma. J Biol Chem 283(27):18765–18772
56. Christoffersen C et al (2011) Endothelium-protective sphingosine-1-phosphate provided by HDL-associated apolipoprotein M. Proc Natl Acad Sci USA 108(23):9613–9618
57. Chu K[1], Miyazaki M, Man WC, Ntambi JM. Stearoyl-coenzyme A desaturase 1 deficiency protects against hypertriglyceridemia and increases plasma high-density lipoprotein cholesterol induced by liver X receptor activation. Mol Cell Biol. 2006 Sep;26(18):6786-98.
58. Circulation [Internet]. 2005 [citado 13 Nov 2011];112:2735-52.
59. Claire Barbier de La Serre et al., Propensity to high-fat diet-induced obesity in rats is associated with changes in the gut microbiota and gut inflammation, American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology Published 1 August 2010 Vol. 299 no. 2, G440-G448 DOI: 10.1152/ajpgi.00098.2010.
60. Coe NR, Simpson MA, Bernlohr DA, Targeted disruption of the adipocyte lipid-binding protein (aP2 protein) gene impairs fat cell lipolysis and increases cellular fatty acid levels. J Lipid Res. 1999 May; 40(5):967-72
61. Cohen AW, Razani B, Schubert W, Williams TM, Wang XB, Iyengar P, Brasaemle DL, Scherer PE, Lisanti MP, Role of caveolin-1 in the modulation of lipolysis and lipid droplet formation. Diabetes. 2004 May; 53(5):1261-70
62. Cynthia A. Nagle, Eric L. Klett, and Rosalind A. Coleman. Hepatic triacylglycerol accumulation and insulin resistance. J Lipid Res. Apr 2009; 50(Suppl): S74–S79.
63. Dahlback B, Nielsen LB (2009) Apolipoprotein M affecting lipid metabolism or just catching a ride with lipoproteins in the circulation? Cell Mol Life Sci 66(4):559–564.
64. David M. Nathan, MD, Mayer B. Davidson, Ralph A. DeFronzo, Robert J. Heine, Robert R. Henry, Richard Pratley and Bernard Zinman
65. Davidsson P et al (2010) Proteomics of apolipoproteins and associated proteins from plasma highdensity lipoproteins. Arterioscler Thromb Vasc Biol 30(2):156–163.
66. Davies MJ, Raymond NT, Day JL, Hales CN, Burden AC: Impaired glucose tolerance and fasting hyperglycaemia have different characteristics. Diabet Med 17:433–440, 2000.
67. de Silva HV et al (1990a) Purification and characterization of apolipoprotein J. J Biol Chem 265, (24):14292–14297

68. de Silva HV et al (1990b) A 70-kDa apolipoprotein designated ApoJ is a marker for subclasses of human plasma high density lipoproteins. J Biol Chem, 265(22):13240–13247
69. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement.
70. Dietary sugars and lipid metabolism in humans., Am J Clin Nutr. 1995 Jul;62(1 Suppl):250S-261S.
71. Do R[1], Kiss RS, Gaudet D, Engert JC., Squalene synthase: a critical enzyme in the cholesterol biosynthesis pathway. Clin Genet. 2009 Jan;75(1):19-29
72. Dominique Langin. Adipose tissue lipolysis as a metabolic pathway to define pharmacological strategies against obesity and the metabolic syndrome Volume 53, Issue 6, June 2006, Pages 482–491
73. Duncan et al., Regulation of Lipolysis in Adipocytes. Annu Rev Nutr. 2007; 27: 79–101.
74. Edgar Denova-Gutiérrez, Susana C., Juan O. T., Katia G.C., Dietary Patterns Are Associated with Metabolic Syndrome in an Urban Mexican Population, The Journal of Nutrition, Nutritional Epidemiology, 2012: 1855-1861
75. Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y, et al.
76. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados nacionales 180-a85. et al. Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts, and
77. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report
78. F. Scott Heinemann, George Korza and Juris Ozols. A Plasminogen-like Protein Selectively Degrades Stearoyl-CoA Desaturase in Liver Microsomes. J. Biol. Chem. 2003, 278:42966-42975.
79. Fisher EA, Ginsberg HN. Complexity in the secretory pathway: The assembly and secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins. J Biol Chem. 2002; 277:17377–17380.
80. Fisher EA, Pan M, Chen X, Wu X, Wang H, Jamil H, Sparks JD, Williams KJ. The triple threat to nascent apolipoprotein B. Evidence for multiple, distinct degradative pathways. J Biol Chem. 2001;
81. Florez H, Castillo-Florez S, Mendez A, Casanova-Romero P, Larreal-Urdaneta C, Lee D, Goldberg R, C-reactive protein is elevated in obese patients with the metabolic syndrome. Diabetes Res Clin Pract. 2006 Jan; 71(1):92-100.

82. Frank PG, Marcel YL (2000) Apolipoprotein A-I: structure-function relationships. J Lipid Res 41:853–872

83. Fukuchi J, Song C, Ko AL, Liao S. Transcriptional regulation of farnesyl pyrophosphate synthase by liver X receptors. Steroids. 2003 Sep;68(7-8):685-91.

84. G. M. Reaven. The fourth Musketeer - from Alexandre Dumas to Claude Bernard. Diabetologia (1995) 38:3-13

85. Gao Z, Hwang D, Bataille F, et al. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor κB kinase complex. Journal of Biological Chemistry. 2002;277(50):48115–48121.

86. Garg A. Clinical review#: Lipodystrophies: genetic and acquired body fat disorders. J Clin Endocrinol Metab 2011; 96: 3313-25.

87. Gary L. Case, Lei He, Huanbiao Mo, Charles E. Elson, 1995

88. Genuth S, Alberti KG, y Col ,Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. Diabetes Care 26: 3160–3167, 2003

89. George G. Schweitzer and Brian N. Finck.

90. George M. Carman and Gil-Soo Han. Phosphatidic Acid Phosphatase, a Key Enzyme in the Regulation of Lipid Synthesis, J Biol Chem. Jan 30, 2009; 284(5): 2593–2597.

91. Georgios S Papaetis. 2014. Incretin-based therapies in prediabetes: Current evidence and future perspectives. World J Diabetes. Dec 15, 2014; 5(6): 817–834.

92. Ghaffari MA and Mojab S. 2007. Influence of Flavonols As in vitro on Low Density Lipoprotein Glycation. Iran. Biomed. J. 11 (3): 185-19.

93. Giacomo Ruotolo, and Barbara V. Howard. Dyslipidemia of the Metabolic Syndrome. Current Cardiology Reports 2002, 4:494–500.

94. Giacomo Ruotolo, and Barbara V. Howard. Dyslipidemia of the Metabolic Syndrome. Current Cardiology Reports 2002, 4:494–500.

95. Gibbons GF. 1990. Assembly and secretion of hepatic very-low-density lipoprotein. Biochem. J. (1990) 268, 1-13

96. Gill S[1], Stevenson J, Kristiana I, Brown AJ., Cholesterol-dependent degradation of squalene monooxygenase, a control point in cholesterol synthesis beyondHMG-CoA reductase. Cell Metab. 2011 Mar 2;13(3):260-73.

97. Greenberg AS, Obin MS, Obesity and the role of adipose tissue in inflammation and metabolism. Am J Clin Nutr. 2006 Feb; 83(2):461S-465S.
98. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al.
99. Grundy, H. Bryan Brewer, Jr, James I. Cleeman, Sidney C. Smith, Jr and Claude Definition of Metabolic Syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood, Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related, Rev Esp Salud Pública 2007; 81: 489-505 N.° 5
100. Gusarova V, Seo J, Sullivan ML, Watkins SC, Brodsky JL, Fisher EA. Golgi associated maturation of very low density lipoproteins involves conformational changes in apolipoprotein B, but is not dependent on apolipoprotein E. J Biol Chem 2007; 282: 19453 - 19462.
101. H. Yanagihara, H. Ando, Y. Hayashi, Y. Obi, A. Fujimura. High-fat feeding exerts minimal effects on rhythmic mRNA expression of Clock genes in mouse peripheral tissues. Chronobiol. Int., 23 (2006), pp. 905–914.
102. Han JC, Park SY, Hah BG, Choi GH, Kim YK, Kwon TH, Kim EK, Lachaal M, Jung CY and Lee W. 2003. Cadmium induces impaired glucose tolerance in rat by down-regulating GLUT4 expression in adipocytes. Archives of Biochemistry and Biophysics. 413 (2): 213-220.
103. Harini Sampath, Makoto Miyazaki, Agnieszka, Dobrzyn and James M. Ntambi. Stearoyl-CoA Desaturase-1 Mediates the Pro-lipogenic Effects of Dietary Saturated Fat. J. Biol. Chem. 2007, 282:2483-2493.
104. Harini Sampath, Makoto Miyazaki, Agnieszka, Dobrzyn and James M. Ntambi. Stearoyl-CoA Desaturase-1 Mediates the Pro-lipogenic Effects of Dietary Saturated Fat. J. Biol. Chem. 2007, 282:2483-2493.
105. Harlan Laboratories, 2009.
106. Harlan Laboratories, Sprague Dawley, Long Evans, Wistar.
107. Hauser PS, Narayanaswami V, Ryan RO. Apolipoprotein E: from lipid transport to neurobiology. Prog Lipid Res 2011; 50: 62-74.
108. Havovi Chichger , Regulation of renal brush-border glucose transport in response to metabolic dysregulation, Department of Neuroscience, Physiology & Pharmacology ; University College London, 2011
109. Heinecke JW. The HDL proteome: a marker--and perhaps mediator--of coronary artery disease. J Lipid Res. 2009 Apr;50 Suppl:S167-171
110. Heinemann FS, Ozols J. 2003. Stearoyl-CoA desaturase, a short-lived protein of endoplasmic reticulum with multiple control mechanisms. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 2003 Feb;68(2):123-33.
111. Hetdgaard PE, Olivarius Nde F, Hindsberger C, Henriksen JE: Impaired fasting glycaemia resembles impaired glucose tolerance with

regard to cardiovascular risk factors: population-based, crosssectional study of risk factors for cardiovascular disease. Diabet Med 21:363–370, 2004

112. Horacio Carbajal y Martín R. Salazar, SÍNDROME METABÓLICO: ASPECTOS CLÍNICOS. SU TRATAMIENTO pág 1-2

113. Hotamisligil GS. Inflammatory pathways and insulin action. International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders. 2003;27, supplement 3:S53–S55.

114. Howard BV, Klimes I, Vasquez B, Brady D, Nagulesparan M, Unger RH, The antilipolytic action of insulin in obese subjects with resistance to its glucoregulatory action. J Clin Endocrinol Metab. 1984 Mar; 58(3):544-8

115. Hussain MM, Shi J, Dreizen P. Microsomal triglyceride transfer protein and its role in apoB-lipoprotein assembly. J Lipid Res 2003; 44: 22-32.

116. I S Hwang et al., Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. American Heart Association, 1987

117. Impaired Fasting Glucose and Impaired Glucose Tolerance. Diabetes Care March 2007 vol. 30 no. 3 753-3759

118. In McA RH7777 cells enhances VLDL assembly and secretion under lipid rich conditions. J Lipid Res 2010; 51: 150 -161.

119. Institute for Laboratory Animal Research. 2011. GUIDE FOR THE CARE AND USE OF LABORATORY ANIMALS. Eighth Edition. The National Academies Press. p 84 – 86.

120. J Cosmet Sci. 2002 Jul-Aug;53(4):209-218.

121. J. Arias-Díaz y J. Balibrea, Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2, Nutr Hosp. 2007;22(2):160-68

122. Jenkins CM, Mancuso DJ, Yan W, Sims HF, Gibson B, Gross RW, Identification, cloning, expression, and purification of three novel human calcium-independent phospholipase A2 family members possessing triacylglycerol lipase and acylglycerol transacylase activities. J Biol Chem. 2004 Nov 19; 279(47):48968-75.

123. Jesús Sánchez Zúñiga, Gabriela Gutiérrez Salgado,Fernando Guerrero-Romero** Prevalencia del síndrome metabólico entre adultos mexicanos no diabéticos, usando las definiciones de la OMS, NCEP-ATPIIIa e IDF, Rev.Méd.del hospital gral. Vol. 71, Núm. 1 Ene.-Mar. 2008, pp 11 – 19

124. K. Oishi, K. Miyazaki, K. Kadota, R. Kikuno, T. Nagase, G. Atsumi, N. Ohkura, T. Azama, M. Mesaki, S. Yukimasa, et al. Genome-wide expression analysis of mouse liver reveals CLOCK-regulated circadian output genes. J. Biol. Chem., 278 (2003), pp. 41519–41527.

125. Kadowaki T, Yamauchi T, Adiponectin and adiponectin receptors. Endocr Rev. 2005 May; 26(3):439-51.

126. Karen Schellong, Uta Neumann, Rebecca C. Rancourt, Andreas Plagemann. 2013. Increase of Long-Term 'Diabesity' Risk, Hyperphagia, and Altered Hypothalamic Neuropeptide Expression in Neonatally Overnourished 'Small-For-Gestational-Age' (SGA) Rats. PLOS ONE. Volume 8, Issue 11, e78799.

127. Katie Wynne, Sarah Stanley, Barbara McGowan and Steve Bloom. Appetite control. Journal of Endocrinology. 184, 291–318.

128. Kelley DE and Goodpaster BH. 2001. Skeletal muscle triglyceride. An aspect of regional adiposity and insulin resistance. Diabetes Care. 24: 933-941.

129. Kennedy MA, Venkateswaran A, Tarr PT, Xenarios I, Kudoh J, Shimizu N, Edwards PA (2001) Characterization of the human ABCG1 gene: liver X receptor activates an internal promoter that produces a novel transcript encoding an alternative form of the protein. J Biol Chem 276:39438–39447.

130. Kershaw EE, and Flier JS. 2004. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. J Clin Endocrinol Metab. 89(6):2548-2556.

131. Kim E et al (2008) Expression of apolipoprotein C-IV is regulated by Ku antigen/peroxisome proliferator-activated receptor gamma complex and correlates with liver steatosis. J Hepatol 49 (5):787–798

132. Kim KH. Regulation of mammalian acetyl-coenzyme A carboxylase. Ann Rev. Nutr. 1997;17:77–99.

133. Kingwell et al., HDL-targeted therapies: progress, failures and future. Nature Reviews Drug Discovery 13, 445–464.

134. Klucken J, Buchler C, Orso E, Kaminski WE, Porsch-Ozcurumez M, Liebisch G, Kapinsky M, Diederich W, Drobnik W, Dean M et al (2000) ABCG1 (ABC8), the human homolog of the Drosophila white gene, is a regulator of macrophage cholesterol and phospholipid transport. Proc Natl Acad Sci USA 97:817–822.

135. Kohsaka, J. Bass. A sense of time: how molecular clocks organize metabolism. Trends Endocrinol. Metab., 18 (2007), pp. 4–11

136. Konturek PC, Konturek JW, Cześnikiewicz-Guzik M, Brzozowski T, Sito E, Konturek SJ. 2005. Neuro-hormonal control of food intake: basic mechanisms and clinical implications. Journal of Physiology and Pharmacology. , 56 Suppl 6:5 25

137. Kontush A[1], Lindahl M, Lhomme M, Calabresi L, Chapman MJ, Davidson WS. Structure of HDL: Particle Subclasses and Molecular Components. Handb Exp Pharmacol. 2015;224:3-51.

138. Kontush A[1], Chantepie S, Chapman MJ. Small, dense HDL particles exert potent protection of atherogenic LDL against oxidative stress.

139. Kozlitina J, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH. Dissociation between APOC3 variants, hepatic triglyceride content and insulin resistance. Hepatology 2011; 53: 467-74

140. Krotkiewski M, Sjostrom L, Bjorntorp P, Smith U (1975) Regional adipose tissue cellularity in relation to metabolism in young and middle-aged women. Metab Clin Exp 24:703–710

141. Lagor WR et al (2009) Overexpression of apolipoprotein F reduces HDL cholesterol levels in vivo. Arterioscler Thromb Vasc Biol 29(1):40–46

142. Lake AC, Sun Y, Li JL, Kim JE, Johnson JW, Li D, Revett T, Shih HH, Liu W, Paulsen JE, Gimeno RE, Expression, regulation, and triglyceride hydrolase activity of Adiponutrin family members. J Lipid Res. 2005 Nov; 46(11):2477-87.

143. Lamari & F. Mochel & F. Sedel & J. M. Saudubray. Disorders of phospholipids, sphingolipids and fatty acids biosynthesis: toward a new category of inherited metabolic diseases. J Inherit Metab Dis (2013) 36:411–425

144. Langmuir. 2008 Jul 15;24(14):7400-7407

145. Large V, Reynisdottir S, Langin D, Fredby K, Klannemark M, Holm C, Arner P, Decreased expression and function of adipocyte hormone-sensitive lipase in subcutaneous fat cells of obese subjects. J Lipid Res. 1999 Nov; 40(11):2059-66.

146. Lehner R, Vance DE, Cloning and expression of a cDNA encoding a hepatic microsomal lipase that mobilizes stored triacylglycerol. Biochem J. 1999 Oct 1; 343, Pt 1():1-10.

147. Lehner R, Verger R, Purification and characterization of a porcine liver microsomal triacylglycerol hydrolase. Biochemistry. 1997 Feb 18; 36(7):1861-8.

148. Lelliot C and Vidal Puig AJ. 2004. Lipotoxicity, an imbalance between lipogenesis de novo and fatty acid-oxidation. Int J Obes. 28: S22-S28.

149. Leonard H storlien, et al., Influence of Dietary Fat Composition on Development of Insulin Resistance in Rats: Relationship to Muscle Triglyceride and ω-3 Fatty Acids in Muscle Phospholipid, Garvan Institute of Medical Research, St. Vincent's Hospital Darling-hurst, New South Wales, Australia, NSW 2010,

150. Li Q, Tsujita M, Yokoyama S. Selective down-regulation by protein kinase C inhibitors of apolipoprotein-mediated cellular colesterol efflux in macrophages. Biochemistry. 1997;36:12045–12052
151. Li Q, Yokoyama S. Independent regulation of cholesterol incorporation into free apolipoprotein-mediated cellular lipid efflux in rat vascular smooth muscle cells. J Biol Chem. 1995;270:26216 –26223.
152. Liang Tong1 and H. James Harwood Jr, Acetyl-coenzyme A carboxylases: versatile targets for drug Discovery. J Cell Biochem. 2006 December 15; 99(6): doi:10.1002/jcb.21077.

153. Lin MC, Gordon D, Wetterau JR. Microsomal triglyceride transfer protein (MTP) regulation in HepG2 cells: insulin negatively regulates MTP gene expression. J Lipid Res 1995; 36: 1073-81
154. Lin YC, Ma C, Hsu WC, Lo HF, Yang VC (2007) Molecular interaction between caveolin-1 and ABCA1 on high-density lipoproteinmediated colesterol efflux in aortic endothelial cells. Cardiovasc Res 75:575–583

155. Ling Miao,* Morten Nielsen,†‡ Jenifer Thewalt,§ John H. Ipsen,† Myer Bloom,¶ Martin J. Zuckermann,§‡ and Ole G. Mouritsen. From Lanosterol to Cholesterol: Structural Evolution and Differential Effects on Lipid Bilayers.
156. Lund-Katz S, Laplaud PM, Phillips MC, Chapman MJ: Apolipoprotein B-100 conformation and particle surface charge in human LDL subspecies: implication for LDL receptor interaction. Biochemistry 1998, 37:12867–12874.
157. Lund-Katz S, Phillips MC (2010) High density lipoprotein structure-function and role in reverse cholesterol transport. Subcell Biochem 51:183–227
158. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. Science, 1988; 240: 622-630.

159. Makoto Miyazakia and James M. Ntambia. Role ofstearoyl-coenzyme A desaturase in lipid metabolism. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids 68 (2003) 113–121.
160. Marcinkiewicz A, Gauthier D, Garcia A, Brasaemle DL, The phosphorylation of serine 492 of perilipin a directs lipid droplet fragmentation and dispersion. J Biol Chem. 2006 Apr 28; 281(17):11901-9.

161. María Elizabeth Tejero, Genética de la obesidad, Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. vol.65 no.6 México nov./dic. 2008
162. Mariel E. López, et.al., SINDROME METABOLICO, Revista de Posgrado de l 14 a VIa Cátedra de Medicina. N° 174 , 2007, (pág 1).

163. Martin Beckerman, Cellular Signaling in Health and Disease, biological and medical physics, biomedical engineering, DOI 10.1007/978-0-387-98173-4 2009.
164. Matarese V, Bernlohr DA, Purification of murine adipocyte lipid-binding protein. Characterization as a fatty acid- and retinoic acid-binding protein. J Biol Chem. 1988 Oct 5; 263(28):14544-51.
165. Mead, J.F., Alfin-Dlater, R.B., Howton, D.R. & Popják, G. Lípids: Chemistry, Biochemistry, and Nutrition, Plenum Press, New York. 1986
166. mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes
167. mellitus provisional report of a WHO consultation. Diabet Med. 1998;15(7):539-53.
168. Mensenkamp AR, Havekes LM, Romijn JA, Kuipers F. Hepatic steatosis and very low density lipoprotein secretion: the involvement of apolipoprotein E. J Hepatol 2001; 35: 816 - 822.
169. Michael S. Brown and Joseph L. Goldstein. Multivalent feedback regulation of HMG CoA reductase, a control mechanism coordinating isoprenoid synthesis and cell growth. J. Lipid, Res. 1980. 21: 505-517.
170. Miyashita Y, Shirai K, Itoh Y, et al.: Low lipoprotein lipase mass in preheparin serum of type 2 diabetes mellitus patients and its recovery with insulin therapy. Diabetes Res Clin Pract 2002, 56:181–187.
171. Molina JM, Ciaraldi TP, Brady D and Olefsky JM. 1989. Decreased activation rate of insulin-stimulated glucose transport in adipocytes from obese subjects. Diabetes. 38: 991- 995.
172. Montes de Oca-García E, Loria-Castellanos J, Chavarría-Islas RA, Prevalencia y factores de riesgo para el desarrollo del síndrome metabólico en personal médico en un servicio de urgencias, Rev Cub Med Int Emerg 2008; 7(3):1260-1272
173. Moore HP, Silver RB, Mottillo EP, Bernlohr DA, Granneman JG, Perilipin targets a novel pool of lipid droplets for lipolytic attack by hormone-sensitive lipase. J Biol Chem. 2005 Dec 30; 280(52):43109-20.
174. Narayanaswami V, Ryan RO. Molecular basis of exchangeable apolipoprotein function. Biochim Biophys Acta 2000; 1483: 15-36.
175. Natarajan R, Ghosh S, Grogan W, Catalytic properties of the purified rat hepatic cytosolic cholesteryl ester hydrolase. Biochem Biophys Res Commun. 1996 Aug, 14; 225(2):413-9.
176. Nguyen MTA, Satoh H, Favelyukis S, et al. JNK and tumor necrosis factor-α mediate free fatty acid-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes. Journal of Biological Chemistry. 2005;280(42):35361–35371.

177. Niels Wacher-Rodarte ,Epidemiología del síndrome metabólico, Gac Méd Méx Vol. 145 No. 5, 2009 – 9.
178. Of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus Diabetes Care 20:1183–1197, 1997.
179. Olefsky JM. 1976. Decreased insulin binding to adipocytes and circulating monocytes from obese subjects. J Clin Invest. 57: 1165-1172.

180. Olofsson S-O, Stillemark-Billton P, Asp L. Intracellular assembly of VLDL. Two major steps in separate cell compartments. Trends Cardiovasc. Med. 2000;10:338–345.
181. Onas A, von Eckardstein A, Kezdy KE, Steinmetz A, Assmann G. (1991) Structural and functional properties of reconstituted high density lipoprotein discs prepared with six apolipoprotein A-I variants. J Lipid Res 32:97–106.

182. Oral EA, Chan JL. Rationale for leptin-replacement therapy for severe lipodystrophy. Endocr Pract 2010;
183. Patients with Metabolic Syndrome1

184. Paul Holvoet, Dieuwke De Keyzer, and David R Jacobs, Jr, Oxidized LDL and the metabolic síndrome. Future Lipidol. Dec 2008; 3(6): 637–649.

185. Pilar Matía Martín, Edurne Lecumberri Pascual y Alfonso L. Calle Pascual. NUTRICIÓN Y SÍNDROME METABÓLICO, Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Clínico San Carlos. Madrid. P 442
186. PubMed; PMID: 9686693.
187. Puppione DL et al (2010) Mass spectral analyses of the two major apolipoproteins of great ape high density lipoproteins. Comp Biochem Physiol Part D Genomics Proteomics 4(4):305–309.
188. Quitóz Cortés Ma.del Carmen, Tesis Prevalencia de Síndrome Metabólico en trabajadores de la salud del Hospital Regional Xalapa “Dr. Luis F. Nachon”.
189. R.G.P. Denis, A. Joly-Amado, C. Cansell, J. Castel, S. Martinez, A.S. Delbes, S. Luquet.
190. Ralph A. DeFronzo. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. Med Clin N Am 88 (2004) 787–835
191. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA: The glucose fatty-acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. Lancet 1963; 1: 785-789.

192. Rassart E et al (2000) Apolipoprotein D. Biochim Biophys Acta 1482(1–2):185–198.

193. Raùl Carrillo, Martín deJesús Sánchez, Sandra Elizondo Argueta, SINDROME METABOLICO, P1-5
194. Razani B, Rubin CS, Lisanti MP, Regulation of cAMP-mediated signal transduction via interaction of caveolins with the catalytic subunit of protein kinase A. J Biol Chem. 1999 Sep 10; 274(37):26353-60.
195. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. Diabetes. 1988;37:1595-607. PubMed; PMID: 3056758
196. Reaven GM. The fourth Musketeer: from Alexendre Dumas to Calude Bernard. Diabetologia 1995;38:3–13.

197. Regulation of Lipolysis in Adipocytes, Annu Rev Nutr. 2007; 27: 79–101.

198. Reis P[1], Holmberg K, Miller R, Krägel J, Grigoriev DO, Leser ME, Watzke HJ. Competition between lipases and monoglycerides at interfaces

199. Reynisdottir S, Langin D, Carlström K, Holm C, Rössner S, Arner P, Effects of weight reduction on the regulation of lipolysis in adipocytes of women with upper-body obesity. Clin Sci (Lond). 1995 Oct; 89(4):421-9.

200. Riccardi G[1], Giacco R, Rivellese AA. Dietary fat, insulin sensitivity and the metabolic syndrome. Clin Nutr. 2004 Aug;23(4):447-56.
201. Rinke Stienstra, Caroline Duval, Michael Müller, and Sander Kersten. PPARs, Obesity, and Inflammation. PPAR Res. 2007; 2007: 95974.
202. Robenek MJ, Severs NJ, Schlattmann K, Plenz G, Zimmer KP, Troyer D, Robenek H, Lipids partition caveolin-1 from ER membranes into lipid droplets: updating the model of lipid droplet biogenesis. FASEB J. 2004 May; 18(7):866-8.

203. Robin E. Duncan, Maryam Ahmadian, Kathy Jaworski, Eszter Sarkadi-Nagy, and Hei Sook Sul.
204. Rosalba Rojas-Martínez, MC, Carlos A Aguilar-Salinas, y Colaboradores,Prevalence of obesity and metabolic síndrome components in Mexican adults without type 2 diabetes or hypertension, salud pública de méxico / vol. 54, no. 1, enero-febrero de 2012 p 8
205. Rye KA, Hime NJ, Barter PJ (1997) Evidence that cholesteryl ester transfer protein-mediated reductions in reconstituted high density lipoprotein size involve particle fusion. J Biol Chem 272: 3953–3960

206. S. A. Evans , M. M. Messina , W. D. Knight , A. D. Parsons , J. M. Overton. 2005. Long-Evans and Sprague-Dawley rats exhibit divergent

responses to refeeding after caloric restriction. American Journal of Physiology. Vol. 288no. **6,** R1468-R1476.

207. S. Panda, M.P. Antoch, B.H. Miller, A.I. Su, A.B. Schook, M. Straume, P.G. Schultz, S.A. Kay, J.S. Takahashi, J.B. Hogenesch. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock. Cell, 109 (2002), pp. 307–320
208. S. Zvonic, A.A. Ptitsyn, S.A. Conrad, L.K. Scott, Z.E. Floyd, G. Kilroy, X. Wu, B.C. Goh, R.L. Mynatt, J.M. Gimble. Characterization of peripheral circadian clocks in adipose tissues. Diabetes, 55 (2006), pp. 962–970.
209. Sankaranarayanan S, Oram JF, Asztalos BF, Vaughan AM, LundKatz S, Adorni MP, Phillips MC, Rothblat GH (2009) Effects of acceptor composition and mechanism of ABCG1-mediated celular free cholesterol efflux. J Lipid Res 50(2):275–284

210. Schaefer EJ et al (2010) Marked HDL deficiency and premature coronary heart disease. Curr Opin. Lipidol 21(4):289–297.
211. Shah PK. 2013. Jekyll and Hyde of HDL: a lipoprotein with a split personality. European Heart Journal (2013) 34, 3531–3534
212. Shimano H (2009) ApoAII controversy still in rabbit? Arterioscler Thromb Vasc Biol 29 (12):1984–1985.
213. Shimomura I, Hammer RE, Richardson JA, Ikemoto S, Bashmakov Y, Goldstein JL, et al. Insulin resistance and diabetes mellitus in transgenic mice expressing nuclear SREBP-1c in adipose tissue: model for congenital generalized lipodystrophy. Genes Dev 1998; 12: 3182-94.
214. Shinji Yokoyama. Assembly of High-Density Lipoprotein Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2006;26:20-27.
215. Shulman, GI, Rothman DL, Jue T, Stein P, DeFronzo RA and Shulman RG. 1990. Quantitation of muscle glycogen synthesis in normal subjects and subjects with non-insulin-dependent diabetes by 13C nuclear magnetic resonance spectroscopy. N. Engl. J. Med. 322, 223–228.

216. Soo-Han Bae, Joon No Lee, Barbara U. SYNDROME-RELATED PROTEIN REDUCTASE, A SMITH-LEMLI-OPITZ 7-DEHYDROCHOLESTEROL AND REGULATION OF RAT CHROMOSOMAL LOCALIZATION, DISTRIBUTION, EXPRESSION, MOLECULAR CLONING, TISSUE. J. Biol. Chem. 1999, 274:14624-14631.
217. Souza SC, Muliro KV, Liscum L, Lien P, Yamamoto MT, Schaffer JE, Dallal GE, Wang X, Kraemer FB, Obin M, Greenberg AS, Modulation of hormone-sensitive lipase and protein kinase A-mediated lipolysis by perilipin

A in an adenoviral reconstituted system. J Biol Chem. 2002 Mar 8; 277(10):8267-72.

218. Steinmetz A, Kaffarnik H, Utermann G (1985) Activation of phosphatidylcholine-sterol acyltransferase by human apolipoprotein E isoforms. Eur J Biochem 152:747–751.

219. Sundaram M, Zhong S, Bou Khalil M, Zhou H, Jiang ZG, Zhao Y, et al. Functional analysis of the missense. APOC3 mutation Ala23Thr associated with human hy potriglyceridemia. J Lipid Res 2010; 51: 1524-1534.

220. syndrome. Endocr Pract. 2003;9(3):237-52. PubMed; PMID: 12924350.

221. syndrome: the rationale and the results. Diabetes Voice. 2005;50(3):31-3.

222. Sztalryd C, Xu G, Dorward H, Tansey JT, Contreras JA, Kimmel AR, Londos C, Perilipin A is essential for the translocation of hormone-sensitive lipase during lipolytic activation. J Cell Biol. 2003 Jun 23; 161(6):1093-103

223. Takashi Matsuzaka[1,2]y col.. Crucial role of a long-chain fatty acid elongase, Elovl6, in obesity-induced insulin resistance. Nature Medicine 13, 1193 - 1202 (2007)

224. Tansey JT, Sztalryd C, Hlavin EM, Kimmel AR, Londos C, The central role of perilipin a in lipid metabolism and adipocyte lipolysis. IUBMB Life. 2004 Jul; 56(7):379-85.

225. Targeting Hepatic Glycerolipid Synthesis and Turnover to Treat Fatty Liver Disease. Advances in Hepatology. Volume 2014 (2014), Article ID 498369, 14 pages

226. Tholon L[1], Neliat G, Chesne C, Saboureau D, Perrier E, Branka JE. An in vitro, ex vivo, and in vivo demonstration of the lipolytic effect of slimming liposomes: An unexpected alpha(2)-adrenergic antagonism.

227. Thomas Weber, Thomas J. Bach. Conversion of acetyl-coenzyme A into 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A in radish seedlings. Evidence of a single monomeric protein catalyzing a Fe^{II}/quinone-stimulated double condensation reaction. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism. Volume 1211, Issue 1, 10 February 1994, Pages 85–96

228. Tomohiko Sasase,1 Marcus G. Pezzolesi,2 Norihide Yokoi,3, Takahisa Yamada,4 and Kozo Matsumoto5, Animal Models of Diabetes and Metabolic Disease, Journal of Diabetes Research, Volume 2013, Article ID 281928, 2 pages

229. Trayhurn P, Wood IS, Signalling role of adipose tissue: adipokines and inflammation in obesity. Biochem Soc Trans. 2005 Nov; 33(Pt 5):1078-81.

230. UHAMMAD A. ABDUL-GHANI, y Col. Muscle and Liver Insulin Resistance, Indexes Derived From the Oral Glucose Tolerance Test. Diabetes Care 30:89–94, 2007

231. Unger, R. H., Orci, L. 2001. Diseases of lipid overflow: new perspective on obesity and related disorders. FASEB J. 15, 312–321.

232. Van Staveren WA, Dhuyvetter JH, Bons A, Zeelen M and Hautvast JG. 1985. Food consumption and height/weight status of Dutch preschool children on alternative diets. Journal of the American Dietetic Association. 85(12):1579-1584.

233. van't Hooft FM, Ruotolo G, Boquist S, et al.: Human evidence that the apolipoprotein a-II gene is implicated in visceral fat accumulation and metabolism of triglyceride-rich lipoproteins. Circulation 2001, 104:1223–1228.

234. Villena JA, Roy S, Sarkadi-Nagy E, Kim KH, Sul HS J Biol Chem. Desnutrin, an adipocyte gene encoding a novel patatin domain-containing protein, is induced by fasting and glucocorticoids: ectopic expression of desnutrin increases triglyceride hydrolysis. 2004 Nov 5; 279(45):47066-75.

235. Voros S, Joshi P, Qian Z, Rinehart S, Vazquez-Figueroa JG, Anderson H, Elashoff M, Murrieta L, Karmpaliotis D, Kalynych A, Brown C 3rd, Schaefer E, Asztalos B. Apoprotein B, small-dense LDL and impaired HDL remodeling is associated with larger plaque burden and more noncalcified plaque as assessed by coronary CT angiography and intravascular ultrasound with radiofrequency backscatter: results from the ATLANTA I study. J Am Heart Assoc. 2013 Nov 19;2(6):e000344.

236. Wajchenberg LB. 2000. Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Their Relation to the Metabolic Syndrome. Endocr Rev; 21(6):697-738.

237. Wanders RJ, Romeijn GJ. Differential deficiency of mevalonate kinase and phosphomevalonate kinase in patients with distinct defects in peroxisome biogenesis: evidence for a major role of peroxisomes in cholesterol biosynthesis.

238. Wetterau JR, Aggerbeck LP, Laplaud PM, McLean LR. Structural properties of the microsomal triglyceridetransfer protein complex. Biochemistry 1991; 30: 4406-12.

239. X. Yang, M. Downes, R.T. Yu, A.L. Bookout, W. He, M. Straume, D.J. Mangelsdorf, R.M. Evans. Nuclear receptor expression links the circadian clock to metabolism. Cell, 126 (2006), pp. 801–810.

240. YaWen Chen et al. Heavy metals, islet function and diabetes development ,Islets 1:3, 169-176; November/December 2009; © 2009 Landes Bioscience
241. Yolanda Jiménez-Gómez, Carmen Marín,Pablo Pérez-Marténez, Jadwiga Hartwich, A Low-Fat, High-Complex Carbohydrate Diet Supplementedwith Long-Chain (n-3) Fatty Acids Alters the Postprandial Lipoprotein Profile in
242. Yu YH, Ginsberg HN, Adipocyte signaling and lipid homeostasis: sequelae of insulin-resistant adipose tissue. Circ Res. 2005 May 27; 96(10):1042-52.
243. Zhang Y-L, Hernandez-Ono A, Ko C, Yasunaga K, Huang L-S, Ginsberg HN. Regulation of hepatic apolipoprotein B-lipoprotein assembly and secretion by the availability of fatty acids 1: Differential effects of delivering fatty acids via albumin or remnant-like emulsion particles. J Biol Chem. 2004;279:19362–19374.
244. Zhaorigetu S et al (2008) ApoL1, a BH3-only lipid-binding protein, induces autophagic cell death. Autophagy 4(8):1079–1082
245. Zhenghui Gordon Jiang, Simon C. Robson, Zemin Yao. Lipoprotein metabolism in nonalcoholic fatty liver disease. The Journal of Biomedical Research, 2013, 27(1):1-13.
246. Zimmermann R, Haemmerle G, Wagner EM, Strauss JG, Kratky D, Zechner R , Decreased fatty acid esterification compensates for the reduced lipolytic activity in hormone-sensitive lipase-deficient white adipose tissue. J Lipid Res. 2003 Nov; 44(11):2089-2099.
247. Zimmet P, Alberti G, Shaw J. A new IDF worldwide definition of the metabolic.

ANEXO 1.- ÁCIDOS GRASOS LIBRES

Reactivos

- Cloroformo
- Reactivo de cobre: Consiste en $Cu(N0_3)_2 \bullet 3H_20$, 40,0 g/litro; trietanolamina 99%, 120,0 ml/litro (135,0 g/litro). 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 de ácido oxálico-bis (cyclohexylidenehydrazide), 0.40 g/litro de isopropanol. Disolver el cuprizone en 10 ml de cloroformo y se diluye con isopropanol para 1 litro. esta solución es estable durante al menos tres meses a temperatura ambiente.
- Reactivo amoníaco. 100 ml de una solución al 58% de NH_4OH (concentrado) se diluye hasta 1 litro con agua destilada agua.

Procedimiento

1. Añadir 50 μL de suero en un tubo de ensayo
2. A un tubo semejante, se añaden 50 μl de estándar de ácido oleico.
3. Para otro tubo de ensayo añadir 100 μl de agua, este será el blanco de reactivo.
4. Para todos los tubos de añadir 150 μl 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 ensaye cuidando el no extraer la fase acuosa de color azul.
8. De cada tubo, pipetear 500 μl de extracto de cloroformo y colocar en un nuevo tubo, la evaporación debe mantenerse a un mínimo.
9. A cada tubo, añadir 450 μl de reactivo cuprizona, tapar y agitar suavemente.
10. A cada tubo, añadir 50 μde solución de amoniaco, tapar y agite suavemente.
11. Lea la absorbancia a 620 nm (frente a un blanco a cero de absorbancia) 10 mm después de agitar con la solución de amoníaco.

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

Cálculo

El ácido graso libre (FFA) contenido se calcula:

Concentración en mg/dl = (Abs muestra / Abs estándar) x 8.6 mg/dl

ANEXO 2. COLESTEROL TOTAL

FUNDAMENTO

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

Ésteres colesterol + H_2O $\xrightarrow{CHE}$ Colesterol + Ácidos grasos

Colesterol + O_2 $\xrightarrow{CHOD}$ 4- Colestenona + H_2O_2

2 H_2O_2 + Fenol + 4-Aminofenazona $\xrightarrow{POD}$ Quinomina + 4 H_2O

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

MATERIAL ADICIONAL

- Espectofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm (500 – 550).
- Cubetas de 1.0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma. Estabilidad de la muestra 7 días a 2 – 8 C° y varios meses si se mantiene la muestra congelada (-20 °C).

PROCEDIMIENTO

1.- Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ……. 505 nm (500 -550)

Cubeta: …. 1 cm paso de luz

Temperatura: … 37 °C/15 -25°C

2.- Ajustar el espectofotómetro a cero frente a agua destilada.

3.- Pipetear en una cubeta:

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
RT (mL)	1.0	1.0	1.0
PATRÓN (µL)		1.0	
MUESTRA (µL)			1.0

4.- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C ó 10 min. a temperatura ambiente.

5.- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 60 minutos.

CÁLCULOS

$\frac{(A)\text{Muestra}}{(B)\text{ Patrón}}$ x 200 (Conc.Patrón) = mg/dL de colesterol en la muestra

Factor de conversión: mg/dL x 0.0258= mmol/L.

VALORES REFERENCIA
Evaluación del riesgo
Menos de 200 mg/dL Normal
200 -239 mg/dL Moderado
240 o más Alto

INTERFERENCIAS
No se han observado interferencias de hemoglobina hasta 5 g/L y bilirrubina hasta 10 mg/dL.
Se han descrito varias drogas y otras substancias que interfieren en la determinación del Colesterol.

ANEXO 3. COLESTEROL HDL

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 su centrifugación, el sobrenadante claro conteniendo las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se emplea para determinar el colesterol HDL.

Colesterol esterificado + H_2O $\xrightarrow{\text{Col esterasa}}$ Colesterol + Ácidos grasos

Colesterol + ½O_2 H_2O $\xrightarrow{\text{Col.oxidasa}}$ Colestenona + H_2O_2

2 H_2O_2 + 4-Aminoantipirina + Fenol $\xrightarrow{\text{Peroxidasa}}$ Quinonaimina + 4 H_2O

MATERIAL ADICIONAL

- Espectofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm (500-550).
- Cubetas de 1.0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma. No utilizar muestras hemolizadas. Separar el suero de los hematíes lo antes posible. Estabilidad de la muestra 7 días a 2 – 8 C°.

PROCEDIMIENTO

1.- Dosificar en tubos de centrífuga:

R (µL)	100
Muestra (mL)	1.0

2.- Mezclar y dejar reposar 10 min. a temperatura ambiente.

3.- Centrifugar 20 min.a 4000 r.p.m. ó 2 min. a 12000 r.p.m.

4.- Recoger el sobrenadante y determinar el HDL Colesterol.

Colorimetría

5.- Atemperar el reactivo (kit de Colesterol) a temperatura ambiente.

6.- Pipetear en tubos de ensayo:

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
PATRÓN COL		100	

HDL(µL)			
SOBRENADANTE MUESTRA (µL)			100
REACTIVO KIT COLESTEROL (mL)	1.0	1.0	1.0

7.- Agitar bien e incubar los tubos durante 30 min. a temperatura ambiente (16-25°C) o durante 10 min. a 37°C.

6.- Mezclar e incubar 5 min. a 37°C

7.- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra a 500 nm frente al Blanco de reactivo. El color es estable durante al menos 30 minutos.

CÁLCULOS

$\frac{(A)\text{Muestra}}{(B)\text{ Calibrador}}$ x (Conc.Patrón) = mg/dL de HDL colesterol en la muestra

Factor de conversión:
A505 nm Muestra x 320 = mg/dL HDLc en la muestra.
A546 nm Muestra x 475 = mg/dL HDLc en la muestra.

Cálculo LDL-colesterol
Se calcula mediante la fórmula de Friedewald

$$\text{LDL col} = \text{Colesterol total} - \frac{\text{Triglicéridos}}{5} \quad \text{HDL colesterol}$$

VALORES REFERENCIA

	HOMBRES	MUJERES
RIESGO MENOR	Mayor a 55 mg/dL	Mayor a 65 mg/dL
RIESGO NORMAL	35-55	45-65
RIESGO ELEVADO	Menor a 35 mg/dL	Menor a 45 mg/dL

INTERFERENCIAS
No se han observado interferencias con triglicéridos hasta 4 g/L.
Se han descrito varias drogas y otras susbtancias que interfieren en la determinación del Colesterol HDL.

ANEXO 4. COLESTEROL LDL

FUNDAMENTO

Determinación directa del LDLc (colesterol de lipoproteínas de baja densidad) sin necesidad de pre-tratamiento o centrifugado de la muestra.

La determinación se realiza en dos pasos:

1.- Eliminación de lipoproteínas no-LDL

Ésteres colesterol + H_2O $\xrightarrow{CHE}$ Colesterol + Ácidos grasos

Colesterol + O_2 $\xrightarrow{CHOD}$ 4- Colestenona + H_2O_2

2 H_2O_2 $\xrightarrow{Catalasa}$ 4 H_2O + O_2

2.- Medición de LDLc

Ésteres colesterol + H_2O $\xrightarrow{CHE}$ Colesterol + Ácidos grasos

Colesterol + O_2 $\xrightarrow{CHOD}$ 4- Colestenona + H_2O_2

2 H_2O_2 + TOOS + 4-AA $\xrightarrow{POD}$ Quinonimina + 4 H_2O

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

MATERIAL ADICIONAL

- Espectofotómetro o analizador para lecturas a 600 nm.
- Cubetas de 1.0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero. Procesar la muestra sin demora. Evitar la congelación y descongelación repetida de la muestra. Estabilidad de la muestra 7 días a 2 – 8 C°.

PROCEDIMIENTO

1.- Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ……. 600 (590 -700)nm

Cubeta: …. 1 cm paso de luz

Temperatura: … 37 °C.

2.- Ajustar el espectofotómetro a cero frente a agua destilada.

3.- Pipetear en tubos de ensayo:

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
R1 (µL)	300	300	300
PATRÓN (µL)		4	
MUESTRA (µL)			4

4.- Mezclar e incubar 5 min, a 37°C.

5.- Añadir:

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
R2 (mL)	100	100	100

6.- Mezclar e incubar 5 min. a 37°C

7.- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo.

CÁLCULOS

$\frac{(A)\text{Muestra}}{(B)\text{ Patrón}}$ x (Conc.Patrón) = mg/dL de LDL colesterol en la muestra

Factor de conversión: mg/dL x 0.02586= mmol/L.
1g/L = 100 mg/dL

VALORES REFERENCIA
Menos de 100 mg/dL Óptimo
100 -129 mg/dL Bueno
130-160 mg/dL Moderadamente alto
Mayor a 160 mg/dL Alto

INTERFERENCIAS
No interfieren concentraciones de ácido ascórbico hasta 50 mg/dL, hemoglobina hasta 500 mg/dL, bilirrubina hasta 30 mg/dL, factores reumatoides hasta 1000 Ul/mL y muestras lipémicas hasta 1200 mg/dL.
Muestras lipémicas con concentración de triglicéridos mayor a 1200 mg/dL, se deben diluir 1/10 con ClNa 9 g/L y multiplicar el resultado final por 10.

ANEXO 5. FOSFOLÍPIDOS

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Los fosfolípidos son utilizados por la fosfolipasa D y la colina liberada es secuencialmente oxidada por la colina oxidasa (CHO) a betaína, con la simultánea producción de peróxido de hidrógeno. En presencia de peroxidasa (POD) el peróxido de hidrógeno acopla oxidativamente a la 4-aminofenazona (4-AF) y al diclofenol formando una quinamina coloreada:

$$\text{Fosfolípidos} + H_2O \xrightarrow{\text{Fosfolipasa D}} \text{Colina} + 2H_2O_2$$

$$\text{Colina} + 2\,O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{ColinaOxidasa}} \text{Betaína} + 4\,H_2O$$

$$2H_2O_2 + \text{4-AF} + \text{Diclorofenol} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinona} + 4H_2O$$

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Reactivo de trabajo (RT): Reconstituir (→) el contenido de un vial de R2 Enzimas en 10 mL de R1 tampón.

Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

Estabilidad del reactivo reconstituido: 3 meses en nevera (2-8°C) o 7 días a 15-25°C.

EQUIPO ADICIONAL

- Analizador, espectofotómetro para lecturas a 505 nm.

MUESTRAS

Suero, plasma.

PROCEDIMIENTO

1.- Atemperar los Reactivos a temperatura ambiente

2.- Pipetear en tubos de ensayo:

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
Reactivo (A)	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
PATRÓN (S)		10 µL	
MUESTRA (µL)			10 µL

3.- Agitar bien e incubar los tubos durante 10 minutos a temperatura ambiente (16 -25°C) o durante 5 minutos a 37 °C.

5.- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo a 505 nm. El color es estable como mínimo 2 horas.

CÁLCULOS

$$\frac{(A)\ \text{Muestra}}{(B)\ \text{Patrón}} \times 300(\text{Conc.Patrón}) = \text{mg/dL}$$

VALORES REFERENCIA

La concentración normal de fosfolípidos en suero es similar a ls valores del colesterol total. La relación entre colesterol y fosfolípidos es 1/1.

Cualquier cambio en los valores del colesterol corresponde un cambio en lo0s valores de los fosfolípidos en la misma dirección.

Adulto: 125-275 mg/dL.

ANEXO 6. LÍPIDOS TOTALES

FUNDAMENTO

Los lípidos insaturados reaccionan con el ácido sulfúrico en caliente con formación de iones carbonio.

En una segunda etapa, éstos, en presencia de fosfovainillina dan una coloración rosada. La intensidad de color es proporcional a la concentración de lípidos totales presente en la muestra ensayada.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectofotómetro o analizador para lecturas a 520 nm.
- Cubetas de 1.0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma. Estabilidad de la muestra 24 horas a temperatura ambiente (15 – 25°C) ó 3 días a 2 – 8 °C.

PROCEDIMIENTO

1.- Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ……. 520 (490 -550)nm

Cubeta: …. 1 cm paso de luz

Temperatura: … 37 °C.

2.- Se ajustó el espectofotómetro a cero frente a agua destilada.

3.- Se pipeteó en una cubeta:

Método (Sulfo-fosfo vainillina. Colorimétrico)

	BLANCO	PATRON	MUESTRA
SO_4H_2 (mL)	2.5	2.5 µL	2.5
Patrón (uL)		100	
Muestra (uL)			100

4.- Se mezcló energéticamente con ayuda de un agitador mecánico.

5.- Se incubó 10 min en un baño de agua hirviendo (100ºC).
6.- Se dejó enfriar en baño de agua frio y se dosificó en cubetas.

	BLANCO	PATRON	MUESTRA
Fosfovainillina (mL)	1.0	1.0	1.0
Hidrolizado muestra (uL)			50
Hidrolizado calibrador (uL)		50	

7.- Se mezcló energéticamente con ayuda de un agitador mecánico.
8.- Se incubó 15 min. a 37ºC.
9.- Se leyó la absorbancia (A) del patrón y de la muestra a 520 nm frente al blanco. El color es estable como mínimo 1 hora.

CÁLCULOS

$$\frac{\text{A muestra}}{\text{A patrón}} \times 750 \text{ (Conc, del calibrador)} = \text{mg/Dl de lípidos tot de la muestra}$$

VALORES DE REFERENCIA

Suero o plasma:

450 – 900 mg/dL

ANEXO 7. TRIGLICÉRIDOS

FUNDAMENTO

Los triglicéridos incubados con lipoproteinlipasa (LPL) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) y ATP en presencia de glicerol quinasa (GK) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosina-5-difosfato (ADP) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) por GPO.

Al final, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa (POD) dando una coloración roja:

$$\text{Triglicéridos} + H_2O \xrightarrow{\text{LPL}} \text{Glicerol} + \text{Ácidos grasos libres}$$

$$\text{Glicerol} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{Glicerol quinasa}} \text{G3P} + \text{ADP}$$

$$\text{G3P} + O_2 \xrightarrow{\text{GPO}} \text{DAP} + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + \text{4-AF} + \text{p-Clorofenol} \xrightarrow{\text{POD}} \text{Quinona} + H_2O$$

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectofotómetro o analizador para lecturas a 505 nm (500 – 550).
- Cubetas de 1.0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero o plasma heparinizado o EDTA.. Estabilidad de la muestra 5 días a 2 – 8 C°.

PROCEDIMIENTO

1.- Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ……. 505 nm (490 -550)

Cubeta: …. 1 cm paso de luz

Temperatura: … 37 °C/15 -25°C

2.- Ajustar el espectofotrómetro a cero frente a agua destilada.

3.- Pipetear en una cubeta:

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
RT (mL)	1.0	1.0	1.0
PATRÓN (µL)		1.0	
MUESTRA (µL)			1.0

4.- Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C ó 10 min. a temperatura ambiente.

5.- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

CÁLCULOS

$\frac{(A)\text{Muestra}}{(B)\text{ Patrón}}$ x 200 (Conc.Patrón) = mg/dL de colesterol en la muestra

Factor de conversión: mg/dL x 0.0113= mmol/L.

VALORES REFERENCIA
Hombres: 40 – 160 mg/dL
Mujeres: 35 – 165 mg/dL

INTERFERENCIAS
No se han observado interferencias de hemoglobina hasta 5 g/L y bilirrubina hasta 10 mg/dL.
Se han descrito varias drogas y otras substancias que interfieren en la determinación del Colesterol.

ANEXO 8. FRUCTOSAMINA

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Las proteínas glicadas séricas reducen a las sales de tetrazolio (NBT) en medio alcalino. La velocidad de formación del formazán a una temperatura determinada es proporcional a la concentración sérica de proteínas glicadas.

MATERIAL ADICIONAL

- Espectofotómetro o analizador para lecturas a 530 nm ± 20 nm.
- Cubetas de 1.0 cm de paso de luz.
- Equipamiento habitual de laboratorio.

MUESTRAS

Suero sin hemólisis. Estabilidad de la fructosamina es de 7 días a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

1.- Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: …….530 nm ± 20 nm

Cubeta: …. 1 cm paso de luz

Temperatura: … 15 -25°C

2.- Ajustar el espectofotómetro a cero frente a agua destilada.

3.- Pipetear en una *cubeta:*

	PATRÓN	*MUESTRA*
RT (mL)	1.0	1.0
PATRÓN (µL)	50	---
MUESTRA (µL)	---	50

4.- Mezclar e incubar inmediatamente a 37 °C. Poner en marca el cronómetro.

5.- Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, exactamente a los 10 minutos (A_1), y a los 15 minutos (A_2) de incubación, frente a agua destilada.

CÁLCULOS

$$\frac{(A_2 - A_1)\text{Muestra}}{(A_2 - A_1)\text{ Patrón}} \times (\text{Conc.Patrón}) = \text{mmol/L de fructosamina en la muestra}$$

VALORES REFERENCIA

Suero: 1.9 – 2.9 mmol/L (DMF) 205-285 µmol/L (albúmina glicada). Las concentraciones son ligeramente inferiores (5%) en niños. Los valores de referencia de la fructoamina dependen de la concentración de albúmina. Los valores en el plasma son inferiores a los hallados en el suero.

ANEXO 9. GLUCOSA **GLUCOSA OXIDASA/PEROXIDASA**

FUNDAMENTO DEL MÉTODO:

La glucosa presente en la muestra origina, según las reacciones acopladas descritas a continuación, un complejo que se coloreado que se cuantifica por espectofotometría.

$$\text{Glucosa} + \tfrac{1}{2}\,O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{Glucosa oxidasa}} \text{glucónico} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2\ \text{4-aminoantipirina} + \text{Fenol} \xrightarrow{\text{peroxidasa}} \text{Quinonaimina} + 4\,H_2O$$

MUESTRAS

Suero o plasma recogidos mediante procedimientos estándar. El suero o plasma deben separarse de los elementos celulares lo antes posible para evitar la glucólisis.

PROCEDIMIENTO

1.- Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: …… 505 nm (490 – 550)
2.- Ajustar el espectofotómetro a cero frente a agua destilada.
3.- Pipetear en una cubeta:

	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
RT (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón (µL)	----	10	----
Muestra (µL)	----	----	10

4.- Mezclar e incubar 10 min. a 37°C ó 30 min. a temperatura ambiente (15 – 25 °C).
5.- Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 min.

CÁLCULOS

(A) Muestra x 100 (Conc.Patrón) = mg/dL de glucosa en la muestra

Factor de conversión: mg/dL x 0.0555= mmol/L.

VALORES DE REFERENCIA

Suero y plasma

Niños, adultos	70 – 105 mg/dL = 3.89 – 5.83 mmol/L