

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



POSGRADO EN CIENCIAS BIOLOGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

OBESIDAD, ESTEATOSIS HEPATICA Y PARAMETROS
SANGUINEOS EN EL RATON DE LOS VOLCANES (*Neotomodon
alstoni alstoni*) MANTENIDO EN CAUTIVERIO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLOGICAS
(BIOLOGIA EXPERIMENTAL)

P R E S E N T A

M.V.Z. AGUSTIN CARMONA CASTRO

DIRECTOR DE TESIS: DR. RENE DE JESUS CARDENAS VAZQUEZ

MEXICO, D. F.,

FEBRERO, 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

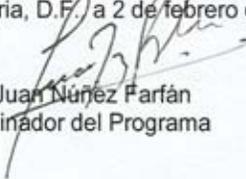
Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 12 de septiembre del 2005, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Experimental) del alumno **CARMONA CASTRO AGUSTÍN**, con número de cuenta **81038279** con la tesis titulada: **"OBESIDAD, ESTEATOSIS HEPÁTICA Y PARÁMETROS SANGUÍNEOS EN EL RATÓN DE LOS VOLCANES (*Neotomodon alstoni alstoni*) MANTENIDO EN CAUTIVERIO"**, bajo la dirección del Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez.

Presidente:	Dra. Nimbe Torres y Torres
Vocal:	Dr. Adolfo Andrade Cetto
Secretario:	Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez
Suplente:	Dra. Juana Alba Luis Díaz
Suplente:	Dr. José Antonio Morales González

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, D.F. a 2 de febrero del 2006



Dr. Juan Núñez Farfán
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

AGRADECIMIENTOS

A Juanita Alba, porque me permitiste compartir contigo once años de tu vida y pese ha nuestro distanciamiento siempre serás para mí una mujer extraordinaria.

Al Dr. René Cárdenas Vázquez, director de tesis, compañero de trabajo y amigo incondicional, por brindarme la oportunidad de seguir enriqueciendo mi formación profesional y abrir nuevas perspectivas en mi trabajo académico.

A Geny Ocampo, mi mejor amiga, porque ante los tropiezos y momentos difíciles de mi vida nunca has dejado de apoyarme.

A mi amigo Guillermo Espinosa, por invertir parte de su tiempo en el procesamiento del material biológico, y ayudarme siempre que lo necesito.

A mis amigos entrañables Teresita Arenas y Carlos Mújica; y en especial a mis compañeros del Bioterio de la Facultad de Ciencias: Isabel Antúnez, Dora María Salazar y Mario Soriano por su colaboración y el apoyo que me han ofrecido durante todos los meses que he invertido en elaborar este proyecto.

Al Laboratorio de Endocrinología Molecular del Hospital Juárez de México, en particular a la Dra. María Guadalupe Ortiz López por la ayuda proporcionada en el análisis bioquímico de las muestras biológicas.

A los profesores de mi comité tutorial por enriquecer con sus comentarios el contenido de esta investigación, así como por el tiempo invertido en la revisión de este texto y brindarme la oportunidad de profundizar en un tema tan apasionante.

Finalmente, quiero dedicar esta tesis a mi Padre† por haberme demostrado su apego a la vida hasta el último momento de su existencia y, a mi querida Madre, por la gran fortaleza que siempre ha tenido ante las adversidades.

INDICE

APARTADOS	PAGINAS
AGRADECIMIENTOS.....	i
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCION.....	2
III. ANTECEDENTES.....	3
BIOLOGIA DEL RATON DE LOS VOLCANES.....	3
a) Hábitos alimenticios en condiciones naturales.....	4
b) Desarrollo de lipomas en el ratón de los volcanes y su patogenia.....	5
ESTEATOSIS HEPATICA.....	7
FISIOPATOLOGIA DE LA OBESIDAD.....	9
SINDROME METABOLICO.....	13
a) Características.....	13
b) Etiopatogenia del SM.....	14
c) Relación del SM con la obesidad y la dislipidemia.....	15
d) Relación del SM con la resistencia a la insulina.....	19
EFFECTO DEL EJERCICIO, LA DIETA Y LA METFORMINA EN EL SM.....	21
IV. HIPOTESIS.....	22
V. OBJETIVOS.....	23
VI. MATERIAL Y METODOS.....	24
VII. RESULTADOS.....	31
VIII. DISCUSION.....	51
IX. CONCLUSIONES.....	67
X. LITERATURA CITADA.....	68

I. RESUMEN

Actualmente, se conoce que la disregulación del eje adipo-insular puede desencadenar diversas alteraciones bioquímicas estrechamente vinculadas, las cuales pueden conllevar entre otros trastornos al desarrollo de obesidad, esteatosis hepática (EH), síndrome metabólico (SM) y diabetes mellitus insulino no dependiente (DMIND). Con el propósito de dilucidar el papel de la obesidad y la EH en la etiología del SM, desde hace algunos años se ha propuesto el uso del ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*), un roedor endémico de nuestro país, como un modelo biológico para el estudio de este tema. Varios estudios han mostrado que los ratones adultos de esta especie cuando se mantienen en cautiverio son susceptibles al desarrollo de lipomatosis, alteración caracterizada por un abundante depósito regional de tejido adiposo subcutáneo. Los ratones con esta anomalía además de que presentan un fenotipo obeso, también desarrollan EH microvacuolar periportal, así como una concentración sérica de triglicéridos más elevada que la de sus hijos adultos nacidos en cautiverio, sin este fenotipo y los ratones silvestres (SILV). Aunque se desconocen los mecanismos que ocasionan estos trastornos en los ratones OLEH (obesos, con lipomas y esteatosis hepática), se ha señalado que podrían deberse a la asociación de diversos factores genético-ambientales. En estudios clínicos, estas anomalías metabólicas también han sido descritas dentro del grupo de alteraciones encontradas en el SM, un trastorno comúnmente observado en animales y humanos durante el estado previo al desarrollo de la DMIND. El presente estudio tuvo el objetivo de evaluar algunos parámetros bioquímicos en el ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*) OLEH, con la finalidad de establecer si este roedor puede ser un modelo adecuado para el estudio del SM. Los resultados mostraron que los ratones OLEH al igual que sus controles no exhibieron hiperglucemia en condiciones basales. Sin embargo, en comparación con los ratones SILV presentaron intolerancia a la glucosa y su concentración plasmática de insulina se incrementó significativamente durante los picos de hiperglucemia postprandial. Además, tuvieron un incremento de la concentración plasmática de triacilgliceroles (TG), aunque no significativo. La concentración plasmática de colesterol total (COT) fue significativamente más baja en las hembras OLEH con respecto de la observada en los controles. En los ratones OLEH de ambos sexos el peso corporal, el índice Lee y el consumo de alimento fueron superiores a los observados en los ratones controles. El seguimiento por 14 meses de ratones SILV introducidos al cautiverio permitió establecer que el desarrollo de los lipomas en estos animales ocurrió entre los 4 y 6 meses después de la captura con una frecuencia del 60%. Los hallazgos observados tanto en los machos como en las hembras silvestres que presentaron lipomas (SILV/L) sugieren la existencia de una relación entre el incremento de la adipogénesis de estos tumores y la mayor severidad de la EH que exhibieron ambos sexos de ratones al final de los 14 meses de seguimiento. Tanto los machos como las hembras SILV/L no exhibieron a lo largo de los 14 meses de seguimiento ninguna alteración de su glucemia basal, lo cual es consistente con los resultados observados en la primera etapa de este estudio en los ratones OLEH. El deterioro del metabolismo lipídico que podría conllevar a la presencia de hipertrigliceridemia en los ratones SILV/L ocurre de manera gradual, siendo más evidente entre los 9 y 11 meses, es decir en el mismo período en el que se incrementa la adipogénesis en estos tumores y, por lo tanto, cuando muestran un mayor crecimiento. En cuanto a la concentración plasmática de COT, los MSILV/L sólo exhibieron una elevación significativa de este parámetro entre los 13-14 meses, en tanto que las HSILV/L mantuvieron esta tendencia de los 7 a los 14 meses de estudio. Al cabo de 6 meses de seguimiento, las transaminasas en ambos sexos de ratones SILV/L no mostraron diferencias significativas con respecto de los valores observados en sus controles. Entre los 9-10 meses del seguimiento, los ratones SILV/L de ambos sexos exhibieron un aumento de su peso corporal y del índice Lee, el cual fue mantenido hasta los 14 meses en que finalizó este estudio. Por otra parte, en los ratones OLEH la restricción de la dieta redujo la severidad del estado hiperglucémico y la hiperinsulinemia postprandiales, así como la hipertrigliceridemia, el sobrepeso y la obesidad. Además, tanto la adipogénesis de los lipomas como la EH también fueron revertidas en algunos ratones después de restringirles la ingesta de la dieta. El tratamiento de los ratones OLEH con clorhidrato de metformina a una dosis terapéutica disminuyó significativamente la severidad de la hiperglucemia y la hiperinsulinemia postprandiales, lo cual sugiere que estos roedores son insulino resistentes. En conclusión, los datos obtenidos en esta investigación indican que el ratón de los volcanes puede ser un modelo adecuado para el estudio de la participación de la obesidad y la EH en la etiología del SM. Adicionalmente, debido a que el ratón OLEH muestra varios de los trastornos observados en el SM humano es muy probable que éste pueda ser un modelo para el estudio de los diversos componentes del SM. Además, también podría usarse en estudios encaminados al entendimiento del papel patogénico del síndrome metabólico y de las anomalías que lo integran en el desarrollo de la DMIND.

II. INTRODUCCION

Zelman (1) describió por primera vez el desarrollo de esteatosis hepática (EH) en humanos obesos, posteriormente, Adler y Schaffner (2) describieron las alteraciones anatomopatológicas que se pueden producir en el paciente obeso. A partir de ambos estudios se cuestionó si la presencia de EH en individuos que exhiben el fenotipo obeso pudiera deberse a la obesidad *per se* o si en su patogenia están implicados otros trastornos que coexisten con ella, e. g., el desarrollo de resistencia a la insulina (RI) o la presencia de un estado temprano de diabetes mellitus insulino no dependiente (DMIND). Una evidencia clínica que sustenta este punto de vista es que en el 80% de los individuos diabéticos la EH constituye la hepatopatía más frecuente (3). Investigaciones recientes han confirmado la existencia de un eje adipo-insular, el cual es regulado por la insulina producida por las células β del páncreas y un grupo de proteínas bioactivas sintetizadas por el tejido adiposo, colectivamente denominadas adipocitocinas (4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13), entre las que se incluyen la leptina, el inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1 (PAI-1), la adiposina, la resistina, la adiponectina y las citocinas proinflamatorias, como son el factor de necrosis tumoral (TNF- α) y la interleucina 6 (IL-6). Los estudios sobre la actividad biológica de estas proteínas han demostrado que el tejido adiposo no es simplemente un depósito inerte de almacenamiento de lípidos sino que también constituye un sitio importante en la integración de señales endócrinas, metabólicas e inflamatorias para el control de la homeostasis energética. Adicionalmente, a partir de los hallazgos obtenidos en estos estudios se ha propuesto que diversas alteraciones en el eje adipoinsular pueden producir gran variedad de disturbios bioquímicos, los cuales aparentemente parecen estar relacionados con el desarrollo de obesidad, esteatosis hepática (EH), intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia y RI. Actualmente, se sabe que estas alteraciones son componentes importantes del SM y que también pueden ser factores determinantes en el origen de la DMIND (14, 15, 16). El papel del eje adipoinsular en la regulación del metabolismo energético se ha dilucidado en gran parte mediante el empleo de modelos animales obesos (e.g., la rata Zucker *fa/fa*), algunas cepas de roedores desarrolladas para el estudio de la DMIND y ratones con mutaciones en los genes que codifican las proteínas de señalización del tejido adiposo. Estos estudios han permitido establecer que algunas formas de obesidad, al menos en modelos animales, pueden ser inducidas tanto por la síntesis deficiente de adipocitocinas como por la resistencia a la acción de estas proteínas (4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32). En otros estudios se ha propuesto que las concentraciones plasmáticas de estas proteínas suelen incrementarse en los animales y

humanos obesos, y que los niveles plasmáticos altos de ellas pueden alterar la acción de dichas proteínas sobre sus receptores en el hipotálamo dañando las señales de transducción que intervienen en la regulación de la saciedad y del gasto energético (17, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 30, 25) Hasta hoy, todos los resultados derivados de estas investigaciones coinciden en señalar la existencia de una relación entre los mecanismos reguladores del metabolismo de las grasas y la producción de insulina, sin embargo, aún existe controversia sobre el origen y el impacto de las alteraciones bioquímicas observadas durante la desregulación del eje adipo-insular en la etiología del SM, así como sobre la contribución de esta enfermedad en la manifestación de otras anomalías metabólicas concomitantes a su desarrollo. Con la finalidad de contribuir al conocimiento del papel de la obesidad y la EH en el desarrollo del SM se ha propuesto el uso del ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*), como un modelo biológico en el estudio de este tema. Las evidencias experimentales observadas en este roedor han demostrado que el 9.9 % de los ratones adultos de esta especie cuando se mantienen en cautiverio son susceptibles al desarrollo de lipomatosis, una condición caracterizada por el depósito regional de grandes masas de tejido adiposo subcutáneo o lipomas. Los ratones que exhiben esta condición expresan el fenotipo obeso y únicamente la nuca, la cara y la porción distal de los miembros anteriores y posteriores carecen de depósitos masivos de grasa (33). Diego (34) reportó que estos ratones también presentan EH microvacuolar periportal y la concentración sérica de triglicéridos (TG) es más elevada en ellos que en sus camadas adultas sin el fenotipo obeso nacidas en cautiverio y los ratones de tipo silvestre de la especie. Aunque en el ratón OLEH (obeso, con lipomas y esteatosis hepática) los mecanismos responsables de estos trastornos no se conocen, Carmona (33) y Diego (34) han sugerido que la asociación de diversos factores genético-ambientales podría tener un papel importante en desarrollo de este síndrome metabólico. En este contexto, el presente estudio tuvo el objetivo general de evaluar algunos parámetros bioquímicos en el ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*) OLEH, con la finalidad de establecer sí este roedor puede ser un modelo en el estudio de la participación del eje adipo-insular en la etiología del SM (Fig. 1).

III. ANTECEDENTES

BIOLOGIA DEL RATON DE LOS VOLCANES

El ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*, Merriam, 1918) es una especie endémica de la fauna mexicana, que pertenece al orden Rodentia y a la familia

Cricetidae. Se distinguen tres subespecies dentro del género *Neotomodon*: *N. a. alstoni* para las poblaciones del Oeste del Río Balsas y la Sierra del Volcán Ajusco, *N. a. perotensis* para los ejemplares de Perote y *N. a. orizabae* para los del Pico de Orizaba (35). Este roedor tiene una distribución restringida al Eje Neovolcánico Transversal; vive en las partes altas de las montañas, por encima de los 2500 m s n m y su hábitat está constituido por bosque mixto de pino-oyamel en las partes altas y pino-encino en las partes bajas. Asociada a este tipo de vegetación existe una variedad de gramíneas, llamadas comúnmente zacatón, entre las que se encuentran los géneros *Stipa*, *Muhlenbergia* y *Festuca* (35, 36).

Este roedor tanto en condiciones naturales como en el cautiverio se reproduce todo el año, con máximos en primavera-verano (37); presenta varios ciclos estrales al año, con una duración promedio de 4.5 días y un período de gestación de 27 días (38). Estudios de laboratorio señalan que presenta cuidados paternos, lo cual hace suponer que se trata de una especie monogámica (39).



Fig. 1. Ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*) OLEH

a) Hábitos alimenticios en condiciones naturales

En cuanto a sus hábitos alimenticios en estas condiciones, Alvarez y Mayo-Aceves (35) analizaron el contenido estomacal de los ratones de los volcanes de diferentes regiones del Valle de México y establecieron que la dieta de este roedor está constituida

por plantas herbáceas como *Trifolium*, *Bidens triplinervia* (Compositae) y *Rumex acetocella* (Poligonaceae); frutos como fresa (*Fragaria*) y zarzamora (*Rubus*), en la temporada de lluvias y capulincillo (*Pernettya*), a finales del año; granos de polen de *Trifolium*, *Ambrosia*, *Salvia*, *Zephyranthes*, *Rhus*, *Ribes*, *Salix*, *Alnus*, *Pinus* y *Quercus*. Además de artrópodos del orden Coleoptera (Scarabaeidae, Tenebrionidae, Carabidae y Curculionidae); así como de hormigas (Formicidae) y de las larvas de lepidópteros (Noctuidae). Estos investigadores concluyeron que las diferencias observadas en el contenido estomacal de los ratones de cada región, dependían de las variaciones ecológicas y estacionales, de tal forma que la dieta del ratón de los volcanes en la temporada de secas (noviembre-abril) esta constituida particularmente de tejido vegetal; mientras que en la temporada de lluvias (mayo-octubre), consiste principalmente de insectos. Este estudio constituye la primera aproximación al conocimiento de sus hábitos alimenticios en condiciones naturales; sin embargo, hacen falta más investigaciones en condiciones de cautiverio sobre los requerimientos nutricionales de esta especie en cada una de las diferentes etapas de su vida.

b) Desarrollo de lipomas en el ratón de los volcanes y su patogenia

Carmona (33) reportó que cuando el ratón de los volcanes es mantenido en cautiverio presentaba una incidencia del 9.9% en la formación de lipomas. En el mismo estudio halló que los machos exhibían mayor susceptibilidad al desarrollo de estas neoplasias; sin embargo, su estado de crecimiento era más severo en las hembras.

Los lipomas son neoplasias benignas de tejido adiposo blanco que tienen cierta importancia clínica en especies domésticas. Es frecuente su desarrollo en el tejido subcutáneo de la región del dorso, el tórax, la zona interescapular y el abdomen (40).

En el ratón de los volcanes se han observado tres tipos de neoplasias derivadas del tejido adiposo: lipoma, hibernoma y lipoma mixto, siendo el primero de ellos el que se presenta con mayor frecuencia (Fig. 2). Macroscópicamente, los tres tipos de neoplasias cuando están bien desarrolladas pueden presentar una forma nodular, lobular o multilobular; en tanto que las de pequeño crecimiento generalmente son amorfas. La consistencia de este tipo de neoplasias es blanda, pero en algunos casos, por la presencia de una cápsula de tejido conectivo se hacen firmes (33).

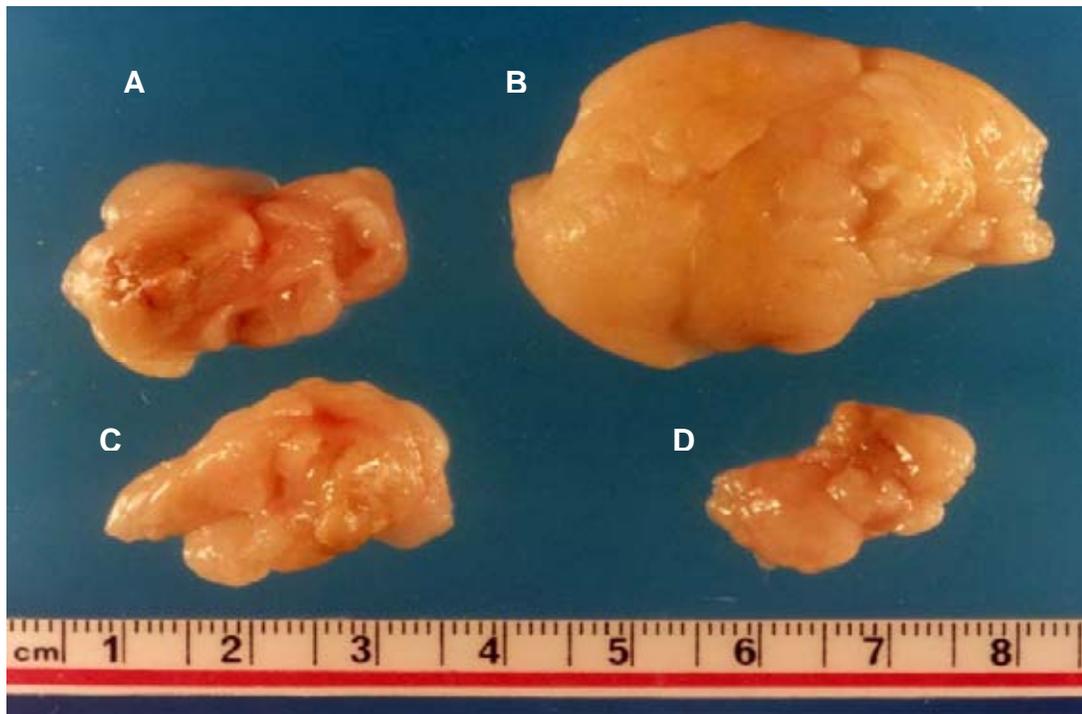


Fig.2. Aspecto macroscópico de los tres tipos de lipomas observados en el ratón de lo volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*) OLEH. A) Hibernoma; B) Lipoma de tejido adiposo blanco; C y D) Lipomas mixtos.

Microscópicamente, los adipocitos en estas neoplasias se observan agrupados en lobulillos, separados por trabéculas de tejido conectivo vascularizado (33). En los lipomas los adipocitos tienen forma poligonal y están rodeados de fibras de colágena, positivas a Eosina, Masson y Kinyoun. El citoplasma presenta una sola gota de lípido y el núcleo por lo general es único, reniforme, excéntrico e hiper cromático. En los hibernomas los adipocitos son poligonales; su membrana celular está rodeada por fibras de colágena, las cuales son eosinófilas con Hematoxilina y Eosina. El núcleo en estos adipocitos es voluminoso, redondo y de posición central, y el citoplasma se caracteriza por presentar múltiples gotas de lípido. En los lipomas mixtos se observan lóbulos de ambos tipos de tejido adiposo agrupados en una sola masa de células de aspecto hiperplásico. En la corteza de esta neoplasia se encuentran adipocitos uniloculares; mientras que en la médula hay una mayor cantidad de adipocitos multiloculares (33).

En los humanos, el desarrollo de los lipomas se ha vinculado principalmente con alteraciones en el metabolismo de los lípidos, dentro de las cuales figuran la hiperlipidemia asociada a factores hereditarios, la administración crónica de corticoesteroides y estrógenos, la DMIND, el hipotiroidismo, el alcoholismo, la obesidad y las dietas ricas en grasas y/o energía (40, 41, 42, 43, 44). Por otra parte, la lipomatosis

simétrica múltiple (LSM) caracterizada por el desarrollo simétrico de lipomas está frecuentemente asociada con polineuropatía axonal, alteraciones lipídicas (hiperlipidemia), hiperuricemia e intolerancia a la glucosa (45, 46). Su presentación es usualmente esporádica y con poca frecuencia en los humanos se reportan algunos casos familiares con herencia autosómica recesiva. La patogénesis de esta alteración no se conoce, pero se piensa que podría estar relacionada con disminución en la movilización de los lípidos intracelulares, por defecto de la lipólisis adrenérgica (47) y un aumento de la actividad de la LPL, que se correlaciona con el incremento plasmático de HDL-colesterol (48). Algunos pacientes con LSM (49, 50, 51) tienen alteraciones morfológicas, enzimáticas y genéticas, que relacionan la presencia de lipomas con una citopatía mitocondrial; sin embargo, esto no se ha evidenciado en otros casos (52, 53).

Los hallazgos preliminares señalados por Carmona (33) con respecto a las características histopatológicas de los lipomas observados en el ratón de los volcanes, posteriormente fueron corroborados por Diego (34), quien además indicó que la presencia de obesidad era evidente en los ratones que presentan lipomas más desarrollados. Asimismo, observó que los ratones obesos mostraban un aumento significativo en la cantidad de TG séricos en comparación con el grupo control de ratones silvestres y aquellos sin el fenotipo obeso nacidos en cautiverio. En el mismo estudio estableció que la hipertrigliceridemia generalmente estaba presente en los ratones obesos que también exhibían el desarrollo de EH microvacuolar periportal, hallazgo que fue más representativo en las hembras.

ESTEATOSIS HEPATICA

La EH es un proceso degenerativo caracterizado por la aparición de grasa visible en los hepatocitos. En el humano se distinguen dos tipos, la EH alcohólica (EHA) y la EH no alcohólica (EHNA). La EHNA es más frecuente que la EHA y aunque la EHNA generalmente se considera como una alteración benigna, puede ser progresiva, conduciendo a cirrosis y complicaciones de hipertensión portal (54). La EHA está asociada al consumo desmedido de bebidas alcohólicas, mientras que la EHNA puede desarrollarse en la obesidad (55, 56, 57, 58), el síndrome metabólico (59), la DMIND (55, 57), la desnutrición aguda, la polifagia, durante la prolongada ingesta calórica, en la deficiencia de cofactores lipotrópicos como colina y metionina, actividad física reducida, factores hereditarios y endocrinos. Otros factores que influyen en el desarrollo de EHNA son la administración crónica de corticoesteroides, la ingestión de venenos, como el

tetracloruro de carbono y el fósforo amarillo, la toxicidad por cobre (60), algunas endocrinopatías (síndrome de Cushing e hiperlipidemia) y la nutrición parenteral total (61),

La fisiopatología de la EHNA implica el incremento en la movilización de ácidos grasos (AG) principalmente del tejido adiposo, la disminución en la utilización u oxidación de AG, el incremento en la síntesis de AG y la esterificación de éstos a TG, así como una disminución en la secreción o liberación de grasa hepática (61).

Histológicamente la EHNA se divide en macrovacuolar y microvacuolar. En la fase temprana del primer tipo los hepatocitos presentan un citoplasma pálido y vacuolas de triglicéridos que se fusionan en etapas avanzadas para formar gotas de mayor diámetro, lo cual implica el desplazamiento del núcleo de estas células hacia la periferia (61). La EH macrovacuolar representa la forma crónica de esta patología, se asocia con alcoholismo crónico, desnutrición y diversas hepatotoxinas. Por otra parte, en la EHNA microvacuolar los hepatocitos se caracterizan por la presencia de varias vacuolas pequeñas de TG en el citoplasma y no se observa el desplazamiento periférico del núcleo (62). Clain y Lefkowitz (63) señalan que la EH microvacuolar en humanos obesos está asociada con alteraciones metabólicas en la disposición de lípidos hepáticos, incluyendo desórdenes en la secreción y biosíntesis de lipoproteínas, incremento en los niveles de AG y otras sustancias lipogénicas en la célula hepática, efectos tóxicos de ciertas drogas, enfermedades virales hepáticas e insuficiencia hepática aguda.

En la EHNA, macroscópicamente tanto en el cuadro crónico como en el agudo se observa hepatomegalia, coloración amarilla del parénquima y aspecto graso al corte.

Soga *et al.*, (64) señalaron que los ratones de la cepa FLS (Shionogi con esteatosis hepática) que a las 15 semanas de edad desarrollaron esteatohepatitis mostraron un marcado incremento en la concentración plasmática de la AST y ALT (163 ± 65 y 72 ± 25 UI/L, respectivamente) en contraste con aquellos de la cepa Shionogi dd (98 ± 32 y 32 ± 4 UI/L, respectivamente), los cuales no desarrollan EH espontánea. En otro estudio Tankurt *et al.*, (65) midieron en humanos con EHNA la concentración sérica de glucosa, insulina, TG, colesterol total (COT) y realizaron pruebas de tolerancia a la glucosa (PTG). Estos investigadores encontraron hipertrigliceridemia significativa, hipercolesterolemia no significativa, hiperglucemia no significativa (120 minutos después de iniciar la PTG) e hiperinsulinemia no significativa a los 120 minutos, concluyendo que los niveles séricos de insulina postprandial pueden estar aumentados en pacientes con EHNA; sin embargo, aún se requiere elucidar los mecanismos patogénicos de esta enfermedad. Con base en los hallazgos de esta investigación se ha sugerido que la insulina podría tener un papel patogénico en esta enfermedad. McGarry y Foster (66), han

observado que la insulina es capaz de inhibir la oxidación de los ácidos grasos libres (AGL), induciendo la acumulación de AGL tóxicos en el hígado. En otros estudios se ha reportado la presencia de EHNA asociada con el desarrollo de insulino resistencia y anomalías mitocondriales (67, 68). Carmona (33) y Diego (34) considerando que otros factores, particularmente de tipo nutricional y endócrino, también pueden estar involucrados en el desarrollo de la EHNA han hipotetizado que la EH en el ratón de los volcanes podría deberse a alteraciones metabólico-nutricionales muy similares a las ya descritas, las cuales pueden ser inducidas por el sedentarismo al que se restringe esta especie cuando se mantiene en cautiverio, ya que sólo bajo esta condición se ha observado el desarrollo simultáneo de lipomas, obesidad, EH y trigliceridemia.

FISIOPATOLOGIA DE LA OBESIDAD

Tanto en animales como en los humanos la obesidad es considerada un desorden multifactorial en el que están implicados diversos factores conductuales, ambientales, nutricionales y genéticos, a su vez interrelacionados entre ellos. En los últimos años ha habido un avance acelerado en el conocimiento científico de las bases genético-moleculares de la obesidad, lo que ha permitido conocer más a fondo algunos de los mecanismos que regulan el peso corporal: tales como la adipogénesis, la regulación del comportamiento alimentario, la termogénesis y la lipólisis. Dentro del sistema de señales de control del comportamiento alimentario y de la homeostasis energética se incluyen aquellos procesos bioquímicos que determinan la sensación de hambre o saciedad, la apetencia por determinados tipos de alimento, la frecuencia y cantidad de las ingestas. Estos procesos dependen, a su vez, de condiciones ambientales, como por ejemplo los hábitos sociales. Asimismo, existe una comunicación entre el sistema nervioso central (SNC) y el estado y actividad de las reservas energéticas. Esta comunicación tiene lugar a través de un sistema en el que interviene la leptina y se piensa que probablemente también están involucradas otras moléculas de señalización (69, 70). Otro proceso bioquímico implicado en la obesidad es la adipogénesis, proceso de formación de los adipocitos que integran el tejido adiposo (71, 72). El tercer proceso a tomar en cuenta es la regulación de la eficiencia energética. El organismo de los mamíferos dispone de un mecanismo especializado en la producción de calor a partir de la energía contenida en los alimentos: la termogénesis. A través de este proceso la energía de los alimentos que ingerimos en exceso es aprovechada sólo en parte, en lugar de acumularse como grasa (73). La familia de las proteínas desacoplantes (UCPs) o termogeninas son la base molecular de la termogénesis, su actividad determina el desacoplamiento energético de

las mitocondrias, con lo que parte de la energía de los alimentos se aprovecha para la producción de calor (74). Por último, la regulación adrenérgica del metabolismo lipídico donde el control del balance entre la movilización lipídica mediada por la enzima lipasa sensible a hormonas (LSH) y el almacenamiento de AG a través de la enzima lipoproteína lipasa (LPL) en las diferentes regiones adiposas parece de notable importancia, ya que la regulación de este balance se ve alterada durante el estado de obesidad y se presenta como una de las causas implicadas en el desarrollo de este fenotipo. En condiciones normales los perfiles de los sistemas que regulan el balance energético son simples: durante prolongados períodos de privación de alimento, es detectada una reducción de los depósitos de energía, lo cual conduce al incremento de la búsqueda de alimento y a la reducción del gasto energético; en prolongada abundancia de alimento, la ingesta de éste se reduce y el gasto energético es incrementado para evitar el almacenamiento excesivo de energía, e.g., obesidad. Se han propuesto una serie de mecanismos a través de los cuales la información sobre el nivel de almacenamiento de energía puede ser detectado en el tejido adiposo, y como la información resultante se retransmite para regular otros sitios en otras partes del cuerpo (75). La existencia de sistemas de retroalimentación de señales que detectan la cantidad de energía en tejido adiposo ha sido confirmada a través de la clonación del gen *ob* (*Lep*) y la identificación de la leptina, su proteína codificada (76). Se piensa que el mecanismo por medio del cual una señal puede ser recibida e integrarse a uno o más sitios reguladores, probablemente sea a través del SNC. Es bien conocido que el hipotálamo constituye una región cerebral clave en la regulación del metabolismo y el gasto energético, y que una gran variedad de alteraciones químicas y físicas en esta región pueden producir diversos síndromes acompañados por severos disturbios metabólicos, algunos de los cuales pueden conllevar al desarrollo de obesidad (77). La identificación del receptor de la leptina (*LepR*) así como del producto de otro gen relacionado con la obesidad (*db*, 78), y la comprobación de su expresión en el hipotálamo (79, 80) han demostrado la existencia de un mecanismo a través del cual las señales periféricas se relacionan con los grandes centros cerebrales influyendo sobre la ingesta de alimento y la regulación del gasto energético.

El estudio de los factores genéticos como parte importante de la etiopatogenia de la obesidad y la identificación y clonación, hace algunos años, del gen de la obesidad y de la proteína codificada por éste, han ocasionado un importante cambio en la investigación en torno al posible papel de la leptina en el desarrollo de nuevos medicamentos antiobesidad (81, 82, 83). Esencialmente la ingesta de alimento es coordinada por dos sistemas de regulación: en el control a corto plazo, participan señales físicas y la

liberación de péptidos digestivos, en tanto que el control a largo plazo particularmente es mediado por la leptina producida por el tejido adiposo. La leptina en circulación se une a sus receptores cerebrales (productos de los genes *db* o *Lepr*) y actúa como regulador interno del apetito y de la homeostasis del peso corporal a través de la detección del nivel de reservas energéticas (16). En condiciones normales, y como respuesta al exceso de tejido adiposo, la leptina secretada disminuye la producción de neuropéptido Y (NPY) en el hipotálamo; lo que conlleva al desarrollo de una sensación de saciedad y a la disminución del apetito, así como a un aumento de la termogénesis y del gasto energético (81, 82, 83). Además de la leptina, se han descrito varios neuropéptidos orexigénicos y anorexigénicos en el sistema nervioso central, cuya función es la de coordinar la función de la leptina con los mecanismos periféricos de control de la eficacia energética (termogénesis), comportamiento alimentario y diversas interrelaciones metabólicas y hormonales (69, 70-, 84). La teoría lipostática (85) sugiere que existe una regulación por parte de los depósitos grasos, mediante la secreción de leptina, que a través de la circulación sanguínea actúa sobre el SNC controlando la ingesta de alimento. La hipótesis de que los ratones genéticamente obesos *ob/ob* carecían de esta hormona, mientras que los ratones genéticamente obesos *db/db* eran insensibles a dicha hormona, se ha confirmado con el descubrimiento de la mutación *ob* localizada en el gen que codifica la leptina (76) y de la mutación *db* situada en el gen que codifica para el receptor de la leptina (79, 80, 86, 87). Estudios genéticos han mostrado que algunos sujetos obesos no presentan modificaciones genéticas en *ob* frente a los delgados y no tienen déficit cualitativo o cuantitativo de leptina, sino que, al contrario, sus niveles plasmáticos suelen estar elevados en proporción directa al tejido adiposo y al balance energético. Todos estos hallazgos sugieren que en los obesos los adipocitos funcionan normalmente, por lo que la obesidad no se asociaría a mutaciones genéticas de este tejido, sino a un mecanismo de resistencia endógena a la leptina. Adicionalmente, en estos pacientes los niveles de leptina en el SNC son inferiores a los plasmáticos, lo que podría indicar deficiencias en la respuesta a nivel central, por alteraciones de los receptores y/o por mecanismos de transporte, de forma que disminuiría la capacidad de transporte de leptina hacia el SNC (81, 82, 83). Debe decirse, sin embargo, que si bien las mutaciones en el gen *ob* o en el gen *Lepr* pueden descartarse como responsables de una parte importante de la obesidad en los humanos, aún no se ha descartado el papel que pudiera tener la producción extraadipocitaria (estómago y placenta) de leptina en el desarrollo de esta enfermedad (88, 89).

Aunque desde hace tiempo existen numerosas evidencias de la implicación de diversos genes en el desarrollo de la obesidad, la aceptación de la participación de

muchos de ellos constituye un hallazgo relativamente reciente y aún quedan varios aspectos por dilucidar. Actualmente, en animales y en humanos se han identificado y descrito numerosos genes potencialmente implicados (90, 91). De los genes cuya mutación provoca obesidad en ratones, su presencia en humanos se ha detectado sólo en pocas familias. En particular, se han detectado dos familias con defectos en el gen *ob* (90, 92, 93), y una familia con una mutación en el gen *Lepr* o *db*, que codifica el receptor de leptina (94). También se ha detectado una mutación, asociada con la obesidad, en el gen de la prohormona convertasa I (95), relacionada con la mutación *fat* (carboxipeptidasa E) en ratas, que conduce a un mal procesamiento de varios neuropéptidos y prohormonas. Mutaciones en los genes que codifican los receptores MC4-R de las melanocortinas (96) y los de la proopiomelanocortina (97) también causan obesidad en humanos, lo cual refleja la importancia del sistema de las melanocortinas en el control del peso corporal en humanos. Aunque en animales experimentales se han identificado varias mutaciones simples de genes individuales que causan obesidad (Tabla No.1), debe decirse que la situación en humanos (aparte de un número muy reducido de casos con mutaciones simples causantes de obesidad) es mucho más compleja: las formas más comunes de obesidad dependen de la interacción de múltiples genes (92), la influencia de diversos factores ambientales y de los hábitos de comportamiento y estilo de vida.

Tabla. No. 1 Lista de los probables genes inductores de la obesidad humana, identificados a partir de modelos animales e investigación fisiológica en humanos (98).

Gen	Fenotipo	Localización cromosómica	
		Ratón	Humano
<i>ASIP</i>	Obesidad	2-90.8	20q11.2-q12
<i>CPE</i>	Obesidad	8-32	4q28
<i>LEP</i>	Obesidad	6-10.5	7-q32
<i>LEPR</i>	obesidad, diabetes	4-46.7	1-p31
<i>TUB</i>	Obesidad	7-51.45	11p15.4-p15.5
<i>UCP1</i>	balance energético	8-37	4q31
<i>UCP2</i>	balance energético	7-50	11q13
<i>UCP3</i>	balance energético	7-50	11q13
<i>MC3R</i>	comportamiento alimenticio	2-100	20q13
<i>MC4R</i>	comportamiento alimenticio	1 or 18 (hipotetizado)	18q21.3-q22
<i>POMC</i>	obesidad (niveles de leptina ?)	12-4	2p23.2
<i>NPYR5</i>	regulación del apetito	8-33	4q31-q32
<i>MSTN</i>	crecimiento músculo esquelético	1 or 2 (hipotetizado)	2q32.1
<i>CCKAR</i>	Saciedad	5-34.0	4p15.1
<i>PPAR-γ</i>	diferenciación de los adipocitos	6-53.0	3p25
<i>ADRB3</i>	diferenciación de los adipocitos	8-10	8p11.1-p12

Abreviaciones: ASIP, proteína de señalización agutí; CPE, carboxipeptidasa E; LEP, leptina; LEPR, receptor de la leptina; TUB, tubby; UCP, proteína desacoplada; MCR, receptor de la melanocortina; POMC, proopiomelanocortina; NPYR, receptor del neuropéptido Y; MSTN, miostatina (también llamado factor 8 de la diferenciación); CCKAR, receptor de la colecistoquinina A; TNFA, factor tumor necrosis tumoral alfa; PPAR-γ, receptor- y del activador de la proliferación de peroxisomas; ADRB3, receptor beta-3-adrenérgico.

SINDROME MATABOLICO

a) Características

El SM es una patología constituida por la asociación de un grupo de anomalías metabólicas que pueden conllevar al desarrollo de DMIND y enfermedad cardiovascular. Una gran diversidad de estudios tanto en animales como en humanos señalan que el SM es el resultado de la interacción de diversos factores aterogénicos, genéticos y ambientales, y que si bien, la manifestación de resistencia a la insulina (RI) es una de sus características principales, en el curso de su evolución también puede desarrollarse obesidad central, hiperinsulinemia, deterioro de la tolerancia a la glucosa y de la glucemia basal, dislipidemia, hipertensión, microalbuminuria, hipofibrinólisis, inflamación, aterosclerosis y otras alteraciones asociadas a la RI que no son incluidas dentro de los criterios de diagnóstico del SM (59, 99). La presencia simultánea de varias de estas anomalías en un mismo individuo, específicamente de obesidad, dislipidemia e hipertensión, inicialmente fue descrita en humanos en la década de los sesenta y setenta (100, 101), aunque en ese entonces no se postuló ningún mecanismo fisiopatológico común para explicar su coexistencia. Reaven (102) observó que este síndrome podía afectar tanto a individuos obesos como delgados y denominó a la presencia simultánea de estas alteraciones metabólicas síndrome X, sugiriendo que la RI podría ser el factor común de su desarrollo. Por otra parte, Meigs *et al.*, (103) en un estudio de seguimiento realizado en pacientes con SM hipertensos, demostraron que la hipertensión se desarrollaba independiente del estado de hiperinsulinemia, observaciones que posteriormente fueron corroboradas por Hanley *et al.*, (104). De los hallazgos de estos dos estudios se dedujo que la RI es la responsable de varias pero no de todas las anomalías observadas en el SM. Sin embargo, el papel fisiopatológico de la RI en el SM y el de los trastornos metabólicos que predisponen a la presencia de enfermedad cardiovascular aún es incierto (Fig. 3).

Se ha establecido que la prevalencia de SM en adultos entre los 20-29 años es del 7% pero esta tasa se incrementa marcadamente con la edad, siendo del 30% en sujetos de 50 años y superior al 40% en aquellos de 60 o más años, sobre todo entre los mexicanoamericanos, disminuyendo progresivamente en otros grupos étnicos (105).

Actualmente, se sabe que tanto la obesidad, la DMIND y el SM son enfermedades multifactoriales de considerable heterogenicidad, pero mientras que los criterios diagnósticos están muy bien definidos en las dos primeras enfermedades, no son claros en el caso del SM.

b) Etiopatogenia del SM

Las anormalidades tanto en el metabolismo de los carbohidratos como de los lípidos son frecuentes en pacientes con SM (106, 107) habiéndose propuesto la hiperinsulinemia secundaria a la RI, como nexo de unión entre la obesidad, la hipertensión y la intolerancia a la glucosa (108). Hace algunos años se comprobó que la administración de insulina puede inducir vasodilatación en el músculo esquelético (109) mediada por óxido nítrico (110, 111), acción que disminuye la resistencia vascular periférica sistémica y por ende la hipertensión (112). A partir de este hallazgo se ha planteado que otros mecanismos patogénicos podrían estar involucrados en el origen de las anomalías observadas durante el desarrollo del SM. Por ejemplo, en sujetos normales, se ha observado que bruscos incrementos de la insulina plasmática aumentan el tono del sistema nervioso simpático induciendo hipertensión (113). Otros estudios, también sugieren que tanto los procesos de inmunidad como de respuesta inflamatoria juegan un papel fundamental en el desarrollo de la RI y son factores que permiten predecir el desarrollo de DMIND. Con base en estas evidencias, se ha propuesto que la RI y otras alteraciones observadas durante el desarrollo del SM podrían tener una etiología común (99, 108, 114). A algunas investigaciones sobre la activación de los procesos de inmunidad innata han permitido entender parte de los posibles mecanismos fisiopatológicos involucrados en el origen de la RI y la dislipidemia observadas durante el desarrollo del SM. A través de los estudios en modelos animales se ha establecido que la activación de los procesos de inmunidad innata puede conllevar a modificaciones en las lipoproteínas, enzimas, proteínas transportadoras y receptores con el resultado de una mayor producción de partículas aterogénicas (115). En estas circunstancias se ha comprobado que el perfil lipídico tanto en los humanos como en modelos animales es muy similar al observado en el curso del SM, ya que se caracteriza por un aumento en la producción hepática de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), menor aclaramiento de las mismas, incremento de la proporción de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y una reducción de las concentraciones de colesterol-HDL (116). Otros estudios han demostrado que los procesos inflamatorios crónicos subclínicos puede formar parte del SM (117); sin embargo, la determinación de la actividad inflamatoria no se considera necesaria en la actualidad para su diagnóstico ni para la valoración pronóstica del mismo, a pesar de que se admite que los marcadores inflamatorios son predictores confiables de la progresión del SM a DMIND y de enfermedad cardiovascular arterioesclerótica (114, 118, 119). Recientemente, también se ha propuesto que diversos factores genéticos

también pueden contribuir al desarrollo del SM. En este sentido, hace algunos años se planteó la hipótesis del genotipo económico implicando a la selección evolutiva de diversos genes metabólicos en el desarrollo del SM, los cuales se ha sugerido que podrían activarse en un ambiente de inactividad física y dieta excesiva. A este respecto, estudios generacionales en humanos han demostrado una base genética compleja común relacionada con los componentes del SM, aunque aún se está muy lejos de conseguir la determinación del perfil genético que predispone al desarrollo del SM.

c) Relación del SM con la obesidad y la dislipidemia

Pouliot *et al.*, (120) han señalado a la obesidad visceral como una de las causas del SM. Aunque la obesidad es un poderoso factor de riesgo para el desarrollo de DMIND así como de enfermedad cardiovascular existe gran heterogenicidad en la relación entre el grado de obesidad y las anormalidades metabólicas y cardiovasculares (121). Algunos estudios han demostrado que una significativa minoría de obesos, no desarrollan RI y sin embargo ésta anomalía puede estar presente en sujetos delgados (102). Hoy se sabe que los factores genéticos y medio ambientales pueden tener un impacto decisivo en la inducción de las alteraciones metabólicas que conllevan al desarrollo de la obesidad. Asimismo, muchos estudios se han enfocado a la identificación de algunos aspectos de la adipogénesis que mejor permitan establecer los factores causales involucrados en el desarrollo SM. A este respecto, el índice de masa corporal (IMC) ha sido el método más utilizado para determinar la obesidad total, no obstante que se considera que ésta juega un papel secundario detrás de la obesidad abdominal en el desarrollo de alteraciones metabólicas del SM. Los investigadores que han estudiado tanto de la obesidad total (IMC) como la obesidad abdominal (relación de los perímetros de la cintura y de la cadera), han encontrado que ambos tipos de obesidad se relacionan directamente con el riesgo de enfermedad cardiovascular y el desarrollo de DMIND (122, 123, 124, 125, 126). Estudios más recientes han demostrado que la obesidad abdominal también puede estar relacionada con el incremento de la glucemia basal y el desarrollo insulino resistencia en los tejidos periféricos (124). No está claro si determinaciones más precisas de la grasa corporal total, de la masa de grasa central, de la magnitud del tejido adiposo subcutáneo abdominal o del tejido adiposo visceral abdominal, por métodos más sofisticados como la tomografía computarizada o la resonancia magnética pueden aportar una información mucho más exacta en relación con las complicaciones metabólicas de la obesidad.

Se ha establecido que el tejido adiposo además de ser la fuente principal de ácidos grasos libres (AGL) también es un órgano secretor muy activo que elabora varias

moléculas que pueden ser utilizadas como biomarcadores de la actividad de este tejido (127) e. g., las adipocitocinas, entre las que se encuentran la leptina, la adiponectina y la recientemente identificada resistina; así como varios mediadores inflamatorios como es el caso del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y la interleucina 6 (IL-6), y algunos promotores de trombosis, como el inhibidor principal del activador del plasminógeno (PAI-1). Actualmente, se sabe que varias de estas moléculas pueden favorecer el desarrollo de muchas de las alteraciones que caracterizan al SM, pues algunas de ellas tienen efectos aterogénicos directos. Por ejemplo, en condiciones fisiológicas la concentración plasmática la leptina está directamente relacionada con la cantidad de tejido adiposo, aumenta en la obesidad así como en los estados de RI. El incremento de esta hormona también deprime el apetito e incrementa el gasto energético. Un defecto de leptina o bien una resistencia de su efecto a nivel de sus receptores produce hiperfagia y disminución del gasto energético, lo que conlleva al desarrollo de obesidad. Las evidencias actuales indican que la leptina también interfiere en la utilización de la glucosa a nivel del músculo esquelético predisponiendo al desarrollo de RI. Sobre la presión sanguínea, tiene un efecto equilibrado pues por una parte tiende a aumentarla a través del incremento de la actividad simpática y por otro a disminuirla por la liberación de óxido nítrico local. Por el contrario, los niveles plasmáticos de adiponectina se encuentran reducidos en la obesidad y en la DMIND, además están inversamente relacionados con la RI. Otras evidencias tanto en humanos como en animales de experimentación sugieren que la adiponectina puede tener efectos antiarterioescleróticos dado que los niveles de esta adipocitocina son más bajos en hipertensos que en normotensos, y en hipertensos con RI que en los sensibles. Por otra parte, el aumento de resistina se ha relacionado con la presencia de RI y se considerada que esta adipocitocina es uno de los nexos de unión principales entre el SM y los procesos arterioescleróticos por su capacidad de promover y activar elementos claves involucrados en el daño vascular. Por lo tanto, se ha estimado que a mayor grado de disfunción de los receptores de la resistina es probable observar mayores niveles de leptina circulante.

La dislipidemia constituye uno de los hallazgos comúnmente observados en el SM y se caracteriza por una elevación de la concentración de triglicéridos (TG) así como por niveles bajos de colesterol-HDL (128, 129). Sin embargo los niveles plasmáticos de colesterol-LDL, pueden ser normales, aunque una característica frecuente es que las partículas LDL suelen ser más pequeñas y más densas, alteraciones que se han relacionado con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular. La etiopatogenia de este perfil lipídico no es clara. No obstante, hoy se sabe que uno de los principales factores que contribuye al desarrollo de hipertrigliceridemia y RI es el incremento de los AGL. Es

importante señalar que en condiciones normales la insulina actúa como un factor antilipolítico en el tejido adiposo (130); sin embargo, también estimula la lipólisis de las lipoproteínas de muy baja densidad ricas en TG (VLDL) mediante la activación de la lipoprotein lipasa plasmática (LPLP). El desarrollo de RI disminuye la actividad de la LPLP pero también aumenta la degradación de los TG almacenados en el tejido adiposo que son liberados por la acción de enzimas lipasas sensibles a hormonas, lo cual se traduce en una mayor circulación de AGL. El incremento de AGL a manera de un círculo vicioso inhibe los efectos antilipolíticos de la insulina y conlleva a lipólisis adicionales. Esta última alteración es especialmente importante puesto que los AGL compiten con la glucosa durante el metabolismo, además también existen indicios de que los niveles elevados de AGL podrían ser tóxicos para el páncreas (131). Recientemente, se ha señalado que la reducción de los receptores insulínicos en los adipocitos abdominales podría ser la causa de que este tejido sea más sensible a las hormonas lipolíticas, dando lugar a un aumento de la liberación de AGL en la circulación sistémica y portal. Asimismo, se ha establecido que el mayor aporte al hígado tanto de AGL como de glucosa, conlleva a una mayor síntesis hepática de apolipoproteínas B (apo-B) que contienen VLDL ricas en TG y a un incremento de la síntesis de TG hepáticos (132). En hígado se han observado algunas discrepancias en los efectos metabólicos de los AGL sobre la insulina estimulada por la glucosa y el metabolismo lipídico. Mientras los AGL incrementan la producción hepática de glucosa y disminuyen la inhibición de la glucosa producida por la insulina (133), la lipogénesis, una vía relacionada tanto con los efectos activadores de los AG y la insulina en respuesta a los esteroides ligados a proteínas 1c continúa (134). Otra alteración importante en el SM es la reducción del colesterol-HDL. Este descenso es consecuencia de los cambios en la composición y el metabolismo del colesterol-HDL. En presencia de hipertrigliceridemia o cuando existe un aumento de partículas ricas en TG disminuye el contenido de esteres de colesterol (EC) en las HDL. Los TG, pero no los EC, son sustrato de la acción de la LPLP y de la lipasa hepática, por lo que se forman más partículas de TG pequeñas y densas, una función que en parte es realizada por la proteína de transferencia de esteres de colesterol (135). Este cambio en la composición de las HDL también origina un incremento del aclaramiento de estas lipoproteínas (136). La relación de estos cambios en las HDL con la RI es probablemente indirecta incrementándose con los cambios en el metabolismo de las VLDL ricas en TG. Además de las HDL, la composición de las LDL también es modificada por una vía similar (137, 138). Estos cambios en la composición de las LDL son atribuidos a la reducción relativa del colesterol no esterificado, el colesterol esterificado y los fosfolípidos con ningún cambio o un incremento de las LDL ricas en TG (139, 140). Los niveles de colesterol-HDL están a

menudo también bajos en pacientes con SM que presentan niveles de TG normales, lo que sugiere la existencia de otros mecanismos involucrados en la reducción del colesterol-HDL. Una posibilidad es que los pacientes con concentraciones basales de TG normales, sufran intolerancia a las dietas ricas en grasa. Esa respuesta postprandial anormal incrementa la proteína de transferencia de esteres de colesterol mediada por los picos lipídicos postprandiales. El aumento del flujo de lípidos al hígado en tales circunstancias, reduce la síntesis de apolipoproteína A1 (Apo A1). En otros estudios se ha comprobado que la hipertrigliceridemia y los niveles reducidos de colesterol-HDL están relacionados con un mayor riesgo de enfermedad coronaria (141, 142, 143). Algunos individuos con hipertrigliceridemia, aún sin criterios diagnósticos de SM, suelen mostrar niveles bajos de colesterol-HDL y partículas LDL más pequeñas y densas. Un conjunto de factores genéticos y medioambientales han sido relacionados con los niveles de TG y de colesterol-HDL en algunas personas. Por ejemplo, los fumadores, los pacientes obesos y sedentarios, suelen presentar niveles bajos de colesterol-HDL (144, 145). Por otra parte, variantes genéticas de la LP, de la lipasa hepática, de la proteína de transferencia de esteres de colesterol o bien de los receptores activados por proliferadores de peroxisomas alfa (PPAR- α) se han relacionado con los niveles de colesterol-HDL y de TG (146, 147, 148, 149, 150) contribuyendo al desarrollo del SM. Asimismo, una gran variedad de condiciones metabólicas puede contribuir al perfil lipídico característico del SM (99, 102). Por otra parte, debe considerarse, que incluso en condiciones normales, los niveles de colesterol-HDL apenas se modifican con el ayuno pero los niveles de TG se elevan considerablemente después de la ingesta y pueden permanecer por arriba de su nivel basal hasta doce horas más tarde del consumo abundante de comida o de una dieta rica en grasas. La insulina también actúa a través de la lipasa hepática cuyo déficit interfiere en el aclaramiento plasmático de las partículas remanentes de metabolismos anteriores (quilomicrones, los TG de las moléculas de VLDL, IDL) para dar lugar a LDL así como en el aclaramiento de las HDL2 ricas en Apo E. Por el contrario, la lipasa endotelial acelera el catabolismo del colesterol-HDL. En consecuencia, en situaciones de RI aumentan los niveles plasmáticos de AGL, TG y LDL a la vez que disminuyen los de colesterol-HDL.

Por otra parte, tanto el tejido adiposo intraabdominal como la grasa subcutánea, están inervados por el sistema nervioso parasimpático, a través de vías nerviosas que se originan en diferentes puntos del SNC, y presumiblemente con diferentes grados de estimulación. El aumento de la actividad parasimpática como ocurre durante el sueño, aumenta la sensibilidad a la insulina y promueve la síntesis y el depósito de AGL, mientras que la reducción de tono parasimpático, como se observa en el caso de los obesos e individuos con DMIND, promueve la lipólisis con liberación de AGL. El

incremento de estos AGL en el plasma estimula las vías proinflamatorias y aterogénicas favoreciendo el desarrollo de arterioesclerosis, enfermedad vascular y neuropatía (151).

En los estudios de RI en personas con obesidad y/o DMIND (152), así como en los hijos de pacientes con DMIND (153) se ha identificado un defecto en la fosforilación oxidativa de las mitocondrias que esta relacionado con la acumulación de TG y lípidos musculares. Además, en modelos animales de obesidad, se ha establecido que otros organelos subcelulares podrían estar involucrados, particularmente el retículo endoplásmico (154).

d) Relación del SM con la resistencia a la insulina.

Aunque la determinación de insulinemia y del estado de RI no se realizan rutinariamente en la práctica clínica; varios estudios han demostrado que la hiperinsulinemia tanto en ayunas como los picos postprandiales en individuos no diabéticos se relacionan con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular y un aumento de la incidencia del desarrollo de DMIND (155, 156, 157, 158, 159). Por esta razón, en algunos estudios médicos se ha planteado la conveniencia de incorporar la determinación de la resistencia o de la sensibilidad a la insulina a la práctica clínica diaria. Muchos investigadores han sugerido que la RI podría ser la responsable del desarrollo de las anomalías observadas en el curso del SM consideradas factores de riesgo de enfermedad cardiovascular. De hecho en diversos estudios clínicos se ha observado que el grado de RI predice el desarrollo de arterioesclerosis y la incidencia de daños cardiovasculares en el SM de forma más precisa que otros factores de riesgo, incluso que la glucemia basal o el perfil lipídico (160).

Tanto en los animales como en los humanos con DMIND la RI involucra la reducción de la sensibilidad a la acción de esta hormona por sus principales células blanco: el músculo esquelético, los adipocitos y el hígado. El efecto fisiológico de la insulina está por lo tanto disminuido, lo que se traduce en una deficiente utilización de la glucosa, alteración que es compensada por un aumento de la síntesis y secreción de la insulina por parte de las células β -pancreáticas (hiperinsulinismo). En el SM los efectos de la RI sobre el metabolismo de la glucosa incluyen deficiencias en la capacidad de la insulina para suprimir la producción de glucosa hepática, así como defectos en la captación y el metabolismo de la glucosa en los tejidos sensibles a la insulina. La relación entre el deterioro de la glucosa basal o el deterioro de la tolerancia a la glucosa y la RI ha sido establecida en estudios realizados en humanos, primates no humanos y roedores. Para compensar los defectos en la acción de la insulina y sostener un estado

normoglucémico puede modificarse la secreción de insulina y/o su aclaramiento. Si esta compensación falla, predominan los defectos en la secreción de la insulina. La RI en las células de los islotes pancreáticos es un indicio de que las señales que generan la secreción de insulina dependiente de glucosa han sido modificadas y que el exceso de AG sea el factor causal más probable. Sin embargo, los AGL pueden estimular la secreción de insulina, incrementando y prolongando la exposición prolongada a altas concentraciones de esta hormona originando trastornos en su secreción (161). El mecanismo de esta alteración ha sido atribuido a lipotoxicidad aunque se han señalado otras vías potenciales (162, 163). En los tejidos sensibles a la insulina, el exceso de AG induce RI. En el músculo, los AG pueden deteriorar la activación de la proteína cinasa C- λ y la proteína cinasa C- ξ (164). Por otro lado, la generación de un exceso de acil CoAs o acil-CoA derivadas como ceramidas puede reducir la activación de Akt-1 (165). La insulina también puede regular su propia secreción. Asimismo, se ha observado que cuando los receptores de la insulina son eliminados en el músculo esquelético no se desarrolla hiperglucemia (166); sin embargo, el knockout de los receptores de la insulina en células específicas conduce a intolerancia a la glucosa y DMIND (167). En las personas con predisposición genética al desarrollo de DMIND, el estrés ambiental de la RI sobre la función celular causa intolerancia a la glucosa y alto riesgo de DMIND. En el hígado de ratas alimentadas con dietas altas en grasas, la RI ha sido atribuida a defectos a nivel postreceptor (168). La reducción de la actividad parasimpática, como se observa en el caso de los obesos e individuos con DMIND, aumenta la RI en el músculo esquelético y en el hígado y promueve la lipólisis con liberación de AGL. En los humanos se ha estimado que la RI puede preceder 2-3 décadas al desarrollo de DMIND franca. Sin embargo, su inicio suele ser paralelo al de la arterioesclerosis (131). La RI también puede desarrollarse como consecuencia de un exceso de calcio intracelular, o concentración intracelular de magnesio disminuida, defecto del aprovechamiento de la glucosa por el músculo esquelético debido a mala perfusión del mismo, incremento de la actividad simpática o sobrepeso (169). La RI después de una sobrecarga de glucosa se correlaciona más estrechamente que el hiperinsulinismo con niveles altos de TG y bajos de colesterol-HDL (170). Algunos estudios han establecido que la RI periférica se traduce en las siguientes anomalías del metabolismo lipídico (129): a) Incremento de los niveles plasmáticos de AGL. b) Aumento de la síntesis hepática de TG ligados a las VLDL. c) Disminución de la producción de LPL muscular, lo cual inhibe la presencia de LPLP, con lo que se reduce el aclaramiento plasmático de las VLDL y aumentan los niveles de TG. d) Incremento de la actividad de la lipasa hepática, por mayor aporte de glucosa y AGL al hígado. e) Aumento de la síntesis de las LDL. f) Disminución de la formación de HDL.

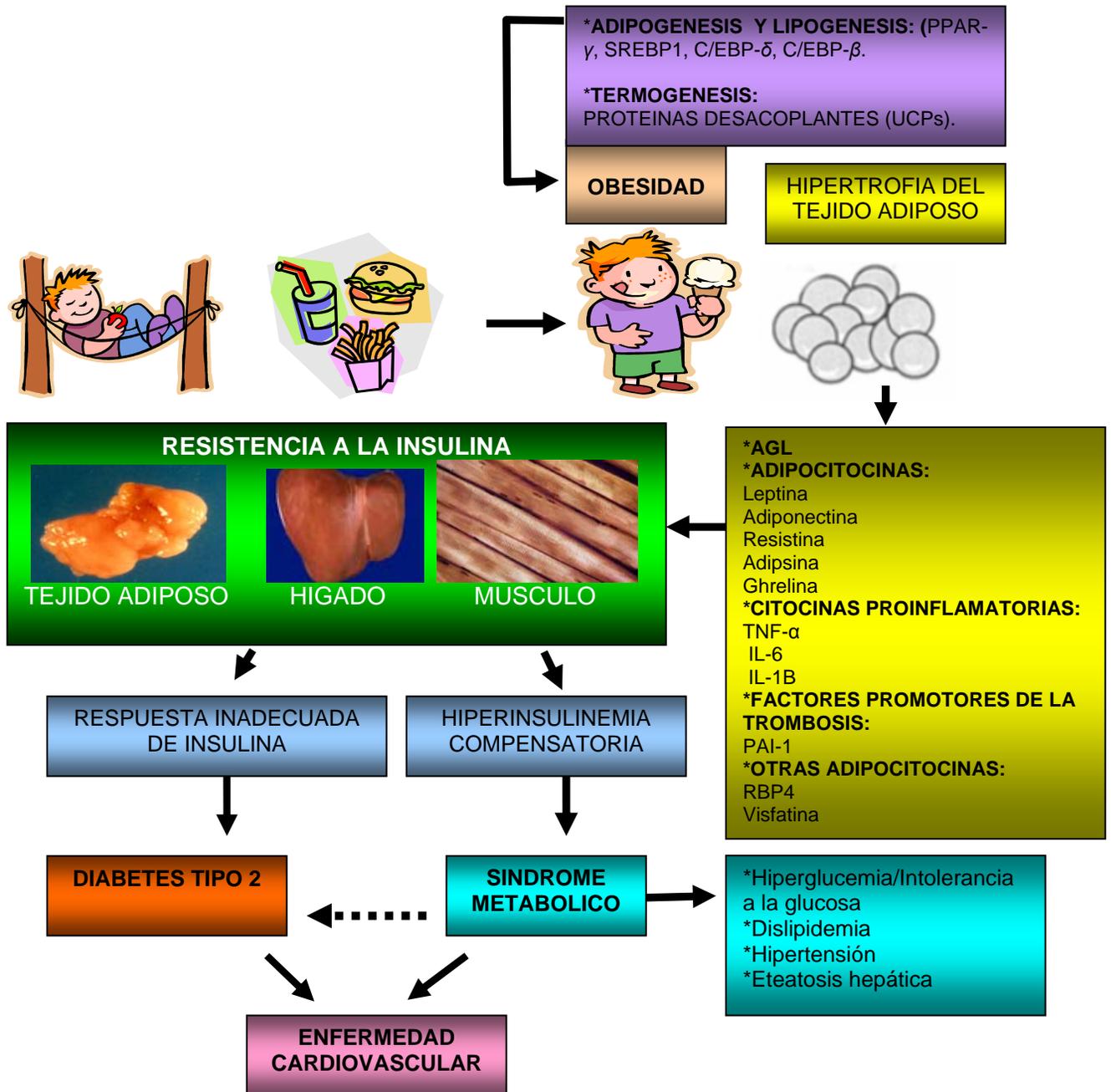


Fig. 3. Esquema descriptivo de los mecanismos fisiopatogénicos del SM.

EFEECTO DEL EJERCICIO, LA DIETA Y LA METFORMINA EN EL SM

Es conocido que la modificación del estilo de vida, una adecuada estrategia para reducir el peso y algunos fármacos pueden reducir el riesgo de la presencia de varios de

los trastornos observados en el SM (171). Además de que también suelen mejorar los daños de los ya establecidos, disminuyendo la posibilidad de la progresión del SM a DMIND (172, 173). La actividad física regular y sostenida suele mejorar todas las alteraciones del SM (174, 175). Además, la combinación de reducción del peso y ejercicio también disminuye la incidencia de DMIND en pacientes con intolerancia a la glucosa (159).

Existe un acuerdo general de que las personas con SM deberían sujetarse a un grupo de principios dietético: baja ingesta de grasas saturadas, grasas trans y colesterol, reducir el consumo de carbohidratos simples e incrementar la ingesta de frutas, vegetales y semillas enteras (176). Sin embargo, existe controversia sobre las cantidades relativas de carbohidratos y grasas insaturadas. Algunos investigadores están a favor de una menor ingesta de grasa, mientras que otros recomiendan dietas altas en grasa (177). Las dietas bajas en grasas han sido empleadas para promover una reducción del peso (178), mientras que la ingesta de una mayor cantidad de grasa monoinsaturada disminuye la glucemia postprandial, reduce los TG séricos e incrementa las concentraciones de colesterol- HDL (177). Por otra parte, los antecedentes farmacológicos de individuos con SM y/o DMIND que fueron tratados con dosis terapéuticas de metformina (un antihiper glucemiante del grupo de la biguanidas) indican que este fármaco puede estimular el incremento de los receptores insulínicos, mejorando con ello significativamente la acción de la insulina endógena, la insulinemia, la resistencia a la acción de la insulina, así como la captación y utilización periférica de la glucosa (179, 180, 181, 182, 183, 184, 185).

IV. HIPOTESIS

Se espera que los ratones con OLEH presenten uno o varios de los signos relacionados con la resistencia a insulina, tales como dislipidemia, intolerancia a la glucosa e hiperinsulinemia postprandial. Asimismo, que las alteraciones en la tolerancia a la glucosa, los niveles de triacilglicérols, colesterol total y transaminasas estén asociadas con el desarrollo de obesidad, lipomas y EH en los ratones silvestres introducidos al cautiverio. Además, que la restricción de la dieta y el tratamiento con metformina normalicen los parámetros alterados en los ratones OLEH.

V. OBJETIVOS

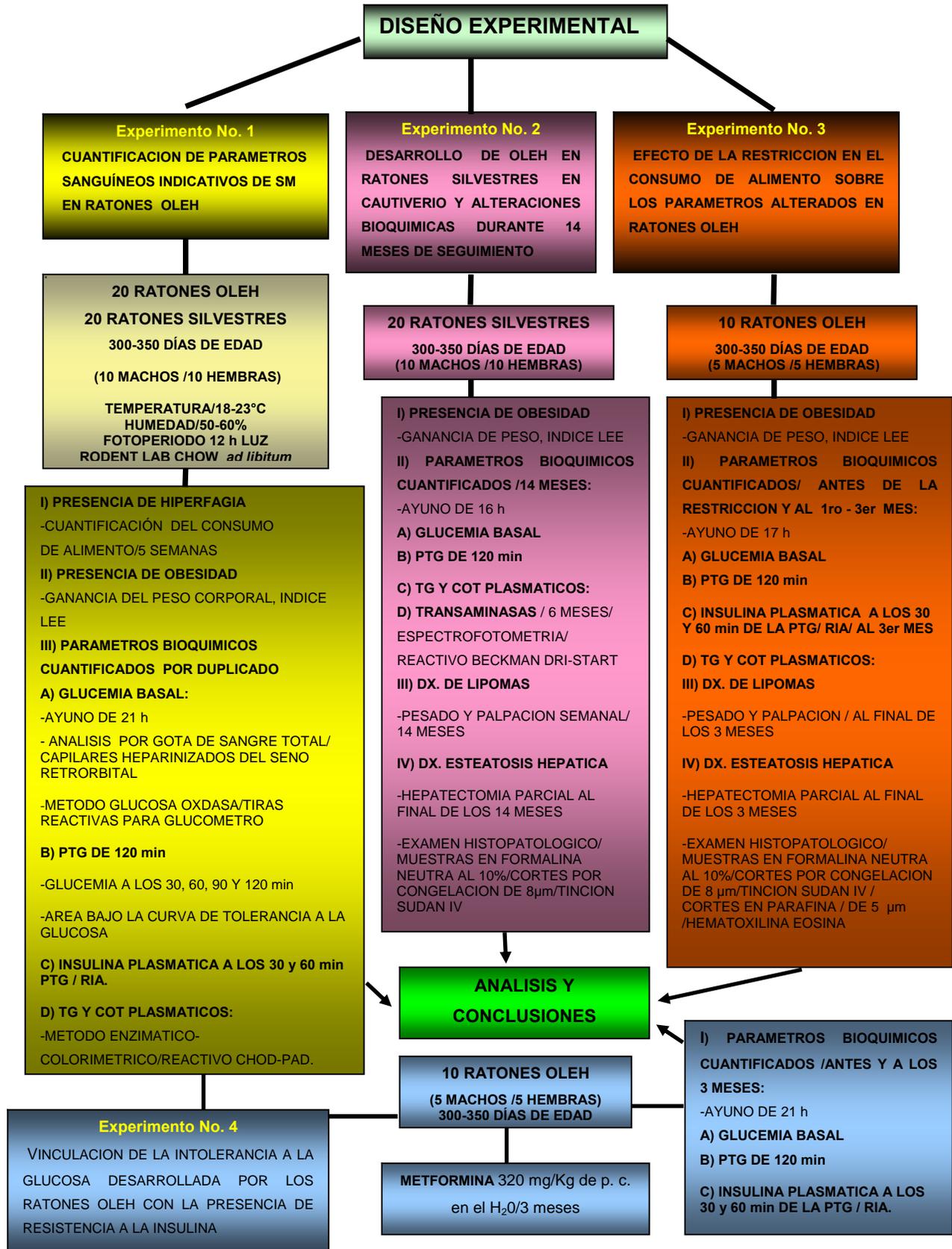
OBJETIVO GENERAL

Evaluar algunos parámetros bioquímicos en el ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*) OLEH, con la finalidad de establecer si este roedor pueden ser un modelo adecuado para el estudio del síndrome metabólico.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Establecer algunos de los parámetros indicativos del síndrome metabólico en ratones OLEH a través de la cuantificación de la glucemia basal, los niveles plasmáticos de triacilgliceroles y colesterol total, así como de la tolerancia a la glucosa, la insulina postprandial, el peso corporal, el índice Lee, el consumo de alimento y la presencia de EH.
2. Determinar a través del seguimiento durante 14 meses, el tiempo en el cual los ratones silvestres de esta especie introducidos al cautiverio desarrollan obesidad y lipomatosis, y correlacionar el grado de esteatosis hepática con el tamaño de los lipomas.
3. Precisar a través del seguimiento durante 14 meses, si en los ratones silvestres introducidos al cautiverio existe una asociación entre la obesidad, los lipomas y la EH con la glucemia basal, los niveles plasmáticos de triacilgliceroles, el colesterol total, las transaminasas, el peso corporal y el índice Lee.
4. Establecer en los ratones OLEH el efecto de la reducción del peso corporal y del índice Lee, por medio de la restricción en el consumo de alimento, sobre la glucemia basal, los niveles plasmáticos de triacilgliceroles, el colesterol total, la tolerancia a la glucosa y la insulina postprandial.
5. Determinar si la intolerancia a la glucosa desarrollada por los ratones OLEH es debida a la presencia de resistencia a la insulina.

VI. MATERIAL Y METODOS



Experimento No.1. Cuantificación de parámetros sanguíneos indicativos de SM en ratones OLEH.

Animales: se utilizaron ratones de los volcanes que tenían un rango de edad de 300 a 350 días; los cuales se agruparon de la siguiente forma: el Grupo I estuvo integrado por ratones adultos nacidos en cautiverio que expresan el fenotipo obeso y el desarrollo de lipomas y esteatosis hepática (OLEH); el Grupo II por ratones silvestres adultos recién capturados, cuya edad fue determinada en base a sus características fenotípicas, siguiendo los criterios de Martín y Alvarez (186) y Granados y Ramírez (187). En cada uno de estos Grupos se incluyeron 10 machos y 10 hembras.

Los ratones OLEH fueron obtenidos de una colonia de esta especie establecida en el Bioterio de la Facultad de Ciencias, UNAM, que se mantuvo bajo un rango de temperatura de 18 a 23 ° C, humedad ambiental (50 a 60 % de humedad relativa) y un fotoperíodo de 12 horas-luz. Los ratones fueron alimentados *ad libitum* con una dieta comercial para roedores, Rodent Lab Chow 5001, Tradico, Inc., cuya composición se muestra a continuación, y agua.

Proteína cruda, mínimo	23.0 %
Grasa cruda, mínimo	4.5 %
Fibra cruda, máximo	6.0 %
Cenizas, máximo	8.0 %
Minerales añadidos, máximo	2.5 %
E.L.N.	56.0 %
T.N.D.	79.76 %
E.D. (Kcal/g)	3.50
E.M. (Kcal/g)	2.90

Los ratones silvestres fueron capturados en una zona de la Sierra del Volcán Ajusco, ubicada entre los kilómetros 48 y 51 de la Carretera Federal México-Cuernavaca. Esta zona tiene un rango altitudinal de 2440 a 4500 m s n m. Para las capturas se emplearon 50 trampas Sherman para roedores pequeños (27 x 10 x 7 cm), usando como cebo hojuelas de avena.

Determinación de la glucemia basal y prueba de tolerancia a la glucosa (PTG).

Después de un período de ayuno de 21 h los ratones de ambos grupos fueron anestesiados con éter etílico para obtener muestras sanguíneas del seno retroorbital (aprox. 40µl) en tubos capilares con heparina, y cuantificar la glucemia basal. Enseguida a

cada uno de estos animales se les administró una solución de glucosa al 50% a una dosis de 2.5g/Kg de peso corporal por vía intraperitoneal y a los 30, 60, 90 y 120 minutos siguientes se les extrajeron nuevamente muestras sanguíneas por la misma vía para determinar su curva de tolerancia a la glucosa. La cuantificación de la glucosa se realizó por duplicado empleando una gota de sangre total obtenida del seno retrorbital y a través del método glucosa oxidasa con tiras reactivas para glucómetro One Touch (LifeScan, *Johnson and Johnson*, Co. California, U.S.A.). En ambos grupos de ratones la capacidad de depuración de glucosa se estableció determinando el área bajo la curva de tolerancia a la glucosa de cada animal, la cual fue calculada como la integral de la curva de glucemia cuantificada a los 0, 30, 60 y 120 minutos de la PTG empleando el programa OriginPro versión 7.0 y la siguiente fórmula:

$$\sum_{i=1}^{k-1} (t_{i+1} - t_i) \times \left[\frac{G_{i+1} + G_i}{2} - G_0 \right]$$

t_i = tiempo (min) del muestreo sanguíneo; $i = 1 \dots k$

G_0 = valor de la glucemia inicial

G_i = glucemia promedio (mg/dL) en t_i

k = número de muestras sanguíneas

Niveles plasmáticos de insulina

En todos los ratones de ambos grupos a los 30 y 60 minutos de su PTG se tomaron muestras de sangre por la vía del seno retrorbital, las cuales fueron colectadas en capilares heparinizados que se centrifugaron a 3500 *rpm* durante 5 minutos. Después de la centrifugación se obtuvieron por duplicado muestras de 200µl de plasma, e inmediatamente se almacenaron a -40°C. Antes de realizar las determinaciones el plasma se descongeló a temperatura ambiente. Los niveles plasmáticos de insulina fueron cuantificados por radioinmunoanálisis empleando un juego de reactivos Coat-A-Count Insulin (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, U.S.A.) siguiendo los procedimientos descritos previamente para este método (188, 189, 190).

Determinación de la concentración plasmática de triacilgliceridos (TG) y colesterol total (COT)

La cuantificación de TG y COT se realizó por duplicado a través del método enzimático-colorimétrico empleando 500µl de reactivo CHOD-PAP de Human Gesellschaft Für Biochemika und Diagnostika (mbh, Germany) más 5µl de plasma, se incubó a temperatura ambiente durante 10 min y se leyó la absorbancia a 500 nm.

Presencia de obesidad e hiperfagia (Ganancia de peso corporal, índice Lee y consumo de alimento)

El peso y el índice Lee, dos parámetros para establecer la presencia de obesidad en roedores (191, 192, 193) fueron determinados en los ratones de ambos grupos antes de someterlos a un período de ayuno de 21 h. Los ratones fueron pesados utilizando una balanza de triple brazo con platillo-paleta (OHAUS). Una vez pesados, fueron anestesiados con éter etílico, enseguida se cuantificó la longitud naso anal de los ratones de ambos grupos y se determinó el índice Lee mediante el empleo de la siguiente fórmula propuesta por White *et al.*, (193):

$$\text{Índice Lee} = \sqrt[3]{\text{Peso corporal} / \text{Longitud naso anal}} \times 10^4$$

Peso corporal (g)

Longitud naso anal (mm)

Con la finalidad de establecer si los ratones OLEH en comparación con los silvestres exhiben hiperfagia. Antes de cuantificar los parámetros los ratones de ambos grupos (10 machos y 10 hembras en cada grupo) fueron alojados individualmente durante 5 semanas en jaulas experimentales y a cada animal se le proporcionaron 20 g de dieta/día (Rodent Lab Chow 5001); al siguiente día el sobrante de la dieta no consumida fue pesado para determinar en base a la diferencia entre la dieta proporcionada y la sobrante el consumo de alimento diario.

Experimento No.2. Desarrollo de OLEH en ratones silvestres introducidos al cautiverio y parámetros bioquímicos alterados durante 14 meses de seguimiento.

En esta parte 20 ratones silvestres (10 machos y 10 hembras) recién capturados se mantuvieron en condiciones ambientales de cautiverio similares a las mencionadas en el primer experimento de este estudio. Cada semana los ratones fueron pesados y

examinados para establecer por palpación la presencia de lipomas, y mensualmente durante 14 meses consecutivos todos los animales fueron pesados antes y después de someterlos a un periodo de ayuno de 16 h; bajo esta condición se obtuvieron muestras sanguíneas en los 20 ratones y se determinaron por los procedimientos ya descritos las alteraciones que exhibían en la glucemia basal y los niveles plasmáticos de triacilgliceridos y colesterol total. Asimismo, con el objeto de establecer la presencia de daño hepático únicamente durante un período de 6 meses fueron evaluadas las transaminasas ALT (alanina aminotransferasa) y AST (aspartato aminotransferasa). La concentración plasmática de ambas enzimas se determinó por espectrofotometría utilizando el método de Reitman y Frankel (194), para lo cual se emplearon 500 µl de reactivo Beckman Dri-Stat (Beckman Instruments Inc. California, E.U.A.) más 10 µl de plasma, a una incubación de 28°C durante 8 min y determinando la pendiente en la parte inicial y final de la curva. Con la finalidad de corroborar la presencia o ausencia de EH. Al término de los 14 meses en todos los ratones a través hepatectomía parcial se disecó un fragmento del lóbulo hepático lateral izquierdo, el cual fue fijado en formalina neutra al 10% y procesado por congelación en cortes de 8 µm que fueron teñidos mediante la técnica de Sudán IV para su análisis histológico (195). El tipo de EH se estableció tomando en cuenta la zona del lobulillo hepático afectada por la infiltración de vacuolas lipídicas, el tamaño de éstas y su abundancia. Asimismo, la EH se clasificó en tres grados distintos en base a un criterio histopatológico cualitativo que consideró el nivel de vacuolas infiltradas en los hepatocitos, este aspecto se analizó usando el siguiente cuadro:

Grado	Nivel de infiltración
Leve (I)	+
Moderado (II)	++
Severo (III)	+++

Experimento No.3. Efecto de la restricción en el consumo de alimento sobre los parámetros alterados en ratones con OLEH.

Cinco ratones machos y 5 hembras con OLEH se mantuvieron individualmente en jaulas experimentales durante 3 días, en este período estos ratones fueron pesados

diariamente y alimentados *ad libitum* (Rodent Lab Chow 5001, Tradico, Inc.). Se cuantificó el consumo de alimento por día. A los 3 días se determinaron el peso corporal y el índice Lee de estos ratones y se sometieron a un período de ayuno por 17 h para cuantificar la glucemia basal, la concentración plasmática de TG y COT. Asimismo, se realizaron PTG y se establecieron los niveles plasmáticos de insulina a los 30 y 60 minutos de dichas pruebas. Después de la cuantificación de estos parámetros se les restringió la cantidad de alimento disponible a un 70% del promedio de alimento consumido durante los primeros tres días para lograr una reducción gradual del peso (el consumo promedio fue 6.55 g /día, el 70% de la ingesta correspondió a 5 g/día). Los ratones estuvieron en estas condiciones hasta que alcanzaron un peso cercano a los 50 g (13-17 días de restricción de la dieta). Aquellos animales que alcanzaron y mantuvieron un peso de 50 g continuaron con una restricción del 70%. Cuando bajaban más de este peso se les proporcionaba 126% (9 g) de ese alimento *ad libitum* hasta que alcanzaban nuevamente un peso 50 g, después se les volvía a dar sólo 70% del alimento consumido *ad libitum*.

Al primero y al tercer mes de la restricción de la dieta se cuantificaron en estos ratones los mismos parámetros que se determinaron antes de la restricción de la dieta, excepto que en el primer mes no se estableció la concentración plasmática de insulina durante las PTG.

Determinación de la presencia o ausencia de lipomas y EH al término de tres meses de restricción del consumo de alimento.

La presencia de los lipomas fue valorada a través de la palpación del tejido adiposo, y los tumores se clasificaron según diámetro en tres grados de tamaño: pequeños (< 2 cm), medianos (> 2 y < 3 cm) y grandes (> 3 cm). En todos los ratones a través hepatectomía parcial se disecó un fragmento del lóbulo hepático lateral izquierdo, el cual fue procesado mediante la técnica de Sudán IV antes descrita. Asimismo, una porción de este tejido fue fijada por inmersión en formalina amortiguada al 10% y embebida en parafina para procesarse en cortes de 5 μ m que fueron teñidos con hematoxilina y eosina (196). La presencia o ausencia de EH después de la restricción del consumo de alimento se analizó en base a los mismos criterios señalados en el Experimento No.2:

Experimento No.4. Vinculación de intolerancia a la glucosa desarrollada por los ratones OLEH con la presencia de resistencia a la insulina.

Considerando el antecedente de que la RI ha sido vinculada con el desarrollo de intolerancia a la glucosa en modelos animales con SM y DMIND, y que la metformina revierte la presencia de la RI en estos animales, en esta última parte del estudio 5 ratones OLEH de ambos sexos fueron tratados individualmente durante tres meses con clorhidrato de metformina (Dabex, Merk, S.A. de C.V., México, D.F.) administrada en el agua de bebida. La concentración de metformina en el agua de bebida semanalmente fue ajustada considerando la ingesta de agua y al peso corporal que presentaba cada animal, de modo que por día ingiriera una dosis aproximada de 320 mg /Kg de p.c. Estos animales se mantuvieron en las mismas condiciones ambientales que los ratones OLEH del experimento No.1. Antes del tratamiento con metformina y después de uno y tres meses de éste se cuantificaron los siguientes parámetros utilizando los mismos procedimientos del experimento No.1: la glucemia basal, la glucemia durante las PTG de 120 min. y el nivel plasmático de insulina a los 30 y 60 min de las PTG.

Análisis estadístico de los datos

Este se realizó mediante el uso del programa Primer of Biostatistics. En el experimento No.1 las diferencias existentes en la concentración de los parámetros entre los ratones de un mismo sexo, pero de diferente grupo, fueron evaluadas mediante pruebas de t de Student no pareadas. En el experimento No.2 los datos obtenidos de los parámetros cuantificados durante 14 meses de seguimiento fueron agrupados en bloques de 2 meses, y se analizaron mediante pruebas de t Student no pareadas comparando las variables de ambos sexos de ratones silvestres que desarrollaron lipomas con aquellos que no los presentaron. En el experimento No.3 y No.4 los valores establecidos en los parámetros de los ratones con OLEH fueron evaluados a través de pruebas de t de Student no pareadas comparándolos con los niveles de los parámetros exhibidos por ratones silvestres de reciente captura y por t de Student para muestras pareadas con los valores determinados en los mismos ratones OLEH antes de su condición experimental.

VII. RESULTADOS

Experimento No. 1. Cuantificación de parámetros sanguíneos indicativos de SM en ratones con OLEH.

a) Presencia de obesidad e hiperfagia (Ganancia de peso, índice Lee y consumo de alimento

La Tabla No. 2 muestra que en comparación con los ratones silvestres, tanto los ♂OLEH como las ♀OLEH exhibieron un incremento estadísticamente significativo del peso corporal, el índice Lee y el consumo de alimento.

TABLA No. 2
Peso corporal, índice Lee y consumo de alimento en ratones de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*) OLEH y silvestres.¹

Grupos	Peso corporal ² (g)	Índice Lee ³	Consumo de alimento (g/día)
♂OLEH	77 ± 3 * (10)	226 ± 4 * (10)	8 ± 0.6 * (10)
♀OLEH	74 ± 3 * (10)	213 ± 3 * (10)	8 ± 0.6 * (10)
♂SILV	42 ± 1 (10)	176 ± 3 (10)	5 ± 0.2 (10)
♀SILV	42 ± 2 (10)	173 ± 11 (10)	6 ± 0.1 (10)

¹ Los valores se presentan como la media ± ES (n).

² peso corporal de animales sin ayuno.

³ Índice Lee (Índice de obesidad)= raíz cúbica del peso corporal (g) / longitud naso anal (mm) X 10⁴

OLEH= Ratones obesos con lipomas y esteatosis hepática.

SILV= Ratones silvestres sin obesidad ni lipomas y esteatosis hepática.

* P< 0.05 vs el mismo sexo de animales silvestres.

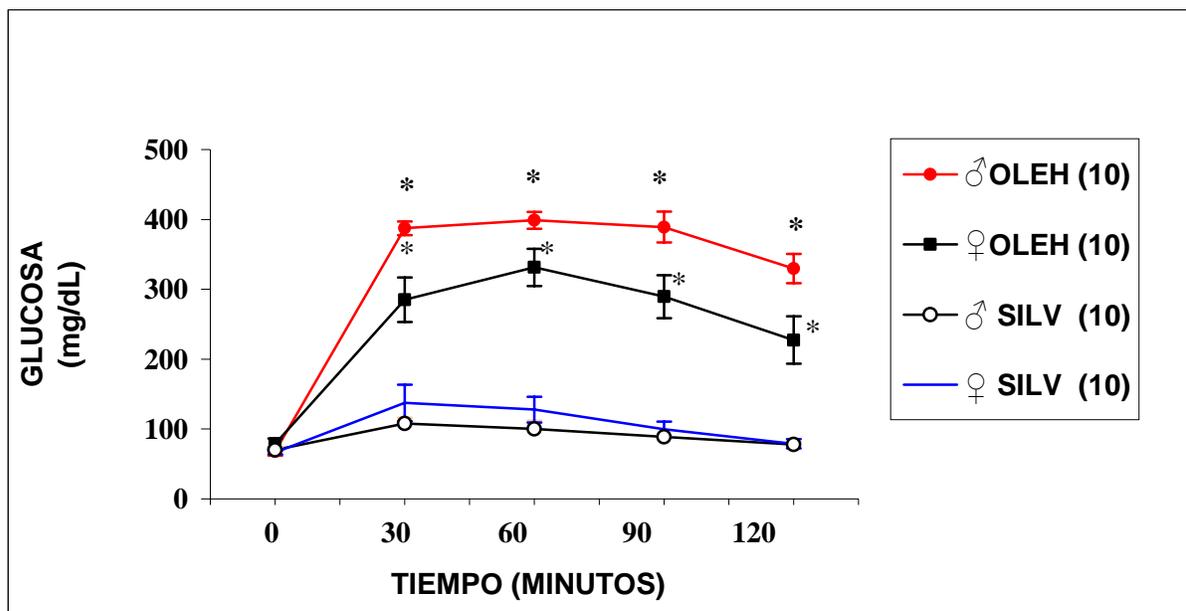
b) Glucemia basal y perfil glucémico durante la PTG.

En la Gráfica No. 1 puede verse que respecto a los ratones silvestres, tanto los ♂OLEH como las ♀OLEH no presentaron diferencias estadísticas significativas en la concentración basal de glucosa. Sin embargo, en comparación con éstos, los ratones OLEH machos y hembras mostraron una elevación estadísticamente significativa de su

glucosa plasmática a los 30, 60, 90 y 120 minutos de su PTG. Además, contrariamente a la normoglucemia exhibida por los ratones silvestres a los 120 minutos de su PTG, en los ratones OLEH el nivel plasmático de glucosa no retornó a su valor basal después de este lapso de tiempo y el estado de hiperglucemia mostrado por estos ratones al término de su PTG fue superior a los 200 mg/dL, Grafica No. 1. Tanto en los machos como en las hembras OLEH la capacidad de aclaramiento de glucosa fue inferior a la mostrada por los ratones silvestres, y su área bajo la curva de tolerancia, también presentó un incremento altamente significativo con respecto de la exhibida por los controles silvestres ($\text{♂OLEH} = 33093 \pm 1451$ (n= 10) vs $\text{♂SILV} = 2912 \pm 857$ (n= 10) y $\text{♀OLEH} = 22314 \pm 3000$ (n= 10) vs $\text{♀SILV} = 5213 \pm 1571$ (n= 10), los valores representan la media \pm ES).

GRAFICA No. 1

Curvas de tolerancia a la glucosa en ratones de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*) OLEH y silvestres.¹



¹ Los valores se presentan como media \pm ES (n).

OLEH= Ratones obesos con lipomas y esteatosis hepática.

SILV= Ratones silvestres sin obesidad ni lipomas y esteatosis hepática.

*P< 0.05 vs el mismo sexo de animales silvestres.

c) Concentración plasmática de insulina durante los picos de hiperglucemia en la PTG.

Con relación a la concentración plasmática de insulina, en la Tabla No. 3 puede verse que durante los picos de hiperglucemia presentados entre los 30 y 60 minutos de la PTG (Gráfica No. 1), los ratones OLEH de ambos sexos exhibieron un incremento

estadísticamente significativo en el perfil plasmático de insulina con respecto del mostrado por los ratones silvestres, Tabla No. 3.

TABLA No. 3

Concentración plasmática de insulina en ratones de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*) OLEH y silvestres durante los picos de hiperglucemia en su PTG¹.

Tiempo (Minutos)	♂OLEH (n=10)	♀OLEH (n=10)	♂SILV (n=10)	♀SILV (n=10)
30	26 ± 4 *	24 ± 4 *	16 ± 2	15 ± 1
60	39 ± 4 *	33 ± 3 *	14 ± 1	15 ± 1

¹ Los valores representan la concentración plasmática de insulina en µU/mL e indican la media ± ES.

OLEH= Ratones obesos con lipomas y esteatosis hepática.

SILV= Ratones silvestres sin obesidad ni lipomas y esteatosis hepática.

*P< 0.05 vs el mismo sexo de animales silvestres.

d) Lípidos plasmáticos.

En la Tabla No. 4 puede observarse que a pesar de que en los ratones OLEH de ambos sexos los niveles plasmáticos de TG fueron más elevados, éste incremento no mostró diferencias estadísticas significativas en relación a los valores exhibidos por ratones silvestres.

Por otra parte, los ratones OLEH de ambos sexos presentaron niveles plasmáticos de COT ligeramente más bajos que los ratones silvestres. Sin embargo, esta diferencia fue sólo significativa para las hembras, Tabla No. 4.

TABLA No. 4

Concentración plasmática de triacilgliceroles y colesterol total en ratones de los volcanes (*Neotomodon alstoni alstoni*) OLEH y silvestres¹.

Grupos	Triacilgliceroles (mg/dL)	Colesterol total (mg/dL)
♂OLEH	147 ± 27 (10)	164 ± 3 (10)
♀OLEH	179 ± 23 (10)	164 ± 1 * (10)
♂SILV	94 ± 6 (10)	167 ± 1 (10)
♀SILV	129 ± 18 (10)	170 ± 2 (10)

¹ Media ± ES (n).

OLEH= Ratones obesos con lipomas y esteatosis hepática.

SILV= Ratones silvestres sin obesidad ni lipomas y esteatosis hepática.

* P< 0.05 vs el mismo sexo de animales silvestres.

Experimento No.2. Desarrollo de OLEH en ratones silvestres introducidos al cautiverio y alteraciones bioquímicas durante el seguimiento.

a) Presencia de obesidad (Ganancia de peso e índice Lee).

Como puede advertirse en la Tabla No. 5 a los 8 meses de seguimiento, los machos con lipomas empezaron a mostrar un incremento significativo de su peso corporal con respecto del presentado por los machos sin lipomas; una tendencia a un mayor incremento se mantuvo a los 10 y 14 meses de seguimiento. A los 14 meses los machos con lipomas tuvieron un peso 63.5% mayor que los que no los presentaron. Similarmente, las hembras con lipomas, también exhibieron esta tendencia cuando se compararon con las hembras sin lipomas a los 8 y 14 meses de seguimiento. A los 14 meses las hembras con lipomas mostraron un peso 38.5% mayor al de las hembras que no los presentaron. Asimismo, los machos con lipomas inicialmente a los 8 meses de seguimiento mostraron un incremento estadísticamente significativo de su índice Lee con respecto del apreciado en los machos sin lipomas, esta tendencia se incrementó a los 10, 12 y 14 meses. A los 14 meses los machos con lipomas tuvieron un índice Lee 12.25% % mayor al de los machos que no los presentaron. Por otra parte, las hembras con lipomas también exhibieron la misma tendencia cuando se compararon con las hembras sin lipomas, puesto que éstas presentaron un aumento estadísticamente significativo de su índice Lee a los 8, 10, 12 y 14 meses de seguimiento (Tabla No. 5). A los 14 meses las hembras con lipomas tuvieron un índice Lee 8.71% mayor al de las hembras sin ellos. El desarrollo de lipomas ocurre entre 2 y 4 meses antes del incremento en el peso corporal y del índice Lee.

TABLA No. 5

Peso corporal e índice Lee de ratones silvestres (*Neotomodon alstoni alstoni*) durante 14 meses de seguimiento en cautiverio.¹

Meses	Grupo	Peso corporal	Índice Lee
0-2	♂L	38 ± 4 (12)	310 ± 7 (12)
	♂SL	41 ± 5 (8)	317 ± 6 (8)
	♀L	39 ± 4 (10)	318 ± 5 (10)
	♀SL	39 ± 3 (10)	310 ± 5 (10)
4	♂L	53 ± 2 (12)	329 ± 3 (12)
	♂SL	54 ± 3 (8)	331 ± 31 (8)
	♀L	56 ± 3 (10)	335 ± 4 (10)
	♀SL	55 ± 3 (10)	330 ± 5 (10)
6	♂L	54 ± 3 (12)	328 ± 6 (12)
	♂SL	49 ± 1 (8)	320 ± 2 (8)
	♀L	57 ± 3 (10)	330 ± 4 (10)
	♀SL	55 ± 4 (10)	328 ± 6 (10)
8	♂L	62 ± 3 * (12)	336 ± 4 * (12)
	♂SL	50 ± 1 (8)	319 ± 2 (8)
	♀L	63 ± 3 * (10)	337 ± 4 * (10)
	♀SL	54 ± 3 (10)	324 ± 5 (10)
10	♂L	73 ± 3 * (12)	349 ± 4 * (12)
	♂SL	50 ± 1 (8)	315 ± 1 (8)
	♀L	70 ± 2 * (10)	346 ± 3 * (10)
	♀SL	52 ± 2 (10)	318 ± 3 (10)
12	♂L	78 ± 2 * (12)	350 ± 2 * (12)
	♂SL	51 ± 1 (8)	314 ± 2 (8)
	♀L	75 ± 2 * (10)	348 ± 3 * (10)
	♀SL	53 ± 2 (10)	319 ± 3 (10)
14	♂L	85 ± 1 * (12)	351 ± 2 * (12)
	♂SL	52 ± 1 (8)	313 ± 3 (8)
	♀L	76 ± 2 * (10)	348 ± 0.01 * (10)
	♀SL	55 ± 2 (10)	320 ± 0.01 (10)

¹ Los valores se presentan como media ± ES (n), con el peso en gramos; índice Lee = raíz cúbica del peso corporal (g) / longitud naso anal (mm) X 10⁴

L= ratones que desarrollaron lipomas

SL= ratones que no desarrollaron lipomas en 14 meses de seguimiento.

* P< 0.05 L vs SL del mismo sexo.

b) Desarrollo de lipomas y EH.

Como se advierte en la Gráfica No. 2, después de 14 meses de seguimiento 60% de los ratones silvestres machos (6 de 10) desarrollaron lipomas; mientras el mismo efecto fue evidenciado en el 50% de las hembras silvestres (5 de 10). La presencia de lipomas ocurrió principalmente en el 4to. mes, pero después de 6 meses ya no hubo un incremento en la frecuencia de lipomas. Esto indica que los animales predispuestos a la formación de lipomas los desarrollaron entre los 3 y 6 meses de cautiverio. Además, después de 14 meses, 67.0% de los ratones machos presentaron lipomas de más de 3 cm de diámetro (grandes) y 33.0% de tamaño mediano (>2 y <3 cm). Por otro lado, el 67.0% de los ratones silvestres machos que desarrollaron lipomas mostraron EH de grado III (severa) y 33.0% de grado II (moderada). De igual forma, al finalizar los 14 meses de seguimiento 100.0% de las hembras presentaron lipomas con un diámetro superior de 3 cm (grandes), el 80.0% de éstas mostraron EH de grado III y sólo el 20.0% tuvieron EH de grado II, Tabla No. 6.

GRAFICA No. 2

Frecuencia acumulativa de lipomas en ratones silvestres (*Neotomodon alstoni alstoni*) de ambos sexos a lo largo de 14 meses de seguimiento en cautiverio. Número total de animales 10 ♂ y 10 ♀.

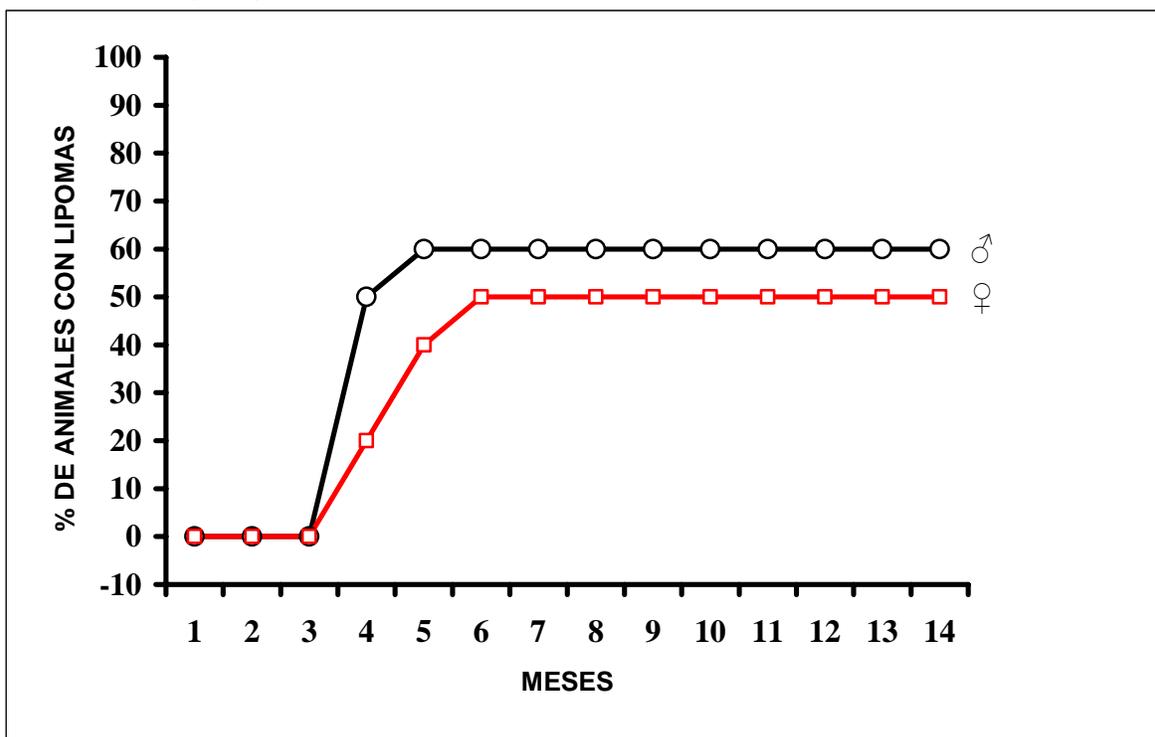


TABLA No. 6

Tamaño de lipomas y grado de esteatosis hepática en ratones silvestres (*Neotomodon alstoni alstoni*) con 14 meses de cautiverio que desarrollaron la característica OLEH.

Grupo	Lipomas ¹ (%)			Grado de EH ² (%)		
	Pequeño	Mediano	Grande	I	II	III
Machos (6)	0	2 (33.0)	4 (67.0)	0	2 (33.0)	4 (67.0)
Hembras (5)	0	0	5 (100.0)	0	1 (20.0)	4 (80.0)

¹ Los lipomas fueron clasificados en tres grados de tamaño: pequeños (< 2 cm), medianos (> 2 y < 3 cm) y grandes (> 3 cm); (n).

² La EH se clasificó en tres grados desarrollo considerando el nivel de vacuolas de lípido infiltradas dentro del citoplasma de los hepatocitos que fueron positivas a la tinción de Sudán IV: leve (I), moderada (II) y severa (III).

c) Glucemia basal.

En la Tabla No. 7 puede distinguirse que a los 8 meses de seguimiento, los machos con lipomas presentaron un ligero incremento estadísticamente significativo en la concentración basal de glucosa con respecto del valor exhibido por los machos sin lipomas. Esta tendencia también se observó cuando se compararon ambos grupos a los 14 meses de seguimiento. Por otra parte, a lo largo de los 14 meses las hembras con lipomas nunca presentaron diferencias estadísticas significativas en el perfil de glucosa basal con respecto del valor mostrado por las hembras que no los presentaron.

d) Concentración plasmática de TG.

A los 12 meses de seguimiento los machos con lipomas presentaron un incremento estadísticamente significativo en la concentración plasmática de TG con relación al nivel estimado en los machos sin lipomas. La misma tendencia se mantuvo cuando se compararon ambos grupos a los 14 meses de seguimiento (Tabla No. 7). Asimismo, a los 10 meses de seguimiento las hembras con lipomas mostraron por primera vez un incremento estadísticamente significativo en los TG con respecto del nivel observado en las hembras sin lipomas. Posteriormente, a los 12 meses de cautiverio las

hembras con lipomas volvieron a mostrar un aumento estadísticamente significativo de los TG y éste se prolongó hasta los 14 meses de seguimiento.

TABLA No. 7

Concentración plasmática de glucosa, lípidos y transaminasas en ratones silvestres (*Neotomodon alstoni alstoni*) durante 14 meses de seguimiento en cautiverio.¹

Meses	Grupo	Glucosa	Triacilgliceroles	Colesterol total	AST	ALT
2	♂L	81 ± 6 (12)	108 ± 9 (12)	168 ± 5 (12)	76 ± 8 (12)	61 ± 12 (12)
	♂SL	71 ± 3 (8)	115 ± 18 (8)	150 ± 16 (8)	95 ± 22 (8)	83 ± 12 (8)
	♀L	73 ± 5 (10)	113 ± 22 (10)	140 ± 12 (10)	95 ± 14 (10)	79 ± 10 (10)
	♀SL	85 ± 7 (10)	93 ± 13 (10)	137 ± 14 (10)	71 ± 12 (10)	79 ± 12 (10)
4	♂L	70 ± 5 (12)	120 ± 15 (12)	108 ± 11 (12)	112 ± 20 (12)	55 ± 9 (12)
	♂SL	59 ± 3 (8)	148 ± 36 (8)	104 ± 6 (8)	114 ± 12 (8)	63 ± 8 (8)
	♀L	65 ± 3 (10)	225 ± 54 (10)	130 ± 4 (10)	104 ± 23 (10)	83 ± 12 (10)
	♀SL	76 ± 6 (10)	198 ± 34 (10)	127 ± 9 (10)	95 ± 19 (10)	71 ± 8 (10)
6	♂L	87 ± 5 (12)	92 ± 24 (12)	97 ± 10 (12)	124 ± 27 (12)	65 ± 13 (12)
	♂SL	74 ± 7 (8)	62 ± 11 (8)	92 ± 9 (8)	92 ± 17 (8)	69 ± 8 (8)
	♀L	79 ± 3 (10)	130 ± 28 (10)	114 ± 10 (10)	80 ± 12 (10)	95 ± 15 (10)
	♀SL	80 ± 5 (10)	91 ± 21 (10)	87 ± 8 (10)	77 ± 14 (10)	86 ± 14 (10)
8	♂L	90 ± 3 * (12)	144 ± 37 (12)	108 ± 7 (12)		
	♂SL	79 ± 4 (8)	95 ± 15 (8)	117 ± 14 (8)		
	♀L	94 ± 4 (10)	144 ± 21 (10)	129 ± 7 * (10)		
	♀SL	91 ± 6 (10)	103 ± 14 (10)	81 ± 5 (10)		
10	♂L	85 ± 3 (12)	195 ± 25 (12)	136 ± 5 (12)		
	♂SL	74 ± 4 (8)	154 ± 12 (8)	128 ± 10 (8)		
	♀L	91 ± 3 (10)	186 ± 17 * (10)	154 ± 4 * (10)		
	♀SL	87 ± 6. (10)	129 ± 10 (10)	125 ± 7 (10)		
12	♂L	87 ± 3 (12)	257 ± 9 * (12)	159 ± 3 (12)		
	♂SL	77 ± 5 (8)	187 ± 11 (8)	153 ± 4 (8)		
	♀L	86 ± 3 (10)	216 ± 10 * (10)	163 ± 3 (10)		
	♀SL	80 ± 5 (10)	156 ± 9 (10)	156 ± 4 (10)		
14	♂L	94 ± 5 * (12)	270 ± 6 * (12)	172 ± 2 * (12)		
	♂SL	80 ± 3 (8)	191 ± 10 (8)	156 ± 2 (8)		
	♀L	93 ± 6 (10)	234 ± 9 * (10)	170 ± 3 * (10)		
	♀SL	80 ± 5 (10)	153 ± 7 (10)	152 ± 4 (10)		

¹ Los valores se presentan como media ± ES (n), en mg/dL para glucosa, triacilgliceroles, colesterol total, y en UI/L para aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT).

L= ratones que desarrollaron lipomas.

SL= ratones que no desarrollaron lipomas en 14 meses de seguimiento.

* P< 0.05 L vs SL del mismo sexo.

e) Concentración plasmática COT.

En cuanto a la concentración del COT, los machos con lipomas, en comparación con los machos sin lipomas únicamente exhibieron un aumento estadísticamente significativo en este parámetro a los 14 meses de seguimiento; en tanto que las hembras con lipomas, en contraste con las hembras sin lipomas, por primera vez presentaron un incremento significativo en el COT a los 8 meses de seguimiento, dicho incremento, también se mantuvo a los 10 y 14 meses de estudio (Tabla No. 7).

e) Concentración plasmática de transaminasas (AST y ALT).

La Tabla No. 7 muestra que al cabo de 6 meses de seguimiento el nivel plasmático de transaminasas no mostró diferencias significativas cuando se compararon los machos con lipomas vs los machos sin lipomas y las hembras con lipomas vs las hembras sin lipomas ($P > 0.05$).

Experimento No.3. Efecto de la restricción en el consumo de alimento sobre los parámetros alterados en ratones OLEH.

a) Presencia de obesidad (ganancia de peso e índice Lee) después de uno y tres meses de restricción en el consumo de alimento.

Como se aprecia en la Tabla No.8, después del primer y el tercer mes de restricción en el consumo de alimento, tanto los machos como las hembras, presentaron un decremento estadísticamente significativo de su peso corporal con respecto del estimado antes de esta la restricción. De igual manera, tanto los machos como las hembras mostraron una reducción significativa del índice Lee con respecto del determinado en ambos grupos antes de la restricción en el consumo de alimento.

TABLA No. 8

Peso corporal e índice Lee en ratones OLEH antes y después de la restricción en el consumo de alimento.¹

Restricción de la dieta (meses)	Grupo	Peso corporal	Índice Lee
0	♂ SILVESTRES	42 ± 1 (10)	176 ± 3 (10)
	♀ SILVESTRES	42 ± 2 (10)	173 ± 11 (10)
	♂ OLEH	87 ± 3 (5)	383 ± 9 (5)
	♀ OLEH	75 ± 2 (5)	373 ± 6 (5)
1	♂ OLEH	56 ± 1 * ▲ (5)	331 ± 9 * ▲ (5)
	♀ OLEH	54 ± 1 * ▲ (5)	334 ± 4 * ▲ (5)
3	♂ OLEH	52 ± 2 * ▲ (5)	323 ± 9 * ▲ (5)
	♀ OLEH	54 ± 2 * ▲ (5)	333 ± 6 * ▲ (5)

¹ Los valores se presentan como media ± ES (n); con el peso en gramos; índice Lee = raíz cúbica del peso corporal (g) / longitud naso anal (mm) X 10⁴

*P < 0.05 vs el mismo sexo sin restricción.

▲ P < 0.05 vs el mismo sexo de animales silvestres.

b) Glucemia basal y prueba de tolerancia a la glucosa (PTG) después de un mes de restricción en el consumo de alimento.

Al cabo del primer mes de restricción en el consumo de alimento la glucemia basal de los ratones machos OLEH no mostró diferencias significativas con respecto de la estimada en el mismo grupo antes de esta condición. Sin embargo, después de un mes de la restricción los machos mostraron una reducción no significativa de sus niveles plasmáticos de glucosa en comparación con los presentados antes de la restricción a los 30, 60, 90 y 120 minutos de su PTG (Gráfica No. 3A). El área bajo la curva de tolerancia a la glucosa de los ratones machos OLEH con un mes de restricción en el consumo de alimento decreció 35.54% con respecto de exhibida por los mismos ratones antes de la

restricción; sin embargo, este decremento no fue estadísticamente significativo (Tabla No.9).

Respecto a las hembras, en la Gráfica No. 3B puede observarse que al primer mes de restricción en el consumo de alimento la concentración basal de glucosa no presentó diferencias estadísticamente significativas con respecto del nivel apreciado en el mismo grupo antes de la restricción. En la prueba de tolerancia a la glucosa, al primer mes de restricción, las hembras mostraron una reducción no significativa de los niveles plasmáticos de glucosa a los 30, 60, 90 y 120 minutos de su PTG al compararlos con los obtenidos en su PTG antes de la restricción en el consumo de alimento; por consiguiente, siguieron exhibiendo su estado hiperglucémico. El área bajo la curva de tolerancia a la glucosa de las hembras decreció 17.41% con respecto de la observada en los mismos ratones antes de la restricción, aunque este decremento no fue estadísticamente significativo (Tabla No. 9).

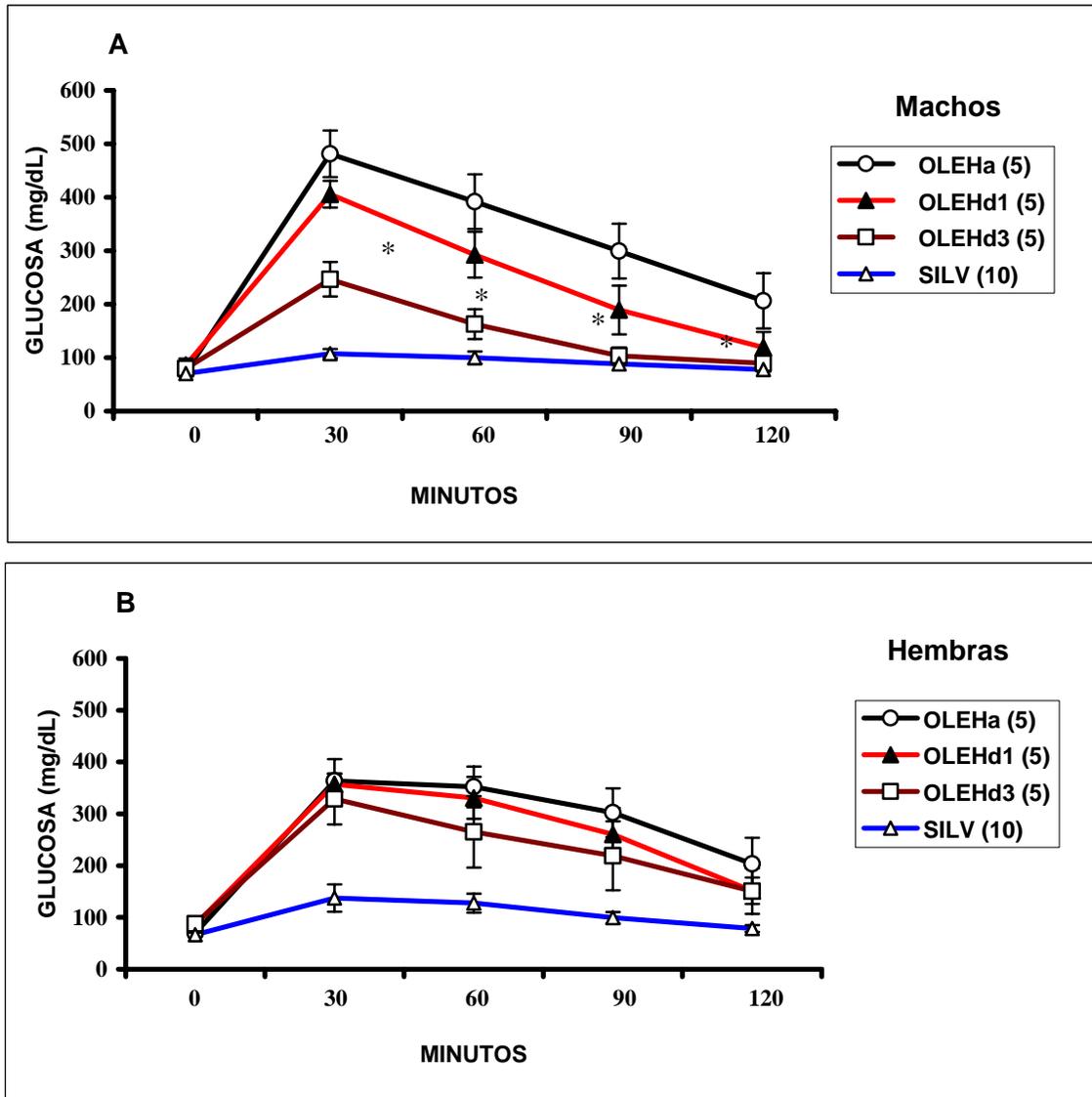
c) Glucemia basal y prueba de tolerancia a la glucosa (PTG) después de tres meses de restricción en el consumo de alimento.

A los tres meses de restricción, la concentración basal de glucosa de los ratones machos tampoco presentó diferencias estadísticamente significativas con respecto de la determinada en el mismo grupo antes de la restricción en el consumo de alimento. No obstante, en comparación con el período anterior a la restricción, los machos exhibieron una reducción estadísticamente significativa de la glucosa plasmática a los 30, 60, 90 y 120 minutos de su PTG, por lo que prácticamente revirtieron su estado hiperglucémico (Gráfica No. 3A). El área bajo la curva de tolerancia a la glucosa disminuyó 69.72% en relación con la estimada en el mismo grupo antes de la restricción en el consumo de alimento, y estadísticamente este decremento fue significativo (Tabla No. 9).

Después de tres meses de restricción en el consumo de alimento las hembras tampoco mostraron diferencias estadísticamente significativas de su glucemia basal con respecto de la concentración exhibida por el mismo grupo antes de la restricción. Al igual que en el 1er. mes de restricción, a los tres meses de ésta, las hembras presentaron una reducción de los niveles de glucosa plasmática a los 30, 60, 90 y 120 minutos respecto a los de la PTG anterior a la restricción en el consumo de alimento, que no alcanzó a ser significativa (Gráfica No. 3B). El área bajo la curva de tolerancia a la glucosa exhibida por este grupo decreció 29.98% con respecto de la mostrada antes de la restricción, pero este decremento no fue estadísticamente significativo (Tabla No. 9).

GRAFICA No.3

Curvas de tolerancia a la glucosa de ratones OLEH (*Neotomodon alstoni alstoni*) antes y después de uno y tres meses de restricción en el consumo de alimento.



¹ Media ± ES (n).

OLEHa= Ratones obesos con de lipomas y esteatosis hepática antes de la restricción en el consumo de alimento.

OLEHd1= El grupo anterior al 1er. mes de la restricción en el consumo de alimento.

OLEHd3= El mismo grupo 3 meses después de la restricción en el consumo de alimento.

SILV= Ratones silvestres de reciente captura sin obesidad ni lipomas y esteatosis hepática (no fueron sometidos a restricción de su dieta).

*P< 0.05 vs el mismo sexo antes de la restricción en el consumo de alimento.

TABLA No. 9

Area bajo la curva de la prueba de tolerancia a la glucosa en ratones OLEH antes y después de 3 meses de restricción en el consumo de alimento ¹

Restricción de la dieta (meses)	♂ OLEH (5)	♀ OLEH (5)	♂ SILV (10)	♀ SILV (10)
0	30648 ± 4303	26277 ± 4762	2912 ± 857	5213 ± 1571
1	19755 ± 2628	21702 ± 3442		
3	9279 ± 2112 *	18399 ± 5983		

OLEH= Ratones obesos con de lipomas y esteatosis hepática.

SILV= Ratones silvestres de reciente captura sin obesidad ni lipomas y esteatosis hepática (no fueron sometidos a restricción en el consumo de alimento).

¹ Los valores se presentan como la media ± ES (n).

*P < 0.05 vs el mismo sexo antes de la restricción en el consumo de alimento.

d) Concentración plasmática de insulina tres meses después de la restricción en el consumo de alimento durante los picos de hiperglucemia en la PTG.

En comparación con los niveles plasmáticos de insulina mostrados por los ratones de ambos sexos antes de la restricción en el consumo de alimento, después de tres meses de ésta tanto los machos como las hembras exhibieron durante los picos de hiperglucemia una reducción estadísticamente significativa de los perfiles plasmáticos de insulina, aunque éstos fueron más elevados que los encontrados en animales silvestres (Tabla No. 10).

TABLA No. 10

Concentración plasmática de insulina durante los picos de hiperglucemia de la PTG en el ratón de los volcanes OLEH antes y tres meses después de la restricción en el consumo de alimento ¹

Restricción (meses)	Insulina en PTG (µU/mL)							
	♂ OLEH		♀ OLEH		♂ SILVESTRES		♀ SILVESTRES	
	30 min	60 min	30 min	60 min	30 min	60 min	30 min	60 min
0	31 ± 2 ▲ (5)	41 ± 1 ▲ (5)	28 ± 1 ▲ (5)	34 ± 3 ▲ (5)	16 ± 2 (10)	14 ± 1 (10)	15 ± 1 (10)	15 ± 1 (10)
3	17 ± 1 * (5)	16 ± 1 * (5)	22 ± 1 * ▲ (5)	20 ± 1 * ▲ (5)				

¹ Los valores se presentan como media ± ES (n).

*P < 0.05 vs el mismo sexo sin restricción.

▲ P < 0.05 vs el mismo sexo de animales silvestres.

e) *Concentración plasmática de TG después de uno y tres meses de restricción en el consumo de alimento.*

Como puede observarse en la Tabla No. 11, después de uno y tres meses de restricción en el consumo de alimento tanto los machos como las hembras exhibieron una reducción estadísticamente significativa de la concentración plasmática de TG con respecto de lo observado antes de la restricción. Alcanzando valores similares a los de los animales silvestres.

f) *Concentración plasmática de COT después de uno y tres meses de restricción en el consumo de alimento.*

Después del primer mes de la restricción la concentración plasmática de COT tanto en los machos como en las hembras, presentó una reducción no significativa con respecto de los valores estimados antes de la restricción en el consumo de alimento; mientras que a los tres meses de la restricción los niveles plasmáticos de COT en ambos grupos mostraron una disminución significativa con respecto de lo observado antes de esta condición y también menores a los presentados por los ratones silvestres (Tabla No. 11).

TABLA No. 11
Concentración plasmática de triacilgliceroles y colesterol total en ratones OLEH antes y después de la restricción en el consumo de alimento.¹

Restricción (meses)	Grupo	Triacilgliceroles (mg/dL)	Colesterol total (mg/dL)
0	♂ SILVESTRES	94 ± 6 (10)	167 ± 1 (10)
	♀ SILVESTRES	129 ± 18 (10)	170 ± 2 (10)
	♂ OLEH	287 ± 14 (5)	164 ± 7 (5)
	♀ OLEH	246 ± 24 (5)	164 ± 3 (5)
1	♂ OLEH	156 ± 23 (5) *▲	159 ± 17 (5)
	♀ OLEH	93 ± 9 (5) *	160 ± 8 (5)
3	♂ OLEH	137 ± 33 (5) *	88 ± 21 (5) *▲
	♀ OLEH	87 ± 13 (5) *	94 ± 12 (5) *▲

¹ Los valores se presentan como media ± ES (n).

*P < 0.05 vs el mismo sexo sin restricción.

▲ P < 0.05 vs el mismo sexo de animales silvestres.

g) Efecto de la restricción en el consumo de alimento sobre la presencia de lipomas y esteatosis hepática después de tres meses.

Como se observa en el Tabla No. 12, después de tres meses, la restricción en el consumo de alimento indujo la involución de los lipomas en el 80% de los ratones machos y en el 60% de las hembras. En el 20% de los machos en los que no se apreció la regresión total de lipomas, éstos presentaron un diámetro <2 cm (pequeño); mientras que el 40% de las hembras los lipomas tuvieron un tamaño mediano (> 2 y <3 cm). Tanto en los machos como en las hembras, los lipomas se caracterizaron por la presencia de una masa de tejido adiposo de consistencia dura, fibrosa y crepitante a la presión. Respecto a la EH, tres meses después de la restricción en el consumo de alimento, tanto los machos como las hembras presentaron una reversión parcial de la esteatosis hepática; 60% de los machos exhibieron EH periportal micro-macrovacuolar de grado I, 20% de grado II y el mismo porcentaje desarrollo EH de grado III. De igual forma, 60% de las hembras mostraron EH periportal micro-macrovacuolar de grado II, 20 % de grado I y un porcentaje similar de grado III (Figs. 4, 5 y 6).

TABLA No. 12

Efecto de la restricción en el consumo de alimento sobre la presencia de lipomas y esteatosis hepática en ratones OLEH después de tres meses.

Grupo	Lipomas ¹ (%)			Grado de EH ² (%)		
	Pequeño	Mediano	Grande	I	II	III
Machos (5)	1 (20.0)	0	0	3 (60.0)	1 (20.0)	1 (20.0)
Hembras (5)	0	2 (40.0)	0	1 (20.0)	3 (60.0)	1 (20.0)

¹ Los lipomas fueron clasificados en tres grados de tamaño: pequeños (< 2 cm), medianos (> 2 y < 3 cm) y grandes (> 3 cm); (n).

² La EH se clasificó en tres grados desarrollo considerando la severidad de las lesiones histológicas del hígado: leve (I), moderada (II) y severa (III).

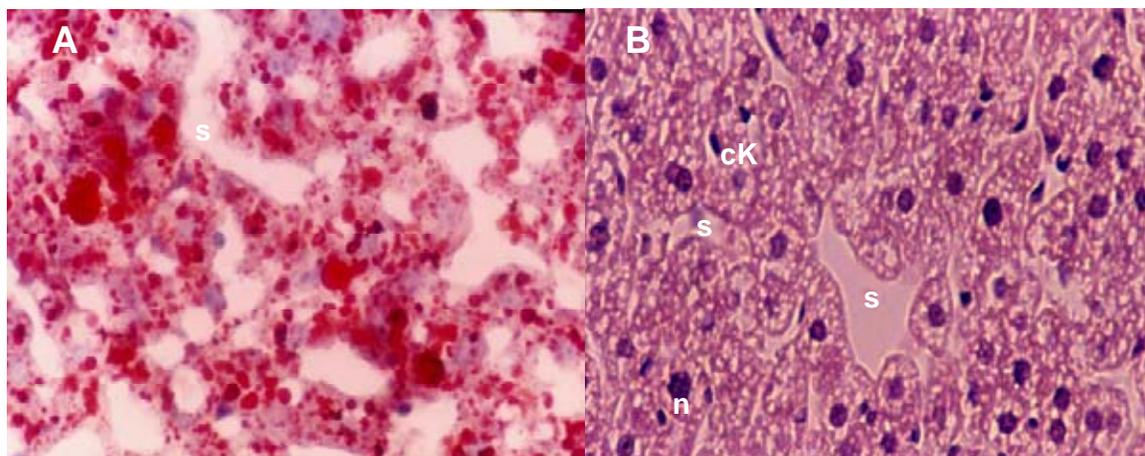


Fig. 4. A) Corte del tejido hepático de un ratón macho OLEH que presentó una involución parcial de su lipoma 3 meses después de la restricción en el consumo de alimento. Obsérvese la presencia de EH periportal micro-macrovacuolar de grado III (severa). El citoplasma de los hepatocitos contiene gran cantidad de vacuolas lipídicas, las cuales fueron positivas a la tinción de Sudán IV (áreas teñidas de rojo). B) Aspecto histológico del mismo corte de tejido hepático teñido con Hematoxilina y Eosina. El citoplasma de los hepatocitos muestra una apariencia pálida y espumosa por la infiltración masiva de vacuolas lipídicas debido a la persistencia de EH (flechas). En los hepatocitos también se advierten los contornos vacíos de las vacuolas intracitoplásmicas en las que existieron los lípidos que fueron disueltos por procesamiento histológico. Obsérvese también la estenosis de los espacios sinusoidales (s) debido a la hipertrofia de las células hepáticas. Núcleo (n) y células de Kuffer (cK), X118.5.

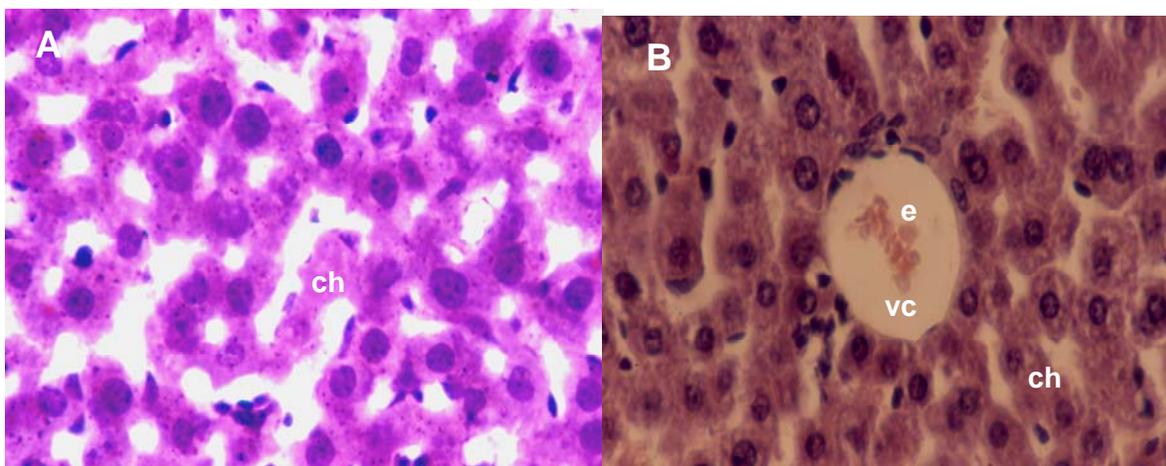


Figura. 5. A) Microfotografía de un corte de tejido hepático normal de un ratón silvestre macho (*Neotomodon a. a.*) teñido con Sudán IV. Se muestran los cordones de hepatocitos (ch) de una zona adyacente al espacio periportal y la ausencia de infiltración de vacuolas lipídicas en estas células, hallazgo indicativo de la inexistencia de EH, X118.5. B) Aspecto histológico de un corte de tejido hepático teñido con Hematoxilina y Eosina de un ratón OLEH hembra después de la restricción en el consumo de alimento. La imagen muestra la zona centrolobulillar. Al centro se observa una vena centrolobulillar (vc) con algunos eritrocitos (e) en su luz; mientras que en la periferia los cordones de células hepáticas (ch) no muestran la presencia de EH. X118.5.

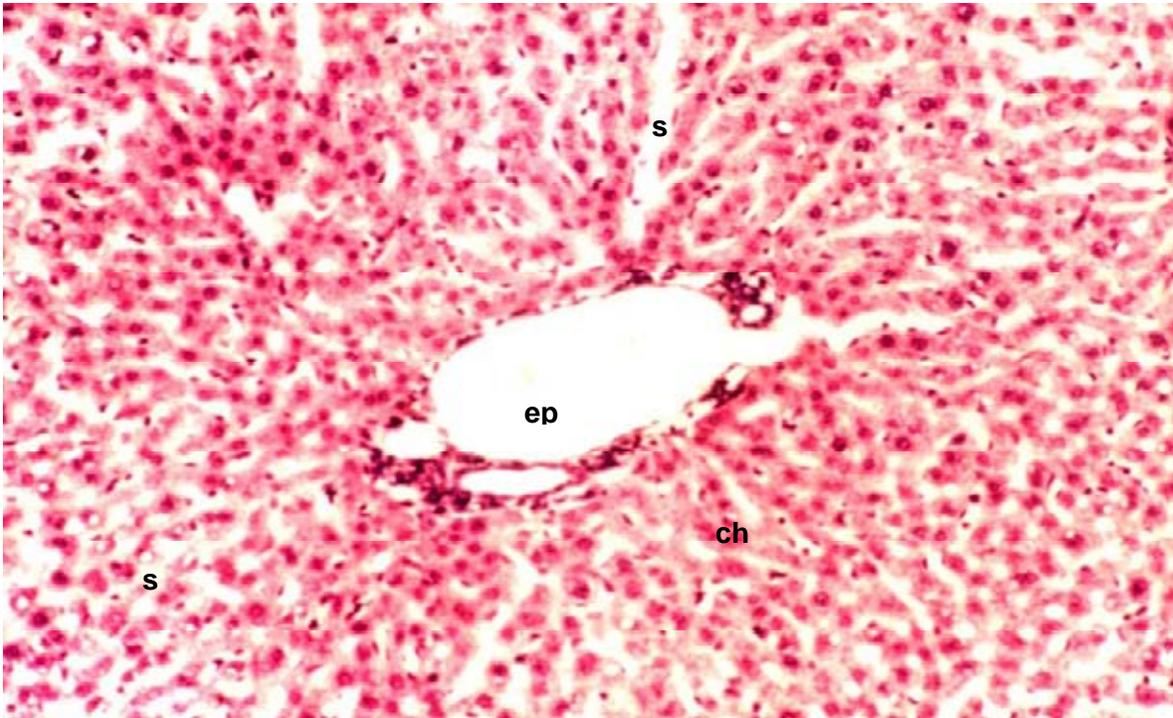


Figura 6. Microfotografía a bajo aumento que muestra al centro el espacio porta (ep) de un lobulillo hepático de un ratón OLEH macho que presentó reversión total del lipoma y la EH 3 meses después de la restricción en el consumo de alimento. Adviértase la ausencia de EH. Los hepatocitos no presentan el aspecto espumoso producido por la vacuolización lipídica de la EH y tanto los cordones hepáticos (ch) como los espacios sinusoidales (s) presentan la organización estructural típica del tejido hepático normal. Hematoxilina y Eosina, X10.

Experimento No.4. Vinculación de intolerancia a la glucosa desarrollada por los ratones OLEH con la presencia de resistencia a la insulina. .

a) Glucemia basal y perfil glucémico durante la PTG después un mes de tratamiento con metformina.

Al cabo de un mes del tratamiento con metformina (aproximadamente 320 mg/Kg de p.c./día) la glucemia basal de los ratones machos se redujo ligeramente, aunque no mostró diferencias estadísticamente significativas con respecto de la estimada en el mismo grupo antes de su tratamiento con este hipoglucemiante. Asimismo, al comparar los perfiles glucémicos observados en los ratones machos durante su PTG antes del tratamiento con metformina, durante el primer mes de esta condición estos ratones exhibieron una reducción de los niveles plasmáticos de glucosa a los 30, 60, 90 y 120 minutos de su PTG que no alcanzó a ser significativa, por ende, mantuvieron su estado hiperglucémico (Gráfica No.4A). Sin embargo, la depuración de glucosa durante este

período fue más rápida que la exhibida por ellos antes de su terapia. Como lo muestra el área bajo la curva de tolerancia que decreció 12.8%, aunque este decremento no fue estadísticamente significativo (Tabla No. 13).

En las hembras alrededor del primer mes de tratamiento con metformina la concentración basal de glucosa se redujo más aún que en los machos, sin embargo no presentó diferencias estadísticas significativas con respecto de la observada en el mismo grupo antes de su terapia; en comparación con los perfiles glucémicos exhibidos durante su PTG antes del tratamiento, las hembras después de un mes de la terapia con este hipoglucemiante mostraron una reducción no significativa de los niveles plasmáticos de glucosa a los 30, 60, 90 y 120 minutos de su PTG (Gráfica No.4B). El área bajo la curva de tolerancia decreció 1.69% pero este decremento que no alcanzó a ser estadísticamente significativo (Tabla No. 13).

b) Glucemia basal y perfil glucémico durante la PTG después de tres meses de tratamiento con metformina.

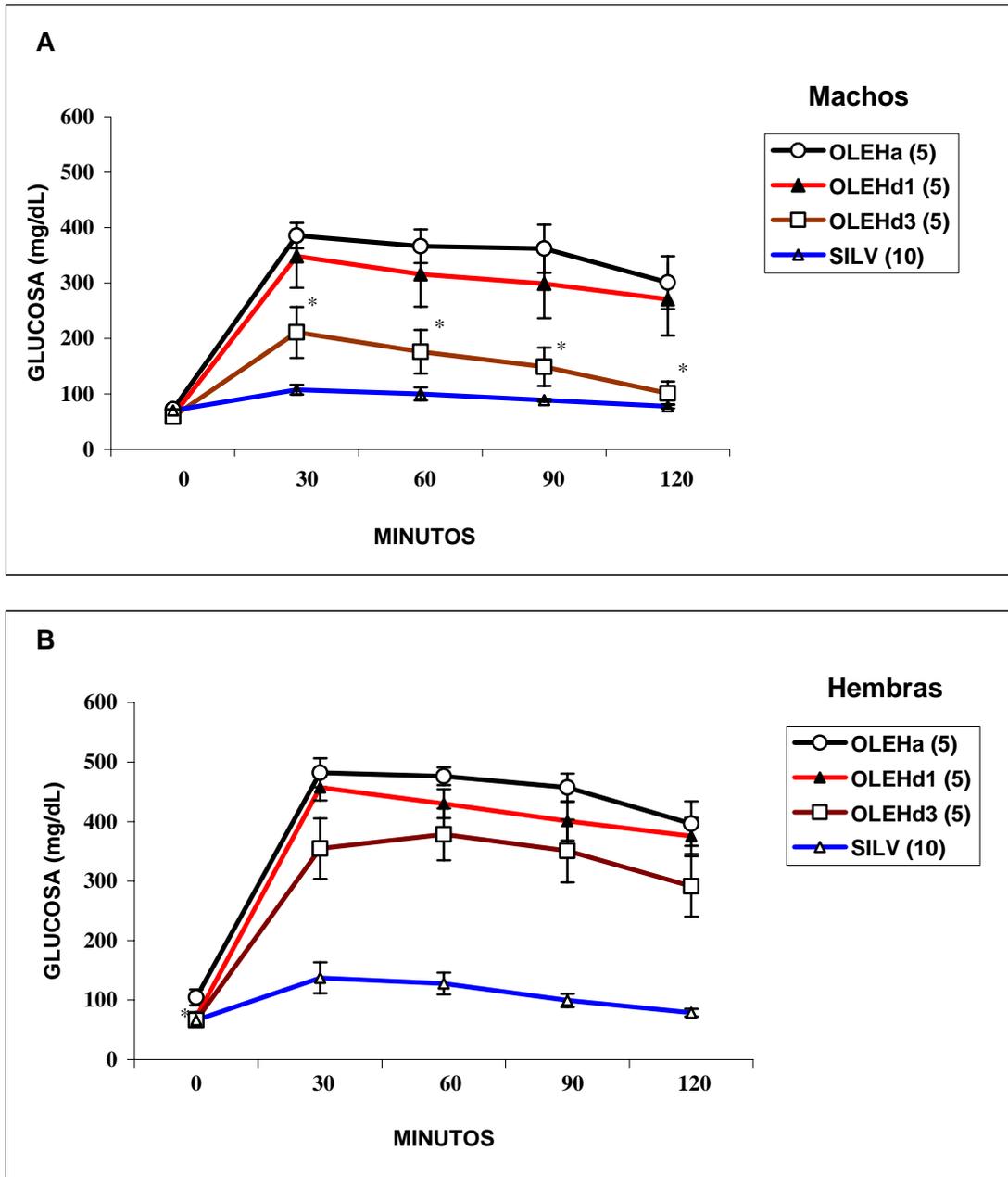
A los tres meses del tratamiento con metformina, la concentración basal de glucosa de los ratones machos se redujo en promedio pero tampoco mostró diferencias estadísticas significativas con respecto de la observada en el mismo grupo antes de su terapia (Gráfica No. 4A). Por otra parte, en comparación con los perfiles glucémicos mostrados durante su PTG antes de su terapia con metformina, tres meses después de esta condición los machos manifestaron una reducción significativa de la glucosa plasmática a los 30, 60, 90 y 120 minutos de su PTG. Asimismo, durante este período el aclaramiento de glucosa mejoró a un nivel cercano al de los machos silvestres, con un área bajo la curva que disminuyó 61.58% con respecto a la estimada en el mismo grupo antes del tratamiento y cuya reducción estadísticamente fue significativa (Tabla No. 13).

Tres meses después del tratamiento con metformina, la glucemia de ayuno de las hembras mostró un descenso estadísticamente significativo cuando se comparó con el estado glucémico basal que exhibió este grupo antes de su tratamiento (Gráfica No.4B). En la PTG las hembras mostraron una disminución no significativa de sus perfiles glucémicos a los 30, 60, 90 y 120 minutos, manteniendo un estado hiperglucémico. Sin embargo, durante este período, a lo largo de las 2 horas de su PTG las hembras presentaron un claro descenso de los niveles plasmáticos de glucosa en comparación con los observados antes y después del primer mes de su terapia. En consecuencia, a los tres meses del tratamiento con metformina el área bajo la curva de tolerancia exhibida por este grupo decreció 20.1% con respecto de la estimada antes de la terapia con este

hipoglucemiante; sin embargo, este decremento estadísticamente no alcanzó a ser significativo (Tabla No. 13).

GRAFICA No. 4

Curvas de tolerancia a la glucosa en ratones OLEH (*Neotomodon alstoni alstoni*) antes y después del tratamiento con metformina.



¹ Media ± ES (n).

OLEHa= Ratones obesos con de lipomas y esteatosis hepática antes del tratamiento con metformina.

OLEHd1= El grupo anterior al 1er. mes de tratamiento.

OLEHd3= El mismo grupo 3 meses después del tratamiento.

SILV= Ratones silvestres de reciente captura sin obesidad ni lipomas y esteatosis hepática (no fueron tratados).

*P < 0.05 vs el mismo sexo antes del tratamiento con metformina.

TABLA No. 13

Area bajo la curva de la prueba de tolerancia a la glucosa en ratones OLEH antes y después de 3 meses del tratamiento con metformina.¹

Tratamiento (meses)	♂ OLEH (5)	♀ OLEH (5)	♂ SILV (10)	♀ SILV (10)
0	30417 ± 2793	37449 ± 2437	2912 ± 857	5213 ± 571
1	26523 ± 5611	36813 ± 2985		
3	11685 ± 291 *	29909 ± 5192		

OLEH= Ratones obesos con de lipomas y esteatosis hepática.

SILV= Ratones silvestres de reciente captura sin obesidad ni lipomas y esteatosis hepática (no fueron sometidos a tratamiento).

¹ Los valores se presentan como la media ± ES (n).

*P< 0.05 vs el mismo sexo antes del tratamiento con metformina.

c) Concentración plasmática de insulina durante los picos de hiperglucemia de la PTG tres meses después del tratamiento con metformina.

Como se muestra en la Tabla No. 14 al cabo de tres meses de tratamiento con metformina, los ratones machos a los 30 y 60 minutos del estado de hiperglucemia, presentaron una reducción estadísticamente significativa de la concentración plasmática de insulina con respecto de los niveles apreciados en este grupo antes de su terapia. De igual manera, después de tres meses de tratamiento, las hembras a los 30 minutos de la fase de hiperglucemia presentaron una reducción significativa de la concentración plasmática de insulina con respecto de los valores mostrados por este grupo antes de su terapia; mientras que a los 60 minutos de dicha fase, no exhibieron una diferencia estadísticamente significativa (Tabla No. 14).

TABLA No. 14

Concentración plasmática de insulina durante los picos de hiperglucemia de la PTG en el ratón de los volcanes OLEH antes y tres meses después del tratamiento con metformina.¹

Tratamiento (meses)	Insulina en PTG (μU/mL)							
	♂ OLEH		♀ OLEH		♂ SILVESTRES		♀ SILVESTRES	
	30 min	60 min	30 min	60 min	30 min	60 min	30 min	60 min
0	31 ± 4▲ (5)	28 ± 4▲ (5)	36 ± 2▲ (5)	31 ± 1▲ (5)	16 ± 2 (10)	14 ± 1 (10)	15 ± 1 (10)	15 ± 1 (10)
3	17 ± 4* (5)	16 ± 2* (5)	24 ± 4*▲ (5)	28 ± 3▲ (5)				

¹ Los valores se presentan como media ± ES (n).

*P < 0.05 vs el mismo sexo antes del tratamiento con metformina.

▲ P < 0.05 vs el mismo sexo de animales silvestres.

VIII. DISCUSION

Los resultados obtenidos en el primer experimento de este estudio indicaron que los ratones OLEH de ambos sexos no presentan hiperglucemia en estado de ayuno; sin embargo, después de ser sometidos a PTG estos ratones en comparación con los controles (ratones silvestres de la especie) exhibieron un incremento significativo de su glucosa plasmática a lo largo de los 120 minutos de esta prueba, mostrando un estado de hiperglucemia superior a los 200 mg/dL. Estas evidencias, sugieren que los ratones OLEH de manera similar a diferentes modelos que se han utilizado en el estudio de la obesidad, el SM y la DMIND son intolerantes a la glucosa y presentan hiperglucemia postprandial. En los ratones OLEH al igual que en estos modelos la presencia de intolerancia a la glucosa y la hiperglucemia a que conduce este estado podrían ser atribuidas al desarrollo de insulino resistencia (197, 198, 199). La aseveración de que los ratones OLEH de ambos sexos son intolerantes a la glucosa se sustenta en la evidencia de que la capacidad de aclaramiento de glucosa exhibida por estos ratones fue inferior a la mostrada por los ratones silvestres y en la confirmación de que el área bajo la curva de tolerancia tuvo un claro incremento en los ratones OLEH con respecto de la estimada en los controles silvestres. Además, la afirmación de que los ratones OLEH presenten resistencia a la insulina (RI) también se sustenta en el hecho de que a diferencia de los controles silvestres los machos y las hembras OLEH mostraron un incremento

TABLA No. 14

Concentración plasmática de insulina durante los picos de hiperglucemia de la PTG en el ratón de los volcanes OLEH antes y tres meses después del tratamiento con metformina.¹

Tratamiento (meses)	Insulina en PTG (μU/mL)							
	♂ OLEH		♀ OLEH		♂ SILVESTRES		♀ SILVESTRES	
	30 min	60 min	30 min	60 min	30 min	60 min	30 min	60 min
0	31 ± 4▲ (5)	28 ± 4▲ (5)	36 ± 2▲ (5)	31 ± 1▲ (5)	16 ± 2 (10)	14 ± 1 (10)	15 ± 1 (10)	15 ± 1 (10)
3	17 ± 4* (5)	16 ± 2* (5)	24 ± 4*▲ (5)	28 ± 3▲ (5)				

¹ Los valores se presentan como media ± ES (n).

*P < 0.05 vs el mismo sexo antes del tratamiento con metformina.

▲ P < 0.05 vs el mismo sexo de animales silvestres.

VIII. DISCUSION

Los resultados obtenidos en el primer experimento de este estudio indicaron que los ratones OLEH de ambos sexos no presentan hiperglucemia en estado de ayuno; sin embargo, después de ser sometidos a PTG estos ratones en comparación con los controles (ratones silvestres de la especie) exhibieron un incremento significativo de su glucosa plasmática a lo largo de los 120 minutos de esta prueba, mostrando un estado de hiperglucemia superior a los 200 mg/dL. Estas evidencias, sugieren que los ratones OLEH de manera similar a diferentes modelos que se han utilizado en el estudio de la obesidad, el SM y la DMIND son intolerantes a la glucosa y presentan hiperglucemia postprandial. En los ratones OLEH al igual que en estos modelos la presencia de intolerancia a la glucosa y la hiperglucemia a que conduce este estado podrían ser atribuidas al desarrollo de insulino resistencia (197, 198, 199). La aseveración de que los ratones OLEH de ambos sexos son intolerantes a la glucosa se sustenta en la evidencia de que la capacidad de aclaramiento de glucosa exhibida por estos ratones fue inferior a la mostrada por los ratones silvestres y en la confirmación de que el área bajo la curva de tolerancia tuvo un claro incremento en los ratones OLEH con respecto de la estimada en los controles silvestres. Además, la afirmación de que los ratones OLEH presenten resistencia a la insulina (RI) también se sustenta en el hecho de que a diferencia de los controles silvestres los machos y las hembras OLEH mostraron un incremento

estadísticamente significativo de la concentración plasmática de insulina durante los picos de hiperglucemia de las PTG.

En la rata Koletsky (SHROB), un modelo para el estudio del SM (197), también se ha indicado la ausencia de hiperglucemia en condiciones de ayuno, pero la presencia de otros componentes del síndrome metabólico, tales como intolerancia a la glucosa, RI, dislipidemia e hipertensión (198). En las ratas JCR:LA-cp (con mutación en el gen corpulento *cp/cp*), una cepa con enfermedad cardiovascular espontánea que ha sido utilizada como modelo de obesidad e insulino resistencia se ha descrito la presencia de normoglucemia basal, pero un deterioro de la tolerancia a la glucosa después de una carga oral de glucosa y el desarrollo completo de hiperinsulinemia a las 8 semanas de edad, la cual se ha atribuido una severa RI que no esta presente a las 4 semanas de edad (199). Algunas evidencias observadas en éstos y en otros modelos sugieren que la presencia de normoglucemia basal, a pesar de que los animales exhiben intolerancia a la glucosa en estado postprandial, podría estar relacionada con su capacidad para compensar la hiperglucemia basal a través de una mayor secreción de insulina. Estas observaciones implican la necesidad de cuantificar en futuros estudios la concentración basal de insulina de los ratones OLEH y establecer si estos roedores exhiben hiperinsulinemia bajo esta condición. Por otra parte, en los humanos con DMIND se ha indicado que la progresión del estado euglicémico hacia la intolerancia a la glucosa está asociada con un incremento en la secreción de insulina estimulada por la glucosa. Asimismo, se ha señalado que la conversión de un individuo euglicémico a uno intolerante a la glucosa está relacionada con el desarrollo de RI (200).

Como señale anteriormente, la presencia de hiperglucemia postprandial en los ratones OLEH durante su PTG sugiere la posibilidad de que estos animales presentan resistencia a la acción de la insulina en los tejidos periféricos. A este respecto, en modelos animales y en humanos con SM o DMIND se ha establecido que los casos de hiperglucemia postprandial debidos a la presencia de RI suelen caracterizarse por una menor captación de glucosa por los músculos, el hígado, el tejido adiposo y el páncreas, lo cual inicialmente conlleva a una mayor secreción de insulina por el páncreas y a insulinemia postprandial (201, 202). Además, se ha observado que tanto la RI con hiperinsulinemia como la deficiencia de insulina pueden conllevar a una reducción de la captación de glucosa por los tejidos periféricos contribuyendo al desarrollo de la hiperglucemia basal y postprandial. En otros estudios se ha encontrado que el incremento de la PHG conjuntamente con la reducción de la oxidación de la glucosa y de su capacidad para depositarse como glucógeno, también pueden exacerbar la severidad de la hiperglucemia (203). Los efectos de la insulina sobre las tasas de lipólisis y oxidación

de grasas igualmente afectan la captación, oxidación y almacenamiento de glucosa (204, 205). En los humanos que desarrollan diabetes Mody tipo 2 la incapacidad del hígado para depurar niveles incrementados de glucosa durante el postprandio se ha relacionado con varias mutaciones del gen que codifica para la glucocinasa hepática (206). Asimismo, se ha señalado que durante el curso del desarrollo del SM y la DMIND el aumento de la liberación de AGL a la circulación sistémica y portal debido al incremento de la lipólisis de los TG almacenados en los adipocitos podría conllevar a varias anomalías involucradas en el desarrollo de hiperglucemia postprandial; e.g., a la interferencia del metabolismo de la glucosa, al desarrollo de RI en los tejidos sensibles a la insulina y a toxicidad pancreática (131, 207, 208, 209, 164, 169), entre otras alteraciones.

Debido a que en los ratones OLEH la presencia de intolerancia a la glucosa y la hiperglucemia postprandial a que conlleva este estado sólo sugieren la existencia de RI en estos animales, hasta el momento no es posible profundizar sobre el origen etiológico de esta alteración en los ratones OLEH. No obstante, es conveniente señalar que numerosas evidencias obtenidas a partir del uso de modelos animales han permitido establecer algunos de los factores y mecanismos moleculares involucrados en el desarrollo de la RI; e.g., en el jerbo *Psammomys* obeso la RI ha sido atribuida a la excesiva ingesta de energía secundaria a la hiperinsulinemia, la cual se ha propuesto que podría ser inducida por la presencia de hiperfagia. Sin embargo, en esta especie no es claro si ésta es debida al desarrollo de obesidad o si la obesidad es un efecto secundario de la hiperfagia que conlleva a la RI (210, 211, 212, 213, 214, 215). En las ratas JCR:LA-cp, las cuales también exhiben hiperfagia a una edad temprana, la RI ha sido atribuida a una completa ausencia de la captación de glucosa por los tejidos periféricos mediada por la insulina y a la reducción del aclaramiento sanguíneo de glucosa (216, 217). Por otra parte, otros estudios han comprobado que la ingesta de dietas altamente energéticas (218, 219, 220) además de contribuir al desarrollo de RI y obesidad, también conlleva a la manifestación de hiperleptinemia, hiperglucemia e insulinemia (221). Un efecto similar de las dietas ricas en grasa ha sido observado en varias cepas de ratones (222), como es el caso de los ratones C57BL/6J, los cuales únicamente en respuesta a una dieta alta en grasas monoinsaturadas desarrollan la mayor parte de los trastornos observados en el SM y la DMIND, e.g., RI, obesidad, hiperglucemia, hiperinsulinemia y un mayor depósito de TG en el hígado y en el músculo esquelético (223, 224). En estos ratones se ha observado que la hiperinsulinemia y la hiperglucemia son reguladas a través de la expresión de diferentes genes (225, 226, 227).

En algunos estudios se ha encontrado que las dietas altas en sacarosa son inductoras aún más potentes de RI que las dietas altas en grasa (228), e.g., en la rata

Koletsky, a pesar de la euglicemia, el exceso dietético de sacarosa incrementa el deterioro de la tolerancia a la glucosa y la insulinemia (198). En algunos modelos de ratas obesas, el exceso de sacarosa en la dieta también puede producir o incrementar la severidad de la DMIND (229). Los ratones BKS-*Lep^{db}* alimentados con 60% de azúcares refinados (glucosa, fructosa, sacarosa) exhiben niveles más altos de hiperglucemia y desarrollan EH, especialmente con dietas altas en fructosa. Otros reportes indican que la administración de aminoácidos y AG en la dieta puede reducir el depósito de glucosa y mantener el estado de hiperglucemia hasta inducir el desarrollo de RI. En cultivos celulares y modelos animales se ha demostrado que los AG y los aminoácidos inhiben rápidamente la acción de la insulina a nivel postreceptor y la activación de glucógeno sintetasa. Estas observaciones soportan totalmente la hipótesis de que la RI puede ser una consecuencia de la obesidad y establecen la posibilidad de que los nutrimentos de la dieta y los patrones de alimentación puedan modular de forma directa las señales de la insulina (230), quizás a través de una vía común, que podría involucrar al metabolismo hepático y una acción directa de los nutrientes sobre la composición de los fosfolípidos de las membranas celulares (231, 232).

Las evidencias antes señaladas permiten conjeturar que en los ratones OLEH el acceso al consumo de alimento *ad libitum* en el laboratorio y la presencia de un estado de sedentarismo inducido por cautiverio podrían conducir a un menor gasto energético. En este medio ambiente, el incremento de la ingesta de una dieta alta en energía, el probable desarrollo de hiperfagia y la subsecuente exhibición de obesidad podrían llevar al desarrollo de RI a través de un mecanismo similar al observado en los modelos animales y en humanos que desarrollan SM y DMIND (197, 233, 234). Esta incógnita plantea la posibilidad de realizar en los ratones OLEH una amplia gama de protocolos de investigación que permitan establecer la participación de algunos factores clave en este proceso, tales como el sedentarismo, la composición nutrimental de la dieta y la presencia de hiperfagia y obesidad, así como de las alteraciones secundarias a estos trastornos, particularmente el incremento de los depósitos de TG y del flujo adipo-hepático de AGL.

Con relación a este último aspecto, en el primer experimento de este estudio se observó que aunque la concentración plasmática de TG no fue significativa, los ratones OLEH de ambos sexos presentaron niveles más elevados de TG que el grupo control. En un estudio previo con ratones OLEH, Diego (34) encontró diferencias significativas en los niveles séricos de TG de estos animales con respecto de los mostrados por los controles de tipo silvestre. La variación en la significancia estadística de los perfiles de TG determinados en los ratones OLEH de este estudio con respecto de los establecidos por Diego (34) en animales con el mismo fenotipo, quizás fue debida a que los ratones

silvestres control utilizados en la presente investigación fueron capturados en una época del año de mayor abundancia de alimento (marzo-mayo). Por otra parte, con respecto a la concentración plasmática de COT, los resultados de la presente investigación demostraron que los ratones OLEH de ambos sexos, en particular las hembras, exhibieron una concentración plasmática de COT inferior a la cuantificada en los ratones silvestres; sin embargo, aún bajo esta condición los ratones OLEH machos y hembras presentaron normocolesterolemia. A pesar de que los ratones OLEH no tuvieron un incremento del colesterol total, la presencia de hipertrigliceridemia es indicativa de que estos roedores exhiben una de las principales anomalías de la dislipidemia, que también ha sido observada en algunos modelos animales y en los humanos que desarrollan obesidad, SM y DMIND (131, 234, 235, 236, 237). Diversos estudios coinciden en señalar que la hipertrigliceridemia, el incremento del colesterol total, los niveles bajos de colesterol-HDL y el incremento de colesterol-LDL constituyen el grupo de alteraciones más comunes vinculadas a la dislipidemia (95,128, 129, 233, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247), e.g., las ratas Koletsky que desarrollan SM exhiben un estado de hiperlipidemia distinguido por una marcada elevación de los TG plasmáticos y un moderado aumento del colesterol plasmático (248). En las ratas de la cepa JCR:LA-cp la dislipidemia se caracteriza por altos niveles de TG, un ligero aumento del colesterol y una hipersecreción de VLDL (217, 249, 250). En esta cepa se ha establecido que la dislipidemia precede al incremento de los niveles de insulina plasmática (219). Además, durante el estado de preobesidad, la RI del músculo esquelético se asocia con hipertrigliceridemia antes de que ocurra el desarrollo de insulino resistencia en el tejido adiposo o en el hígado (228, 251, 252, 253). Tanto en la obesidad como en el SM y la DMIND se ha propuesto que la pérdida de la acción antilipolítica de la insulina sobre las células adiposas puede inducir el desarrollo de dislipidemia. En varios estudios se ha comprobado que durante la hipertrigliceridemia aumenta la hidrólisis de TG y existe una mayor disponibilidad de AGL procedentes de los adipocitos. Se ha señalado que el mayor flujo de AGL o de sus metabolitos hacia el hígado a través de la circulación portal además de estimular una mayor síntesis hepática de TG e incrementar la secreción de VLDL ricas en éstos, también podría conllevar a cambios estructurales en la membrana celular, al bloqueo de la unión de la insulina a su receptor o a la inhibición de los mecanismos de fosforilación postreceptor de esta hormona; alteraciones que han sido asociadas con el desarrollo de RI, hiperinsulinismo en ayuno e la intolerancia a la glucosa (254, 255, 256). En último término, se piensa que un descenso de la oxidación de las VLDL ricas en TG incrementaría aún más la severidad de la hipertrigliceridemia

En la rata Wistar obesa la sobreproducción y el deterioro del catabolismo de los TG (257, 258) ha sido atribuida a un incremento de la expresión de las enzimas que promueven la lipogénesis, e.g., la piruvato cinasa (259). En varios estudios realizados en ratas y en humanos se ha observado que el consumo de dietas ricas en fructosa puede inducir hipertrigliceridemia (260, 261, 262, 263). Asimismo, se ha observado que las dietas altas en sacarosa producen un incremento de la tasa de secreción hepática de VLDL ricas en TG (264). Por otra parte, en los humanos y en varios modelos animales que manifiestan SM y/o DMIND se ha observado que la hiperinsulinemia y la RI también pueden dar lugar a un incremento de la secreción hepática de VLDL ricas en TG (237, 241, 245, 265, 266, 267). Este hecho se ha podido demostrar a través de algunas observaciones en humanos, en ratas *in vivo* y en hígados de ratas diabéticas perfundidos, las cuales indican que la insulina estimula la secreción hepática de VLDL-ricas en TG cuando el hígado es expuesto crónicamente a esta hormona (268, 269, 270, 271).

Otro de los factores que ha sido involucrado en el desarrollo de hipertrigliceridemia durante la obesidad es la inhibición de la actividad de la lipoprotein lipasa plasmática (LPLP) por la insulina. Asimismo, se han señalado que la actividad de la lipasa hepática, la cual actúa sobre VLDL ricas en TG, también puede estar aumentada en individuos obesos influyendo de manera importante en el desarrollo de la hipertrigliceridemia (272). Se ha sugerido que la inhibición de la actividad de la LPLP puede contribuir tanto a la presencia de hiperlipemia como al descenso de las concentraciones plasmáticas de Colesterol-HDL (273). En los humanos, la mutación del gen que codifica la LPLP también se ha vinculado con el desarrollo de hipertrigliceridemia. Se ha observado que la presencia de este estado puede conllevar a hipertrigliceridemia muy severa (274). En los mismos humanos, se ha encontrado que la deficiencia de apolipoproteína C-II también puede generar una elevación de las VLDL ricas en TG (274). Por otra parte, en los ratones BKS-*Lep^{db}* y en los B6-*Lep^{ob}* se ha señalado que el incremento de la lipogénesis, caracterizado por altos niveles de TG y AGL, podría estar asociado a la falta de expresión de la adiposina, una serina proteasa homóloga del factor de complemento D en humanos, que actúa como una molécula reguladora de los lípidos derivados de la célula (275).

Como puede observarse, las evidencias encontradas en estos estudios permiten conjeturar la posibilidad del desarrollo de un estado de insulino resistencia en los ratones OLEH, el cual podría estar asociado tanto con la disminución de la actividad de la LPL plasmática como con el aumento de la actividad de la lipasa hepática. Asimismo, la presencia de EH periportal en estos roedores es una prueba fiaciente de que el aumento del flujo de los AG a través del sistema porta hacia el hígado puede promover el

desarrollo de la hipertrigliceridemia. Además, el incremento de los TG plasmáticos en los ratones OLEH a diferencia de lo observado en los controles es un indicio más de la posible existencia de RI en los tejidos periféricos de estos roedores.

Por otra parte, en comparación con los ratones control, los OLEH exhibieron diferencias significativas en el consumo de alimento, el peso corporal y el índice Lee. Estos hallazgos confirman las observaciones señaladas por Carmona (33) y Diego (34) en el sentido de que los ratones OLEH presentan obesidad y un incremento de su tasa adipogénica, dos aspectos evidenciados tanto por el incremento significativo del índice Lee como por la presencia de lipomas, respectivamente. Asimismo, la diferencia estadísticamente significativa en el consumo de alimento de los ratones OLEH con respecto a los silvestres sugiere que los OLEH presentan hiperfagia; este hallazgo permite también establecer que el incremento de la ingesta de alimento podría ser uno de los principales factores involucrados en el desarrollo de las alteraciones observadas en el SM que presentan estos ratones. En algunos modelos animales y en los humanos que exhiben obesidad atribuida a la mutación del gen que codifica la leptina o que muestran resistencia al efecto de esta hormona, se ha observado un mayor consumo de alimento que sus grupos controles delgados debido a la presencia de hiperfagia (276, 277, 278, 279, 280). Varios estudios han comprobado que la hiperfagia *per se* puede producir el desarrollo de diversas alteraciones metabólicas, e.g., obesidad, hiperglucemia, RI, hiperinsulinemia, leptinemia, incremento de los depósitos de TG y un excesivo flujo de AGL hacia el hígado (221, 281, 282, 283). El mismo aumento de AGL puede regular la ingesta de alimento e inhibe la actividad de la insulina sobre los tejidos periféricos a nivel postreceptor induciendo al desarrollo de insulino resistencia (209, 284, 285, 286). Recientes investigaciones han propuesto que en los individuos obesos los niveles elevados y sostenidos de leptina plasmática pueden inducir la desregulación de la propia leptina sobre sus receptores en el hipotálamo, conllevando al desarrollo de hiperfagia (por atenuación de la saciedad y el gasto energético), a un mayor incremento de la gluconeogénesis y a la inhibición de algunos procesos a nivel postreceptor de la vía de señalización de la insulina (283, 287, 288). Además, dado que la leptina suprime la secreción de insulina a través de señales autónomas originadas en el circuito hipotalámico, la desregulación de la señal central de la leptina también puede contribuir al desarrollo de hiperinsulinemia. Asimismo, se ha indicado que bajo el incremento de la adipogénesis y una prolongada elevación de los niveles plasmáticos de leptina, la captación de esta hormona por las células- β del páncreas podría ser inhibida y originarse una falla en la supresión de la secreción de insulina, lo cual igualmente conduciría a un mayor incremento de la insulinemia.

Actualmente, se acepta que la obesidad es un problema multifactorial que ocurre como resultado de cambios genéticos o adquiridos en tres tipos de procesos bioquímicos: a) el control de la ingesta de alimento, el cual determina las sensaciones de saciedad y el hambre a través de procesos que dependen de una acción recíproca entre señales internas reguladas principalmente por un grupo de adipocitocinas producidas por el tejido adiposo (4, 6, 7, 8, 9, 10, 13, 16, 289, 292, 293, 294, 295), entre ellas la leptina, y factores ambientales; b) la eficiencia energética, en particular la activación de la termogénesis, es mediada por las proteínas desacoplantes (UCPs), las cuales permiten disipar una parte de la energía contenida en los alimentos como calor en lugar de acumularla como tejido adiposo (227, 296, 297, 298, 299, 300), y c) la adipogénesis, el proceso a través del cual se forman las células adiposas especializadas en almacenar grasa, es controlado por una acción recíproca de receptores nucleares y factores de transcripción, entre los que se incluyen miembros de las familias C/EBP, PPAR y SREBP (301, 302, 303, 304).

La analogía de los trastornos observados en el SM del ratón de los volcanes OLEH con las anomalías producidas durante la desregulación de las adipocitocinas permiten hipotetizar la posible influencia de estas proteínas de señalización en el desarrollo de obesidad de este roedor. Una amplia variedad de estudios han demostrado la estrecha relación entre estas adipocitocinas y la insulina (305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319). Además las evidencias obtenidas en estos estudios indican que la acción recíproca de las adipocitocinas y la insulina tiene como función el control de la homeostasis energética y, por lo tanto, se ha señalado que algunas alteraciones en el eje adipo-insular pueden contribuir al desarrollo de la obesidad y a la presencia de otras anomalías vinculadas con el SM y el origen de la DMIND (289).

Los estudios respecto a la actividad de las adipocitocinas y la investigación sobre la hipótesis de la desregulación del eje adipo-insular pueden conducir a la identificación de diversos factores clave tanto en el desarrollo de la obesidad como en la etiología de la DMIND. La semejanza de los trastornos metabólicos observados en los ratones OLEH con los hallazgos encontrados durante la disfunción de la actividad de las adipocitocinas y el aparente papel de éstas en la etiología de varias de las alteraciones observadas en el SM sugieren la posibilidad de utilizar a los ratones OLEH como modelos para el estudio de la participación del eje adipo-insular en la etiología del SM.

Las evidencias observadas en el primer experimento de este estudio descartan el desarrollo de DMIND en los ratones OLEH debido a la ausencia de hiperglucemia en estado de ayuno; sin embargo, la manifestación postprandial de intolerancia a la glucosa, hiperglucemia y posiblemente RI, así como el evidente incremento de la lipogénesis (hipertrigliceridemia) y la presencia de EH, obesidad e hiperfagia son indicativos de que

los ratones OLEH exhiben el desarrollo del SM. Sin embargo, en futuros estudios será necesario establecer en estos roedores la presencia de otros trastornos característicos de esta patología; e.g., la existencia de hipertensión, y evaluar el estado en el que se encuentran los niveles de las fracciones de colesterol (HDL y LDL), de las adipocitocinas, de los promotores de trombosis y de los factores proinflamatorios, los cuales podrían tener un papel importante en el desarrollo del SM en los ratones OLEH.

En el segundo experimento de este estudio el seguimiento por 14 meses de ratones introducidos al cautiverio permitió establecer que 60.0% de los ratones silvestres de ambos sexos desarrollaron lipomas entre los 4 y 6 meses de este período. A este respecto, en ratones obesos de las cepas C57BL/6J (B6-*Lep^{ob}*) y C57BLKS (BKS), los cuales exhiben una mutación en el gen de la leptina y en los receptores de esta hormona, respectivamente; también se ha observado el desarrollo lipomas subcutáneos (320, 321). En los ratones C57BL/6J el depósito de tejido adiposo se incrementa de 15% a 75% de los 16 días al primer año de vida, respectivamente (321). En ratones de la cepa Aston-*Lep^{ob}* se ha señalado que el incremento de tejido adiposo inicia antes del destete y de un 12% a los 10 días de edad es 40% más elevado a los 17 días de vida (322). En las cepas de ratones C57BL/6J y C57BLKS el desarrollo de lipomas ha sido atribuido a la presencia de hiperfagia, al incremento de la lipogénesis y a la reducción de la lipólisis.

La semejanza de los trastornos observados en los ratones OLEH con los presentados por los modelos antes señalados sugiere que el desarrollo de los lipomas pudiera deberse a factores similares. Por otra parte, en la segunda etapa de este estudio igualmente se estableció que 67.0% de los ratones machos que presentaron lipomas con un alto grado de adiposidad al final de los 14 meses también mostraron EH severa, mientras que el 33.0% que exhibieron lipomas de mediana adiposidad al término del seguimiento presentaron EH moderada. De igual forma, del 100.0% de las hembras que desarrollaron lipomas con un diámetro superior a los 3 cm (grandes); el 80.0% mostraron EH severa y sólo el 20.0% de ellas tuvieron EH moderada. Como puede observarse es evidente que los hallazgos encontrados tanto en los machos como en las hembras silvestres que desarrollaron lipomas sugieren la existencia de una relación entre el incremento de la adipogénesis de estos tumores y el grado de severidad de la EH que exhibieron ambos sexos de ratones al final de los 14 meses de seguimiento. A este respecto, en la cepa de ratones C57BL/6J se ha establecido que el incremento de la adipogénesis, causante de la formación de lipomas, ocurre paralelamente a un aumento de la lipogénesis de *novo* en el tejido hepático, esta última alteración ha sido atribuida a una mayor esterificación hepática de AGL y al incremento de la actividad de la glicerol cinasa que fosforila al glicerido-glicerol (323, 324). Con relación a la glucemia basal,

durante el seguimiento pudo advertirse que aunque los machos con lipomas entre los 7 y 8 meses presentaron un incremento estadísticamente significativo en la concentración basal de glucosa con respecto del valor exhibido por los que no presentaron lipomas (Tabla No.7), la glucemia basal de los ratones con lipomas no sobrepasó los niveles de glucosa considerados como criterio para el diagnóstico de hiperglucemia diabética en animales y humanos en condiciones de ayuno, > 126 mg/dL de glucosa plasmática en ayunas (325, 326). Esta misma tendencia también fue observada cuando se compararon ambos grupos de machos entre los 13 y 14 meses de seguimiento, ya que la concentración basal de glucosa tampoco superó dichos criterios. En las hembras lipomatosas a lo largo de los 14 meses de seguimiento no se observaron diferencias significativas en los valores de glucosa basal con respecto de valores mostrados por las no lipomatosas. Por lo tanto, estos hallazgos indican que tanto los machos como las hembras silvestres que desarrollaron lipomas exhibieron normoglucemia basal a lo largo de los 14 meses, lo cual es consistente con los resultados observados en el primer experimento de este estudio en los ratones OLEH. Sin embargo, resulta interesante la evidencia de que a partir de los 7 y 8 meses del seguimiento y hasta el término de éste, los niveles de glucemia basal exhibidos por los machos y las hembras con lipomas siempre fueron más elevados a los observados en los ratones sin lipomas de ambos sexos, aunque estos únicamente mostraron significancia en los casos ya señalados y no es clara su etiología. No obstante, la ausencia de hiperglucemia basal en los ratones silvestres adultos introducidos al cautiverio no necesariamente excluye la posibilidad de que los OLEH durante su vida juvenil o adulta puedan exhibir cambios en la glucemia y en la concentración sérica de insulina en estado de ayuno, puesto que en algunos modelos de obesidad; e. g., en los ratones C57BL/6J, se ha señalado que la hiperglucemia puede ser transitoria a lo largo de su vida, observándose que los ratones adultos de esta cepa en comparación con los ratones jóvenes muestran un declive de la glucosa sanguínea del 40% y una consistencia de la glucemia de los 6 meses de vida en adelante (321).

En cuanto a la concentración plasmática de TG se apreció que entre los 11 y 12 meses de seguimiento los machos con lipomas presentaron hipertrigliceridemia. La misma tendencia se mantuvo cuando se compararon ambos grupos entre los 13 y 14 meses de seguimiento, pero el incremento de TG plasmáticos fue superior al observado antes de este período. A partir de los 9 y 10 meses de seguimiento las hembras con lipomas mostraron por primera vez un incremento estadísticamente significativo en su perfil plasmático de TG. Posteriormente, entre los 11 y 12 meses de cautiverio el aumento de los TG fue aún mayor, alcanzando su máximo nivel alrededor de los 13 y 14 meses de seguimiento. Estos hallazgos sugieren que el deterioro del metabolismo lipídico que

conlleva a la presencia de hipertrigliceridemia en los ratones silvestres que desarrollaron lipomas ocurre de manera gradual, siendo más evidente entre los 9 y 11 meses, es decir algunos meses después de que en estos tumores se ha incrementado la adipogénesis y, por lo tanto muestran un mayor crecimiento.

Con respecto a la concentración de COT, los machos con lipomas únicamente exhibieron un aumento significativo en este parámetro entre los 13 y 14 meses de seguimiento. En tanto que las hembras con lipomas por primera vez presentaron un incremento significativo en el colesterol total entre los 7 y 8 meses de seguimiento, dicho incremento, también se mantuvo y se exacerbó gradualmente entre los 9 y 10 meses de estudio, observándose una concentración plasmática máxima del COT al término de los 13 y 14 meses de seguimiento. Al igual que la trigliceridemia, la colesterolemia parece también ocurrir meses después de que se ha alcanzado un mayor grado de desarrollo de los lipomas. El incremento plasmático de COT en los machos con lipomas fue coincidente al menos a los 13 y 14 meses del seguimiento con la presencia de hipertrigliceridemia en los mismos ratones.

Por otra parte, después de 14 meses de seguimiento se estableció que paralelamente al incremento de la concentración plasmática de TG y COT, los ratones de ambos sexos con lipomas exhibieron por primera vez entre los 7 y 8 meses del seguimiento un aumento significativo de su peso corporal y del índice Lee. A partir de este período y hasta el final del seguimiento estos ratones también mostraron un aumento paulatino y significativo en los dos parámetros con respecto de los ratones silvestres que no desarrollaron lipomas. Estos resultados señalan que entre los 7 y 8 meses posiblemente se exagera la adipogénesis y se incrementa la actividad lipogénica que conduce a la presencia del cuadro patológico caracterizado inicialmente por lipomatosis y el desarrollo simultáneo de hipertrigliceridemia, colesterolemia, EH y obesidad. La normalidad de los niveles plasmáticos de transaminasas a lo largo de 6 meses de seguimiento es indicativa de que al menos hasta el inicio de la aparición de los lipomas los ratones de ambos sexos no presentaron ninguna alteración hepática que pudiera ser indicada por la actividad de estas enzimas. Sin embargo, en futuros estudios será necesario establecer si la EH en ratones con OLEH más avanzada (14 meses o más) se asocia con elevación de las transaminasas. Aunque durante los 14 meses de seguimiento no se precisó el período en el que inicia el desarrollo de EH, la presencia de este trastorno en los ratones de ambos sexos con lipomas al final del estudio, corrobora la estrecha relación que existe entre las alteraciones del metabolismo de las grasas, particularmente el incremento de la tasa de adipogénesis y la lipogénesis con el desarrollo de la EH. A este respecto, se ha señalado que el evento inicial que conlleva al desarrollo de EH es la

acumulación de TG en los hepatocitos. Recientes estudios han demostrado que los AG almacenados en los adipocitos y los AG de resíntesis que derivan de la lipogénesis de novo sin intervención hepática son la principal fuente de TG para el hígado (327).

Donnelly *et al.*, (327) también encontraron que los AGL del plasma contribuyen aproximadamente con un 60% del contenido de AG en los TG hepáticos de pacientes con EH, lo cual refleja la importancia de los AGL en la patogénesis de este trastorno. La captación hepática de AGL no es regulada y, como resultado, la concentración plasmática de AGL está directamente relacionada con el flujo de AGL hacia el hígado. Se ha reportado que en el estado de ayuno, el tejido adiposo contribuye aproximadamente con un 80% del contenido de AGL del plasma. Por lo tanto, la sobreproducción de AG en los tejidos adiposos que fluyen hacia el hígado como AGL es la explicación más probable de la excesiva acumulación de TG en la EH. En estados de insulino resistencia, la insulina no suprime totalmente la actividad de lipasa sensible a esta hormona, la cual cataliza la hidrólisis y la liberación de AG a partir del rompimiento de TG y origina un aumento de la lipólisis y del flujo de AG hacia el plasma como AGL. Además, se reduce la captación de glucosa debido a que la RI disminuye los niveles de glicerol-3-fosfato, de modo que decrece la reutilización de AG para la síntesis de TG. Por lo tanto, la insulino resistencia en el tejido adiposo es importante como un factor patogénico de la EH. Diraison *et al.*, (328) también han sugerido que el mayor flujo de AGL hacia el hígado podría ser debido al paso de éstos del plasma al hígado a través de la vía portal desde el tejido adiposo visceral. Estas observaciones son consistentes con los hallazgos observados durante el seguimiento de los ratones silvestres que desarrollaron lipomas, debido a que la EH observada en todos ellos histológicamente muestra una mayor concentración de TG en la región periportal de los lobulillos hepáticos, lo cual apoya las observaciones señaladas por Diraison *et al.*, en el sentido de que un mayor flujo de AGL puede llegar al hígado por esta vía, en este caso posiblemente desde los lipomas de tejido adiposo subcutáneo. Sin embargo, aún falta establecer en esta especie la fuente de los AGL que favorecen la acumulación de TG en el hígado. A este respecto, se ha señalado que la lipogénesis *de novo* (LDN) en el hígado es elevada durante los estados de RI y en la EH (329). Donnelly *et al.*, (327) encontraron que la LDN aporta 26% de los TG hepáticos en individuos hiperinsulinémicos con EH. Estas observaciones sugieren la posibilidad de que las enzimas involucradas en la LDN hepática también se encuentren elevadas.

En futuros estudios será necesario establecer el período en el cual los ratones silvestres (*Neotomodon alstoni alstoni*) introducidos al cautiverio desarrollan EH. Asimismo, en estos ratones tendrá que cuantificarse la tasa hepática de secreción de

VLDL con y sin EH, así como también deberán valorarse los efectos de la dieta, el ejercicio y las terapias farmacológicas sobre la EH.

En el tercer experimento de este estudio la restricción en el consumo de alimento por un mes no cambió significativamente los niveles basales sanguíneos de glucosa de los OLEH. Sin embargo, mejoró la tolerancia a la glucosa en ambos sexos, aunque este efecto sólo fue estadísticamente significativo en los machos. Aunque durante el primer mes de la restricción el área bajo la curva de tolerancia a la glucosa en los ratones OLEH se redujo, la mejoría en la depuración de glucosa no fue significativa en ninguno de los dos sexos. Después de 3 meses de restricción en el consumo de alimento, la concentración basal de glucosa de los ratones OLEH de ambos sexos tampoco se modificó presentó diferencias estadísticas significativas con respecto de la observada en los mismos ratones antes de la restricción; sin embargo, la tolerancia a la glucosa mejoró aún más, pero de nuevo esta no fue significativa en las hembras. Asimismo, aunque durante este período los ratones OLEH machos y hembras presentaron un decremento del área bajo la curva de tolerancia a la glucosa, la mejoría en la depuración de glucosa sólo fue estadísticamente significativa en los machos. No es clara la razón por lo que las hembras OLEH después de la restricción en el consumo de alimento mejoraron su estado hiperglucémico postprandial de manera menos eficiente que los machos, esto implica la necesidad de que en futuros estudios sea reanalizada en hembras OLEH la respuesta de la glucemia postprandial durante la restricción en el consumo de alimento.

La hiperinsulinemia exhibida por los OLEH durante las PTG se redujo 3 meses después de la restricción en el consumo de alimento, lo cual fue más marcado en los machos. Asimismo, en los ratones OLEH de ambos sexos la concentración plasmática de TG después de uno y tres meses de restricción en el consumo de exhibió un descenso significativo con respecto de los perfiles observados antes de la restricción. Además, a pesar de que la concentración plasmática de COT en los ratones OLEH de ambos sexos no era elevada antes de la restricción en el consumo de alimento, 3 meses después de esta condición los niveles plasmáticos de COT en ambos grupos mostraron una disminución significativa. Estas observaciones indican que la restricción en el consumo de alimento tuvo un efecto atenuante sobre la severidad de la trigliceridemia y, por lo tanto, mejoró la dislipidemia exhibida por los ratones OLEH insulinémicos. La normocolesterolemia observada en los ratones OLEH de ambos sexos antes de la restricción en el consumo de alimento confirma los hallazgos encontrados en la primera parte de esta investigación en el sentido de que estos roedores no muestran ninguna alteración con respecto a la concentración plasmática de COT. Sin embargo, la evidencia de que los ratones OLEH aun en estado de normocolesterolemia redujeron la

concentración plasmática de COT 3 meses después de la restricción en el consumo de alimento es un indicio de que esta condición podría disminuir de manera importante el COT durante un estado de hipercolesterolemia. En futuros estudios con este roedor es necesario determinar si hay cambios en las fracciones de colesterol-HDL y colesterol-LDL, ya que se ha reportado que también pueden estar alteradas en el SM.

Por otra parte, aunque la restricción en el consumo de alimento eliminó la obesidad exhibida por los ratones OLEH de ambos sexos; 3 meses después de esta condición los lipomas involucraron sólo en el 60% y 80% de los ratones OLEH hembras y machos, respectivamente. Aun en los casos en los que no se observó su reversión hubo una reducción importante de su tamaño. Asimismo, tanto en los machos OLEH como las hembras OLEH la restricción en el consumo de alimento durante este período corrigió parcialmente la presencia de EH. Esto sugiere que la tasa de adipogénesis, así como la lipogénesis disminuyen bajo esta condición, la veracidad de esta última afirmación se corrobora por el hecho de que la trigliceridemia en los ratones OLEH de ambos sexos fue reducida por la restricción en el consumo de alimento.

Finalmente, con base en los resultados obtenidos puede señalarse que en los ratones OLEH la reducción de un 30% del consumo de alimento promedio normal tuvo un efecto importante sobre la reversión del estado hiperglucémico y la insulinemia postprandiales. Asimismo, la restricción en el consumo de alimento después de 3 meses disminuyó la hipertrigliceridemia, el sobrepeso y la obesidad. Adicionalmente, tanto la adipogénesis en lipomas como la EH también fueron revertidas parcial o totalmente después de restringirles el consumo de alimento. Varios estudios han demostrado que los tratamientos simples para la obesidad/y el SM, tales como la restricción en el consumo de alimento y el incremento de los niveles de actividad física pueden modificar la severidad de las alteraciones observadas en estas enfermedades. Russell *et al.*, (330) señalaron que la restricción severa en el consumo de alimento en las ratas macho *cp/cp* (a 60% de la ingesta de un grupo control, o 12 g/día) tuvo un efecto cardioprotector y fue efectiva tanto en la reducción de la insulina plasmática como de los niveles de TG. En monos rhesus viejos con DMIND, Bodkin *et al.*, (331) encontraron que la restricción crónica en el consumo de alimento mantuvo normal el peso corporal previniendo el desarrollo de obesidad e inhibió el deterioro de la tolerancia a la glucosa y la hiperglucemia. Estos estudios en primates no humanos demuestran la efectividad de la restricción en el consumo alimento a largo término como un tratamiento que podría ser usado en la prevención de la obesidad, la insulino resistencia, la dislipidemia, la hipertensión y otros trastornos del SM (331). En el jerbo, *Psammomys obesus*, la restricción calórica de la dieta para retardar la ganancia de peso también fue eficaz en la prevención de la

hiperglucemia, aunque se encontró que algunos animales desarrollan hiperinsulinemia bajo estas condiciones (332). Otros experimentos en los que se han utilizado ratas obesas insulino resistentes a las que se les restringió moderadamente su ingesta de alimento y que además fueron sometidas a ejercicio voluntario han demostrado un efecto cardioprotector de ambas condiciones relacionado con una reducción de la hiperinsulinemia (333, 334). En las ratas Koletsky recién destetadas la restricción de 1/3 de su consumo de alimento usual redujo 30% su peso corporal, pero continuaron exhibiendo obesidad (335, 336). Los niveles plasmáticos de TG y COT se normalizaron rápidamente en estos animales, pero la presión sanguínea se elevó significativamente durante la restricción calórica. La insulinemia en ayuno en ratas Koletsky fue revertida por la restricción calórica, pero ligeramente excedió los niveles observados en el grupo control (337). La lipogénesis se redujo en los mismos animales, pero permaneció elevada con relación a las ratas no obesas, particularmente en los depósitos de tejido adiposo. Las evidencias observadas en los ratones OLEH y en los modelos animales antes descritos, sugieren que la restricción en el consumo de alimento por si sola no corrige la totalidad de las anormalidades desarrolladas durante el SM, sin embargo, tiene un efecto benéfico importante sobre la severidad de las mismas. Se ha señalado que la reducción del ejercicio y la limitada actividad física pueden contribuir y facilitar el desarrollo de esta patología (338). A este respecto, algunos estudios han comprobado que el incremento de la actividad física tiene efectos benéficos en el tratamiento del SM. Sin embargo, las evidencias indican que cuando el nivel de actividad física no es el necesario y no se acompaña por una reducción de la ingesta calórica, el impacto de tal actividad sobre la reversión de los trastornos metabólicos observados en el SM no ocurre.

En el cuarto experimento de este estudio los resultados mostraron que después de uno y tres meses de tratamiento con metformina la glucemia en ayuno de los ratones machos y hembras OLEH exhibió una reducción importante en comparación con la estimada antes del tratamiento, la cual sólo alcanzó a ser significativa en las hembras después de 3 meses de tratamiento. En varios estudios se ha indicado que el principal mecanismo por medio del cual la metformina puede inducir este efecto es a través de la supresión de la PHG debido a una inhibición de la gluconeogénesis (180, 181, 182, 339, 340, 341, 342), acción que parcialmente es mediada por la disminución de los AGL y la oxidación de los lípidos (343). Sin embargo, otros estudios en humanos con DMIND han demostrado que la metformina también es capaz de inhibir la glucogenólisis (344). Por otra parte, en las PTG la glucemia de los ratones OLEH de ambos sexos mejoró después de 1 mes de tratamiento, aunque en menor grado en las hembras. Después de 3 meses la mejoría de la glucemia exhibida por los machos en las PTG fue significativa y casi

revirtió a valores control. Sin embargo, en las hembras aunque la glucemia también mejoró, éste fue en menor grado. En general se encontró un efecto benéfico de la metformina sobre la tolerancia a la glucosa. En diversos estudios estos efectos terapéuticos de la metformina han sido atribuidos a la capacidad de este fármaco para mejorar la captación y utilización periférica de la glucosa (343, 345, 346). Recientes estudios han sugerido que el mecanismo de tales efectos en humanos diabéticos y en no diabéticos insulino resistentes podría ser mediado predominantemente a través del incremento del metabolismo no oxidativo de la glucosa (347, 348), el cual involucra la formación de glucógeno (glucogenogénesis) por el músculo esquelético, la conversión de glucosa a lactato a nivel intestinal y la incorporación de glucosa a los adipocitos para la formación de TG. Otros reportes indican que la unión de la metformina a los fosfolípidos de la membrana celular podría inducir potenciales electrostáticos de la superficie de esta estructura facilitando tanto en las células adiposas como los miocitos del músculo esquelético la translocación de los transportadores de la glucosa de los sitios intracelulares hacia la membrana plasmática, lo cual incrementaría el transporte de glucosa estimulado por la insulina en ambos tejidos (180, 182, 349, 350, 351, 352). Después de tres meses de tratamiento con metformina los ratones machos OLEH mostraron una reducción significativa de su estado hiperinsulinémico durante la PTG. En tanto que las hembras OLEH durante el mismo período a los 30 minutos de la fase de hiperglucemia presentaron una reducción significativa de la concentración plasmática de insulina con respecto de los valores exhibidos por estos animales antes de su terapia. Aunque las hembras OLEH después de tres meses de tratamiento con metformina mostraron un menor grado de insulinemia a los 60 minutos de la fase de hiperglucemia en comparación con la estimada antes de su terapia, en este período los niveles plasmáticos de insulina no presentaron diferencias significativas.

No obstante los resultados obtenidos en el presente experimento, las evidencias observadas conjuntamente a lo largo de este estudio sugieren que en los ratones OLEH la intolerancia a la glucosa postprandial y la hiperglucemia a que conlleva este estado podrían ser debidas a la presencia de RI. Además, en este último experimento se demostró que los ratones OLEH de manera similar que los humanos con DMIND responden al tratamiento terapéutico con metformina mejorando su estado glucémico y su condición insulinémica. Se ha propuesto que la metformina puede ejercer esta acción estimulando el incremento de los receptores insulínicos, mejorando con ello significativamente la actividad de la insulina endógena, la insulinemia, la resistencia a la acción de la insulina, así como la captación y utilización periférica de la glucosa (179, 180, 181, 182, 183, 185, 353, 354). Los estudios respecto al efecto de la metformina sobre las

anormalidades aterogénicas y diabetogénicas asociadas con la obesidad sugieren que este fármaco puede reducir significativamente más del 50% de la insulinemia de ayuno en individuos no diabéticos (355). Otras investigaciones realizadas en individuos diabéticos, tanto delgados como obesos, también han reportado reducciones significativas de la insulina plasmática (356, 357, 358) y de la proinsulina precursora de la insulina durante la terapia con esta biguanida (358, 359). A semejanza de lo que ocurre en los humanos que desarrollan SM sin progresión a un estado diabético, es posible que en los ratones OLEH la reducción o la presencia de un defecto en la secreción de insulina por parte de las células- β del páncreas sean un prerrequisito indispensable para la manifestación de la condición diabética. Aunque se desconoce el período en el que se desarrolla la insulino resistencia, varios estudios en individuos prediabéticos indican que esta condición precede a la intolerancia a la glucosa y predice el futuro desarrollo de DMIND (360); sin embargo, inicialmente esta es acompañada por hiperinsulinemia para mantener el estado de normoglucemia (361).

IX. CONCLUSIONES

- En el ratón de los volcanes la obesidad y la EH están asociadas a normoglucemia, trigliceridemia y normocolesterolemia en estado basal, así como a intolerancia a la glucosa, hiperglucemia e hiperinsulinemia postprandiales.
- Puesto que el ratón OLEH muestra varios de los trastornos metabólicos observados en el SM humano, éste puede constituir un modelo para el estudio de los componentes de este síndrome.
- En ratones silvestres introducidos al cautiverio el desarrollo de lipomas inicia entre los 3 y 6 meses, mientras que la obesidad y la hipertrigliceridemia se establecen entre los 7 y 8 meses.
- El estudio de seguimiento en los ratones silvestres introducidos al cautiverio mostró que la hipertrigliceridemia y la colesterolemia, entre otras patologías, constituyen parámetros indicativos del síndrome metabólico. Además, la alteración de los TG y el COT prácticamente coincide con el desarrollo de la obesidad.

anormalidades aterogénicas y diabetogénicas asociadas con la obesidad sugieren que este fármaco puede reducir significativamente más del 50% de la insulinemia de ayuno en individuos no diabéticos (355). Otras investigaciones realizadas en individuos diabéticos, tanto delgados como obesos, también han reportado reducciones significativas de la insulina plasmática (356, 357, 358) y de la proinsulina precursora de la insulina durante la terapia con esta biguanida (358, 359). A semejanza de lo que ocurre en los humanos que desarrollan SM sin progresión a un estado diabético, es posible que en los ratones OLEH la reducción o la presencia de un defecto en la secreción de insulina por parte de las células- β del páncreas sean un prerrequisito indispensable para la manifestación de la condición diabética. Aunque se desconoce el período en el que se desarrolla la insulino resistencia, varios estudios en individuos prediabéticos indican que esta condición precede a la intolerancia a la glucosa y predice el futuro desarrollo de DMIND (360); sin embargo, inicialmente esta es acompañada por hiperinsulinemia para mantener el estado de normoglucemia (361).

IX. CONCLUSIONES

- En el ratón de los volcanes la obesidad y la EH están asociadas a normoglucemia, trigliceridemia y normocolesterolemia en estado basal, así como a intolerancia a la glucosa, hiperglucemia e hiperinsulinemia postprandiales.
- Puesto que el ratón OLEH muestra varios de los trastornos metabólicos observados en el SM humano, éste puede constituir un modelo para el estudio de los componentes de este síndrome.
- En ratones silvestres introducidos al cautiverio el desarrollo de lipomas inicia entre los 3 y 6 meses, mientras que la obesidad y la hipertrigliceridemia se establecen entre los 7 y 8 meses.
- El estudio de seguimiento en los ratones silvestres introducidos al cautiverio mostró que la hipertrigliceridemia y la colesterolemia, entre otras patologías, constituyen parámetros indicativos del síndrome metabólico. Además, la alteración de los TG y el COT prácticamente coincide con el desarrollo de la obesidad.

- El estudio del seguimiento de los ratones silvestres introducidos al cautiverio mostró una asociación entre el incremento de la adipogénesis de los lipomas y la severidad de la EH.
- En los ratones OLEH la reducción del peso corporal y el índice Lee, por medio de la restricción en el consumo de alimento, tuvo un efecto positivo sobre la hipertrigliceridemia, la tolerancia a la glucosa y la hiperinsulinemia postprandial. Asimismo, después de tres meses en algunos ratones la restricción en el consumo de alimento también revirtió tanto la adipogénesis de los lipomas como la EH.
- El tratamiento de los ratones OLEH con clorhidrato de metformina redujo la severidad de la intolerancia a la glucosa, la hiperglucemia y la hiperinsulinemia postprandiales, lo cual confirma que en los ratones OLEH la presencia de estas alteraciones es debida al desarrollo de RI.

X. LITERATURA CITADA

- 1) Zelman, S. (1952). The liver in obesity. *Arch. Intern. Med.*, 90: 141-156.
- 2) Adler, N.M. y Schaffner, F. (1979). Fatty liver hepatitis and cirrhosis in obese patients. *Am. J. Med.*, 67 (5): 811-816.
- 3) Stone, B.G. y Van Thiel, D.H. (1985). Diabetes mellitus and the liver. *Semin. Liver Dis.*, 5: 8-28.
- 4) White, R. T., Damm, D., Hancock, N., Rosen, B. S., Lowell, B. B., Usher, P., Flier, J. S. y Spiegelman, B. M. (1992). Human adiponin is identical to complement factor D and is expressed at high levels in adipose tissue. *J. Biol. Chem.*, 267 (13): 9210-9213.
- 5) Kieffer, T. J., Heller, R. S. y Habener, J. F. (1996). Leptin receptors expressed on pancreatic beta-cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 224: 522-527.
- 6) Maeda, K., Okubo, K., Shimomura, I., Funahashi, T., Matsuzawa, Y. y Matsubara, K. (1996). cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript 1). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 221: 286-291.
- 7) Shimomura, I. Funahashi, T. Takahashi, M. Maeda, K. Kotani, K. Nakamura, T. Yamashita, S. Miura, M. Fukuda, Y. Takemura, K. Tokunaga, K. y Matsuzawa, Y.

- El estudio del seguimiento de los ratones silvestres introducidos al cautiverio mostró una asociación entre el incremento de la adipogénesis de los lipomas y la severidad de la EH.
- En los ratones OLEH la reducción del peso corporal y el índice Lee, por medio de la restricción en el consumo de alimento, tuvo un efecto positivo sobre la hipertrigliceridemia, la tolerancia a la glucosa y la hiperinsulinemia postprandial. Asimismo, después de tres meses en algunos ratones la restricción en el consumo de alimento también revirtió tanto la adipogénesis de los lipomas como la EH.
- El tratamiento de los ratones OLEH con clorhidrato de metformina redujo la severidad de la intolerancia a la glucosa, la hiperglucemia y la hiperinsulinemia postprandiales, lo cual confirma que en los ratones OLEH la presencia de estas alteraciones es debida al desarrollo de RI.

X. LITERATURA CITADA

- 1) Zelman, S. (1952). The liver in obesity. *Arch. Intern. Med.*, 90: 141-156.
- 2) Adler, N.M. y Schaffner, F. (1979). Fatty liver hepatitis and cirrhosis in obese patients. *Am. J. Med.*, 67 (5): 811-816.
- 3) Stone, B.G. y Van Thiel, D.H. (1985). Diabetes mellitus and the liver. *Semin. Liver Dis.*, 5: 8-28.
- 4) White, R. T., Damm, D., Hancock, N., Rosen, B. S., Lowell, B. B., Usher, P., Flier, J. S. y Spiegelman, B. M. (1992). Human adiponin is identical to complement factor D and is expressed at high levels in adipose tissue. *J. Biol. Chem.*, 267 (13): 9210-9213.
- 5) Kieffer, T. J., Heller, R. S. y Habener, J. F. (1996). Leptin receptors expressed on pancreatic beta-cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 224: 522-527.
- 6) Maeda, K., Okubo, K., Shimomura, I., Funahashi, T., Matsuzawa, Y. y Matsubara, K. (1996). cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript 1). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 221: 286-291.
- 7) Shimomura, I. Funahashi, T. Takahashi, M. Maeda, K. Kotani, K. Nakamura, T. Yamashita, S. Miura, M. Fukuda, Y. Takemura, K. Tokunaga, K. y Matsuzawa, Y.

- (1996). Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat. Med.*, 2: 800–803.
- 8) Hotamisligil, G. S. (1999). The role of TNF- α and TNF receptors in obesity and insulin resistance. *J. Intern. Med.*, 245: 621–625.
 - 9) Friedman, J. M. (2000). Obesity in the new millennium. *Nature*, 404: 632–634.
 - 10) Rajala, M. W., Qi, Y., Patel, H. R., Takahashi, N., Banerjee, R., Pajvani, U. B., Sinha, M. K., Gingerich, R. L., Scherer, P. E. y Ahima, R. (2004). Regulation of resistin expression and circulating levels in obesity, diabetes, and fasting. *Diabetes*, 53: 1671-1679.
 - 11) Steppan, C. M., Bailey, S. T., Bhat, S., Brown, E. J., Banerjee, R. R., Wright, C. M., Patel, H. R., Ahima, R. S. y Lazar, M. A. (2001). The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*, 409: 307–312.
 - 12) Banerjee, R. R., Rangwala, M. S., Shapiro, S. J., Rich, S. A., Rhoades, B., Qi, Y., Wang, J., Rajala, W. M., Poci, A., Scherer, E. P., Steppan, M. C., Ahima, S. R., Obici, S., Rossetti, L. y Lazar, A. M. (2004). Regulation on fasted blood glucosa by resistin. *Science*, 303 (20): 1195-1198.
 - 13) Vendrell, J., Broch, M., Vilarrasa, N., Molina, A., Gómez, J. M., Gutiérrez, C., Simón, I., Soler, J. y Richard, C. (2004). Resistin, adiponectin, ghrelin, leptin, and proinflammatory cytokines: Relationships in obesity. *Obes. Res.*, 12: 962-971.
 - 14) Ahren, B. y Scheurink, A. J. W. (1998). Marked hyperleptinemia after high-fat diet associated with severe glucose intolerance in mice. *Europ. J. Endocrinol.*, 139: 461-467.
 - 15) Marceau, P., Biron, S., Hould, F. S., Marceau, S., Simard, S., Thung, S. N. y Kral, J. G. (1999). Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 84: 1513–1517.
 - 16) Kieffer, T. J. y Habener, J. F. (2000). The adipoinsular axis: effects of leptin on pancreatic β -cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 278 (1): E1-E14.
 - 17) Genuth, S. M. (1969). Hyperinsulinism in mice with genetically determined obesity. *Endocrinology*, 84: 386-391.
 - 18) Chick, W. L., Lavine, R. L. y Like, A. A. (1970). Studies in the diabetic mutant mouse: V. Glucose tolerance in mice homozygous and heterozygous for the diabetes (*db*) gene. *Diabetologia*, 6: 257-262.
 - 19) Genuth, S. M., Przybylski, R. J. y Rosenberg, D. M. (1971). Insulin resistance in genetically obese, hyperglycemic mice. *Endocrinology*, 90: 1230-1238.
 - 20) Coleman, D. L. y Hummel, K. P. (1974). Hyperinsulinemia in pre-weaning diabetes (*db*) mice. *Diabetologia*, 10: 607-610.
 - 21) Dubuc, P. U. (1976). The development of obesity, hyperinsulinemia, and hyperglycemia in ob/ob mice. *Metabolism*, 25: 1567-1574.

- 22) Lin, P. Y., Romsos, D. R., y Leveille, G. A. (1977). Food intake, body weight gain, and body composition of the young obese (*ob/ob*) mouse. *J. Nutr.*, 107: 1715-1723.
- 23) Grundleger, M. L., Godbole, V. Y. y Thenen, S. W. (1980). Age-dependent development of insulin resistance of soleus muscle in genetically obese (*ob/ob*) mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 239: E363-E371.
- 24) Flatt, P. R., Bailey, C. J., Cameron, A. M. y Gould, B. J. (1986). Age effects on glycosylated blood proteins in lean and obese hyperglycaemic (*ob/ob*) mice. *Diabetes Res.*, 3: 241-243.
- 25) Chen, N. G. y Romsos, D. R. (1995). Enhanced sensitivity of pancreatic islets from preobese 2-wk-old *ob/ob* mice to neurohormonal stimulation of insulin secretion. *Endocrinology*, 136: 505-511.
- 26) Surwit, R. S., Petro, A. E., Parekh, P. y Collins, S. (1997). Low plasma leptin in response to dietary fat in diabetes and obesity prone mice. *Diabetes*, 46 (9): 1516-1520.
- 27) Uysal, K. T., Wiesbrock, S. M., Marino, M. W. y Hotamisligil, G. S. (1997). Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. *Nature*, 391: 610-614.
- 28) Friedman, J. M. y Halaas, J. L. (1998). Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 395: 763-770.
- 29) Chinookoswong, N., Wang, J. L. y Shi, Z. Q. (1999). Leptin restores euglycemia y normalizes glucose turnover in insulin deficient diabetes in the rat. *Diabetes*, 48: 1-16.
- 30) Coleman, R. A. y Hermann (1999). Nutritional regulation of leptin in humans. *Diabetologia*, 42: 639-646.
- 31) Unger, R. H., Zhou, Y. T. y Orci, L. (1999). Regulation of fatty acid homeostasis in cells: novel role of leptin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 96(5):2327-2332.
- 32) Levin, B. E. y Meynell, A. A. D. (2002). Reduced central leptin sensitivity in rats with diet-induced obesity. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 283: R941-R948.
- 33) Carmona, C. A. (1994). Morfología macroscópica e histológica de los lipomas espontáneos en el ratón de los volcanes (*Neotomodon a. alstoni*), silvestre y nacido en el laboratorio. Tesis profesional. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, México.
- 34) Diego, M. J. (1999). Características histopatológicas del hígado y cuantificación sérica de triglicéridos en el ratón de los volcanes (*Neotomodon a. alstoni*) con lipomas. Tesis profesional. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, UNAM, México.
- 35) Alvarez, T. y Mayo-Aceves, E. (1993). Contribución al conocimiento de los hábitos alimenticios del ratón de los volcanes, *Neotomodon alstoni*, (Merriam, 1918). *Acta Zool. Mex.* (59): 1-51.

- 36) Villa, R. B. (1953). Mamíferos silvestres del valle de México. *An. Inst. Biol.*, UNAM, (23): 269-492.
- 37) Chávez, T. C. (1990). Diversidad y comportamiento poblacional de una comunidad de roedores de la Sierra del Ajusco. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- 38) Olivera, L. J. (1984). Reproducción de *Neotomodon a. alstoni* (Rodentia: Cricetidae) en condiciones de laboratorio. Tesis de Maestría. U.A.M. Iztapalapa, México.
- 39) Luis, J., Carmona, A., Delgado, F., Cervantes, A. y Cárdenas, R. (2000). Parental behavior of the volcano mouse, *Neotomodon alstoni* (Rodentia: Muridae), in captivity. *J. Mammal.*, 81 (2): 600-605.
- 40) Winter, G. H. (1991). Complete guide to pediatric symptoms, illness & medications. The Putnam Berkley Group, Inc., New York.
- 41) Díaz, Z. J. C. y Hicks, G. J. J. (1990). Bioquímica e inmunología. Facultad de Medicina, UNAM, México, Vol. I (pp. 793) y II (pp. 569).
- 42) Kaplan, L. A. y Pesce, A. J. (1991). Clinical chemistry. 2a. ed. The C.V. Mosby Company, USA, pp. 1149.
- 43) Herrera, E. (1991). Bioquímica. Aspectos estructurales y vías metabólicas. 2a. ed., Interamericana-Mc Graw-Hill, Madrid, España, Vol. I., pp. 922.
- 44) Montgomery, R., Conway, T. W. y Spector, A. A. (1992). Bioquímica. Casos y texto. 5a. ed. Mosby-Year Book Wolfe publishing, Madrid, España, pp. 901.
- 45) Enzi, G. (1984). Multiple symmetric lipomatosis: an updated clinical report. *Medicine Baltimore*, 63: 56-64.
- 46) Enzi, G., Angelini, C., Negrin, P., Armani, M., Pierobon, S. y Fedele, D. (1986). Sensory, motor and autonomic neuropathy in patients with multiple symmetric lipomatosis. *Medicine Baltimore*, 64: 390-393.
- 47) Enzi, G., Inelmen, E.M., Baritussio, A., Dorigo, P., Prosdocimi, M. y Mazzoleni, F. (1977). Multiple symmetric lipomatosis: a defect in adrenergic-stimulated lipolysis. *J. Clin. Invest.*, 60: 1221-1229.
- 48) Enzi, G., Favaretto, L., Martini, S., Fellin, R., Baritussio, A., Baggio, G. y Crepaldi, G. (1983). Metabolic abnormalities in multiple symmetric lipomatosis: elevated lipoprotein lipase activity in adipose tissue with hyperalphalipoproteinemia. *J. Lipid. Res.*, 24: 566-574.
- 49) Berkovic, S. F., Anderman, F., Shoubridge, E. A., Carpenter, S., Robitaille, Y., Andermann, E., Melmed, C. y Karpati, G. (1991). Mitochondrial dysfunction in multiple symmetrical lipomatosis. *Ann. Neurol.*, 29: 566-569.
- 50) Klopstock, T., Naumann, M., Schalke, B., Bischof, F., Seibel, P., Kottlors, M., Eckert, P., Reiners, K., Toyka, K. V. y Reichmann, H. (1994). Multiple symmetric

lipomatosis: abnormalities in complex IV and multiple deletions in mitochondrial DNA. *Neurology*, 44: 862-866.

- 51) Gámez, J., Playán, A., Andreu, A. L., Bruno, C., Navarro, C., Cervera, C., Arbos, M. A., Schwartz, S., Enriquez, J. A. y Montoya, J. (1998). Familial multiple symmetric lipomatosis associated with the A8344 mutation mitochondrial DNA. *Neurology*, 51: 258-260.
- 52) Wu, T. P., Tsai, J. G., Chan, P. H., Lee, H. C. y Wei, Y. H. (1994). Mitochondrial respiratory function in multiple symmetrical lipomatosis: report of two cases. *J. Formos. Med. Assoc.*, 93: 513-518.
- 53) Matthews, P. M., Squier, M. V., Chalk, C. y Donaghy, M. (1995). Mitochondrial abnormalities are not invariably present in neurologic syndromes associated with multiple symmetric lipomatosis. *Neurology*, 45: 197-198.
- 54) Kumar, K. S. y Malet, P. F. (2000). Nonalcoholic steatohepatitis. *Mayo Clin. Proc.* 75 (7): 733-739.
- 55) Itoh, S., Yougel, T. y Kawagoe, K. (1987). Comparison between nonalcoholic steatohepatitis and alcoholic hepatitis. *Am. J. Gastroenterol.*, 82(7): 650-654.
- 56) Lieverse, R. J., Jansen, J. B., Masclee, A. A. y Lamers, C. B. (1993). Gastrointestinal disturbances with obesity. *Scand. J. Gastroenterol.* 200: 53-58.
- 57) Cortez-Pinto, H., Camilo, M. E., Baptista, A., De Oliveira, A. G., De Moura, M. C. (1999). Non-alcoholic fatty liver: another feature of the metabolic syndrome? *Clin. Nutr.*, 18 (6): 353-358.
- 58) Falck-Ytter, Y., Younossi, Z. M., Marchesini, G. y McCullough, A. J. (2001). Clinical features and natural history of nonalcoholic steatosis syndromes. *Semin. Liver Dis.*, 21(1): 17-26.
- 59) Eckel, R. H., Grundy, S. M. y Zimmet, P. Z. (2005). The metabolic syndrome. *Lancet*, 365 (9468): 1415-1428.
- 60) Chitturi, S. y Farrell, G. C. (2001). Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Semin. Liver Dis.*, 21(1): 27-41.
- 61) Chandrasoma, P. y Taylor, C. R. (1994). Patología general. El Manual Moderno, México, pp. 1020.
- 62) Burt, A. D., Le Bail, B., Balabaud, C. y Bioulac-Sage, P. (1993). Morphologic investigation of sinusoidal cells. *Semin. Liver Dis.*, 13 (1): 21-38.
- 63) Clain, D. J. y Lefkowitz, J. H. (1987). Fatty liver in morbid obesity. *Gastroenterol. Clin. N. Am.*, 16 (2): 239-252.
- 64) Soga, M., Kishimoto, Y., Kawaguchi, J., Nakai, Y., Kawamura, Y., Inagaki, Shuichiro., Katoh, K., Oohara, T., Makino, S. y Oshima, I. (1999). The FLS mouse: a new inbred strain with spontaneous fatty liver. *Lab. Anim. Sci.*, 49 (3): 269-275.

- 65) Tankurt, E., Biberoglu, S., Ellidokuz, E., Hekimsoy, Z., Akpinar, H., Comlekci, A., Okan, A. y Sagol, O. (1999). Hyperinsulinemia and insulin resistance in non-alcoholic steatohepatitis. *J. Hepatol.*, 31(5): 963.
- 66) McGarry, J. D., Foster, D. W. (1980). Effects of exogenous fatty acid concentration on glucagon-induced changes in hepatic fatty acid metabolism. *Diabetes.*, 29 (3): 236-40.
- 67) Marchesini, G., Brizi, M., Morselli-Labate, A. M., Bianchi, G., Bugianesi, E., McCullough, A. J., Forlani, G. y Melchionda, N. (1999). Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am. J. Med.*, 107 (5): 450-455.
- 68) Sanyal, A. J., Campbell-Sargent, C., Mirshahi, F., Rizzo, W. B., Contos, M. J., Sterling, R. K., Luketic, V. A., Shiffman, M. L. y Clore, J. N. (2001). Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology*, 120 (5): 1183-1192.
- 69) Woods, S. C., Seeley, R. J., Porte, D. Jr. y Schwartz, M. W. (1998). Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science*, 80: 1378-1383.
- 70) Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D. Jr., Seeley, R. J. y Baskin, D. G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404: 661-671.
- 71) Morrison, R. F. y Farmer, S. R. (1999). Insights into the transcriptional control of adipocyte differentiation. *J. Cell Biochem.*, 33 (Suppl. 32): 59-67.
- 72) Wu, Z., Puigserver, P. y Spiegelman, B. M. (1999). Transcriptional activation of adipogenesis. *Curr. Opin. Cell. Biol.*, 11 (6): 691-694.
- 73) Lowell, B. B. y Spiegelman, B. M. (2000). Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature*, 404: 652-660.
- 74) Ricquier, D. y Bouillaud, F. (2000). The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP. *Biochem. J.*, 345: 161-179.
- 75) Schwartz, M. W., Figlewicz, D. P., Baskin, D. G., Woods, S. C. y Porte, D., Jr. (1994). Insulin and the central regulation of energy balance: update. *Endocr. Rev.*, 2: 109-113.
- 76) Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L. y Friedman, J. (1994). Positional cloning of the mouse *obese* gene and its human homologue. *Nature*, 372: 425-432.
- 77) Bray, A. G., Fisler, J. y York, A. D. (1990). Neuroendocrine control of the development of obesity: understanding gained from studies of experimental animal models. *Front. Neuroendocrinol.*, 11: 128-181.
- 78) Tartaglia, L. A., Dembrski, M., Weng, X., Deng, N., Culpepper, J., Devos, R., Richards, G. J., Campfield, L. A., Clark, F. T., Deeds, J., Muir, C., SanKer, S., Moriarty, A., Moore, K. J., SMutko, J. S., Mays, G. G., Woolf, E. A., Monroe, C. A. y Tepper, R. I. (1995). Identification and expresión clonning of leptin receptor, OB-R. *Cell*, 83: 1263-1271.

- 79) Chen, H., Charlat, O., Tartaglia, L. A., Woolf, E. A., Weng, X., Ellis, S. J., Lakey, N. D., Culpepper, J., Moore, K. J., Breitbart, R. E., Duyk, G. M. Tepper, R. I. y Morgenstern, J. P. (1996). Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in *db/db* mice. *Cell*, 84: 491-495.
- 80) Lee, G. H., Proenca, R., Montez, J. M., Carroll, K. M., Darvishzadeh, J. G., Lee, J. I. y Friedman, J. M. (1996). Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature*, 379: 632-635.
- 81) Hernández, M. N. y Perlemuter, L. (1997). Leptin: a genetic solution to obesity?. *Presse. Med.*, 26(16):770-773.
- 82) Cerulli, J., Lomaestro, B. M. y Malone, M. (1998). Update on the pharmacotherapy of obesity. *Ann. Pharmacother.*, 32 (1): 90-102.
- 83) Proietto, J. (1998). Anti-obesity drugs. *Med. J. Aust.* 168(8): 409-412.
- 84) Palou, A., Picó C., Bonet, M. L. y Oliver, P. (1998). The uncoupling protein, thermogenin. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 30 (1): 7-11.
- 85) Kennedy, A., Gettys, T. W., Watson, P., Wallace, P., Ganaway, E., Pan, Q. y Garvey, W. T. (1997). The metabolic significance of leptin in humans: gender-based differences in relationship to adiposity, insulin sensitivity, and energy expenditure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 82 (4): 1293-1300.
- 86) Chua, S. C. Jr., Chung, W., Wu-Peng, X. S., Zhang, Y., Liu, S. M., Tartaglia, L. y Leibel, R. L. (1996). Phenotypes of mouse diabetes and Rat fatty due to mutations in the OB (leptin) receptor. *Science*, 271: 994-996.
- 87) Friedmam, J. E., Ishizuka, T., Liu, S., Bedol, D., Koletsky, R. J. y Ernsberger, P. (1997). Metabolic consequences of a nonsense mutation in the leptin receptor gene (*fa^k*) in the obese spontaneously hypertensive Kolestky rat (SHROB). *Clin. Endocrinol. Diabetes*, 106 (Suppl. 3): 82-84.
- 88) Bado, A., Levasseur, S., Attoub, S., Kermorgant, S., Laigneau, J. P., Bortoluzzi, M. N., Moizo, L., Lehy, T., Guerre-Millo, M., Le Marchand-Brustel, Y. y Lewin, M. J. (1998). The stomach is a source of leptin. *Nature*, 394: 790-793.
- 89) Hoggard, N., Hunter, L., Duncan, J., Williams, L. M., Trayhurn, P. y Mercer, J. C. (1997). Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 94: 11073-11078.
- 90) Chagnon, Y. C., Perusse, L., Weisnagel, S. J., Rankinen, T. y Bouchard, C. (2000). The human obesity gene map: The 1999 update. *Obes. Res.*, 8(1): 91-117.
- 91) Palou, A., Serra, F., Bonet, M. L. y Picó, C. Obesity: molecular bases of a multifactorial problem. (2000). *Europ. J. Nutr.*, 39 (4): 127-144.

- 92) Montague, C. T., Farooqi, I. S., Whitehead, J. R., Soos, M. A., Rau, H., Wareham, N. J., Sewter, C. P., Digby, J. E., Mohammed, S. N., Hurst, J. A., Cheetham, C. H., Earley, A. R., Barnett, A. H., Prins, J. B. y Stephen, O. R. (1997). Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*, 387: 903-908.
- 93) Strobel, A., Issad, T., Camoin, L., Ozata, M. y Strosberg, A. D. (1998). A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat. Genet.*, 18 (3): 213-215.
- 94) Clement, K., Vaisse, C., Lahlou, N., Cabrol, S., Pelloux, V., Cassuto, D., Gourmelen, M., Dina, C., Chambaz, J., Lacorte, J. M., Basdevant, A., Bougneres, P., Lebouc, Y., Froguel, P. y Guy-Grand, B. (1998). A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*, 392: 398-401.
- 95) Jackson Laboratory (2001). Complete listing of diabetes and obesity models by research application. The Jackson Laboratory (www.jax.org/jaxmice), USA, pp. 17.
- 96) Hinney, A., Schmidt, A., Nottebom, K., Heibult, O., Becker, I., Ziegler, A., Gerber, G., Sina, M., Gorg, T., Mayer, H., Siegfried, W., Fichter, M., Remschmidt, H. y Hebebrand, J. (1999). Several mutations in the melanocortin-4 receptor gene including a nonsense and a frameshift mutation associated with dominantly inherited obesity in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 84(4): 1483-1486.
- 97) Krude, H., Biebermann, H., Luck, W., Horn, R., Brabant, G. y Grüters, A. (1998). Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by *POMC* mutations in humans. *Nat. Genet.*, 19 (2):155-157.
- 98) Comuzzie, A. G. y Allison, D. B. (1998). The search for human obesity genes. *Science*, 280: 1374-1377.
- 99) Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) (2001). *JAMA.*, 285 (19): 2486-2497.
- 100) Avogaro, P., Crepaldi, G., Enzi, G. y Tiengo, A. (1967). Associazione di iperlipidemia, diabete mellito e obesita di medio grado. *Acta Diabetol. Lat.*, 4: 36-41.
- 101) Haller, H. (1977). Epidemiology and associated risk factors of hyperlipoproteinemia. *Z. Gesamte Inn. Med.*, 32 (8):124-128.
- 102) Reaven, G.M. (1990). Banting lecture: role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 37(12): 1595-1607.
- 103) Meigs, J. B., D'Agostino, R. B. Sr., Wilson, P. W., Cupples, L. A., Nathan, D. M. y Singer, D. E. (1997). Risk variable clustering in the insulin resistance syndrome. The Framingham Offspring Study. *Diabetes*, 46 (10): 1594-1600.
- 104) Hanley, A. J., Karter, A. J., Festa, A., D'Agostino, R. Jr., Wagenknecht, L. F., Savage, P., Tracy, R. P., Saad, M. F. y Haffner, S. (2002a). Factor analysis of

- metabolic syndrome using directly measured insulin sensitivity: The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes*, 51 (8): 2642-2647.
- 105) Ford, E. S., Giles, W. H. y Dietz, W. H. (2002). Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA.*, 287 (3): 356-359.
- 106) Ferrannini, E., Buzzigoli, G., Bonadonna, R., Giorico, M. A., Oleggini, M., Graziadei, L., Pedrinelli, R., Brandi, L. y Bevilacqua, S. (1987). Insulin resistance in essential hypertension. *N. Engl. J. Med.*, 317(6): 350-357.
- 107) Reaven, G. M., Lithell, H. y Landsberg, L. (1996). Hypertension and associated metabolic abnormalities: the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *N. Engl. J. Med.*, 334 (6): 374-381.
- 108) Modan, M., Halkin, H., Almog, S., Lusky, A., Eshkol, A., Shefi, M., Shitrit, A. y Fuchs, Z. (1985). Hyperinsulinemia: a link between hypertension obesity and glucose intolerance. *J. Clin. Invest.*, 75 (3): 809-817.
- 109) Baron, A. D., Brechtel-Hook, G., Johnson, A., Cronin, J., Leaming, R. y Steinberg, H. O. (1996). Effect of perfusion rate on the time course of insulin-mediated skeletal muscle glucose uptake. *Am. J. Physiol.*, 271 (6 Pt 1): E1067-E1072.
- 110) Steinberg, H. O., Brechtel, G., Johnson, A., Fineberg, N. y Baron, A. D. (1994). Insulin-mediated skeletal muscle vasodilatation is nitric oxide dependent: a novel action of insulin to increase nitric oxide release. *J. Clin. Invest.*, 94 (3): 1172-1179.
- 111) Petrie, J. R., Ueda. S., Webb, D. J., Elliott, H. L. y Connell, J. M. (1996). Endothelial nitric oxide production and insulin sensitivity. *Circulation*, 93 (7): 1331-1333.
- 112) Gradinak, S., Coleman, G. M., Taegtmeier, H., Sweeney, M. S. y Frazier, O. H. (1991). Improved cardiac function with glucose-insulin-potassium after aortocoronary bypass grafting. *Ann. Thorac. Surg.*, 48 (4): 484-491.
- 113) Anderson, E. A., Hoffman, R. P., Balon, T. W., Sinkey, C. A. y Mark, A. L. (1991). Hyperinsulinemia produces both sympathetic neural activation and vasodilation in normal humans. *J. Clin. Invest.*, 87 (6): 2246-2252.
- 114) Pradhan, A. D., Manson, J. E., Rifai, N., Buring, J. E. y Ridker, P. M. (2001). C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA.*, 286 (3): 327-334.
- 115) Khovidhunkit, W., Memon, R. A., Feingold, K. R. y Grunfeld, C. (2000). Infection and inflammation-induced proatherogenic changes of lipoproteins. *J. Infect. Dis.*, 181 (Suppl. 3): S462-S472.
- 116) Jin, W., Marchadier, D. y Arder, D. J. (2002). Lipases and HDL metabolism. *Trends Endocrinol. Metab.*, 13: 174-178.
- 117) Festa, A., D'Agostino, R. Jr., Howard, G., Mykkanen, L., Tracy, R. P. y Haffner, S. M. (2000). Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance

- syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation*, 102 (1): 42-47.
- 118) Schmidt, M. I., Duncan, B. B., Sharrett, A. R., Lindberg, G., Savage, P. J., Offenbacher, S., Azambuja, M. I., Tracy, R. P. y Heiss, G. (1999). Markers of inflammation and prediction of diabetes mellitus in adults (Atherosclerosis Risk in Communities study): a cohort study. *Lancet*, 353 (9165): 1649-1652.
- 119) Rader, D. J. (2000). Inflammatory markers of coronary risk. *N. Engl. J. Med.*, 343 (16): 1179-1182.
- 120) Pouliot, M. C., Despres, J. P., Lemieux, S., Moorjani, S., Bouchard, C., Tremblay, A., Nadeau, A. y Lupien, P. J. (1994). Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am. J. Cardiol.*, 73 (7): 460-468.
- 121) Kissebah, A. H., Vydellingum, N., Murray R., Evans, D. J., Hartz, A. J., Kalkhoff, R. K. y Adams, P. W. (1982). Relation of body fat distribution to metabolic complications of obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 54: 254-260.
- 122) Vague, J., Vague, P., Tramon, M., Vialettes, B. y Mercier, P. (1980). Obesity and diabetes. *Acta Diabetol. Lat.*, 17 (2): 87-99.
- 123) Bjorntorp, P. (1990). The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. *Acta Med. Scand. Suppl.*, 723:121-134.
- 124) Despres, J. P. (1992). Abdominal obesity and the risk of coronary artery disease. *Can. J. Cardiol.*, 8 (6): 561-562.
- 125) Ohison, L. O., Larsson, B., Svardsudd, K., Welin, L., Eriksson, H., Wilhelmsen, L., Bjorntorp, P. y Tibblin, G. (1985). The influence of body fat distribution on the incidence of diabetes mellitus. 13.5 years of follow-up of the participants in the study of men born in 1913. *Diabetes*, 34 (10): 1055-1058.
- 126) Despres, J. P. (1993). Abdominal obesity as an important component of insulin-resistance syndrome. *Nutrition*, 9 (5): 452-459.
- 127) Sader, S., Nian, M. y Liu, P. (2003). Leptin a novel link between obesity, diabetes, cardiovascular risk, and ventricular hypertrophy. *Circulation*, 108 (6): 644-646.
- 128) Brunzell, J. D. y Hokanson, J. E. (1999). Dyslipidemia of central obesity and insulin resistance. *Diabetes Care.*, 22 (suppl 3): C10-C13.
- 129) Ginsberg, H. N. y Huang, L. S. (2000). The insulin resistance syndrome: impact on lipoprotein metabolism and atherothrombosis. *J. Cardiovasc. Risk*, 7: 325-331.
- 130) Jensen, M. D., Caruso, M., Heiling, V. y Miles, J. M. (1991). Insulin regulation of lipolysis in nondiabetic and IDDM subjects. *Diabetes*, 38 (12): 1595-1601.
- 131) DeFronzo, R.A., Bonadonna, R. C. y Ferrannini, E. (1992). Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. *Diabetes Care*, 15 (3): 318-368.

- 132) Lewis, G. F., Uffelman, K. D., Szeto, L.W., Weller, B. y Steiner, G. (1995). Interaction between free fatty acids and insulin in the acute control of very low density lipoprotein production in humans. *J. Clin. Invest.*, 95 (1): 158-166.
- 133) Boden, G. y Shulman, G. I. (2002). Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Eur. J. Clin. Invest.*, 32 (Suppl. 3): 14-23.
- 134) Shimomura, I., Bashmakov, Y., Ikemoto, S., Horton, J. D., Brown, M. S. y Goldstein, J. L. (1999). Insulin selectively increases SREBP-1c mRNA in the livers of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 96 (24): 13656-13661.
- 135) Murakami, T., Michelagnoli, S., Longhi, R., Gianfranceschi, G., Pazzucconi, F., Calabresi, L., Sirtori, C. R. y Franceschini, G. (1995). Triglycerides are major determinants of cholesterol esterification/transfer and HDL remodeling in human plasma. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 15 (11): 1819-1828.
- 136) Brinton, E. A., Eisenberg, S. y Breslow, J. L. (1991). Increased apo A-I and apo A-II fractional catabolic rate in patients with low high density lipoprotein-cholesterol levels with or without hypertriglyceridemia. *J. Clin. Invest.*, 87 (2): 536-44.
- 137) De Graaf, J., Hendriks, J. C., Demacker, P. N. y Stalenhoef, A. F. (1993). Identification of multiple dense LDL subfractions with enhanced susceptibility to in vitro oxidation among hypertriglyceridemic subjects. Normalization after clofibrate treatment. *Arterioscler. Thromb.*, 13 (5): 712-719.
- 138) Manzato, E., Zambon, S., Zambon, A., Cortilla, A., Sartore, G. y Crepaldi, G. (1993). Levels and physicochemical properties of lipoprotein subclasses in moderate hypertriglyceridemia. *Clin. Chim. Acta*, 219 (1-2): 57-65.
- 139) Halle, M., Berg, A., Baumstark, M. W., Konig, D., Huonker, M. y Keul, J. (1999). Influence of mild to moderately elevated triglycerides on low density lipoprotein subfraction concentration and composition in healthy men with low high density lipoprotein cholesterol levels. *Atherosclerosis*, 143 (1): 185-192.
- 140) Kwiterovich, P. O. Jr. (2002). Clinical relevance of the biochemical, metabolic, and genetic factors that influence low-density lipoprotein heterogeneity. *Am. J. Cardiol.*, 90 (8A): 30i-47i.
- 141) Hokanson, J. E. y Austin, M. A. (1996). Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population-based prospective studies. *J. Cardiovasc Risk*, 3 (2): 213-219.
- 142) Wilson, P. W. F., Larson, M. G. y Castelli, W. P. (1994). Triglycerides, HDL-cholesterol and coronary artery disease: a Framingham update on their interrelations. *Can. J. Cardiol.*, 10: 5B-9B.
- 143) Rubins, H. B., Robins, S. J., Collins, D., Fye, C. L., Anderson, J. W., Elam, M. B., Faas, F. H., Linares, E., Schaefer, E. J., Schectman, G., Wilt, T. J. y Wittes, J. (1999). Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men

- with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N. Engl. J. Med.*, 341 (6): 410-418.
- 144) Walden, C. E., Knopp, R. H., Wahl, P. W., Beach, K. W y Strandness, E. (1984). Sex differences in the effect of diabetes mellitus on lipoprotein triglyceride and cholesterol concentrations. *N. Engl. J. Med.*, 311 (15): 953-959.
- 145) Wilson, P. W. F. (1990). High-density lipoprotein, low-density lipoprotein and coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.*, 66 (6):7A-10A.
- 146) Vega, G. L., Clark, L. T., Tang, A., Marcovina, S., Gruñid, S. M. y Cohen, J. C. (1998). Hepatic lipase activity is lower in African American men than in white American men: effects of 5' flanking polymorphism in the hepatic lipase gene (LIPC). *J. Lipid. Res.*, 39 (1): 228-232.
- 147) Gagne, S. E., Larson, M. G., Pimstone, S. N., Schaefer, E. J., Kastelein, J. J., Wilson, P. W., Ordovas, J. M. y Hayden, M. R. (1999). A common truncation variant of lipoprotein lipase (Ser447X) confers protection against coronary heart disease: the Framingham Offspring Study. *Clin. Genet.*, 55 (6): 450-454.
- 148) Tai, E. S., Demissie, S., Cupples, L. A., Corella, D., Wilson, P. W., Schaefer, E. J. y Ordovas, J. M. (2002). Association between the PPARA L162V polymorphism and plasma lipid levels: the Framingham Offspring Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 22 (5): 805-810.
- 149) Couture, P., Otvos, J. D., Cupples, L. A., Wilson, P. W., Schaefer, E. J. y Ordovas J. M. (2000). Absence of association between genetic variation in the promoter of the microsomal triglyceride transfer protein gene and plasma lipoproteins in the Framingham Offspring Study. *Atherosclerosis*, 148 (2): 337-343.
- 150) Greiner, D. Z., Personius, B. E. y Andrews, T. C. (1999). Effects of withdrawal of chronic estrogen therapy on brachial artery vasoreactivity in women with coronary artery disease. *Am. J. Cardiol.*, 83 (2): 247-249.
- 151) Boden, G. y Hoeldtke, R. D. (2003). Nerves, fat, and insulin resistance. *N. Engl. J. Med.*, 349 (20): 1966-1967.
- 152) Kelley, D. E., He, J., Menshikova, E. V. y Ritov, V. B. (2002). Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes*, 51 (10): 2944-2950.
- 153) Petersen, K. F., Dufour, S., Befroy, D., Garcia, R. y Shulman, G. I. (2004). Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.*, 350 (7): 664-671.
- 154) Ozcan, U., Cao, Q., Yilmaz, E., Lee, A. H., Iwakoshi, N. N., Ozdelen, E., Tuncman, G., Gorgun, C., Glimcher, L. H. y Hotamisligil, G. S. (2004). Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2diabetes. *Science*, 306 (5695): 457-461.
- 155) Eschwege, E., Richard, J. L., Thibult, N., Ducimetiere, P., Warnet, J. M., Claude, J. R. y Rosselin, G. E. (1985). Coronary heart disease mortality in relation with

- diabetes, blood glucose and plasma insulin levels: The Paris Prospective Study, ten years later. *Horm. Metab. Res. Suppl.*, 15: 41-46.
- 156) Pyorala, M., Miettinen, H., Halonen, P., Laakso, M. y Pyorala, K. (2000). Insulin resistance syndrome predicts the risk of coronary heart disease and stroke in healthy middle-aged men: the 22-year follow-up results of the Helsinki Policemen Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 20 (2): 538-544.
- 157) Haffner, S. M., Stern, M. P., Hazuda, H. P., Pugh, J. A., Patterson, J. K. (1986). Hyperinsulinemia in a population at high risk for non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.*, 315 (4): 220-224.
- 158) Haffner, S. M., Stern, M. P., Hazuda, H. P., Mitchell, B. D. y Patterson, J. K. (1990). Cardiovascular risk factors in confirmed prediabetic individuals. Does the clock for coronary heart disease start ticking before the onset of clinical diabetes? *JAMA*, 263 (21): 2913-2918.
- 159) Tuomilehto, J., Lindstrom, J., Eriksson, J. G., Valle, T. T., Hamalainen, H., Ilanne-Parikka, P., Keinanen-Kiukaanniemi, S., Laakso, M., Louheranta, A., Rastas, M., Salminen, V., Uusitupa, M; Finnish Diabetes Prevention Study Group.(2001). Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in life style among subjects with impaired glucose tolerance. *N. Engl. J. Med.*, 344 (18): 1343-1350.
- 160) Hanley, A. J., Williams, K., Stern, M. P. y Haffner, S. M. (2002b). Homeostasis model assessment of insulin resistance in relation to the incidence of cardiovascular disease: the San Antonio Heart Study. *Diabetes Care*, 25 (7): 1177-1184.
- 161) Lee, Y., Hirose, H., Ohneda, M., Johnson, J. H., McGarry, J. D. y Unger, R. H. (1994). Beta-cell lipotoxicity in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus of obese rats: impairment in adipocyte-beta-cell relationships. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 91 (23): 10878-10902.
- 162) Yaney, G. C. y Corkey, B. E. (2003). Fatty acid metabolism and insulin secretion in pancreatic beta cells. *Diabetologia*, 46 (10): 1297-1312.
- 163) Joseph, J. W., Koshkin, V., Saleh, M. C., Sivitz, W. I., Zhang, C. Y., Lowell, B. B., Chan, C. B. y Wheeler, M. B. (2004) Free fatty acid induced beta-cell defects are dependent on uncoupling protein 2 expression. *J. Biol. Chem.*, 279 (49): 15049-15056.
- 164) Kim, Y. B., Shulman, G. I. y Kahn, B. B. (2002). Fatty acid infusion selectively impairs insulin action on Akt1 and protein kinase C lambda/zeta but not on glycogen synthase kinase-3. *J. Biol. Chem.*, 277 (36): 32915-32922.
- 165) Chavez, J. A., Knotts, T. A., Wang, L. P., Li, G., Dobrowsky, R. T., Florant, G. L. y Summers, S. A. (2003). A role for ceramide, but not diacylglycerol, in the antagonism of insulin signal transduction by saturated fatty acids. *J. Biol. Chem.*, 278 (12): 10297-10303.
- 166) Bruning, J. C., Michael, M. D., Winnay, J. N., Hayashi, T., Horsch, D., Accili, D., Goodyear, L. J. y Kahn, C. R. (1998). A muscle-specific insulin receptor knockout

exhibits features of the metabolic syndrome of NIDDM without altering glucose tolerance. *Mol. Cell.*, 2 (5): 559-569.

- 167) Kulkarni, R. N., Bruning, J. C., Winnay, J. N., Postic, C., Magnuson, M. A. y Kahn, C. R. (1999). Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic beta cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes. *Cell*, 96 (3): 329-339.
- 168) Samuel, V. T., Liu, Z. X., Qu, X., Elder, B. D., Bilz, S., Befroy, D., Romanelli, A. J. y Shulman, G. I. (2004). Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J. Biol. Chem.*, 279 (31): 32345-32353.
- 169) Weidmann, P., Bohlen, L., de Courten, M. (1995). Insulin resistance and hyperinsulinemia in hypertension. *J. Hypertens.*, 13 (2): S65-S72.
- 170) Ward, K. D., Sparrow, D., Landsberg, L., Young, J. B. y Weiss, S. T. (1993). The influence of obesity, insulin, and sympathetic nervous system activity on blood pressure: the Normative Aging Study. *Clin. Res.*, 41: 168-171.
- 171) National Institutes of Health (1998). Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults—The Evidence Report. *Obes. Res.*, 6 (Suppl. 2): 51S-209S.
- 172) Knowler, W. C., Barrett-Connor, E., Fowler, S. E., Hamman, R. F., Lachin, J. M., Walker, E. A. y Nathan, D. M.; Diabetes Prevention Program Research Group. (2002). Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. *N. Engl. J. Med.*, 346 (6): 393-403.
- 173) Zimmet, P., Shaw, J. y Alberti, K. G. (2003). Preventing Type 2 diabetes and the dysmetabolic syndrome in the real world: a realistic view. *Diabet. Med.*, 20 (9): 693-702.
- 174) Cook, S., Weitzman, M., Auinger, P., Nguyen, M. y Dietz, W. H. (2003). Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1990–1994. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, 157 (8): 821-827.
- 175) Lakka, T. A., Laaksonen, D. E., Lakka, H. M., Mannikko, N., Niskanen, L. K., Rauramaa, R. y Salonen, J. T. (2003). Sedentary lifestyle, poor cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 35 (8): 1279-1286.
- 176) Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. (2002). *Circulation*, 106 (25): 3143-3121.
- 177) Grundy, S. M., Abate, N. y Chandalia, M. (2002). Diet composition and the metabolic syndrome: What is the optimal fat intake? *Am. J. Med.*, 113 (suppl. 9B) 25S-29S.
- 178) Klein, S., Sheard, N. F., Pi-Sunyer, X., Daly, A., Wylie-Rosett, J., Kulkarni, K. y Clark, N. G.; American Diabetes Association; North American Association for the Study of Obesity; American Society for Clinical Nutrition. (2004). Weight management through lifestyle modification for the prevention and management of

- type 2 diabetes: rationale and strategies. A statement of the American Diabetes Association, the North American Association for the Study of Obesity, and the American Society for Clinical Nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, 80 (2): 257-263.
- 179) Klip, A. y Leiter, L. A. (1990). Cellular mechanism of action of metformin. *Diabetes Care*, 13 (6): 696-704.
- 180) Rossetti, L., DeFronzo, R. A., Gherzi, R., Stein, P., Andrighetti, G., Falzetti, G., Shulman, G. I., Robbenhaar, E. K. y Cordera R. (1990). Effect of metformin treatment on insulin action in diabetic rats: *In vivo* and *in vitro* correlations. *Metabolism*, 39 (4): 425-443.
- 181) DeFronzo, R. A., Barzilai, N. y Simonson, D. C. (1991). Mechanism of metformin action in obese and lean noninsulin-dependent diabetic subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 73 (6): 1294-1301.
- 182) Rouru, J., Huupponen, R., Pesonen, U. y Koulu, M. (1992). Subchronic treatment with metformin produces anorectic effect and reduces hyperinsulinemia in genetically obese Zucker rats. *Life Sci.*, 50: 1813-1820.
- 183) DeFronzo, R. A. y Goodman, A. M. (1995). Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. The Multicenter Metformin Study Group. *N. Engl. J. Med.*, 333 (9): 541-549.
- 184) Crofford, O. B. (1995). Metformin. *N. Engl. J. Med.*, 333 (9): 590-591.
- 185) Davidson, M. B. y Peters, A. L. (1997). An overview of metformin in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Am. J. Med.*, 102: 99-110.
- 186) Martin, F. E. y Alvarez, S. T. (1982). Crecimiento y desarrollo en el laboratorio de *Neotomodon a. alstoni* (Rodentia: Cricetidae). *An. Esc. Nal. Cien. Biol.*, 26: 55-84.
- 187) Granados, H. y Ramírez, J. (1986). Estudios sobre la biología del ratón de los volcanes (*N. a. alstoni*). IX. Crecimiento de animales silvestres en el laboratorio. *Arch. Invest. Med.*, 17: 285.
- 188) Bennett, P. H. (1983). The diagnosis of diabetes; new international classification and diagnostic criteria. *Ann. Rev. Med.*, 34: 295-309.
- 189) Berntorp, K., Trell, E., Thorell, J. y Hood, B. (1983). Relation between plasma insulin and blood glucose in a cross-sectional population study of the oral glucose tolerance test. *Acta Endocrinol.*, 102 (4): 549-556.
- 190) Marschner I, Bottermann, P., Erhardt, F., Linke, R., Loffler, G., Maier, V., Schwandt, P., Vogt, W. y Scriba, P. C. (1974). Group experiments on the radioimmunological insulin determination. *Horm. Metabol. Res.*, 6 (4): 293-296.
- 191) Rogers, P. y Webb, G. P. (1980). Estimation of body fat in normal and obese mice. *Br. J. Nutr.*, 43: 83-86.
- 192) Balbo, S. L., Gravena, C., Bonfleur, M. L. y Mathias, P. C. F. (2000). Insulin secretion and acetylcholinesterase activity in monosodium L-glutamate-induced obese mice. *Horm. Res.*, 54: 186-191.

- 193) White, C. L., Braymer, H. D., York, D. A. y Bray, G. A. (2005). Effect of a high or low ambient perinatal temperature on adult obesity in Osborne-Mendel y S5B/PI rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 290: R1376-R1384.
- 194) Reitman, S. y Frankel, S. (1957). Colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin. Pathol.*, 28: 56-62.
- 195) Waynforth, H. B. y Flecknell, P. A. (1994). Experimental and surgical technique in the rat. 2nd. ed. Academic Press Ltd., London, pp. 382.
- 196) Estrada, F. E., Peralta, Z. L. y Rivas, M. P. (1982). Manual de técnicas histológicas. AGT EDITOR, S. A., México, pp. 140.
- 197) Koletsky, R. J., Friedman, J. E. y Ernsberger, P. (2001). The obese spontaneously hypertensive rat (SHROB, Koletsky rat): A model of metabolic syndrome X, *In: Animal models of diabetes a primer*, edited by Anders A. F. Sima and Eleazar Shafir, Harwood academic publishers, Australia, p. 143-158.
- 198) Young, J. B. y Landsberg, L. (1982). Diet-induced changes in sympathetic nervous system activity: possible implications for obesity and hypertension. *J. Chronic. Dis.*, 36: 879-906.
- 199) Russell, J. C., Amy, R. M., Manickavel, V., Ahuja, S. K. y Rajotte, R. V. (1987). Insulin resistance and impaired glucose tolerance in the atherosclerosis prone LA/N-corpulent rat. *Arteriosclerosis*, 7: 620-626.
- 200) Islas, A. S. A., Revilla, M. M. C. y García, A. H. (2001). La secreción de la insulina. Implicaciones clínicas en pacientes con diabetes mellitus. Bases para su regulación terapéutica. Manual Moderno, México, pp. 52.
- 201) Henriksen, J. E., Alford, F., Handberg, A., Vaag, A., Ward, G. M., Kalfas, A. y Beck-Nielsen, H. (1994). Increased glucose effectiveness in normoglycemic but insulin-resistant relatives of patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. A novel compensatory mechanism. *J. Clin. Invest.*, 94 (3): 1196-1204.
- 202) Salinas, C. A. A., Pérez, F. J. G. y Rull, J. A. (2000). Limitaciones de los criterios de diagnóstico de la diabetes tipo 2 y la intolerancia a la glucosa. *Rev. Invest. Clin.*, 52: (2): 177-178.
- 203) Sharp, P. y Johnston, D. C. (1991). Mechanism of hyperglycemiae and disorders of intermediary metabolism. *In: Diabetes*, edited by Pickup, J. and Williams, G., Blackwell Scientific Pub., Oxford England, p. 303-312.
- 204) Kelley, D., Mitrakou, A., March, H., Schwenk, F., Benn, J. y Sonnenberg, G., Arcangeli, M., Aoki, T., Sorensen, J., Berger, M., Sonksen, P. y Gerich, J. (1990). Skeletal muscle glycolysis, oxidation and storage of an oral glucose load. *J. Clin. Invest.*, 81 (5): 1563-1571.

- 205) Roden, M., Price, T. B., Perseghin, G., Falk, Petersen, K., Rothman, D. L., Cline, G. W. y Shulman, G. I. (1996). Mechanisms of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J. Clin. Invest.*, 97: 2859-2865.
- 206) Galán, M., Vincent, O., Roncero, I., Azriel, S., Boix-Pallares, P., Delgado-Alvarez, E., Díaz-Cadorniga, F., Blázquez, E. y Navas. M. A. (2005). Effect of novel maturity onset diabetes of the young (MODY)-associated mutations on glucokinase activity and protein stability. *Biochem. J.*, (Published as Immediate Publication 21 September).
- 207) Randle, P. J., Priestman, D. A., Mistry, S. C. y Halsall, A. (1994). Glucose fatty acid interactions and the regulation of glucose disposal. *J. Cell Biochem.*, 55 (Supl.): 1-11.
- 208) Boden, G. (1996). Fatty acids and insulin resistance. *Diabetes Care*, 19 (4): 394-395.
- 209) Bergman, R. N. y Ader, M. (2000). Free fatty acids and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Trend. Endocrinol. Metabol.*, 11 (9): 351-356.
- 210) Collier, G. R., De Silva, A., Sanigorki, A., Walder, K., Yamamoto, A. y Zimmet, P. (1977a). Development of obesity and insulin resistance in the Israeli sand rat (*Psammomys obesus*). Does leptin play a role? *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 827: 50-63.
- 211) Collier, G. R., Collier, F. M., Sanigorski, A., Walder, K., Cameron Smith, D. y Sinclair, A. J. (1977b). Non-insulin dependent diabetes mellitus in *Psammomys obesus* is independent of changes in tissue fatty acid composition. *Lipids*, 32: 317-322.
- 212) Kalderon, B., Gutman, A., Levy, E., Shafir, E. y Alder, J. H. (1986). Characterization of stages in the development of obesity---diabetes syndrome in the sand rat (*Psammomys obesus*). *Diabetes*, 35: 717-724.
- 213) Barnett, M., Collier, G. R., Collier, F. M., Zimmet, P. y O'Dea, K. (1994a). A cross-sectional and short-term longitudinal characterization of NIDDM in *Psammomys obesus*. *Diabetologia*, 37: 671-676.
- 214) Barnett, M., Collier, G. R., Zimmet, P. y O'Dea, K. (1994b). The effect of restricting energy intake on diabetes in *Psammomys obesus*. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.*, 18: 791-794.
- 215) Barnett, M., Collier, G. R., Zimmet, P. y O'Dea, K. (1995). Energy intake with respect to the development of diabetes mellitus in *Psammomys obesus*. *Diab. Nutr. Metab.*, 8: 1-6.
- 216) Russell, J. C., Graham, S. y Hameed, M. (1994). Abnormal insulin and glucose metabolism in the JRC: LA-corpulent rat. *Metabolism*, 43 (5): 538-543.
- 217) Russell, J. C., Bar-Tana, J., Shillabeer, G., Lau, D. C. W., Richardson, M., Wenzel, L. M., Graham, S. E. y Dolphin, P. J. (1998). Development of insulin resistance in the JRC:LA-cp rat: Role of triacylglycerols and effects of MEDICA 16. *Diabetes*, 47 (5): 770-778.

- 218) Levin, B. E., Triscari, J., y Sullivan, A. C. (1983). Relationship between sympathetic activity and diet-induced obesity in two rat strains. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 245: R367-R371.
- 219) Chang, S., Graham, B., Yakubu, F., Lin, D., Peters, J. C., y Hill, J. O. (1990). Metabolic differences between obesity-prone and obesity-resistant rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 259: R1103-R1110.
- 220) Levin, B. E. y Meynell, A. A. D. (2002). Reduced central leptin sensitivity in rats with diet-induced obesity. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 283: R941-R948.
- 221) Koopmans, S. J., Frolich, M., Gribnau, E. H., Westendorp, R. G. y DeFronzo, R. A. (1998). Effect of hyperinsulinemia on plasma leptin concentrations and food intake in rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 274: E998-E1001.
- 222) West, D. B., Broozer, C. N., Moody, D. L. y Atkinson, R. L. (1992). Dietary obesity in nine inbred mouse strains. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 262: R1025-R1032.
- 223) Surwit, R. S., Khun, C. M., Cochrane, C., McCubbin, J. A. and Feinglos, M. N. (1990). Diet induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes*, 37: 1163-1167.
- 224) Tsunoda, N., Ikemoto, S., Takahashi, M., Maruyama, K., Watanabe, H., Goto, N. y Ezaki, O. (1998). High-monounsaturated fat diet-induced obesity and diabetes in C57BL/6J mice. *Metabolism*, 47(6): 724-30.
- 225) Surwit, R. S., Seldin, M. F., Khun, C. M., Cochrane, C. y Feinglos, M. N (1991). Control of expression of insulin resistance and hyperglycemia in diabetic C57BL/6J mice by diferent genetic factors. *Diabetes*, 40: 82-87.
- 226) Surwit, R. S., Seldin, M. F., Khun, C. M., Secor, C. y Feinglos, M. N. (1994). Diet-induced obesity and diabetes in and C57BL/KsJ mice. *Mouse Genome*, 92: 523-525.
- 227) Fleury, C., Neverova, M., Collins, S., Raimbault, S., Champigny, O., Levi-Meyrueis, C., Bouillaud, F., Seldin, M. F., Surwit, R. S., Ricquier, D. y Warden, C. H. (1997). Uncoupling protein-2: A novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nat. Genet.*, 15 (3): 269-272.
- 228) Chen, Y. D., Coulston, A. M., Zhou, M. Y., Hollenbeck, C. B. y Reaven, G. M. (1995). Why do low-fat high-carbohydrate diets accentuate postprandial lipemia in patients with NIDDM?. *Diabetes Care*, 18 (1): 10-16.
- 229) Velásquez, M. T., Abraham, A. A., Kimmel, P. L., Farkas-Szallasi, T. y Michaelis, O. E. (1995). Diabetic glomerulopathy in SHR/N-corpulent rat: Role of dietary carbohydrate in a model of NIDDM. *Diabetologia*, 90: 31-38.
- 230) Patti, M. E. (1999). Nutrient modulation of cellular insulin action. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 912: 187-203.
- 231) Storlien, L. H., Jenkins, A. B. Chisholm, D. J., Pascoe, W. S. Khouri, S. y Kraegen, E. W. (1991). Influence of dietary fat composition on development of

insulin resistance in rats: relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid. *Diabetes*, 40 (2): 280-291.

- 232) Montell, E., Turini, M., Marotta, M., Roberts, M., Noé, V., Ciudad, C. J., Macé, K. y Gómez-Foix, A. M. (2001). DAG accumulation from saturated fatty acids desensitizes insulin stimulation of glucose uptake in muscle cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 280 (2): E229-E237.
- 233) Bray, A. G. (1977). The Zuker-fatty rat: a review. *Federation Proc.*, 36: 148-153
- 234) Hansen, B. C. (1999). The metabolic syndrome X. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 912 (1): 1-24.
- 235) Garg, A. y Misra, A. (2002). Hepatic Steatosis, Insulin Resistance, and Adipose Tissue Disorders. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 87 (7): 3019-3022.
- 236) Muredach, P., Reilly, M. B., Daniel, J. y Rader, M. D. (2003). The metabolic syndrome. More than the sum of its parts?. *Circulation*, 108 (13):1546-1551.
- 237) Ross, S. A., Gulve, E. A. y Wang, M. (2004). Chemistry and biochemistry of type 2 diabetes. *Chem. Rev.*, 104: 1255-1282.
- 238) Zucker, L. M. (1965). Hereditary obesity in the rat associated with hyperlipemia. *Ann. N.Y. Academ. Sci.*, 131: 447-458.
- 239) Barry, W. S. y Bray, G. A. (1969). Plasma triglycerides in genetically obese rats. *Metabolism*, 13: 833-839.
- 240) Eaton, R. P., Oase, R. y Schade, D. S. (1976). Altered insulin and glucagon secretion in treated genetic hyperlipemia: a mechanism of therapy? *Metabolism*, 25: 245-249.
- 241) Murthy, V. y Shipp, J. C. (1979). Synthesis and accumulation of triglycerides in liver of diabetic rats. Effects of insulin treatment. *Diabetes*, 28: 472-478.
- 242) Woods, J. A., Knauer, T. E. y Lamb, R. G. (1981). The acute effects of streptozotocin-induced diabetes on rat liver glycerolipid biosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta*, 666: 482-92.
- 243) Shepherd, J. y Packard, C. J. (1984). High density lipoprotein apoprotein metabolism. *In: Clinical aspects of high density lipoprotein*, edited by Miller and Miller, Elsevier, North Holland, p. 247-274.
- 244) Pometta, D., Shepherd, J. J. y Packard, C. J. (1985). Pathogenie des hyperlipidemies. I tableau clinique. *Med. Hygiene*, 43: 2938-2946.
- 245) Shepherd, J., Packard, C. J., James, R. W. y Pometta, D. (1985). Pathogenie des hyperlipidemies. II Consequences cliniques d'un defect biochimique. *Med. Hygiene*, 43: 2949-2952.
- 246) Malmström, R., Packard, C. J., Caslake, M., Bedford, D., Stewart, P., Yki-Järvinen, H., Shepherd, J. y Taskinen, M. R. (1997). Defective regulation of triglyceride metabolism by insulin in the liver in NIDDM. *Diabetologia*, 40: 454-462.

- 247) Sima, A. A. F. y Shafir, E. (2001). Animal models of diabetes a primer. Harwood academic publishers, Australia, pp. 364.
- 248) Koletsky, S. (1975). Pathologic findings and laboratory data in a new strain of obese hipertensive rats. *Am. J. Pathol.*, 80: 129-142.
- 249) Dolphin, P. J., Stewart, B., Amy, R. M. y Russell, J. C. (1987). Serum lipids and lipoproteins in the artherosclerosis prone LA/N-corpulent rat. *Biochin. Biophys. Acta*, 919: 140-148.
- 250) Russell, J. C., Koeslag, D. G., Amy, R. M. y Dolphin, P. J. (1991). Plasma lipid secretion and clearance in the hyperlipidemic JCR:LA-corpulent rat. *Arteriosclerosis*, 9: 869-879.
- 251) Steiner, G., Morita, S. y Vranic, M. (1980). Resistance to insulin, but not to glucagon in lean human hypertriglyceridemics. *Diabetes*, 29 (11): 919-905.
- 252) McKane, W. R., Stevens, A. B., Woods, R., Andrews, W. J., Henry, R.W. y Bell, P. M. (1990). The assessment of hepatic and peripheral insulin sensitivity in hypertriglyceridemia. *Metabolism*, 39 (12): 1240-1245.
- 253) Aarsland, A., Chinkes, D. y Wolfe, R. R. (1996). Contributions of *de novo* synthesis of fatty acids to total VLDL-triglyceride secretion during prolonged hyperglycemia/hyperinsulinemia in normal man. *J. Clin. Invest.*, 98 (9): 2008-2017.
- 254) Kissebah, A. H., Alfari, S., Adams, P. W. y Wynn, V. (1976). Role of insulin resistance in adipose tissue and liver in the pathogenesis of endogenous hypertriglyceridemia in man. *Diabetologia*, 12: 563.
- 255) Fukuda, N., Azain, M. y Ontko, J. A. (1982). Altered hepatic metabolism of free fatty acids underlying hypersecretion of very low density lipoproteins in the genetically obese Zucker rat. *J. Biol. Chem.*, 257: 14066-14073.
- 256) Björntorp, P. (1990). Portal adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. *Arteriosclerosis*, 10: 493-498
- 257) Kaumi, T., Hirano, T., Odaka, H., Ebara, T. Amano, N., Hozumi, T., Ishida, Y. y Yoshino, G. (1996). VLDL triglyceride kinetic in Wistar fatty rats, an animal modelo of NIDDM. *Diabetes*, 45: 806-811.
- 258) Baum, C. L. y Brown, M. (2000). Low-fat, high-carbohydrate diets and atherogenic risk. *Nutr. Rev.*, 58 (5): 148-151.
- 259) Noguchi, T., Iritani, N. y Tanaka, T. (1992). Molecular mechanism of induction of key enzymes related to lipogenesis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 200 (2): 206-209.
- 260) Thorburn, A.W., Storlien, L. H., Jenkins, A. B., Khouri, S. y Kraegen, E. W. (1991). Fructose-induced *in vivo* insulin resistance and elevated plasma triglyceride levels in rats. *Am. J. Clin. Nutr.*, 49 (6): 1155-1163.
- 261) Hollenbeck, C.B. (1993). Dietary fructose effects on lipoprotein metabolism and risk for coronary artery disease. *Am. J. Clin. Nutr.*, 58 (5): 800S-809S.

- 262) Holness, M. J. (1994). Hypertriglyceridaemia precedes impaired muscle glucose utilization during fructose feeding. *Biochem. Soc. Trans.*, 22 (2): 105S.
- 263) Georgopoulos, A., Bantle, J. P., Noutsou, M. y Hoover, H. A. (2000). A high carbohydrate versus a high monounsaturated fatty acid diet lowers the atherogenic potential of big VLDL particles in patients with type 1 diabetes. *J. Nutr.*, 130 (10): 2503-2507.
- 264) Blades, B. y Garg, A. (1995). Mechanisms of increase in plasma triacylglycerol concentrations as a result of high carbohydrate intakes in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am. J. Clin. Nutr.*, 62 (5): 996-1002. .
- 265) Steiner, G., Haynes, F. J., Yoshino, G. y Vranic, M. (1984). Hyperinsulinemia and *in vivo* very-low-density lipoprotein-triglyceride kinetics. *Am. J. Physiol.*, 246: E187-E192.
- 266) Zammit, V. A. (2002). Insulin stimulation of hepatic triacylglycerol secretion in the insulin-replete state. Implications for the etiology of peripheral insulin resistance *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 967 (1): 52-65.
- 267) Gill, J. M. R., Brown, J. C., Bedford, D., Wright, D. M., Cooney, J., Hughes, D. A., Packard, C. J. y Caslake, M. J. (2004). Hepatic production of VLDL1 but not VLDL2 is related to insulin resistance in normoglycaemic middle-aged subjects. *Atherosclerosis*, 176:49-56.
- 268) Moir, A. M .B. y Zammit, V.A. (1992). Selective labelling of hepatic fatty acids *in vivo*: studies on the synthesis and secretion of glycerolipids in the rat. *Biochem. J.*, 283 (Pt 1): 145-149.
- 269) Zammit, V.A., Lankester, D. J., Brown, A. M. y Park, B. S. (1999). Insulin stimulates triacylglycerol secretion by perfused livers from fed rats, but inhibits it in livers from fasted or insulin-deficient rats: implications for the relationship between hyperinsulinaemia and hypertriglyceridaemia. *Eur. J. Biochem.*, 263 (3): 859-864.
- 270) Rennie, S.M., Park, B. S. y Zammit, V. A. (2000). A switch in the direction of the effect of insulin on the partitioning of hepatic fatty acids for the formation of secreted triacylglycerol occurs *in vivo*, as predicted from studies with perfused livers. *Eur. J. Biochem.*, 267 (4): 935-941.
- 271) Zammit, V.A. (2000). Use of *in vivo* and *in vitro* techniques for the study of the effects of insulin on hepatic triacylglycerol secretion in different insulinaemic states. *Biochem. Soc. Trans.*, 28 (2): 103-109.
- 272) Demant, T., Packard, C. J., Carlson, L., Karpe, F., Holmqvist, L., Nilsson-Ehle, P. y Shepherd, J. (1990). Lipoprotein metabolism in hepatic lipase deficiency: effects on apolipoprotein B metabolism and high density lipoprotein subfraction. *J. Lipid. Res.*, 29:1603-1611.
- 273) Pérez, J. I. (1997). La dislipidemia en el paciente diabético. Parte I: Bioquímica patológica. *Rev. Cubana Med. Gen. Integr.*, 13 (4): 372-377.

- 274) Rodríguez, A. J. (2002). Triglicéridos, "el Enemigo Olvidado". *Rev. Costarric. Cardiol.*, 4 (1): 28-31.
- 275) Flier, J. S., Lowell, B., Napolitano, A., Usher, P., Rosen, B., Cook, K. S. y Spiegelman, B. (1987). Adipsin: regulation and dysregulation in obesity and other metabolic states. *Recent Prog. Horm. Res.*, 45, 567-581.
- 276) Caro, J. F., Kolaczynski, J. W., Nyce, M. R., Ohannesian, J. R., Opentanova, I., Goldman, W. H., Lynn, R. B., Zhang, R. L., Sinha, M. K. y Considine, R. V. (1996). Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet*, 348 (9021): 159-161.
- 277) Schwartz, M. W., Peskind, E., Raskind, M. Boyko, E. L. y Porte, D, Jr. (1996). Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nat. Med.*, 2: 591-593.
- 278) Vaisse, C., Halaas, J. L., Horvath, C. M., Darnell, J. E., Stoffel, M. y Friedman, J. M. (1996). Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and *ob/ob* mice but not *db/db* mice. *Nat. Genet.*, 14: 95-97.
- 279) Bjorbaek, C., Buchholz, R. M., Davis, S. M., Bates, S. H., Pierroz, D. D., Neel, B. G., Myers, M. G. y Flier, J. S. (2001). Divergent roles of SHP-2 in ERK activation by leptin receptors. *J. Biol. Chem.*, 276 (7): 4747-4755.
- 280) Jéquier, E. (2002). Leptin signaling, adiposity, and energy balance. *Ann. New York Acad. Sci.*, 967: 379-390.
- 281) Bray, A. G. (1977). The Zuker-fatty rat: a review. *Federation Proc.*, 36: 148-153.
- 282) Saladin, R., De Vos, P., Guerre-Millo, M., Leturque, A., Girard, J., Staels, B. and Auwerx, J. (1995). Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature*, 377: 527-529.
- 283) Bjorbaek C., Elmquist, J. K., Frantz, J. D., Shoelson, S. E. y Flier, J. S. (1998). Identification of SOCS-3 as a potential mediator of central leptin resistance. *Mol. Cell*, 1: 619-625.
- 284) Exton, J. H., Corbin, J.G. y Park, C. R. (1969). Control of gluconeogenesis in liver: IV. Differential effects of fatty acids and glucagon on ketogenesis and gluconeogenesis in the perfused rat liver. *J. Biol. Chem.*, 244 (15): 4095-4102.
- 285) Massillon, D., Barzilai, N., Hawkins, M., Prus-Wertheimer, D. y Rossetti, L. (1997). Induction of hepatic glucose-6-phosphatase gene expression by lipid infusion. *Diabetes*, 46 (1): 153-157.
- 286) Chen, X., Iqbal, N. y Boden, G. (1999). The effects of free fatty acids on gluconeogenesis and glycogenolysis in normal subjects. *J. Clin. Invest.*, 103: 365-372.
- 287) Cohen, B., Novick, D. y Rubinstein, M. (1996). Modulation of insulin activities by leptin. *Science*, 274 (5290): 1185-1190.

- 288) Flier, J. S. (1998). Clinical review 94: What's in a name? In search of leptin's physiologic role. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 83: 1407-1413.
- 289) Matsuzawa, Y., Funahashi, T. y Nakamura, T. (1999). Molecular mechanism of metabolic syndrome X: contribution of adipocytokines, adipocyte-derived bioactive substances. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 912: 146-154.
- 290) Ahima, R. S. y Flier, J. S. (2000). Leptin. *Ann. Rev. Physiol.*, 62: 413-437.
- 291) Guerre-Millo, M. (2002). Adipose tissue hormones. *J. Endocrinol. Invest.*, 25: 855-861.
- 292) Havel, P. J. (2002). Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin. *Curr. Opin. Lipidol.*, 13: 51-59.
- 293) Oliver, P., Pico, C., Serra, F. y Palou, A. (2003). Resistin expression in different adipose tissue depots during rat development. *Mol. Cell. Biochem.*, 252 (12): 397-400.
- 294) Goldstein B. J. y Scalia, R. (2004). Adiponectin: A novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J. Clin. Endocrinol. Metabolism*, 91 (6): 2563-2568.
- 295) Tejero, M. E., Freeland-Graves, J. H., Proffitt, J. M., Peebles, K. W., Cai, G., Cole, S. A. y Comuzzie, A. G. (2004). Adiponectin but not resistin is associated with insulin resistance-related phenotypes in baboons. *Obes. Res.*, 12: 871-877.
- 296) Jaburek, M., Varecha, M., Gimeno, R. E., Dembski, M., Jezek, P., Zhang, M., Burn, P., Tartaglia, L. A. y Garlid, K. D. (1999). Transport function and regulation of mitochondrial uncoupling proteins 2 and 3. *J. Biol. Chem.*, 274 (37): 26003-26007.
- 297) Lowell, B. B. y Spiegelman, B. M. (2000). Towards a molecular understanding of adaptative thermogenesis. *Nature*, 404: 652-660.
- 298) Millet, L., Vidal, H., Andreelli, F., Larrouy, D., Riou, J. P., Ricquier, D., Laville, M. y Langin, D. (1997). Increased uncoupling protein-2 and -3 mRNA expression during fasting in obese and lean humans. *J. Clin. Invest.*, 100 (11): 2665-2670.
- 299) Schrauwen, P., Xia, J., Bogardus, C., Pratley, R. E. y Ravussin, E. (1999). Skeletal muscle uncoupling protein 3 expression is a determinant of energy expenditure in Pima Indians. *Diabetes*, 48:146-149.
- 300) Oberkofler, H., Liu, Y. M., Esterbauer, H., Hell, E., Krempler, F. y Patsch, W. (1998). Uncoupling protein-2 gene: reduced mRNA expression in intraperitoneal adipose tissue of obese humans. *Diabetologia*, 41: 940-946.
- 301) Foretz, M., Pacot, C., Dugail, I., Lemarchand, P., Guichard, C., Lelievre, X., Berthelie-Lubrano, C., Spiegelman, B., Kim, J., F. P. y Foufelle, F. (1999). ADD1/SREBP-1c is required in the activation of hepatic lipogenic gene expression by glucose. *Mol. Cell Biol.*, 19: 3760-3768.

- 302) Spiegelman, B. M. y Flier, J. S. (1996). Adipogenesis and obesity: rounding out the big picture. *Cell*, 87: 377-391.
- 303) Kubota, N., Terauchi, Y., Miki, H., Tamemoto, H., Yamauchi, T., Komeda, K., Satoh, S., Nakano, R., Ishii, C., Sugiyama, T., Eto, K., Tsubamoto, Y., Okuno, A., Murakami, K., Sekihara, H., Hasegawa, G., Naito, M., Toyoshima, Y., Tanaka, S., Shiota, K., Kitamura, T., Fujita, T., Ezaki, O., Aizawa, S., Nagai, R., Tobe, K., Kimura, S. y Kadowaki, T. (1999). PPAR γ mediates high-fat diet-induced adipocyte hypertrophy and insulin resistance. *Mol. Cell*, 4 (4): 597-609.
- 304) Wieland D. M. y Kotzka, J. (2002). SREBP-1: gene regulatory key to syndrome X? *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 67: 19-27.
- 305) Meier, U. y Gressner, A. M. (2004). Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin. Chem.*, 50: 1511-1525.
- 306) Delporte, M. L., El Mkaem, S. A., Quisquater, M. y Brichard, S. M. (2004). Leptin treatment markedly increased plasma adiponectin but barely decreased plasma resistin of ob/ob mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 287 (3): E446-E453.
- 307) Banks, W. A., Coon, A. B., Robinson, S. M., Moinuddin, A., Shult, J. M., Nakaoka, R. y Morley, J. E. (2004). Triglycerides induce leptin resistance at the blood-brain barrier. *Diabetes*, 53: 1253-1260.
- 308) Milan, F., Granzotto, M., Scarda, A., Calcagno, A., Pagano, C., Federspil, G. y Vettor, R. (2002). Resistin and adiponectin expression in visceral fat of obese rats: Effect of weight loss. *Obes. Res.*, 10: 1095-1103.
- 309) Díez, J. J. e Iglesias, P. (2003). The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Europ. J. Endocrinol.*, 148 (3): 293-300.
- 310) Weyer, C., Funahashi, T., Tanaka, S., Hotta, K., Matsuzawa, Y., Pratley, R. E. y Tataranni, P. A. (2001). Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 86: 1930-1935.
- 311) Stumvoll, M. y Häring, H. (2002). Resistin and adiponectin of mice and men. *Obes. Res.*, 10:1197-1199.
- 312) Azuma, K., Katsukawa, F., Oguchi, S., Murata, M., Yamazaki, H., Shimada, A., Saruta, T. (2003). Correlation between serum resistin level and adiposity in obese individuals. *Obes. Res.*, 11 (8): 997-1001.
- 313) Smith, S. R., Bai, F., Charbonneau, C., Janderova, L. y Argyropoulos, G. (2003). A promoter genotype and oxidative stress potentially link resistin to human insulin resistance. *Diabetes*, 52 (7): 1611-1618.
- 314) Moller, D. E. (2000). Potential role of TNF- α in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Trends Endocrinol. Metab.*, 11: 212-217.
- 315) Kroder, G., Bossenmainer, B., Kellerer, M., Capp, E., Stoyanov, B., Muhlhofer, A., Berti, L., Horikoshi, H., Ullrich, A. y Haring, H. (1996). Tumor necrosis factor- α

- and hyperglycemia-induced insulin resistance, evidence for different mechanisms and different effects on insulin signaling. *J. Clin. Invest.*, 97 (6): 1471–1477.
- 316) Schreyer, S. A., Chua, S. C. y LeBoeuf, R. C. (1998). Obesity and diabetes in TNF- α receptor- deficient mice. *J. Clin. Invest.*, 102 (2): 402-411.
- 317) Flier, J. S., Cook, K. S., Usher, P. y Spiegelman, B. M. (1987). Severely impaired adipin expression in genetic and acquired obesity. *Science*, 237, 405-408.
- 318) Dugail, I., Quignard-Boulangé, A., Le liepvre, X. y Lavau, M. (1990). Impairment of adipin expression is secondary to onset of obesity in *db/db* mice. *J. Biol. Chem.*, 265: 1831-1833.
- 319) Napolitano, A., Lowell, B. B., Damm, D., Leibel, R. L., Ravussin, E., Jimerson, D. C., Lesem, M. D., Van Dyke, D. C., Daly, P. A. y Chatis, P. (1994). Concentrations of adipin in blood and rates of adipinsecretion by adipose tissue in humans with normal, elevated and diminished adipose tissue mass. *Int. J. Obes. Relat. Metab.Disord.*, 18 (4): 213-218.
- 320) Rebuffe-Scrive, M., Surwit, R., Feinglos, M., Kuhn, C. y Rodin, J. (1993). Regional fat distribution and metabolism in a new mouse model (C57BL/6J) of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism*, 42: 1405-1409.
- 321) Herberg, L. y Leiter, E. H. (2001). Obesity/diabetes in mice with mutation in the leptin or leptin receptor genes. *In: Animal models of diabetes a primer*. Edited by Sima, A. A. F. y Shafrir, E., Harwood academic publishers, Australia, pp. 63-107.
- 322) Thurlby, P. L. y Trayhurn, P. (1978). The development of obesity in preweanling obob mice. *Br. J. Nutr.*, 39 (2): 397-402. Thurlby, P. L. y Trayhurn, P. (1978). The development of obesity in preweanling obob mice. *Br. J. Nutr.*, 39 (2): 397-402.
- 323) Memon, R. A., Fuller, J., Moser, A. H., Smith, P. J., Grunfeld, C. y Feingold, H. R. (1999). Regulation of putative fatty acid transporters and acyl-CoA synthetasa in liver and adipose tissue in *ob/ob* mice. *Diabetes*, 48: 121-127.
- 324) Stern, J. S., Hirsch, J., Drewnowski, A., Sullivan, A. C., Johnson, P. R. y Cohn, C. K. (1983). Glycerol kinase activity in adipose tissue of obese rats and mice: effects of diet composition. *J. Nutr.*, 113 (3): 714-720.
- 325) ADA (American Diabetes Association). (1999). Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 22 (Suppl. 1): 5-19.
- 326) ADA (American Diabetes Association). (2000). Expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus: Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 23 (Suppl. 1): S4-S19.
- 327) Donnelly, K. L., Smith, C. I., Schwarzenberg, S. J., Jessurun, J., Boldt, M. D. y Parks, E. J. (2005). Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J. Clin. Invest.*, 115 (5): 1343-1351.

- 328) Diraison, F., Moulin, P. y Beylot, M. (2003). Contribution of hepatic de novo lipogenesis and reesterification of plasma non esterified fatty acids to plasma triglyceride synthesis during non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetes Metab.*, 29 (5): 478-491.
- 329) Schwartz, J. M., Linfoot, P., Dare, D. y Aghajanian, K. (2003). Hepatic de novo lipogenesis in normoinsulinemic and hyperinsulinemic subjects consuming high-fat, low-carbohydrate and low-fat, high-carbohydrate isoenergetic diets. *Am. J. Clin. Nutr.*, 77 (1): 43-50.
- 330) Russell, J. C., Manickavel, V., Koeslag, D. G y Amy, R. M. (1990). Effects of advancing age and severe food restriction on pathological processes in the insulin resistant JCR:LA-corpulent rat. *Diabetes Res.*, 15: 53-62.
- 331) Bodkin, N. L., Ortmeyer, H. K. y Hansen, B. C. (1995). Long-term dietary restriction in older-aged rhesus monkeys: effects on insulin resistance. *J. Gerontol.*, 50 (3): B142-B147.
- 332) Walder, K., Dascaluc, C. R., Lewandowski, P. A., Sanigorski, A. J., Zimmet, P. y Collier, G. R. (1997). The effect of dietary energy restriction on body weight gain and the development of noninsulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM) in *Psammomys obesus*. *Obes. Res.*, 5 (3): 193-200.
- 333) Russell, J. C., Amy, R. M., Manickavel, V., Dolphin, P. J., Epling, W. F., Pierce, D. y (1991). Prevention of myocardial disease in the JCR:LA-corpulent rat by running. *J. Appl. Physiol.*, 66 (4): 1649-1655.
- 334) Absher, P. M., Schneider, D. J., Baldor, L. C., Russell, J. C. y Sobel, B. E. (1999). The retardation of vasculopathy induced by attenuation of insulin resistance in the corpulent JCR:LA-cp rat is reflected by decreased vascular smooth muscle cell proliferation *in vivo*. *Atherosclerosis*, 143 (2): 245-251.
- 335) Koletsky, S. y Puterman, D. I. (1976). Effect of low calorie diet on the hyperlipidemia, hypertension, and life span of genetically obese rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 151 (2): 368-371.
- 336) Koletsky, S. y Puterman, D. I. (1977). Reduction of atherosclerotic disease in genetically obese rats by low calorie diet. *Exp. Mol. Pathol.*, 26 (3): 415-424.
- 337) O'Dea, K. y Koletsky, S. (1977). Effect of caloric restriction on basal insulin levels and the *in vivo* lipogenesis and glycogen synthesis from glucose in the Koletsky obese rat. *Metabolism*, 26 (7): 763-772.
- 338) Eriksson, J., Timela, S. y Koivisto, V. (1997). Exercise and the metabolic syndrome. *Diabetologia*, 40 (2): 125-135. Eriksson, J., Timela, S. y Koivisto, V. (1997). Exercise and the metabolic syndrome. *Diabetologia*, 40 (2): 125-135.
- 339) Haeckel, R. y Haeckel, H. (1982). Inhibition of gluconeogenesis from lactate by phenethylbiguanide in the perfused guinea pig liver. *Diabetologia*, 7: 117-124.

- 340) Wollen, N. y Bailey, C. J. (1990). Inhibition of hepatic gluconeogenesis by metformin. *Biochem. Pharmacol.*, 37: 4353-4358.
- 341) DeFronzo, R. A. y Goodman, A. M. (1995). Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. The Multicenter Metformin Study Group. *N. Engl. J. Med.*, 333 (9): 541-549.
- 342) Cusi, K., Consoli, A. y DeFronzo, R. A. (1996). Metabolic effects of metformin on glucose and lactate metabolism in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 81 (11): 4059-4067.
- 343) Davidson, M. B. y Peters, A. L. (1997). An overview of metformin in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Am. J. Med.*, 102: 99-110. Davidson, M. B. y Peters, A. L. (1997). An overview of metformin in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Am. J. Med.*, 102: 99-110.
- 344) Cusi, K. y Consoli, A. (1994). Effect of metformin on glucose and lactate metabolism in NIDDM. *Diabetes*, 43 (Suppl. 1): 258A.
- 345) Hermann, L. S. (1979). Metformin. A review of its pharmacological properties and therapeutic use. *Diabete. Metab.*, 5 (3): 233-245.
- 346) Vigneri, R. y Goldfine, I. D. (1987). Role of metformin in treatment of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 10 (1): 118-122.
- 347) Riccio, A., Del Prato, S., Vigili de Kreutzenberg, S. y Tiengo, A. (1991). Glucose and lipid metabolism in non-insulin-dependent diabetes. Effect of metformin. *Diabetes Metab.*, 17 (1 Pt 2): 180-184.
- 348) Widen, E. I. M., Eriksson, J. G. y Groop, L. C. (1992). Metformin normalizes nonoxidative glucose metabolism in insulin-resistant normoglycemic first-degree relatives of patients with NIDDM. *Diabetes*, 41 (3): 354-358.
- 349) Cigolini, M., Bosello, O., Zancanaro, C., Orlando, P. G., Fezzi, O. y Smith, U. (1984). Influence of metformin on metabolic effect of insulin in human adipose tissue *in vitro*. *Diabetes Metab.*, 10 (5): 311-315.
- 350) Fantus, I. G. y Brosseau, R. (1986). Mechanism of action of metformin: Insulin receptor and post receptor effects *in vitro* and *in vivo*. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 63 (4): 918-905.
- 351) Hundal, H. S., Ramlal, T., Reyes, R., Leiter, L. A. y Klip, A. (1992). Cellular mechanism of metformin action involves glucose transporter translocation from an intracellular pool to the plasma membrane in L6 muscle cells. *Endocrinol.*, 131 (3): 1165-1173.
- 352) Matthaei, S., Reibold, J. P., Hamann, A., Benecke, H., Haring, H. U., Greten, H. y Klein, H. H. (1993). *In vivo* metformin treatment ameliorates insulin resistance: evidence for potentiation of insulin-induced translocation and increased functional activity of glucose transporters in obese (fa/fa) Zucker rat adipocytes. *Endocrinol.*, 133 (1): 304-311.

- 353) Bailey, C. J. y Turner, R. C. (1996). Metformin. *N. Engl. J. Med.*, 334 (9): 574-579.
- 354) Hundal, R. S. e Inzucchi, S. E. (2003). Metformin. New Understandings, New Uses. *Drugs*, 63 (18): 1879-1914.
- 355) Rudnichi, A., Fontbonne, A., Safar, M., Bard, J. M., Vague, P., Juhan-Vague, I., Eschwege, E. y BIGPRO Study Group. (1994). The effect of metformin on the metabolic anomalies associated with android type body fat distribution. Results of the BIGPRO trial. *Diabetes*, 43 (Suppl. 1): 150A.
- 356) Nosadini, R., Avogaro, A. Trevisan, R., Valerio, A., Tessari, P., Duner, E., Tiengo, A., Velussi, M., Del Prato): 107-112.
- 357) Giugliano, D., Quattraro, A., Consoli, G., Minei, A., Ceriello, A., De Rosa, N. y D'Onofrio, F. (1993). Metformin for obese, insulin-treated diabetic patients: improvement in glycaemic control and reduction of metabolic risk factors. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 44 (2): 107-112.
- 358) Landin, K., Tengborn, L. y Smith, U. (1994). Metformin and metoprolol CR treatment in non-obese men. *J. Intern. Med.*, 235 (4): 335-341.
- 359) Nagi, D. K., Mohamed Ali, V. y Yudkin, J. S. (1994). Effects of metformin on intact and des 31, 32 proinsulin in subjects with non-insulin-dependent diabetes. *Diabetic Med.*, 11 (Suppl. 1): 25-26.
- 360) DeFronzo, R. A. (1990). The triumvirato: β -cell, muscle, liver. *Diabetes*, 37 (6): 667-687.
- 361) Warram, J. H., Martin, B. C., Krolewski, A. S., Soeldner, J. S. y Kahn, C. R. (1990). Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type II diabetes in the offspring of diabetic parents. *Ann. Intern. Med.*, 13 (12): 909-915.