



UNIVERSIDAD NACIONAL **UNAM**
AUTÓNOMA DE MÉXICO POSGRADO 

FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO
EN CIENCIAS BIOQUÍMICAS

SÍNDROME METABÓLICO, SU
REVERSIBILIDAD Y CARACTERÍSTICAS
EN UN MODELO ANIMAL

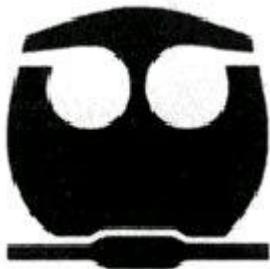
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRÍA EN CIENCIAS (BIOQUÍMICAS)

P R E S E N T A:

**ANA LILIA MARTÍNEZ
BALTAZAR**

Tutor: DR. MARCIA HIRIART URDANIVIA



MÉXICO, D. F.

2011



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.



SÍNDROME METABÓLICO, SU REVERSIBILIDAD Y CARACTERÍSTICAS EN UN MODELO ANIMAL

RECONOCIMIENTOS

Esta tesis de maestría se realizó bajo la dirección de la Dra. Marcia Hiriart Urdanivia en el laboratorio BL-102 en el edificio de Neurociencias, del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México.

El Comité Tutorial que asesoró el desarrollo de esta tesis estuvo formado por:

Dra. Marcia Hiriart Urdanivia	Instituto de Fisiología Celular, UNAM
Dr. Marco Antonio Cerbón Cervantes	Facultad de Química, UNAM
Dr. Rolando Efraín Hernández Muñoz	Instituto de Fisiología Celular, UNAM

Se reconoce la colaboración del Dr. Enrique Hong Chong, del Departamento de Farmacobiología Sede Sur de CINVESTAV, en cuyo laboratorio se llevaron a cabo los experimentos de la tensión arterial de los animales.

Se reconoce la asesoría técnica la Dra. Myrian Velasco Torres.

Se reconoce la asesoría técnica de la Bióloga Cármen Sánchez.

Se reconoce la asesoría del laboratorista Félix Sierra, en el manejo de los animales.



El proyecto fue apoyado parcialmente por CONACYT (CB2009-131647), DGAPA (IN2156 11) e ICYT DF (PICDS08-72). Durante los estudios de maestría goce de una beca otorgada por CONACYT.

Esta tesis fue defendida en examen el mes de enero del 2012.

El Jurado de Examen de grado estuvo constituido por:

Presidente	Dr. Jesús Adolfo García Sainz	Instituto de Fisiología Celular, UNAM
Vocal	Dr. Ignacio Camacho Arroyo	Facultad de Química, UNAM
Secretario	Dr. Rolando Efraín Hernández Muñoz	Instituto de Fisiología Celular, UNAM
Suplente	Dr. José Pedraza Chaverri	Facultad de Química, UNAM
Suplente	Dr. Samuel Canizales Quintero	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición.



A ese ángel en persona que tiene fe en mí, que me ama,
que me aconseja, que me ha enseñado
con el ejemplo, que me motiva a
lograr mis sueños, esta tesis
te la dedico a ti, mamá.

“La educación es el gran motor del desarrollo personal.
Es a través de la educación que la hija
de un campesino
puede convertirse en médico,
que el hijo de un minero
puede convertirse en jefe de la mina,
que un niño de trabajadores agrícolas
puede llegar a ser el presidente de una gran nación.”

Nelson Mandela



Agradecimientos

A Dios, por darme vida, salud, amor, y tiempo para lograr un sueño más de mi vida académica, por bendecirme con mi familia y mis amigos.

A mi mamá, Estela, por apoyarme siempre, por creer en mí, por estar a mi lado, por cuidarme, por consentirme, por no dejar que me rindiera cuando pensé que no lo lograría.

A mi hermano, Javier, por ser el hombre de mi vida, porque siempre has estado para mí, sé que nunca me dejarás sola, y por el ejemplo que me has dado al ser una persona que ha logrado lo que ha querido haciendo lo que le ha gustado.

A mi papá, por seguir apoyando mis decisiones, por motivarme a lograr mis metas, y por volver a ser parte de esta familia.

A mi abuelita Lupe, por consentirme mucho, y quererme mucho más.

A mi *alma mater*, UNAM, por darme la oportunidad de ampliar mi educación universitaria con un título de maestría, estos dos años me brindaste experiencias académicas y personales, me diste la oportunidad de conocer gente maravillosa en el camino.

A la Dra. Marcia Hiriart por permitirme formar parte de su equipo, y aceptar ser mi tutora, por sus consejos académicos y personales, sobre todo por tener fe en mí en un momento muy difícil en el que creí que no podría lograr este sueño.



A Myrian Torres Velasco y a Carlos Larqué por todo su apoyo, por sus consejos, por la compañía, pero sobre todo por su amistad, me hicieron sentir muy a gusto a pesar de lo antisocial que soy, jaja, muchas gracias chicos, de corazón, sin ustedes no habría sido lo mismo.

Al resto del equipo del laboratorio BL-102, muchas gracias por todo, y como siempre lo ha dicho la Dra. Hiriart, esta investigación es producto del trabajo de todos.

A mi primo Lalo, por haberme ayudado durante sus vacaciones a cuidar y a manejar a los animales, todo a cambio de una mordida, jaja, muchas gracias primo, sin ti no hubiera sobrevivido ese verano.

A la familia Baltazar por siempre apoyarme y estar a mi lado.

A Lety, por ser una gran amiga, por motivarme a terminar esta experiencia de mi vida, por creer en mí, por ser de las personas que más me han apoyado estos últimos años.

A Vane, amiga, siempre he encontrado en ti confianza, fe, amistad, risas, fiestas jaja, pero sobre todo muy buenos consejos.

A Lázaro, muchas gracias por el tiempo, y por las experiencias, gracias a ti soy una persona más fuerte, y más sabia.

Al dude Iván, que me molestó mucho para que terminará de escribir mi tesis, y que será mi pareja en un apocalipsis zombie para elimiarlos, jajaja, gracias dude.

A esos pequeños seres (Brownie y Lula) por enseñarme que no importa lo que yo sea, para ellos siempre seré Ana y con eso es suficiente para amarme incondicionalmente.

Por mi raza hablará el espíritu

Con mucho amor Ana Lilia



Contenido

RECONOCIMIENTOS	2
Agradecimientos.....	5
Contenido de figuras.....	8
Contenido de tablas.....	9
Contenido de gráficas.....	10
Abreviaturas.....	11
Resumen.....	13
Introducción.....	15
Antecedentes.....	17
El páncreas.....	17
La insulina.....	19
Secreción de insulina.....	21
Señalización de la insulina en sus tejidos blanco.....	22
Síndrome metabólico.....	24
Fisiopatología del síndrome metabólico.....	27
Resistencia a la insulina.....	27
Tejido adiposo y obesidad.....	32
Dimorfismo sexual en la distribución de grasa corporal.....	35
Las hormonas sexuales regulan la distribución de grasa.....	35
Grasa subcutánea.....	37
Grasa visceral.....	39
Dislipidemia en el SM.....	40
Tolerancia alterada a la glucosa o intolerancia a la glucosa.....	42
Hipertensión.....	43
Otras manifestaciones del SM.....	44
Factor de crecimiento neuronal (NGF).....	46
El NGF en las células β pancreáticas.....	48
El NGF en el tejido adiposo.....	50
Evidencia de la interacción entre las hormonas sexuales femeninas y la acción de la insulina.....	52
Estrógenos.....	52



Mecanismos de acción de los estrógenos	52
El exceso de alimentación en el SM	56
El aumento de azúcar en la dieta	56
El empleo de los modelos animales en el estudio del SM	58
Modelo de síndrome metabólico en ratas machos	59
Justificación	60
Hipótesis	60
Objetivo general	61
Objetivos particulares	61
Materiales y métodos	62
Resultados	69
Caracterización del modelo de SM en ratas hembra Wistar 8 semanas	71
Caracterización del modelo de SM en ratas hembra Wistar 24 semanas	75
Caracterización del modelo de SM en ratas macho Wistar después de 12 semanas y su reversibilidad del SM.	79
NGF en plasma para los grupos control y SM	82
Discusión de resultados	83
Conclusiones	91
Bibliografía	92

Contenido de figuras

Figura 1. Anatomía del páncreas humano adulto

Figura 2. Páncreas exocrino y endocrino

Figura 3. Síntesis de la insulina

Figura 4. Secreción de insulina en células b en respuesta a la glucosa

Figura 5. Señalización de la insulina

Figura 6. Mecanismos que pueden producir resistencia a la insulina



Figura 7A y 7B. Mecanismos propuestos para la resistencia a la insulina en músculo esquelético

Figura 8. Efectos de las distintas adipocinas sobre el adipocito y el metabolismo

Figura 9. Distribución de la grasa en mujeres (ginecoide) y hombres (androide)

Figura 10. Modelo potencial de la interacción entre las hormonas sexuales y las señales de los adipocitos en la regulación de la distribución de la grasa en ratas

Figura 11. El papel de la RI en la dislipidemia

Figura 12. Funciones fisiológicas del NGF en el sistema nervioso

Figura 13. Principales monosacáridos en los alimentos

Figura 14. Principales disacáridos en los alimentos

Figura 15. Grupos experimentales

Figura 16. Fisiopatología de la hipertensión en el SM

Contenido de tablas

Tabla 1. Definiciones del síndrome metabólico

Tabla 2. Clasificación del estado nutricional

Tabla 3. Ingesta calórica diaria

Tabla 4. Características antropométricas, metabólicas y bioquímicas de los grupo control y SM a las 8 semanas

Tabla 5. Características antropométricas, metabólicas y bioquímicas de los grupo control y SM a las 24 semanas

Tabla 6. Características antropométricas, metabólicas y bioquímicas en los grupos control, SM 8/4 semanas y SM 12 semanas



Tabla 7. Valores de NGF en los grupos control y SM

Contenido de gráficas

Gráfica 1. Consumo de alimento y agua al día por animal

Gráfica 2. Circunferencia abdominal y longitud corporal hembras 8 semanas

Gráfica 3. Curva de tolerancia a la glucosa grupo C y SM hembras 8 semanas

Gráfica 4. Circunferencia abdominal y longitud corporal Hembras 24 semanas

Gráfica 5. Curva de tolerancia a la glucosa grupo C y SM hembras 24 semanas

Gráfica 6. Circunferencia abdominal y longitud corporal machos 12 semanas

Gráfica 7. Curva de tolerancia a la glucosa machos 12 semanas



Abreviaturas

(AGL) Ácidos grasos libres

(AGNE) Ácidos grasos no esterificados

(AHA/NHLBI) American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute

(ApoA-1) Apolipoproteína A-1

(ApoB) Apolipoproteína B

(BDNF) Factor neurotrófico derivado de cerebro

(CE) Ésteres de colesterol

(CETP) Proteína transportadora de ésteres de colesterol

(E1) Estrona

(E2) 17- β -estradiol

(E3) Estriol

(ER) Receptores de estrógenos

(ER α) Receptor de estrógenos alfa

(G6P) Glucosa-6-fosfato

(GCK) Glucocinasa

(cHDL) Colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad

(HK) Hexocinasa

(HL) Lipasa hepática

(ICAM-1) Molécula de adhesión intercelular-1;

(IDF) International Diabetes Foundation

(IG) Intolerancia a la glucosa

(IL) Interleucina



- (IMC) Índice de masa corporal
- (LPL) Lipasa de lipoproteína
- (MCP-1) Proteína quimioatrayente de monocito-1
- (NCEP ATP III) National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III
- (NGF) Factor de crecimiento neuronal
- (NT) neurotrofinas
- (NT-3) neurotrofina-3
- (NT-4/5) neurotrofina 4/5
- (OMS) Organización Mundial de la Salud
- (PAI-1) Inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1
- (PCR) Proteína C reactiva
- (PDH) Piruvato deshidrogenasa
- (RI) Resistencia a la insulina
- (SD LDL) Colesterol LDL de baja densidad
- (SM) Síndrome metabólico
- (SNS) Sistema nervioso simpático
- (TA) Tejido adiposo
- (TAP) Tejido adiposo pardo
- (TAB) Tejido adiposo blanco
- (TG) Triglicéridos
- (TNF- α) Factor de necrosis tumoral α
- (VCAM-1) Molécula de adhesión vascular-1



Resumen

El síndrome metabólico (SM) se define por la presencia de obesidad, tolerancia a la glucosa alterada, resistencia a la insulina, dislipidemia e hipertensión. Nuestro grupo de investigación logró caracterizar satisfactoriamente un modelo animal de SM al introducir en la dieta de los animales una cantidad elevada de carbohidratos.

En este contexto, se planteó si es posible lograr una mejoría en los parámetros físicos y metabólicos de estos animales que desarrollan SM al retirar la dieta elevada de carbohidratos durante 4 semanas. Además se planteó la caracterización del SM en ratas hembra, y la comparación de los resultados entre los sexos.

Para lograr estos objetivos se utilizó la cepa de ratas Wistar, jóvenes adultas, de 2 meses de edad, hembras y machos. Los animales se pusieron bajo una dieta control o una dieta elevada en carbohidratos, utilizando sacarosa al 20% en el agua de beber, durante períodos de 8, 12 o 24 semanas.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

- Se logró caracterizar el SM en ratas macho a las 12 semanas.
- Las ratas macho que presentaban SM, al estar 4 semanas bajo una dieta control, mejoraron la sensibilidad a la insulina, en parámetros bioquímicos alterados se mostraron mejorías.
- Se logró caracterizar el SM en ratas hembra a las 8 y 24 semanas de ingerir sacarosa al 20% en el agua de beber.



Conclusiones:

Al caracterizar el SM y comparar entre sexos se observó la existencia de dimorfismo sexual, los machos fueron más susceptibles a presentar las alteraciones del SM mientras que las hembras presentaron mayor resistencia, esto se atribuye a las diferencias en los niveles de las hormonas sexuales en los dos sexos.

La mejoría de las alteraciones en el modelo animal fue posible al retirar la fuente de carbohidratos.



Introducción

El síndrome metabólico (SM) y la obesidad son trastornos clínicos complejos y heterogéneos con un fuerte componente genético, cuya expresión está influenciada por factores ambientales, sociales, y culturales, entre otros. El incremento en la frecuencia de estos padecimientos es un fenómeno mundial, y México ocupa uno de los primeros lugares. De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) de 2006 alrededor del 70% de la población mexicana entre los 30 y 60 años presenta sobrepeso u obesidad.

El SM está definido por un conjunto de anormalidades fisiológicas y metabólicas que incluyen a la obesidad, tolerancia alterada a la glucosa, resistencia a la insulina, dislipidemia (una combinación de niveles bajos de HDL y altos de triglicéridos), e hipertensión. Desde 1988, la prevalencia del SM ha incrementado dramáticamente, y se ha informado que se encuentra presente en un porcentaje mayor al 20% de la población adulta de países desarrollados. La prevalencia del SM incrementa con la edad y está asociada con el desarrollo de diabetes y enfermedades cardiovasculares. La etiología del SM es multifactorial con influencias tanto genéticas como ambientales.

Una explicación importante para la epidemia del SM es el elevado contenido de carbohidratos en la dieta durante las últimas décadas. Entender la fisiopatología del SM e investigar maneras de prevenir y tratarlo es un reto importante para las ciencias médicas.

Los modelos experimentales en animales permiten estudiar la fisiopatología de enfermedades, y proporcionan medios que permiten estudiar los mecanismos



bioquímicos y moleculares que las caracterizan. Sin embargo, los modelos animales no pueden ser usados en su totalidad como sustitutos de las enfermedades, pero permiten la exploración de aspectos que no pueden ser estudiados en un paciente.

En el contexto planteado, los objetivos del presente trabajo de investigación fue comparar el desarrollo de resistencia a la insulina y obesidad entre ratas macho y hembra, así como determinar la reversibilidad del SM desarrollado por la ingesta de sacarosa al 20% en el agua de beber por 2 meses. Este modelo ya fue caracterizado en ratas macho y en este proyecto se caracterizó en hembras.

Antecedentes

El páncreas

El páncreas es una glándula de secreción mixta, en los humanos adultos pesa entre 70 y 150 gramos y tiene una longitud entre 15 y 25 cm. Está conectado con el duodeno por el conducto de Vater, donde el conducto pancreático principal se une con el conducto biliar. Se usan los términos cabeza, cuerpo y cola para designar regiones proximales y distales del órgano (Figura 1) (Slack, 1995; Hiriart, 2005).

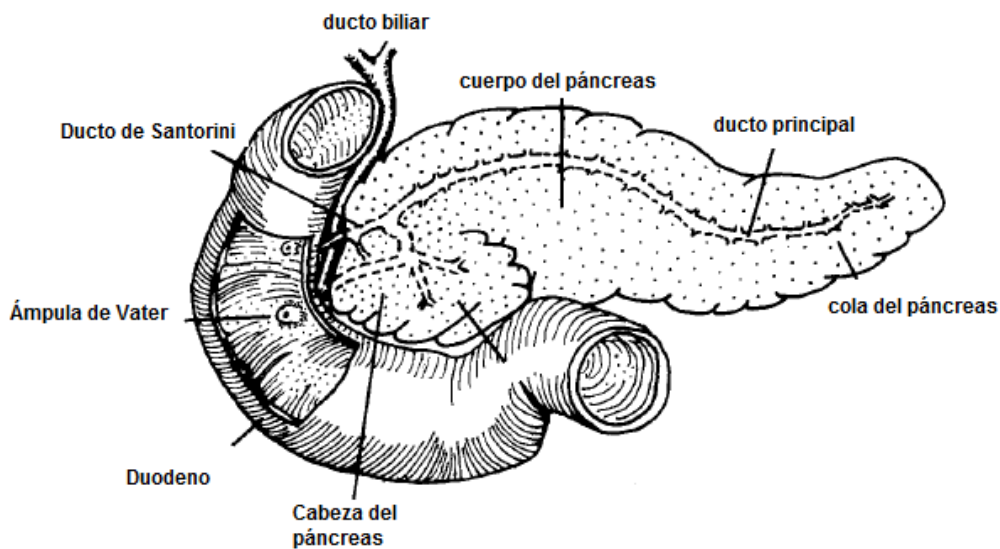


Figura 1. Anatomía del páncreas humano adulto.

(Tomada y modificada de Slack, 1995).

El páncreas se origina de dos yemas que se desarrollan en los lados dorsal y ventral del duodeno. La yema ventral se forma adyacente al divertículo hepático, y la yema



dorsal se forma en el lado opuesto del tracto intestinal (Slack, 1995). El páncreas consiste de dos tipos diferentes de tejido glandular, las células exocrinas secretan enzimas digestivas y bicarbonato hacia el intestino, el páncreas exocrino se organiza en lóbulos ramificados, que a su vez están formados por los acinos. Las células acinares tienen numerosos gránulos de secreción, que contienen las enzimas digestivas. Hay al menos 22 tipos de enzimas que tienen actividad de proteasas, amilasas, lipasas y nucleasas. Son secretadas como precursores inactivos que se activan en el duodeno. La secreción del jugo pancreático es estimulada por hormonas como secretina, colecistoquinina y gastrina, y también se regula por el sistema nervioso (Hiriart, 2005). El páncreas endocrino está agrupado en los islotes de Langerhans o pancreáticos, los cuales se encuentran embebidos en el tejido exocrino. Hay cuatro tipos principales de células endocrinas designadas como α , β , δ y γ , las cuales secretan hormonas hacia la circulación sanguínea. Las células α representan cerca del 20% del islote secretan glucagon. Las células β constituyen cerca del 70 al 75% del volumen insular y secretan insulina, ácido γ -aminobutírico, factor de crecimiento neuronal (NGF) y también un antagonista de la insulina llamado amilina. Las células δ secretan somatostatina son alrededor del 5%, y las células γ o PP secretan polipéptido pancreático, y constituyen cerca del 2% del islote y se localizan predominantemente en la cabeza del páncreas. Una pequeña proporción de las células de los islotes en el adulto producen péptido YY en adición a su producto principal (figura 2). En los roedores las células de los islotes tienen un arreglo particular de manera que las células β se localizan en el centro y los otros tipos de células en la periferia. Mientras que en los humanos esta segregación, a

pesar de estar presente, es menos definida. La proporción de células endocrinas es cerca del 4% de las células totales del páncreas de la rata adulta. En el páncreas humano adulto hay cerca de un millón de islotes (Slack, 1995; Hiriart, 2005).

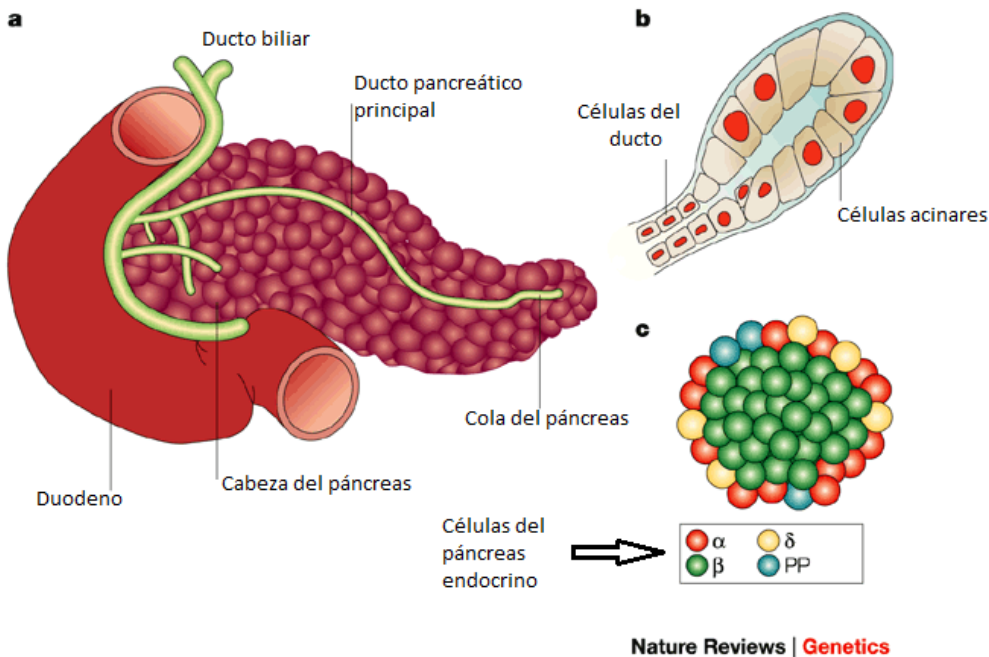


Figura 2. Páncreas exocrino y endocrino

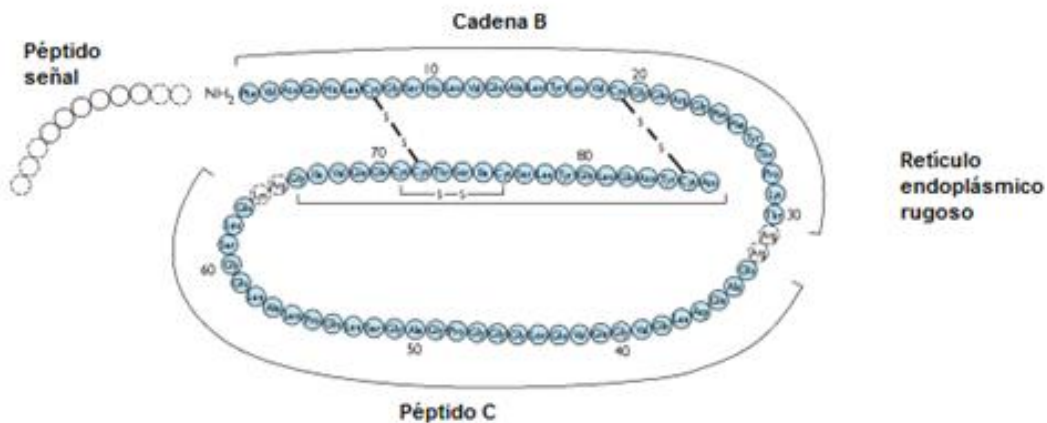
(http://www.nature.com/nrg/journal/v3/n7/fig_tab/nrg841_F2.html)

La insulina

La insulina es una hormona secretada por las células β del páncreas en respuesta a una elevación en los niveles de glucosa en sangre (Barg, 2003) La insulina también regula el metabolismo de los lípidos aumentando la síntesis de ácidos grasos, la esterificación de los ácidos grasos libres (AGL), y disminuyendo la lipólisis. También ejerce un efecto anabólico sobre el metabolismo de las proteínas, aumenta la síntesis de proteínas y disminuye la proteólisis. La insulina también tiene control en otros

procesos importantes como el crecimiento celular, la proliferación, sobrevivencia y diferenciación celular (Meshkani *et al.*, 2009).

El gen de la insulina está localizado en el brazo corto del cromosoma 11 en humanos. Al igual que otras hormonas y proteínas secretoras, la preproinsulina se sintetiza en los ribosomas del retículo endoplásmico (RE). Este precursor está formado por un péptido señal, las cadenas A y B y el péptido C. El péptido señal dirige la preproinsulina hacia el RE. A su entrada al RE pierde la parte pre (péptido señal), la proinsulina da origen a la insulina cuando pierde el péptido C, el cual es necesario para la formación de dos puentes disulfuro entre las cadenas A y B mediante residuos de cisteínas (figura 3) (Meshkani *et al.*, 2009; Hiriart, 2005).



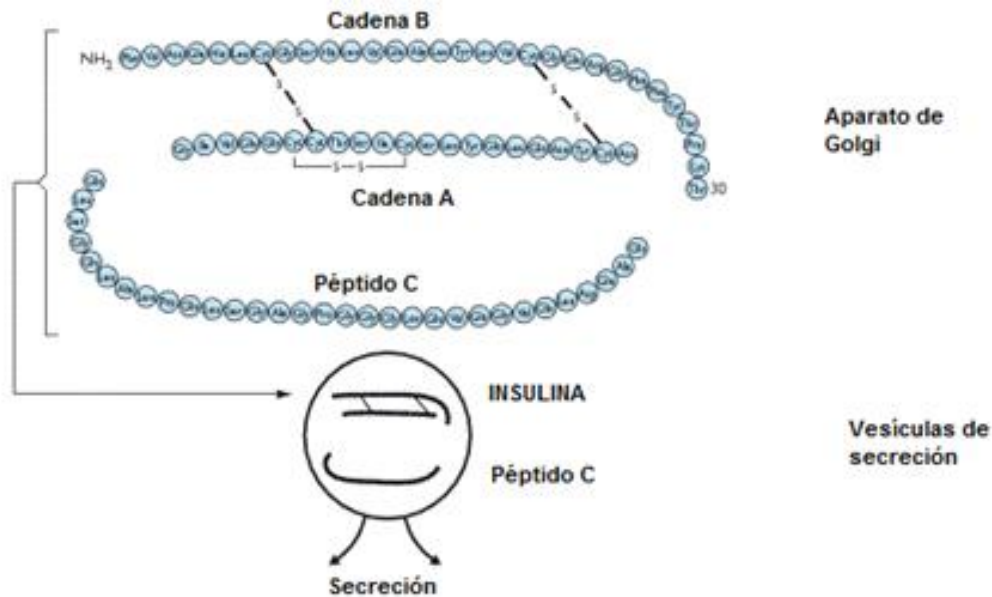


Figura 3. Síntesis de la insulina (Modificada de

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=endocrin&part=A43&rendertype=box&id=A115>)

Secreción de insulina

El aumento en la concentración plasmática de la glucosa es el principal estímulo para la secreción de insulina, la cual entra a la célula β por difusión facilitada a través del transportador GLUT2, y es fosforilada a glucosa-6-fosfato (G6P) por la hexocinasa (glucocinasa en hígado, GCK). La G6P es metabolizada por las vías de la glucólisis, del ciclo de ácido cítrico y de la fosforilación oxidativa en el citoplasma y las mitocondrias, resultando en un incremento en la proporción ATP/ADP. Esto, en consecuencia, cierra el canal de K^+ sensible a ATP, lo que provoca la despolarización de la membrana. Cuando se alcanza el potencial al cual se activan los canales de sodio y de calcio de

tipo T (cerca de -40 mV), estos se abren y dejan pasar sodio y calcio, respectivamente, lo que tiene como consecuencia una mayor despolarización de la membrana, hasta que alrededor de -20 mV se abren los canales de calcio tipo L, el flujo de calcio al interior de la célula promueve la exocitosis de los gránulos que contienen a la insulina (Barg, 2003; Ashcroft *et al.*, 2004; Hiriart, 2005, Hiriart, 2008), (figura 4).

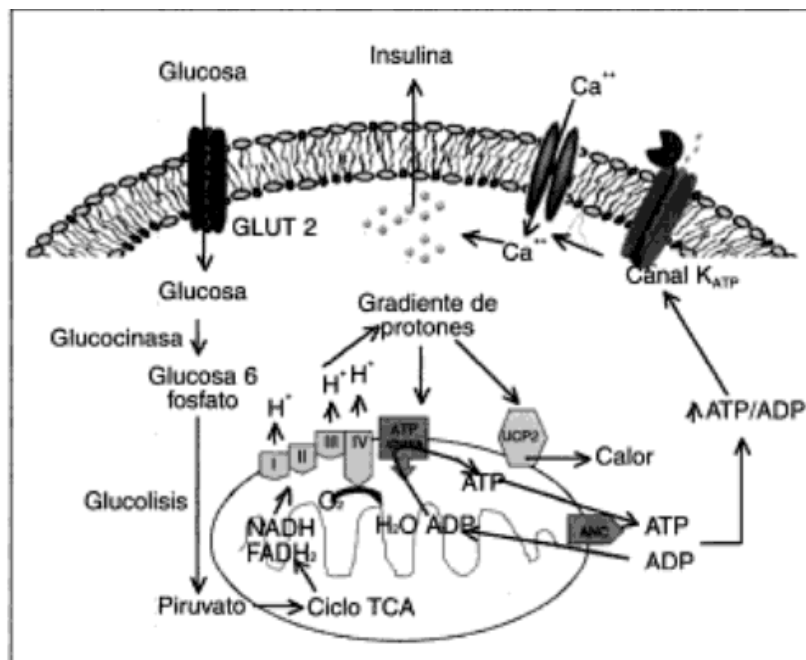


Figura 4. Secreción de insulina en células β pancreáticas en respuesta a la glucosa

(Tomada de Tébar, 2009).

Señalización de la insulina en sus tejidos blanco

El receptor de insulina es un complejo de proteínas transmembranales y pertenece a la familia de receptores que tienen actividad de cinasas de tirosina. El gen humano que codifica al receptor de la insulina está localizado en el brazo corto del cromosoma 19. La unión de la insulina a su receptor incluye una cascada de eventos intracelulares que



inicia con la autofosforilación del receptor en los residuos de tirosina, y la fosforilación de tirosinas en proteínas de anclaje como las IRS 1-6, Shc, Cb1 y Gab-1, que posteriormente activan las moléculas de señalización río abajo (Barg, 2003; Meshkani *et al.*, 2009).

Tres principales vías son activadas. 1) La vía de la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K) media los efectos metabólicos de insulina (metabolismo de glucosa, lípidos y proteínas). 2) La fosforilación de proteínas IRS crea sitios de unión para PI3K que permite la activación de PI3-k, que fosforilará a 3) cinasas río abajo, como la PDK que activará a las cinasas PKB y PKC. PKB es la responsable del efecto de la insulina sobre el transporte de glucosa, síntesis de glucógeno, síntesis de proteínas, lipogénesis y la supresión hepática de la gluconeogénesis.

La vía de las MAP cinasas controla los efectos mitogénicos, de crecimiento y diferenciación celular. Y la vía de CAP/Cb1/Tc10 (Cb1-proteína asociada/receptor canarinoide tipo 1/proteína G de unión Tc10) es la responsable de la translocación del transportador GLUT4 a la membrana en el tejido muscular y adiposo (Meshkani *et al.*, 2009), (figura 5).

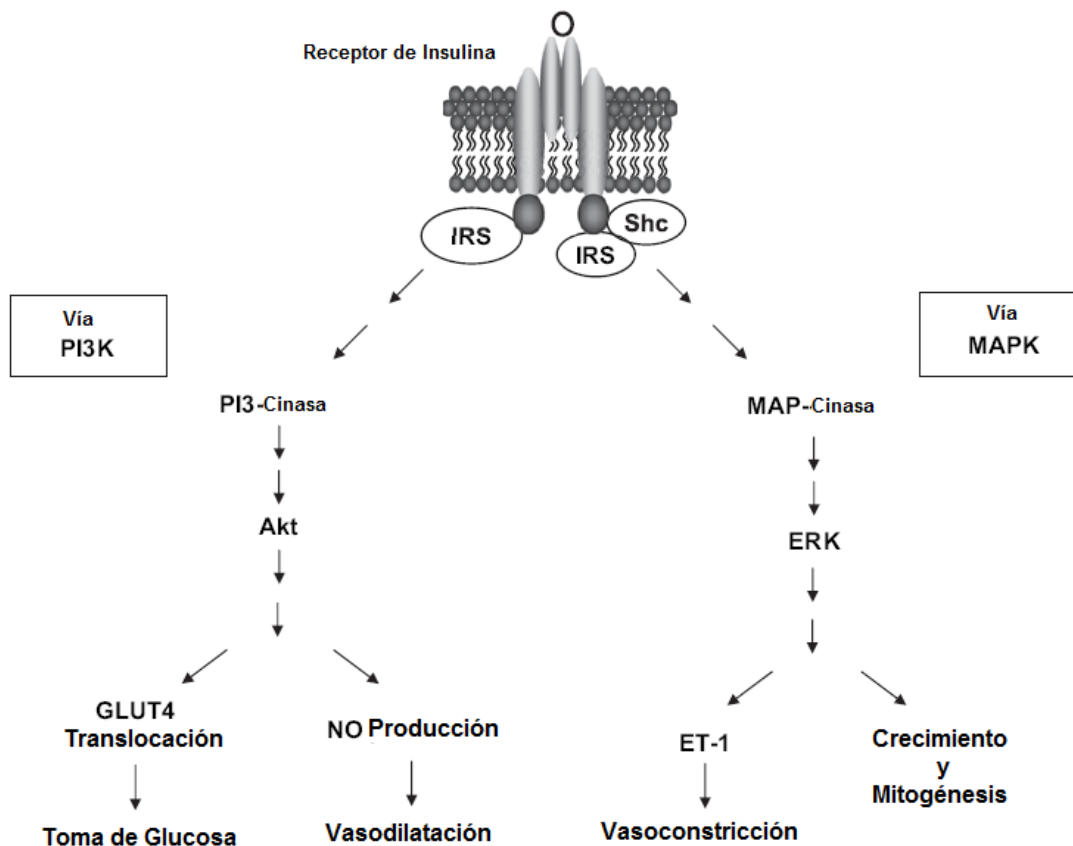


Figura 5. Señalización de la insulina (Tomada y modificada de Lann y LeRoith, 2007).

Síndrome metabólico

Se denomina síndrome metabólico (SM) a la presencia de 3 o más de las siguientes alteraciones metabólicas: obesidad de distribución central, resistencia a la insulina/hiperglucemia/tolerancia a la glucosa alterada, disminución de las concentraciones del colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (cHDL), elevación de las concentraciones de los triglicéridos, aumento de la presión arterial, estado microinflamatorio, estado protrombótico, hiperuricemia y/o microalbuminuria. El SM se ha asociado a un incremento de 5 veces en la prevalencia de diabetes tipo 2 y



de 2 a 3 veces en las enfermedades cardiovasculares. (Zimmet *et al.*, 2005; Garber *et al.*, 2004).

En 1988, Reaven y colaboradores observaron que diversos factores de riesgo (dislipidemia, hipertensión e hiperglucemia) tendían a manifestarse en conjunto y a esta condición la llamaron síndrome X, y lo reconocieron como factor de riesgo múltiple para las enfermedades cardiovasculares. Posteriormente, Reaven y otros investigadores postularon que la resistencia a la insulina es la base del síndrome X. La prevalencia del SM depende de diversos factores como el género, la edad, el origen étnico, entre otros; se ubica entre el 15 al 40% en diversas poblaciones, pero el porcentaje varía de acuerdo a la definición usada para diagnosticarlo (tabla 1), siendo mayor en la población de origen hispano (Pineda, 2008).

Tabla 1. Definiciones del síndrome metabólico

NCEP ATP III	AHA/NHLBI	IDF	OMS
(≥3 CRITERIOS)	(3 CRITERIOS)	(OBESIDAD + ≥ OTROS 2 CRITERIOS)	(RESISTENCIA A LA INSULINA + ≥ OTROS 2 CRITERIOS)
Circunferencia de cintura			Índice de masa corporal
>102 cm Hombres	> 101.6cm Hombres	Específico de la raza/etnia*	> 30 kg/m ² y/o índice cintura cadera:
> 88cm Mujeres	> 88.9cm Mujeres		> 0.9 (Hombres)
			> 0.85 (Mujeres)
Triglicéridos			
≥ 150 mg/dL	≥ 150 mg/dL o tratamiento para	≥ 150 mg/dL o tratamiento para	≥ 150 mg/dL



	hipertrigliceridemia	hipertrigliceridemia	
HDL-C			
< 40 mg/dL (Hombres)	< 40 mg/dL (Hombres)	< 40 mg/dL (Hombres)	< 35 mg/dL (Hombres)
< 50 mg/dL (Mujeres)	< 50 mg/dL (Mujeres) o tratamiento para HDL-C bajos.	< 50 mg/dL (Mujeres) o tratamiento para HDL-C bajos.	< 40 mg/dL (Mujeres)
Presión arterial			
≥ 130/85 mmHg o tratamiento para hipertensión	≥ 135/85 mmHg o tratamiento para hipertensión	≥ 130/85 mmHg o tratamiento para hipertensión	≥ 140/90 mmHg o tratamiento para hipertensión
Glucosa en ayuno		Resistencia a la insulina	
100-125 mg/dL	≥ 100 mg/dL o tratamiento para hiperglucemia	≥ 100 mg/dL o diagnóstico de diabetes mellitus	Diabetes mellitus tipo 2, glucosa alterada en ayunas, tolerancia a la glucosa alterada
			Albúmina urinaria
			> 20mg/mL
			Proporción albúmina- creatinina
			> 30 mg/g

NCEP ATP III = National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III

AHA/NHLBI = American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute

IDF = International Diabetes Foundation

OMS = Organización Mundial de la Salud

H = hombres; M = mujeres.

*Europeos: H ≥ 94cm, M ≥ 80cm; Asiáticos del Sur: H ≥ 90cm, M ≥ 80cm; Chinos: H ≥ 90cm, M ≥ 80cm;

Japoneses H ≥ 85cm, M ≥ 90cm; Sudamericanos y Centroamericanos: H ≥ 90cm, M ≥ 80cm; Sub-Sahara

Africanos H ≥ 94cm, M ≥ 80cm; Este del Mediterráneo y Arabia H ≥ 94cm, M ≥ 80cm

Tabla tomada y modificada de Stolar Mark.



En humanos, la sensibilidad a la insulina disminuye durante el envejecimiento, por lo que la prevalencia tanto del SM como el de la resistencia a la insulina aumenta considerablemente en adultos mayores (Arai et al., 2008). Los resultados de 22 estudios basados en el criterio de NCEP ATP III (*National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III*) para definir el SM (tabla 1), revelaron que la prevalencia de este síndrome se encuentra en el 5.6% en mujeres chinas, en un 52.8% en hombres de origen polinés en Nueva Zelanda. Por otra parte mujeres de Irán, de la parte del sur de Asia, de África, de México y de Arabia presentaron mayor prevalencia del SM en comparación con los hombres, sin embargo, la prevalencia fue menor en mujeres que en hombres caucásicos e hispanos (Meshkani *et al.*, 2009).

Fisiopatología del síndrome metabólico

Se piensa que el desorden fundamental en el SM es la resistencia a la insulina, con importante influencia de la obesidad. Otros factores independientes como la edad y cambios hormonales pueden ser contribuidores importantes en el SM.

Resistencia a la insulina

La insulina, producida por el páncreas, es la hormona anabólica más importante cuyas acciones son esenciales para el crecimiento, desarrollo y la homeostasis del metabolismo de la glucosa, la grasa y las proteínas, promueve la disposición de la glucosa en el músculo y el tejido adiposo, y suprime la producción de glucosa en el hígado inhibiendo la glucogenólisis y la gluconeogénesis (Ashcroft *et al.*, 2004).



La resistencia a la insulina (RI) es un estado en el cual concentraciones normales de la hormona producen una respuesta biológica menor a la normal. Al inicio, el páncreas es capaz de aumentar la secreción de insulina apropiadamente para contrarrestar la RI. Con el tiempo, sin embargo, la célula β falla en mantener el alto nivel de secreción de insulina, por lo que se altera la tolerancia a la glucosa y, eventualmente, puede llevar al desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) (Kahn *et al.*, 2006).

El Dr. Reaven postuló que algunas vías permanecen sensibles a la insulina en el SM, mientras que otras por las que la insulina estimula la captura de glucosa, particularmente por el músculo y la grasa, se vuelven resistentes. La hiperglucemia resultante estimula la secreción de insulina de las células β , provocando una hiperinsulinemia, la cual sobre estimula aquellas vías que aún son sensibles a la insulina. Por ejemplo, la hiperinsulinemia produce una lipogénesis excesiva al igual que incrementa la producción de triglicéridos, resultando en hipertrigliceridemia, esteatosis hepática, retención de agua y sal produciendo hipertensión, síntesis excesiva de andrógenos desarrollando un síndrome de ovario poliquístico. (Biddinger *et al.*, 2011).

Las bases moleculares de la RI aún no son del todo claras. Pueden participar diversos mecanismos para que se presente la RI, entre ellos, la presencia de moléculas anormales de insulina, una disminución en el número de receptores y en la afinidad, una disminución en los transportadores de glucosa y una defectuosa actividad en la señalización posterior a la unión de la insulina a su receptor. Sin embargo, los defectos en los eventos de señalización río abajo en el receptor, incluyendo señales de

transducción y fosforilaciones anormales, parecen ser los sitios más probables causantes de la RI, (figura 6) (Biddinger, 2006).

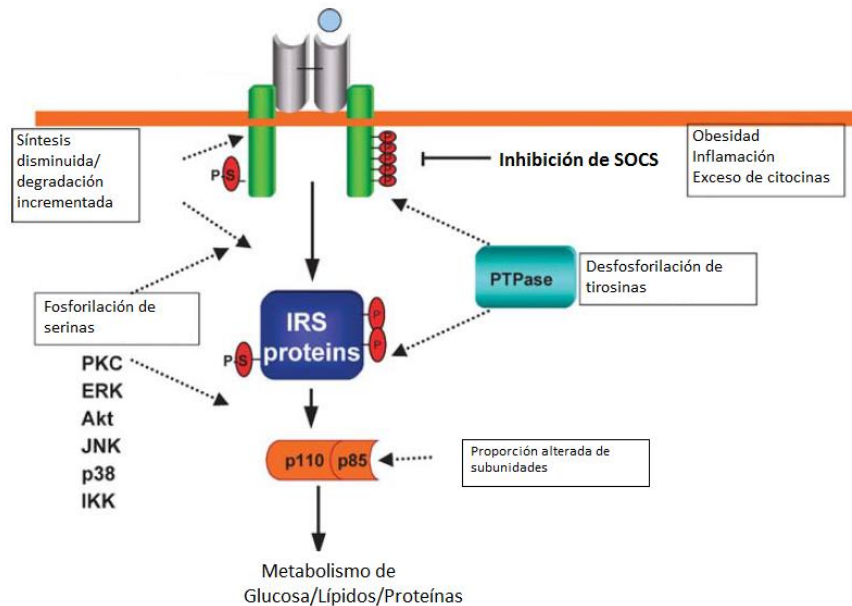


Figura 6. Mecanismos que pueden producir resistencia a la insulina (Modificada de Biddinger and Kahn, 2006).

La RI en tejido adiposo tiene como consecuencia una hidrólisis elevada de triglicéridos de los adipocitos que ocasionan un aumento en los AGL en plasma. La liberación excesiva de AGL, citocinas y otros productos proinflamatorios del tejido adiposo inducen la RI en músculo, hígado, disfunción endotelial y apoptosis de la célula β pancreática (Lann, 2007).

En 1963, Randle y colegas describieron el ciclo de la glucosa-ácidos graso, también conocido como el ciclo de Randle, y mostraron en células de músculo de rata que



niveles elevados de AGL inhiben la captura y el metabolismo de la glucosa. Estos investigadores postularon que la elevada oxidación de AGL aumenta la producción mitocondrial de acetil-CoA la cual inhibe la actividad de la piruvato deshidrogenasa (PDH). Además, la elevación de acetil-CoA resulta en un incremento de los niveles de citrato, que va a inhibir a la fosfofructocinasa-1 y como consecuencia la acumulación de la glucosa-6-fosfato (G6P), que a su vez inhibe la actividad de la hexocinasa (HK) II y por último provoca una reducción en la captura de glucosa, (Lann, 2007), (figura 7A). En contraste, se ha sugerido un mecanismo alternativo para la RI inducida por AGL. Por otro lado, concentraciones elevadas de metabolitos intracelulares de AGL, acil-CoA, ceramidas, y diacilglicerol ocasionan una alteración en la regulación de los niveles de PKC- θ y PKC- ϵ en el músculo e hígado, respectivamente, que en cambio, disminuye la fosforilación estimulada por insulina de los IRS-1/IRS-2, la activación de PI3K y la señalización río abajo. Por lo tanto, el transportador de glucosa y otros eventos de la señalización de insulina son reprimidos (Lann, 2007), (figura 7B).

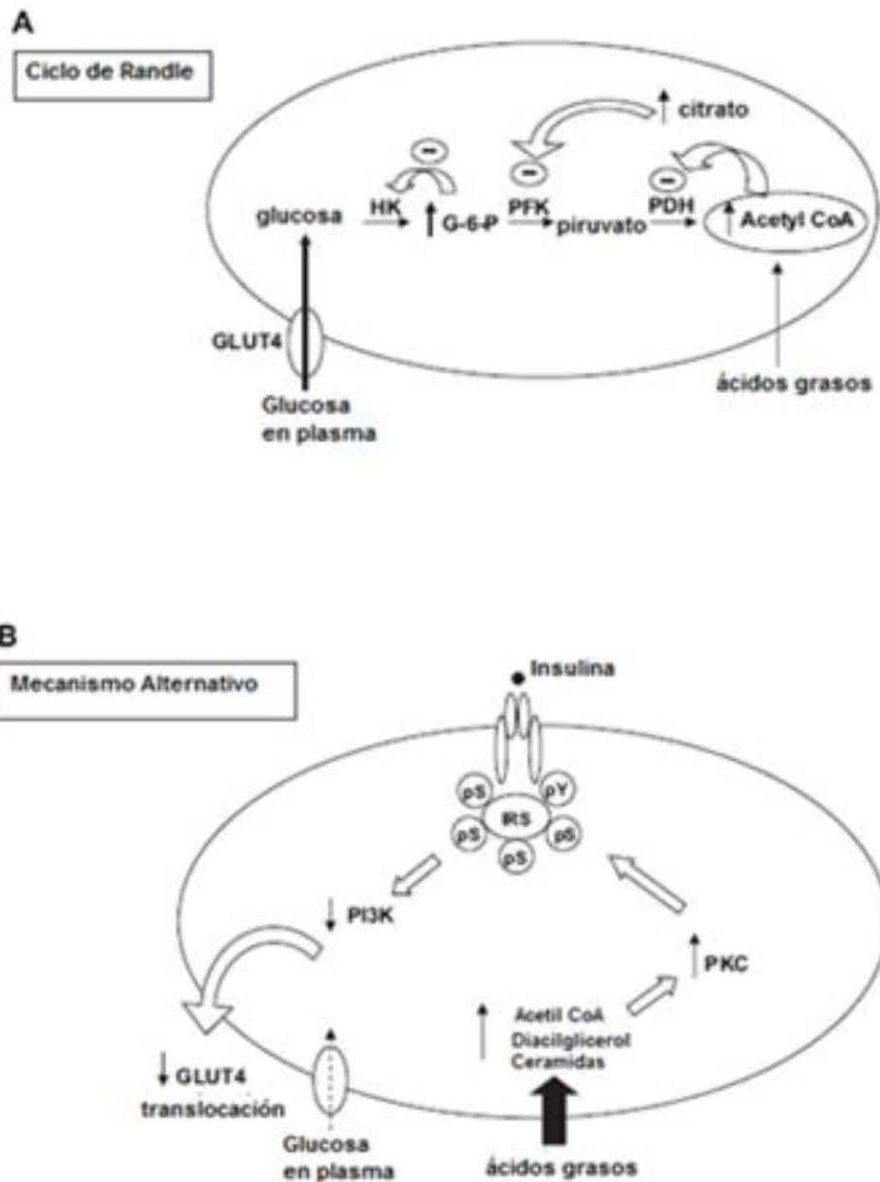


Figura 7A y 7B. Mecanismos propuestos para la resistencia a la insulina en músculo esquelético. (Modificado de Lann, 2007).



La presencia de RI en tejidos blanco sensibles a la insulina (músculo, hígado y adipocitos) resulta en anormalidades mayores como hiperglucemia, hiperinsulinemia, e hipertrigliceridemia que son características comunes del SM. La RI en células de músculo reduce la toma de glucosa, mientras que en los hepatocitos resulta en una alteración en la síntesis de glucógeno, fallas para suprimir la síntesis de glucosa, promueve la lipogénesis y aumenta la síntesis de proteínas (Meshkani *et al.*, 2009). El 78% de los pacientes con SM presentan RI y el 48% de la gente con RI presenta SM. (Stolar, 2007).

Tejido adiposo y obesidad

El tejido adiposo (TA) es reconocido por realizar un gran número de funciones metabólicas y endocrinas. El TA tiene efectos sobre la homeostasis de la glucosa, la producción de esteroides, el sistema inmune, la hematopoyesis, y la función reproductora, debido a que este tejido secreta adipocinas que comprenden citocinas, hormonas, factores de crecimiento, quimiocinas, factores de complemento y proteínas que participan en la homeostasis vascular, la regulación de la presión arterial, metabolismo de lípidos, homeostasis de la glucosa y angiogénesis (Bohler *et al.*, 2009; Sánchez *et al.*, 2005).

En los mamíferos, el TA se divide en tejido adiposo pardo (TAP) que es el encargado de la termogénesis, por lo que expresa una gran cantidad de mitocondrias; y en tejido adiposo blanco (TAB) que almacena grasa y secreta adipocinas. Como tejido secretor, el TAB presenta varias características:



- 1) Se encuentra distribuido a través de todo el organismo en depósitos individuales que no están conectados físicamente. No es del todo claro la regulación de la secreción de moléculas por los depósitos ni cómo se regula su conexión a través de estímulos humorales y nerviosos.
- 2) Está constituido por diferentes tipos celulares, que incluyen: fibroblastos, preadipocitos, adipocitos maduros, y macrófagos, los cuales contribuyen y además participan en mayor o menor grado en la función secretora del TAB.
- 3) Es sumamente heterogéneo en términos de capacidades metabólicas de acuerdo con su localización visceral (localizada en la cavidad peritoneal, rodeando los órganos) o subcutánea (localizada debajo de la epidermis).
- 4) Algunas adipocinas también son secretadas por otros tejidos diferentes al adiposo y no se puede determinar con exactitud cuál es la contribución de este tejido a las concentraciones de adipocinas circulantes.
(Sánchez *et al.*, 2005).

La obesidad se define como un exceso de tejido adiposo resultado de un balance positivo de energía presente cuando la ingesta calórica excede al gasto energético. La obesidad y el SM son considerados como los principales factores de riesgo en el desarrollo de distintas enfermedades como diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial, dislipidemia, cardiopatía isquémica y cáncer, entre otras (Canizales, 2008).

Un elemento de diagnóstico aceptado para determinar el grado de obesidad es el índice de masa corporal (IMC), ya que tiene una alta correlación con la grasa corporal. Los



puntos de corte propuestos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) se presentan a continuación:

Tabla 2. Clasificación del estado nutricional

Clasificación	IMC (kg/m ²)
Desnutrición	< 18.5
Peso adecuado	18.5 – 24.9
Sobrepeso	25.0 – 29.9
Obesidad I	30 – 34.9
Obesidad II	35 – 39.9
Obesidad III	≥ 40

El consumo de alimentos, la actividad física realizada, la genética, los factores psicológicos, el género y el origen étnico son factores importantes que contribuyen en la cantidad y distribución del tejido adiposo (Bohler *et al.*, 2009).

Los mecanismos de unión de la obesidad visceral con el SM no han sido totalmente entendidos, sin embargo, se ha sugerido que la localización anatómica del TAB es relevante lo que ocasiona una mayor liberación de AGL y gliceroles (lipólisis). Se ha demostrado que cuando existe obesidad, hay un incremento de las adipocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-6, ASP, resistina) y un decremento de las adipocinas antiinflamatorias (adiponectina), las cuales modifican la sensibilidad a la insulina (RI), lo cual es seguido por una hiperinsulinemia compensatoria, que estimula a la lipogénesis con lo cual se mantiene la grasa visceral, desencadenando la arteriosclerosis y otras complicaciones microvasculares (Huffman *et al.*, 2009; Sánchez *et al.*, 2005), (figura 8).

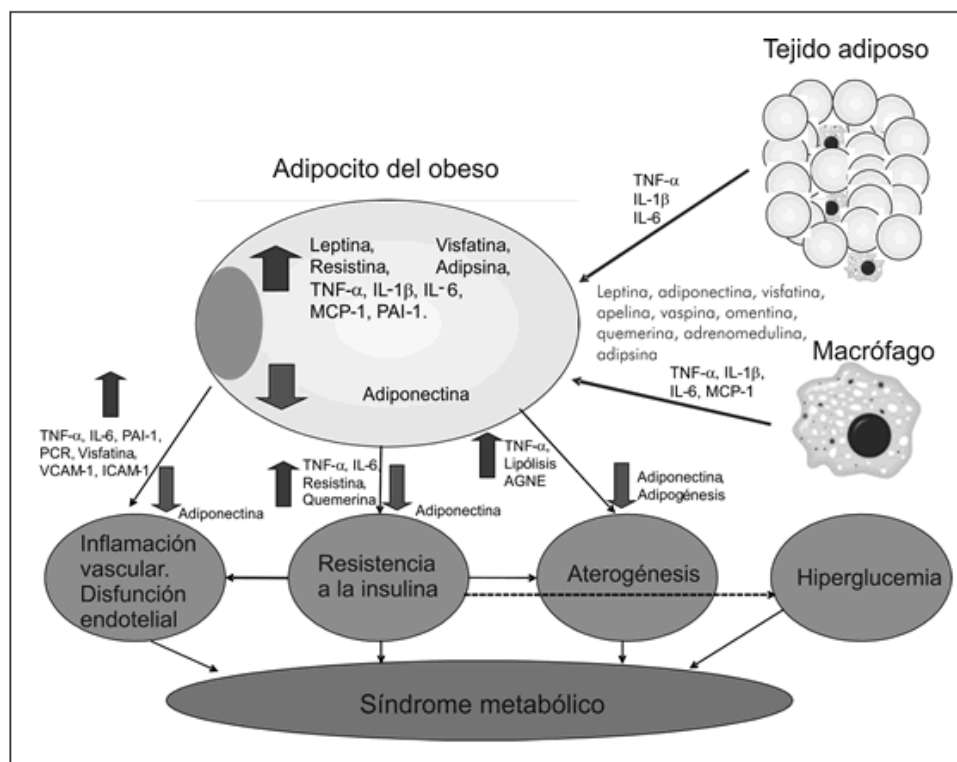


Figura 8. Efectos de las distintas adipocinas sobre el adipocito y el metabolismo. AGNE, ácidos grasos no esterificados; ICAM-1, molécula de adhesión intercelular-1; IL, interleucina; MCP-1, proteína quimioatrayente de monocito-1; PAI-1 inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1; PCR, proteína C reactiva; $TNF-\alpha$, factor de necrosis tumoral α ; VCAM-1, molécula de adhesión vascular-1 (Tomada de Sánchez, *et al.*, 2010).

Dimorfismo sexual en la distribución de grasa corporal

Las hormonas sexuales regulan la distribución de grasa

En general, el género femenino desarrolla más grasa subcutánea, mientras que el género masculino desarrolla más grasa visceral. Se ha propuesto a las hormonas sexuales como reguladores de la distribución de grasa corporal.

Los hombres sintetizan menores cantidades de estrógenos, y en promedio también presentan menor grasa total y una distribución abdominal central mayor (distribución androide o manzana) en comparación con las mujeres pre menopáusicas que presentan más grasa corporal total y su distribución se ubica en el área inferior abdominal (distribución ginecoide o pera) (Shi *et al.*, 2009; Wajchenberg, 2000), (figura 9).

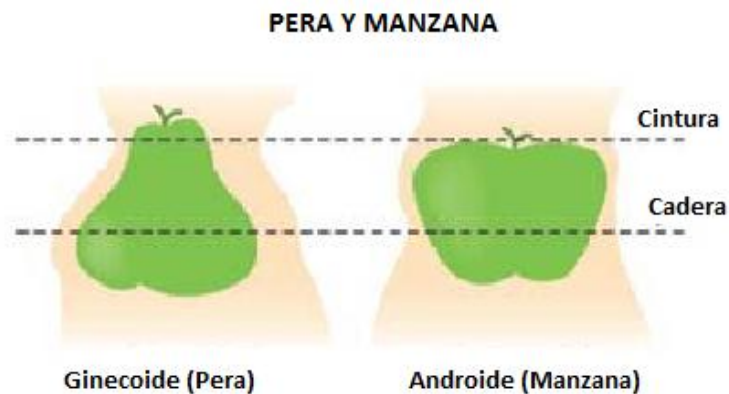


Figura 9. Distribución de la grasa en mujeres (ginecoide) y hombres (androide).

Imagen tomada y modificada de http://1.bp.blogspot.com/_nGH-ws0p_ec/R8rhQ6sRqvl/AAAAAAAAAJI/feaYHOuxJ0A/s400/sf_03shapes.jpg

En la figura 10 se describe un modelo en roedores que propone a los estrógenos como los reguladores de la distribución del TA. La disminución en los niveles de estrógenos, como sucede en la menopausia, está asociada con el incremento del TA visceral. Los receptores de estrógenos (ER) son expresados tanto en el TA como en el hipotálamo. Este modelo indica que los estrógenos pueden actuar directamente sobre el receptor de estrógenos alfa (ER α) de la grasa visceral para regular el metabolismo de los lípidos, de

igual manera pueden interactuar con la leptina y así influenciar la adiposidad, y potencialmente promover la activación del sistema nervioso simpático (SNS) inducido por la leptina, el SNS inerva al tejido adiposo, por lo tanto reduce la acumulación de la grasa visceral (Shi y Clegg, 2009).

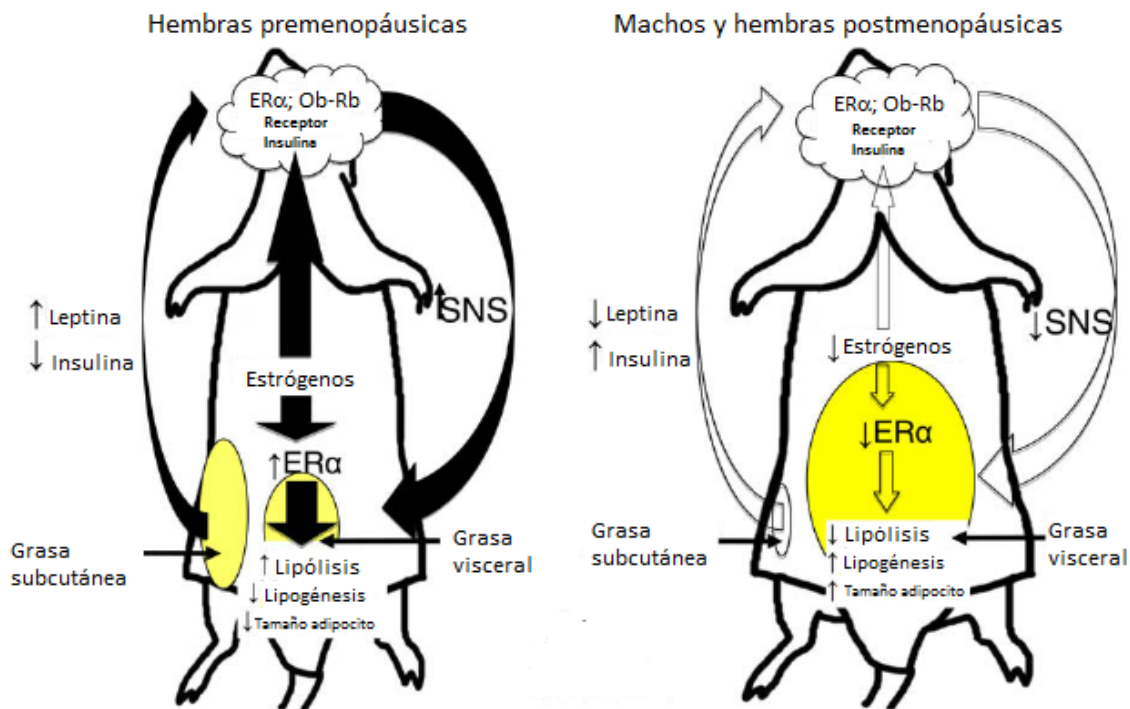


Figura 10. Modelo potencial de la interacción entre las hormonas sexuales y las señales de los adipocitos en la regulación de la distribución de la grasa en ratas. SNS: Sistema Nervioso Simpático; ER α : Receptor a Estrógenos α ; Ob-Rb: Receptor de leptina-b. (Tomada y modificada de Shi y Clegg, 2009.)

Grasa subcutánea

La grasa subcutánea está dispersa por debajo de la piel en un área extensa, está relativamente poco inervada y vascularizada, y las células que la componen tienen un



diámetro celular mayor al de los adipocitos de la grasa visceral. La función del TA subcutáneo es la de almacenar en forma de lípidos el máximo de calorías por unidad de volumen de tejido, esta capacidad permite enfrentar períodos largos de ayuno y suministros limitados de calorías, especialmente en el sexo femenino. La grasa subcutánea es sensible a la insulina, a través de una actividad elevada de la lipasa de lipoproteína que favorece la depuración de los triglicéridos en circulación provenientes de la dieta y facilitando el almacenamiento de AGL en los adipocitos (Shi *et al.*, 2009; Wajchenberg, 2000).

Existe la presencia de dimorfismo sexual tanto en la liberación de ácidos grasos como en la captura de éstos por el TA subcutáneo y visceral, por ejemplo, las mujeres expresan un mayor número de adreno-receptores- $\alpha 2$ antilipolíticos en la región gluteal/femoral subcutánea, en contraste con lo descrito para el TA visceral, en las mujeres hay menor actividad lipolítica mediada por las catecolaminas y menor liberación de ácidos grasos. La captura de AGL por el TA subcutáneo es mucho mayor en mujeres pre menopáusicas que en los hombres (Wajchenberg, 2000).

Empleando marcadores de ácidos grasos en los alimentos y biopsias de TA, Jensen y colaboradores encontraron que una mayor proporción de lípidos provenientes de la dieta fue almacenada por el TA subcutáneo de la parte baja gluteal/femoral corporal de las mujeres que por el de los hombres. Por lo tanto, el TA subcutáneo femenino libera menor cantidad de AGL, pero la captura de éstos es mayor que la de los hombres, lo que a las diferencias regionales en la distribución de la grasa entre sexos (Shi *et al.*, 2009).



Grasa visceral

La grasa visceral en los humanos ha sido relacionada con la prevalencia de RI y dislipidemia. El TA visceral es metabólica y funcionalmente diferente al TA subcutáneo, y está caracterizado por tener mayor cantidad de capilares y axones simpáticos eferentes por unidad de volumen que la que presenta el TA subcutáneo. Además, la grasa visceral presenta características adipogénicas, metabólicas, pro-aterogénicas y pro-trombóticas (Shi y Clegg, 2009; Wajchenberg, 2000).

El TA visceral varía inversamente a los niveles de estrógenos, el género femenino presenta un incremento en este tipo de tejido después de la menopausia como consecuencia de la disminución de estas hormonas, por su parte los andrógenos favorecen el depósito abdominal de la grasa (Shi *et al.*, 2009).

La eliminación quirúrgica del TA visceral en humanos ha resultado en la disminución de niveles de la insulina y la glucosa. En ratas machos, la eliminación del este tejido ha prevenido tanto el desarrollo de RI dependiente de la edad como de intolerancia a la glucosa. Además, en ratones este procedimiento mejoró la tolerancia a la glucosa en ambos sexos (Shi y Clegg, 2009).

Las ratas hembra ovariectomizadas en edad reproductiva ganan grasa visceral, la administración periférica o central de estradiol a estas ratas restauró su sensibilidad hacia la leptina y cambió la distribución de la grasa reflejando a la de las ratas control. Además, al alterar el nivel de hormonas sexuales en machos por administración de estradiol hubo un aumento en la sensibilidad a la leptina y en la acumulación de grasa subcutánea. Lo importante de estos experimentos es que los estrógenos mejoraron la



acción de la leptina en el TA visceral facilitando la movilización de la grasa visceral a los depósitos subcutáneos (Shi *et al.*, 2009; Wajchenberg, 2000).

Dislipidemia en el SM

La dislipidemia en el SM se caracteriza por niveles de triglicéridos elevados, bajos niveles de colesterol HDL (cHDL), y altos niveles de colesterol LDL (cLDL). La hipertrigliceridemia que se presenta junto con la obesidad abdominal y la RI está relacionada con el incremento en la secreción AGL por los adipocitos que son resistentes a la insulina (Mooradian, 2009). En el estado de RI, la lipasa dependiente de la insulina en el adipocito está menos inhibida por la insulina, produciendo un aumento de la lipólisis y la liberación de AGL que aumentan sus concentraciones séricas. Estos AGL son incorporados por el hepatocito, aumentando la síntesis de triglicéridos (Smith, 2007).

Los triglicéridos excesivos disponibles en la RI bloquean la degradación de la apo B, dando lugar a la producción y secreción de más partículas de apo B VLDL y a la hipertrigliceridemia resultante en dislipidemias con RI. Las partículas de VLDL aumentadas transfieren más triglicéridos a partículas de LDL y HDL, a cambio de colesterol de partículas de LDL y HDL por la enzima proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CTP) (Mooradian, 2009; Carr y Brunzell, 2004).

A medida que las partículas de HDL y LDL enriquecidas con triglicéridos pasan a través del hígado, la lipasa hepática (actividad aumentada en la resistencia a la insulina) hidroliza los triglicéridos a AGL, que difunden desde la partícula, disminuyendo el contenido de LDL y HDL del núcleo lipídico, dando lugar a partículas más pequeñas

(Carr y Brunzell, 2004). El catabolismo de las partículas de HDL por el riñón es inversamente proporcional al tamaño de las mismas; las partículas más pequeñas se catabolizan más rápido, causando un descenso de la concentración de colesterol HDL (Milnar *et al.*, 2007; Eckel *et al.*, 2005). Las partículas de LDL más pequeñas se incorporan más rápidamente al espacio subendotelial vascular, se asocian con mayor afinidad con los proteoglicanos en el espacio subendotelial, se oxidan más rápidamente que las LDL grandes y, en última instancia, son más aterógenas (Mooradian, 2009; Carr y Brunzell, 2004; Smith, 2007), (figura 11).

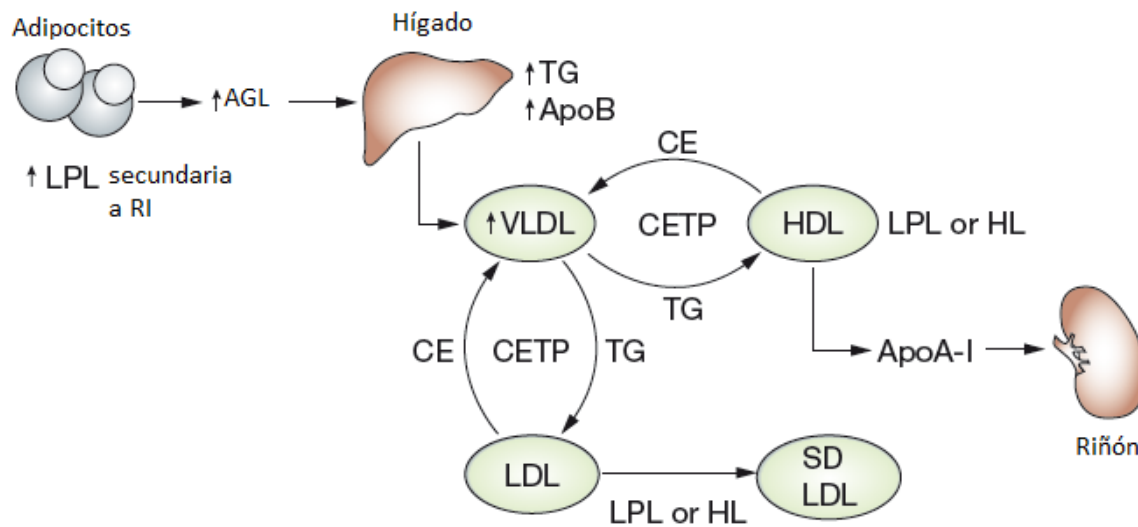


Figura 11. El papel de la RI en la dislipidemia. La RI inicia la triada característica de altos niveles de triglicéridos, bajo HDL, y alto LDL. Si la concentración de VLDL que transporta triglicéridos es elevada, la CEPT promueve la transferencia de ésteres de colesterol de LDL o HDL en intercambio por triglicéridos. El colesterol HDL o LDL rico en triglicérido puede ser hidrolizado por la lipasa hepática o por la lipoprotein-lipasa. Abreviaciones: ↑, incremento de niveles; ApoA-1, apolipoproteína A-1; ApoB,



apolipoproteína B; CE, ésteres de colesterol; CETP, proteína transportadora de ésteres de colesterol; AGL, ácidos grasos libres; HL, lipasa hepática; LPL, lipasa de lipoproteína; SD LDL, colesterol LDL de baja densidad; TG, triglicéridos (tomada y modificada de Mooradian D.A., 2009).

Tolerancia alterada a la glucosa o intolerancia a la glucosa

La tolerancia alterada a la glucosa o intolerancia a la glucosa (IG) es un estado metabólico caracterizado por niveles de glucosa mayor a lo normal (70-100 mg/dL) pero no suficientes para diagnosticar diabetes (>126 mg/dL) (International Diabetes Federation, 2011).

La IG es diagnosticada en humanos cuando:

- La glucosa plasmática, 2 horas después de ingerir 75 g de glucosa, es superior a 7.8 mmol/L (140 mg/dL) pero inferior a 11.1 mmol/L (200 mg/dL). Estas mediciones se realizan mediante la curva de tolerancia a la glucosa.
- La glucosa plasmática en ayunas es menor a 7 mmol/L (126 mg/dL).

Cuando se presenta una alteración en la sensibilidad a la insulina por los tejidos o en la secreción de la hormona, las células β sanas pueden compensar estas alteraciones al aumentar su secreción, pero una compensación insuficiente provoca la aparición de la IG. Una vez que la hiperglucemia se vuelve aparente, la función de la célula β se deteriora progresivamente: la secreción de insulina inducida por la glucosa se vuelve cada vez más alterada y la degranulación de la célula β se vuelve evidente, comúnmente acompañada por una disminución en el número de células β . (Eckel *et al.*,



2005). Las personas que presentan IG no reciben un tratamiento debido a que es raramente diagnosticada, las personas con IG deben incrementar su actividad física, perder peso, y llevar una dieta balanceada para reducir la RI y así la insulina producida será efectiva para controlar la glucosa plasmática (International Diabetes Federation, 2011).

Hipertensión

Aunque la causa de la hipertensión desarrollada en el SM no ha sido comprendida completamente tanto la RI como la obesidad abdominal han sido reconocidas como causas principales en la manifestación de esta fisiopatología. Esta hipertensión se ha atribuido a la actividad del SNS y del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) (Shaw *et al.*, 2005).

Es importante mencionar que la insulina es un vasodilatador que disminuye la vasoconstricción mediada por los adrenérgicos, y potencia la vasodilatación mediada por la acetilcolina. También tiene efecto sobre la reabsorción de sodio en los riñones. En el entorno de la RI, el efecto vasodilatador se afecta, pero el efecto renal sobre la reabsorción del sodio se preserva, aún no se ha explicado por qué estos efectos, como consecuencia, hay retención de sodio, alteración en la función renal, expansión del volumen y disfunción endotelial (Eckel *et al.*, 2005). También se ha atribuido la presencia de hipertensión a la elevada cantidad de AGL secretados por el TA visceral, estos pueden mediar la vasoconstricción relativa por sobre-activación del SNS. La relación de la insulina, la RI, y la presión arterial está bien establecida en anglosajones,



hispanoamericanos, y en otras poblaciones étnicas como los Indios Pima (Eckel *et al.*, 2005; Osei, 1999; Shaw *et al.*, 2005; Duvnjak *et al.*, 2008).

Estudios recientes han descrito que el consumo de una dieta alta en grasa o en sacarosa induce al aumento significativo en la presión arterial en ratas normotensivas (Yamamoto y Oue, 2006).

Otras manifestaciones del SM

La RI puede estar acompañada de diversas alteraciones metabólicas que no han sido consideradas en los criterios básicos para el diagnóstico del SM. Un aumento en la apo B, en la apo C-III, en el ácido úrico, en los factores protrombóticos (fibrinógeno, el inhibidor del activador de plasminógeno tipo-1), en la viscosidad del suero, en la dimetilarginina asimétrica, en la homocisteína, en el conteo de leucocitos, en las citocinas pro-inflamatorias, así como la presencia de albuminuria, la presencia de hígado graso y la síndrome del ovario poliquístico están todas relacionadas con la RI.

Se ha reportado que la obesidad abdominal está asociada con la presencia de hiperuricemia, la cual resulta de efectos producidos por la RI sobre la reabsorción del ácido úrico en los túbulos renales, mientras que el aumento en la dimetilarginina asimétrica, un inhibidor endógeno de la sintasa de óxido nítrico (NO), se relaciona con una disfunción endotelial (Eckel *et al.*, 2005).

La microalbuminuria es la presencia de pequeñas cantidades de albúmina en la orina que no es detectable por los exámenes comunes y ha sido identificada como un marcador temprano para la predicción de enfermedades cardiovasculares y renales.



(Choi H *et al.*, 2006). La microalbuminuria y la RI están asociadas a la hipertensión y a cambios aterogénicos en las lipoproteínas. Estudios clínicos en pacientes con RI describen que las personas con microalbuminuria son más resistentes a la insulina, tienen mayores concentraciones de insulina y presentan más obesidad a aquellas sin microalbuminuria (Mykkanen *et al.*, 1998).

Citocinas pro-inflamatorias

La asociación entre el SM y la inflamación está bien descrita, el aumento en las citocinas pro-inflamatorias que comprenden a la interleucina 6 (IL-6), la resistina, el factor tumoral de necrosis α (TNF α) y la proteína reactiva C presentan una sobre producción por la masa extendida del tejido adiposo. Los estudios realizados al respecto sugieren que los macrófagos derivados de monocitos que se encuentran en el tejido adiposo son parte de la fuente que genera a las citocinas pro-inflamatorias locales y circulantes. Sin embargo, no es claro, qué tanto la RI está relacionada con el contenido de macrófagos en el tejido adiposo. (Eckel *et al.*, 2005).

Adiponectina

La adiponectina es una citocina anti-inflamatoria producida por los adipocitos, esta citocina mejora la sensibilidad a la insulina e inhibe muchos pasos del proceso inflamatorio; en el hígado inhibe la expresión de las enzimas gluconeogénicas y disminuye la velocidad de producción de la glucosa endógena; en el músculo incrementa el transporte de la glucosa y mejora la oxidación de los ácidos grasos, efectos que son en su mayor parte debido a la activación de la cinasa de AMP.



Reducciones en los niveles circulantes de esta citocina se han descrito en personas que padecen el SM (Eckel *et al.*, 2005).

Factor de crecimiento neuronal (NGF)

Las neurotrofinas (NT) son factores tróficos en el sistema nervioso que influyen la supervivencia y muerte de células neuronales y no neuronales; son de naturaleza polipeptídica y son sintetizadas inicialmente como precursores o proneurotrofinas, y subsecuentemente son hidrolizadas celularmente por una proteasa de serinas y por una matriz de metaloproteínas (MMPs), para liberar el C-terminal que es la forma funcional (Hiriart *et al.*, 2001). El factor de crecimiento neuronal (NGF) pertenece a la familia de las NT, otras proteínas de esta familia son el factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF), la neurotrofina-3 (NT-3), y la neurotrofina 4/5 (NT-4/5) (Niewiadomska *et al.*, 2010).

El NGF es un factor neurotrófico de importancia crítica para el desarrollo y mantenimiento de las neuronas simpáticas y de ciertas neuronas colinérgicas, también tiene acciones tróficas sobre células endocrinas y del sistema inmune (Hiriart *et al.*, 2001). Existen dos tipos de receptores que median la acción de estos polipéptidos, el Trk, miembro de la familia de receptores de tirosina cinasa, al cual las NT se unen con alta afinidad y el receptor p75 de NGF de baja afinidad, miembro de la familia de los receptores de factores de necrosis tumoral (Niewiadomska *et al.*, 2010).

El NGF se une y dimeriza su receptor específico, TrKA; la dimerización activa la cinasa de tirosinas intrínseca del receptor, con la subsecuente autofosforilación de diversos



residuos de tirosina en el dominio del citoplasma del receptor. Diversas moléculas de señalización – por ejemplo, la fosfolipasa- $C\gamma$, la cinasa de fosfatidil inositol-3' y el adaptador de proteínas SHC – se unen a estas fosfotirosinas en sitios específicos de reconocimiento e inician una cascada de señalización que culmina en la activación de factores de transcripción y en una variedad de respuestas celulares (Tessarollo, 1998).

El NGF es una glucoproteína de 118 aminoácidos, está formado por tres subunidades: α_2 , β , γ_2 . A la subunidad α no se le ha descrito una actividad biológica, la β es responsable de la actividad biológica y la γ es una proteasa altamente específica capaz de procesar al precursor del NGF a su forma activa (Niewiadomska *et al.*, 2010).

El NGF, fue originalmente caracterizado por su habilidad de estimular el crecimiento, diferenciación, sobrevivencia y mantenimiento de las neuronas del sistema nervioso simpático, neuronas sensoriales y neuronas colinérgicas en el sistema nervioso central.

El NGF modula la neurotransmisión, regula el fenotipo de células neuronales, etc., (figura 12) (Niewiadomska *et al.*, 2010).

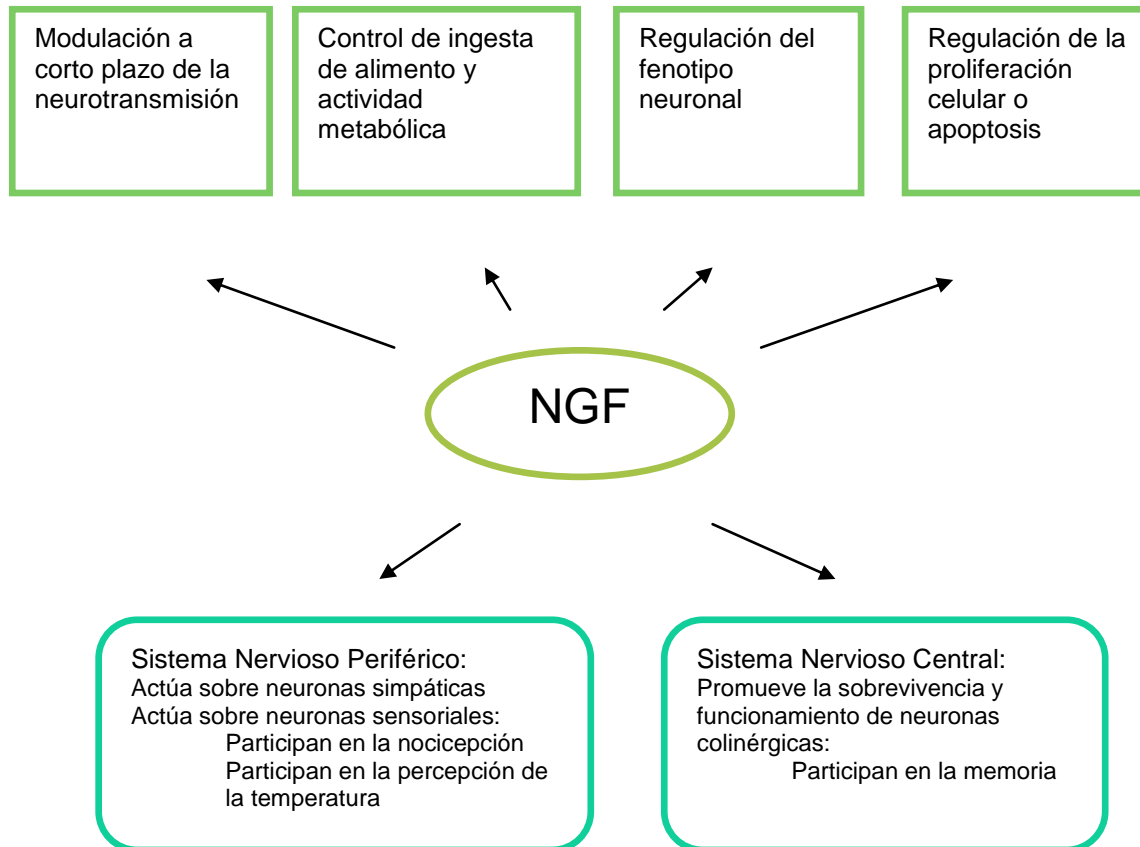


Figura 12. Funciones fisiológicas del NGF en el sistema nervioso

(Figura tomada y modificada de Niewiadomska *et al.*, 2010)

El NGF en las células β pancreáticas

En los estudios realizados por Scharfmann, *et al.*, en relación al papel del NGF en las células β , se demostró la expresión funcional de los receptores TrkA y p75^{NTR} en los islotes fetales de rata, así como en diversas líneas celulares β , (Scharfmann *et al.*, 1993). Posteriormente se evidenció una función importante de TrkA en un modelo *in*



in vitro de desarrollo prenatal de los islotes pancreáticos de ratas. Ellos interpretaron que el NGF era secretado por células no endocrinas, adyacentes y podría tener una acción paracrina sobre los islotes (Kanaka *et al.*, 1995; Miralles *et al.*, 1998).

En estudios posteriores se describió que en la rata adulta, las células β sintetizan y secretan el NGF biológicamente activo que es secretado en respuesta a cambios en la concentración de la glucosa y a agentes despolarizantes, y también expresan TrkA (Rosenbaum *et al.*, 1998). En las células β humanas también se expresan NGF y TrkA (Vidaltamayo *et al.*, 2003; Pierucci, *et al.*, 2001).

El NGF produce cambios en la morfología celular de las células β aisladas de ratas fetales y adultas, cultivadas por 2 semanas. En condiciones control las células β son en general redondas y cuando son cultivadas con NGF extienden procesos similares a neuritas (Vidaltamayo *et al.*, 1996). El NGF también induce cambios en la fisiología de las células β adultas. Al analizar la secreción de insulina en respuesta a glucosa en células cultivadas con NGF de 5 a 7 días, se observó que el grupo control perdió la capacidad de discriminar entre distintas concentraciones de glucosa, propiedad que conservan las células tratadas con NGF (Vidaltamayo *et al.*, 1996). Sin embargo, cuando se cultivan células β a una mayor densidad por el mismo tiempo, se observa que las células control si pueden diferenciar entre las concentraciones de glucosa. Además las células tratadas con NGF secretan casi el doble que sus controles en baja y alta glucosa. Estos resultados sugieren que las células sembradas en una densidad mayor tienen efectos paracrinos y autocrinos que las preservan en mejores condiciones (Vidaltamayo *et al.*, 2002).



Otros efectos del NGF están relacionados con la sobrevivencia celular, ya que el NGF mantiene la sobrevivencia de células β en cultivos primarios de manera autocrina (Navarro *et al.*, 2004), así como en la línea celular β -TC6-F7 (Pierucci *et al.*, 2001). El tratamiento con NGF incrementa la sobrevivencia de islotes transplantados así como su re-inervación (Reimer *et al.*, 2003). Por análisis morfométrico también se mostró que el NGF aumenta el contenido de insulina en los gránulos de secreción en células β cultivadas por 10 días (González del Pliego *et al.*, 2001).

El NGF en el tejido adiposo

El tejido adiposo está inervado por el SNS y estudios recientes sugieren que también podría tener inervación parasimpática. El SNS es considerado como el regulador fisiológico principal de la lipólisis en el TA, y también ha sido implicado en la regulación del número de células y de la síntesis de diversas adipocinas, particularmente de leptina. Estudios previos han descrito que el NGF es sintetizado y liberado por el TAP, la expresión del NGF en este tejido es inhibida por exposición prolongada al frío y por la norepinefrina, esto es, por estimulación simpática. De este modo, el SNS regula a la baja una señal clave responsable de su propio desarrollo y su sobrevivencia (Peeraully *et al.*, 2004).

Peeraully y colaboradores en el 2004, demostraron en un estudio que el gen de NGF es expresado en la mayoría de los depósitos de TAB de ratón, así como también en la grasa humana y que el NGF es secretado por adipocitos maduros 3T3-L1 en cultivo. También demostraron que la citocina TNF- α es un factor importante en la estimulación



de la expresión y secreción del NGF, consistente con el papel de la neurotrofina en las respuestas inflamatorias. Además, mostraron que los genes codificantes para los receptores p75 y TrkA del NGF son expresados en el TA (Peeraully *et al.*, 2004).

La insulina parece tener un efecto menor sobre la síntesis de NGF por los adipocitos. Sin embargo, hubo una inhibición fuerte de la expresión del gen de NGF y de la secreción de la proteína con dexametasona, indicando que los glucocorticoides son importantes en la regulación de la producción de NGF por los adipocitos, lo que es similar a otros tipos de células. La producción de diversas adipocinas es fuertemente influenciada por los glucocorticoides, con la expresión de leptina, resistina y haptoglobina, por ejemplo, siendo estimuladas por la dexametasona (Fox *et al.*, 2001).

El receptor de PPAR γ podría estar también involucrado en el control de la producción del NGF por los adipocitos, en vista de la inhibición de la expresión del gen NGF y su secreción que se observó por la rosiglitazona. Así como los glucocorticoides, el receptor de PPAR γ ha sido implicado en la síntesis de otras diversas adipocinas, incluyendo la leptina y la resistina.

La inhibición de la producción de NGF tanto por la dexometasona y por la resiglitazona puede estar relacionada con su efecto anti-inflamatorio, dado el papel de la neurotrofina en las respuestas inflamatorias e inmunes. Aunque estos agentes pueden actuar directamente para inhibir la expresión del NGF, también es posible que esta inhibición sea indirecta, via una regulación a la baja de las citocinas proinflamatorias (Lindholm *et al.*, 1990; Nascimento *et al.*, 2004).



Evidencia de la interacción entre las hormonas sexuales femeninas y la acción de la insulina

Estrógenos

Los estrógenos son hormonas sexuales producidas por ambos sexos, los niveles fisiológicos de estrógenos son significativamente mayores en el sexo femenino en edad reproductiva. Estas hormonas son las responsables de las características primarias y secundarias sexuales en el sexo femenino (Kumar *et al.* 2010; Nadal *et al.* 2009). Una mujer sana en edad reproductiva produce diariamente 700 μg de 17- β -estradiol (E2) hasta que alcanza la menopausia. El E2 es el estrógeno producido predominantemente en el cuerpo femenino, tiene un tiempo de vida media de 3 horas, y es sometido a una oxidación rápida e irreversible produciendo dos metabolitos la estrona (E1) y el estriol (E3) (Kumar *et al.*, 2010).

Mecanismos de acción de los estrógenos

Con la finalidad de entender como el E2 podría modular el metabolismo de la glucosa es necesario entender los mecanismos a través de los cuales el E2 ejerce sus efectos.

Los receptores de estrógenos (ERs) pertenecen a la superfamilia de receptores nucleares de hormonas esteroideas-tiroideas. Cuando el E2 se une a los ERs son activados y actúan como moduladores transcripcionales al unirse a secuencias específicas (elementos de respuesta a estrógenos, EREs) en la región promotora de los genes blanco. El ER α se expresa principalmente en el útero, vagina, ovarios, oviductos, glándulas pituitarias y mamarias, los cuales son sitios de acción clásicos del E2, pero



también está presente en el hipotálamo, hueso, hígado y sistema cardiovascular. Por su parte el ER β se ha encontrado en forma dominante en la próstata, glándulas salivales, testículos, endotelio vascular, músculo liso, sistema inmune, y en ciertas neuronas del sistema nervioso periférico y central. En estos tejidos, la acción del E2 es llevada a cabo por el ER β . Algunos tejidos como las glándulas mamarias, hueso, útero y sistema cardiovascular, expresan ambas isoformas del ER, con predominancia de uno sobre el otro (Barros *et al.*, 2006).

La acción del E2 depende de diversos factores, que incluyen: (i) que receptor está presente en el tejido (ER α , ER β o ambos); (ii) si los dos receptores son coexpresados en las células; (iii) si ER β modula la expresión génica mediada por ER α ; (iv) la interacción de ERs con los factores de transcripción; (v) la presencia de coactivadores y correpresores (Barros *et al.*, 2006).

Los estrógenos regulan la cantidad de grasa corporal y su distribución a través de su receptor ER α en el cerebro. Una falta de señalización de estrógenos a través de ER α tiene como consecuencia una obesidad debido a un proceso anabólico, con cambios en el gasto de energía principalmente y no con la ingesta de alimento (Shi, 2009).

Ratones knock-out para ER α presentan obesidad y RI, esta isoforma del ER ha sido involucrada en el metabolismo de la glucosa en diferentes tejidos incluyendo el músculo, tejido adiposo, hígado, cerebro y páncreas endocrino (Nadal *et al.*, 2009).

El GLUT4 es el transportador principal de glucosa que es estimulado por la insulina en el músculo y los adipocitos, su expresión en las membranas de las células del músculo



esquelético depende de $ER\alpha$. Esta expresión es reducida en ratones knock-out de $ER\alpha$, y se no se ve afectada en ratones knock-out $ER\beta$. Además, en las células β tiene un papel crucial en el aumento de la biosíntesis de proinsulina en respuesta a concentraciones fisiológicas de E_2 , esto podría ser un mecanismo importante en los islotes para adaptarse a la alta demanda de insulina durante el embarazo (Nadal *et al.*, 2009).

Exposición fisiológica a las hormonas sexuales

Los niveles elevados de esteroides sexuales en suero asociados con la pubertad normal están asociados con la disminución en la sensibilidad a la insulina, y este efecto al parecer está restringido al metabolismo periférico de la glucosa. Un embarazo normal, el cual presenta altos niveles en circulación de estrógenos y progesterona, está asociado con una manifestación de RI. Similarmente, una caída en la sensibilidad a la insulina ha sido reportada en mujeres sanas durante la fase lútea del ciclo menstrual, en esta fase la progesterona y los estrógenos en suero presentan niveles elevados (Hollingsworth, 1983).

Tratamiento con hormonas sexuales

Las terapias de reemplazo de hormonas disminuyen la glucosa plasmática en ayunas y empeora la tolerancia a la glucosa. Sin embargo, los niveles basales de insulina permanecen sin cambios, mientras que la liberación de insulina estimulada por glucosa es mejorada, esto no sólo se ha observado en humanos, sino también en ratones expuestos a E_2 ($100 \mu\text{g}/(\text{kg día})$) durante 4 días. Por lo tanto, un exceso de estrógenos



está relacionado con RI. Bajos niveles de estrógenos debido a ovariectomía o menopausia están asociados con una alteración en la tolerancia a la glucosa y una RI. Estos efectos son contrarrestados en ambas situaciones por reemplazo de estrógenos (Nadal *et al.*, 2009).

Diversos estudios sobre la administración de hormonas sexuales en humanos han mostrado que estas hormonas inducen una RI periférica. La administración de testosterona a mujeres trans-sexuales o la administración de etinil-estradiol a hombres trans-sexuales ocasionaron una reducción en la absorción de glucosa periférica en ausencia de cualquier cambio en la producción endógena de la glucosa. Esto indica que los esteroides tienen un sitio de acción periférica. El músculo esquelético utiliza la mayor parte de la glucosa disponible en circulación. Por lo que las hormonas sexuales deben tener una acción directa sobre el músculo esquelético para reducir la sensibilidad a la insulina (Polderman *et al.*, 1994).

En otros estudios, la administración de testosterona o sus derivados a mujeres resultaron en una tolerancia a la glucosa alterada e hiperinsulinemia, indicativos de RI. Similarmente, el abuso de anabólicos ha resultado en una reducción de la sensibilidad a la insulina. A niveles fisiológicos, la testosterona tiene un papel en el mantenimiento normal de la sensibilidad a la insulina en los hombres, un efecto que se pierde a concentraciones supra fisiológicas. Resultados de diversos estudios sugieren que los estrógenos interfieren con la unión de la insulina a su receptor transmembranal (Livingstone y Collisson, 2002).

El exceso de alimentación en el SM

El consumo de azúcar refinada por el humano ha incrementado dramáticamente durante los últimos años. No solamente la cantidad de total de azúcar en la dieta ha aumentado, sino también, el porcentaje de calorías consumidas al día y el gasto energético ha disminuido. Este aumento en el consumo ha sido asociado con el incremento de obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares.

La pérdida de peso está asociada con mejorías en diversas enfermedades, junto con actividad física, es recomendada como la primera línea de tratamiento al SM. Estudios a corto plazo han mostrado que perder peso mejora el SM y sus componentes individuales (Phelan *et al.*, 2007).

El aumento de azúcar en la dieta

La glucosa, fructosa, y galactosa son los principales monosacáridos de la dieta. Estos monosacáridos presentan la configuración α o β , la configuración anomérica que predomina es determinada por la estabilidad termodinámica y están presentes como estructuras cíclicas, (figura 13) (Sigman-Grant y Morita, 2003).

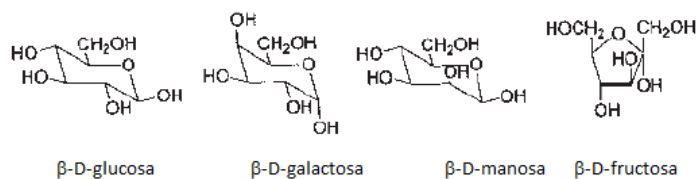


Figura 13. Principales monosacáridos en los alimentos .Figura tomada de Sigman-Grant y Morita, 2003.

Los disacáridos principales en la dieta humana son la sacarosa (una molécula de α -glucosa y una de β -fructosa), lactosa (β -galactosa y una de α - o β -glucosa), trehalosa (2

moléculas de α -glucosa, enlace 1 \rightarrow 1), y maltosa (2 moléculas de α -glucosa, enlace 1 \rightarrow 4), (figura 14).

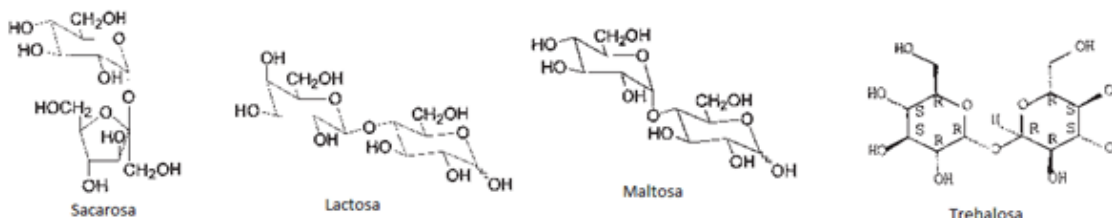


Figura 14. Principales disacáridos en los alimentos. Figura tomada de Sigman-Grant y Morita, 2003.

La absorción de la glucosa y galactosa es dependiente de ATP que se obtiene por la bomba de iones sodio-potasio, son absorbidas a través del intestino delgado principalmente por difusión facilitada, con ambos transportadores siendo saturables. La absorción de la fructosa es más lenta que la de la glucosa (Phelan *et al.*, 2007).

En la absorción, los monosacáridos pasan a través de los enterocitos del intestino delgado hacia la circulación portal y transportados al hígado, donde la glucosa, galactosa, y fructosa para ser fosforilados. En el hígado la fructosa y galactosa son convertidas en glucosa. Dependiendo de las necesidades energéticas, la glucosa es almacenada como glucógeno o liberada a la circulación para ser metabolizada por otros tejidos (Phelan *et al.*, 2007; Sigman-Grant y Morita, 2003).

Metabolismo de los azúcares

La glucosa, la fructosa, y la galactosa son metabolizadas y se obtiene energía. Cada una tiene un valor de energía de 15.7 kJ/g (3.75 kcal/g) y produce \approx 38 mol ATP/mol



monosacárido. La vía metabólica principal es la glucólisis produciendo piruvato. Este último es completamente oxidado a través del ciclo de Krebs y de la cadena transportadora de electrones e, produce ATP, CO₂, y agua en condiciones aeróbicas o es convertido en lactato en condiciones anaeróbicas. La glucosa no usada como fuente energía o como reserva energética en el hígado puede ser convertida a través de lipogénesis de novo en grasa que se almacena en los adipocitos, esta conversión es energéticamente costosa (Sigman y Morita, 2003).

La fructosa es metabolizada de la siguiente manera, la fructosa es principalmente capturada por el hígado, donde es fosforilada a fructosa-1-fosfato por la fructocinasa para ser convertida a glicerol-3-fosfato, que sirve como esqueleto para la síntesis de triacilgliceroles. En contraste, la glucosa es metabolizada via la glucocinasa e isomerizada a fructosa-6-fosfato; su progresión a través de la glucolisis por lo tanto va a depender de la actividad de la fosfofructocinasa, una enzima altamente regulada. Debido a que la fructosa evita a mayor velocidad el paso determinante de la glucolisis, un alto flujo de fructosa que llega al hígado promueve la síntesis de triacilgliceroles y la producción de VLDL (Fried y Rao, 2003).

El empleo de los modelos animales en el estudio del SM

El estudio del SM en los humanos es complicado debido a la diversidad de factores que participan como son la heterogeneidad genética, el estilo de vida, la relativa inaccesibilidad a tejidos y órganos, y, por supuesto, las consideraciones de tipo ético. Es necesario comprender que, en general, un modelo animal lo más que puede



mimetizar es un subtipo del SM humano, por tanto, es necesario extremar precauciones en el momento de hacer realizar extrapolaciones a la clínica (Arias-Díaz y Balibrea, 2007).

Los modelos experimentales permiten investigar los mecanismos patogénicos que conducen a la hiperglucemia y sus consecuencias, además de ofrecer la oportunidad de explorar nuevos métodos para la prevención y el tratamiento de este síndrome (Hugués HB *et al.*, 2002).

Modelo de síndrome metabólico en ratas machos

En estudios realizados previamente en el laboratorio, en los que se indujo el desarrollo de obesidad en ratas Wistar machos al darles una dieta elevada en sacarosa en el agua de beber (20% p/v), permitieron analizar el desarrollo del SM, así como los efectos a corto plazo de este síndrome sobre la estructura y función de la célula β pancreática.

Los grupos experimentales con respecto al control mostraron diferencias significativas en el peso, el consumo de alimento e ingesta de agua, en el índice de masa corporal, en la grasa abdominal, en los niveles de la insulina y de los triglicéridos, en la presión arterial y en las curvas de tolerancia a la glucosa, se observaron además tendencias de valores mayores de la glucosa plasmática, (Larque *et al.*, 2011).



Justificación

- En nuestro grupo de investigación se caracterizó el modelo de SM en rata Wistar macho sin embargo, resulta importante comparar este modelo con el que puede desarrollar, en respuesta al mismo tratamiento las ratas hembra. Dados los numerosos efectos de las hormonas sexuales sobre el metabolismo, esperamos que el sexo afecte la relación entre hiperinsulinemia y la RI.
- Por otra parte es importante estudiar en el modelo desarrollado en macho la posibilidad de lograr una reversibilidad, al quitar la sacarosa durante 30 días.

Hipótesis

- Ratas hembra desarrollarán dos o más alteraciones metabólicas que caracterizan el SM al ingerir sacarosa al 20% en el agua por períodos de 8 y 24 semanas.
- Ratas macho que presentan SM por ingerir sacarosa al 20% durante 8 semanas mejorarán su metabolismo al no tener la sacarosa en su dieta durante 30 días.



Objetivo general

- ❖ Obtener un modelo animal de SM en ratas hembra.
- ❖ Determinar si la etiología del síndrome metabólico es revertida en el modelo animal de SM en ratas macho.

Objetivos particulares

- Caracterizar física y bioquímicamente el modelo de SM en ratas hembra a las 8 y 24 semanas bajo una dieta alta en sacarosa.
- Caracterizar el modelo de SM en rata macho a las 12 semanas.
- Comparar entre los sexos el desarrollo de las alteraciones metabólicas como la resistencia a la insulina y la obesidad, entre otras.



Materiales y métodos

Animales. Se trabajó con ratas de la cepa Wistar de ambos sexos, de 2 meses de edad, machos (250 g - 280 g) y hembras (200 g - 230 g), fueron proporcionadas por el bioterio del Instituto de Fisiología Celular (UNAM).

Los animales fueron alojados en el vivario del Instituto de Fisiología Celular, UNAM bajo condiciones controladas de humedad y temperatura, con ciclos de 12h luz/ 12h oscuridad teniendo libre acceso a comida y agua con un protocolo de trabajo preestablecido.

Dieta. Se manejaron dos tipos de dieta, una para los controles y una dieta alta en carbohidratos para desarrollar el SM.

a) Control, constituida por alimento estándar chow en pellet y agua *ad libitum*.

b) Dieta alta en carbohidratos, constituida por alimento estándar chow en pellet y sacarosa al 20% (p/v) en el agua *ad libitum*.

Alimento estándar chow. Dieta para roedores de laboratorio 5001; LabDiet con 28.5% proteína, 13.5% grasa, 58% carbohidratos de las calorías proporcionadas.

Grupos experimentales

La distribución de animales dentro de cada uno de los grupos experimentales fue planeada de tal manera que el valor promedio del peso de cada uno de ellos no marcara una brecha al inicio del experimento, así mismo, el alojamiento fue de dos animales por caja.

Se planearon cuatro grupos experimentales, en la figura 15 se observa el modo de distribución de estos grupos.

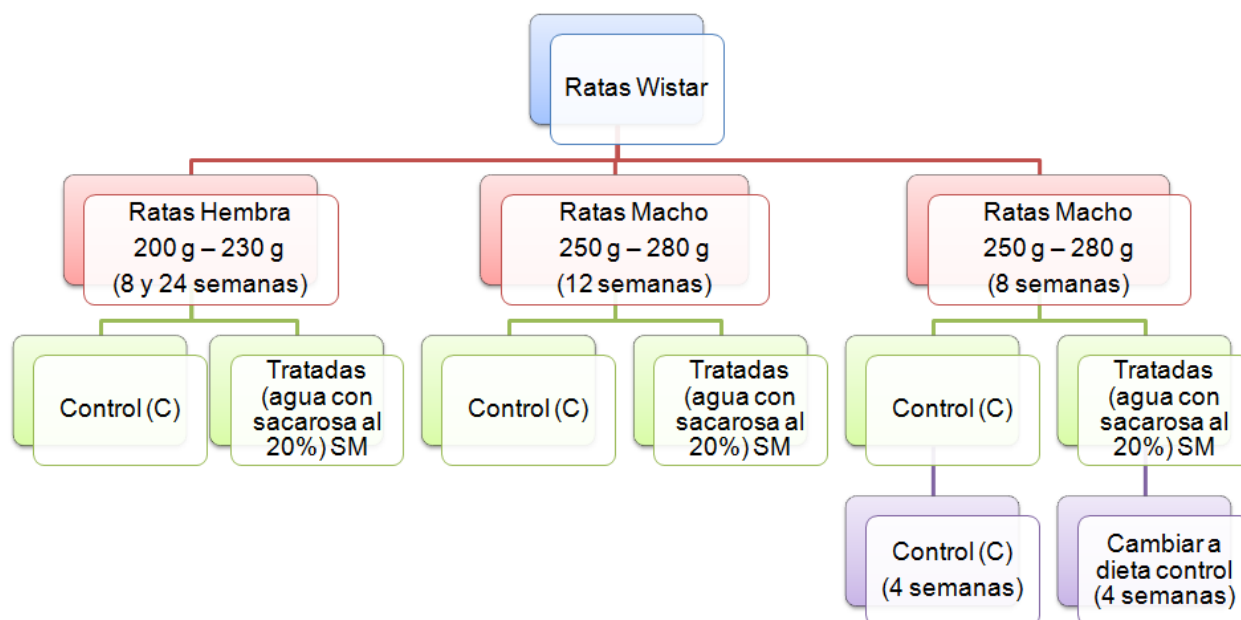


Figura 15. Grupos experimentales. El grupo control (C) recibió la dieta control, y el grupo de ratas tratadas (SM) recibió la dieta alta en carbohidratos. Machos reversibilidad 12 semanas es el grupo SM 8/4semanas (dieta alta en carbohidratos durante 8 semanas y posteriormente 4 semanas bajo dieta control).

Métodos experimentales

Una semana previa a concluir cada grupo experimental se obtuvo la presión arterial, la frecuencia cardíaca, y una curva de tolerancia a la glucosa.

Al cumplirse el plazo de de 8, 12 o 24 semanas, se puso a las ratas en ayuno por 12 horas, se les retiró el alimento chow, y se sustituyó la solución de sacarosa en el caso de los grupo SM con agua simple. Los animales fueron anestesiados con una inyección intraperitoneal de pentobarbital sódico (40mg/kg), se les pesó, midió su longitud



corporal, y circunferencia abdominal, se recolectó sangre central, grasa abdominal (peripancreática y gonadal) y finalmente se les realizó eutanasia por dislocación cervical. Todos los métodos utilizados en este estudio fueron aprobados por el Consejo Interno y el Comité de Cuidado de Animales del Instituto de Fisiología Celular, de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los cuidados de los animales fue realizado de acuerdo a “La Guía Internacional de Principios para la Investigación Biomédica que involucra Animales”, del Consejo para Las Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas, 2010.

Parámetros físicos

El peso corporal (PC, g), la circunferencia abdominal (CA, cm) y la longitud corporal (LC, cm) se midieron al final del tratamiento. La CA se obtuvo al medir el diámetro de la región abdominal por encima de la cresta ilíaca, mientras que la LC se obtuvo midiendo la longitud del animal de la punta de la nariz al ano.

Medición de grasa visceral

Ratas adultas de ambos sexos fueron sedadas para obtener grasa de las regiones perigonadal y peripancreática. En los machos se obtuvo la grasa epididimal y se pesó, mientras que en las hembras se obtuvo la grasa parametrial y retroperineal y se pesó.

Prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (PTGI) y sensibilidad a la insulina

Esta prueba refleja la acción de la insulina secretada por la estimulación de una carga de glucosa, sobre la captura de glucosa en músculo y tejido adiposo, además de la inhibición de la producción hepática de glucosa.



Un par de días previo al sacrificio la PTGI se realizó en ratas que tenían un ayuno de 16 horas, se les retiró el alimento chow, y la solución de sacarosa se sustituyó con agua. Para minimizar el estrés, las ratas fueron manejadas por el mismo operador y administradas por la misma persona, y este experimento se realizó siempre a la misma hora. A los animales se les administró glucosa (2 g glucosa/kg de peso corporal) de manera intraperitoneal (ip). Se tomaron muestras de sangre periférica de la cola, justo antes de la administración de la glucosa (tiempo 0), e inmediatamente a los 10, 20, 30, 60, 90, y 120 minutos después de la administración. Los valores de la glucosa en circulación se obtuvieron después de tomar la muestra de sangre usando una tira reactiva y un glucómetro (Accu-Chek Active, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). La sensibilidad a la insulina se determinó a partir del área bajo la curva de las pruebas de tolerancia a la glucosa.

Medida de la tensión arterial

El procedimiento de presión en la cola (equipo “tail-cuff”; Innovators in Instrumentation P.O. box M 551/101 Landing Rd. Landing, N. J. 07850 U.S.A.) se utilizó para obtener las mediciones de la presión sistólica sanguínea (PSS) y la frecuencia cardíaca (FC). Los animales fueron entrenados en diversas sesiones previas a la medición de la PSS, la cual se realizó en ratas despiertas a las cuales se les incrementó la temperatura. El promedio de cinco lecturas fue usado para obtener el valor individual de la PSS. El criterio para evaluar la PSS fue en base a la presión del grupo control correspondiente. Una semana previa al término de cada período de tratamiento, en colaboración con el Dr. Hong del Cinvestav Sur, se realizaron estas determinaciones.



Parámetros metabólicos

Las muestras de sangre se obtuvieron de la vena cava en tubos con heparina, se separó el plasma, y se almacenó a -20°C hasta su uso.

La concentración de insulina se determinó con un ELISA para Insulina de rata de la marca Mercodia. El NGF se determinó por medio de un kit de ELISA para NGF en suero.

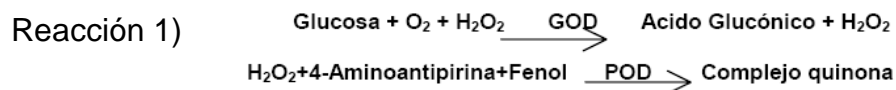
El ELISA se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (inmunoabsorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmobilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro.

La determinación cuantitativa de glucosa y triglicéridos en suero, se llevaron a cabo mediante kits enzimático-colorimétricos de la marca Stanbio Laboratory (LICON, Boerne TX).

Glucosa. Mediante el método de glucosa oxidasa y peroxidasa (GOD-POD). La glucosa se oxida en presencia de la glucosa oxidasa a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno, este último reacciona en presencia de la peroxidasa con fenol y 4-aminoantipirina para formar un complejo colorido rojo violeta de quinona



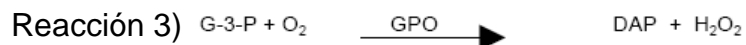
(quinonaimina), reacción 1. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de glucosa, y se lee a 500nm.



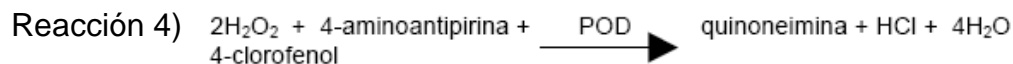
Triglicéridos. El glicerol y los ácidos grasos se forman en una primera etapa por la acción de la lipasa sobre los triglicéridos. El glicerol se fosforila por el adenosin-5'-trifosfato (ATP) para producir glicerol-3 fosfato (G-3-P) y adenosin-5'-difosfato (ADP) en una reacción catalizada por la glicerol-cinasa (GK), reacción 2.



La G-3-P es oxidada por la glicerolfosfato oxidasa (GPO) produciendo dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrógeno, reacción 3.



Los peróxidos reaccionan con 4-aminoantipirina y 4-clorofenol bajo la influencia catalítica de la peroxidasa (POD) para formar una quinoneimina de color rojo, reacción 4.



Las técnicas bioquímicas aplicadas se fundamentan en la ley de Lambert y Beer, en donde incrementos sucesivos del analito a determinar aumentan la absorbancia a una longitud de onda determinada a un solo punto, detectable y cuantificable por equipos



espectrofotométricos-colorimétricos El control de calidad de la marca Stanbio aplica 2 niveles de aseguramiento con coeficientes de variación (CV) inter e intra-ensayo permitidos menores a 5% para técnicas manuales a emplearse en todos sus reactivos.

ELISAS

Mercodia Ultrasensitive Rat Insulin ELISA system, de Mercodia AB, Sylveniusgatan 8A, SE-754 50 Uppsala, Sweden. (Catalogue No. 10-1137-10; ALPCO).

Duo Set ELISA rat α -NGF de R&D Systems, Inc, 614 McKinley Place NE, Minneapolis, MN 55413, USA. (Catalogue No. DY556).

Kits para pruebas bioquímicas

Stanbio Glucosa Liquicolor, Stanbio Triglicéridos Liquicolor GPO-PAP, Stanbio Colesterol Liquicolor, de Stanbio Laboratory (LICON, Boerne TX). Todos se basan en métodos colorimétricos.

Análisis estadístico

Todos los datos son reportados como la media \pm ES; la n indica el número de animales analizado. El valor estadístico de significancia para P es < 0.05 . El estudio estadístico inter grupo se obtuvo con un análisis de varianza de un solo factor (ANOVA) empleando como prueba posthoc un análisis de Bonferroni asumiéndose varianzas iguales a ser corroboradas con la prueba Z de Kolmogorov-Smirnov o en su defecto la prueba no paramétrica Kruskal Wallis al tratarse de varianzas no semejantes. (SPSS Inc., versión 19 y Origin Lab versión 8.0 para Windows).



Resultados

Estandarizamos y validamos un modelo biológico de SM en ratas Wistar hembra y analizamos la mejoría en las alteraciones metabólicas al quitar la fuente alta en carbohidratos de la dieta.

Ingesta de alimento y agua al día

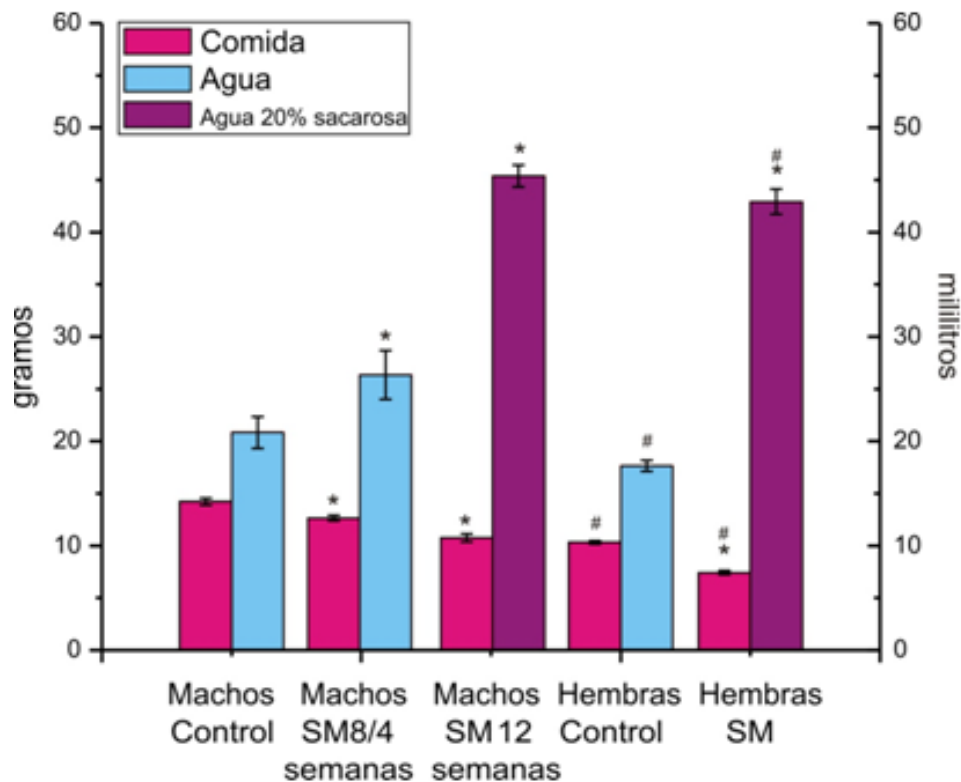
Se cuantificó el consumo de la dieta chow y agua en los grupos experimentales con el fin de evaluar el efecto de la sacarosa en la ingesta calórica diaria. Los grupos que ingirieron agua al 20% de sacarosa disminuyeron el consumo de dieta chow en comparación al grupo control; no así su ingesta calórica, la cual aumentó por consumir el agua azucarada. En la tabla 3 se observa la ingesta calórica diaria de los animales de acuerdo a la composición de la dieta.

Tabla 3. Ingesta calórica diaria

Grupo	Control Machos Kcal/día/ rata (% de ingesta por día)	SM 8/4 semanas Kcal/día/ rata (% de ingesta por día)	SM 12 semanas Kcal/día/ rata (% de ingesta por día)	Control Hembras (8/24 semanas) Kcal/día/ rata (% de ingesta por día)	SM Hembras (8/24 semanas) Kcal/día/ rata (% de ingesta por día)
Carbohidratos	27.7 (57.9%)	24.6 (57.9%)	57.2 (78.9%)	24.1 (57.9%)	48.8 (82.3%)
Proteínas	13.6 (28.5%)	12.1 (28.5%)	10.3 (14.2%)	9.9 (28.5%)	7.1 (11.9%)
Grasa	6.4 (13.4%)	5.7 (13.4%)	4.9 (6.8%)	4.7 (13.4%)	3.4 (5.7%)
Total	47.7 ± 1.3 (99.8%)	42.4 ± 2.3 (99.8%)	72.4 ± 1.3 (99.9%)	38.7 ± 1.2 (99.8%)	59.3 ± 1.4 (99.9%)

En la tabla 4 se muestra la ingesta calórica diaria entre los grupos. En los machos del grupo SM 12 semanas la ingesta calórica aumentó en 51% respecto a los controles, por su parte el grupo SM 8/4 semanas al reajustar su ingesta calórica, ingirió 12% menos que el grupo control. La gráfica 1 muestra el consumo de alimento y agua al día por rata de acuerdo al grupo (n= 10/gpo).

Las hembras SM aumentaron su ingesta calórica en un 53% con respecto a las ratas control. En la gráfica 1 se observan diferencias significativas en el consumo de alimento y de agua entre grupos, así como también entre sexos.



Gráfica 1. Consumo de alimento y agua al día por animal. *P<0.01 con respecto al control. #P<0.01 entre sexos.



El grupo SM 8/4 semanas (dieta alta en carbohidratos durante 8 semanas y posteriormente 4 semanas bajo dieta control) consumió menor cantidad de alimento que el grupo control pero más que el grupo SM 12 semanas. Así mismo, mayor volumen de agua que el grupo control, pero menor que el grupo SM 12 semanas, el valor de P entre el grupo SM 8/4 semanas y SM 12 semanas para el alimento y el agua fue menor a 0.001. En la gráfica 1 también se aprecia la diferencia en la ingesta de alimento y de agua entre los sexos, siendo mayor en los machos control con respecto a las hembras control.

Caracterización del modelo de SM en ratas hembra Wistar 8 semanas

En la tabla 4 se muestran las características físicas, y bioquímicas de los grupos control y SM con tratamiento durante 8 semanas.

Tabla 4. Características físicas, metabólicas y bioquímicas de los grupo control y SM a las 8 semanas

8 semanas		
	Control	SM
Peso corporal (g)	307 ± 4 n = 39	355 ± 8* n = 37
IMC (kg/m²)	6.0 ± 0.1 n = 39	6.9 ± 0.1* n = 37
Grasa peripancreática (g)	0.96 ± 0.06 n = 39	2.7 ± 0.2* n = 37

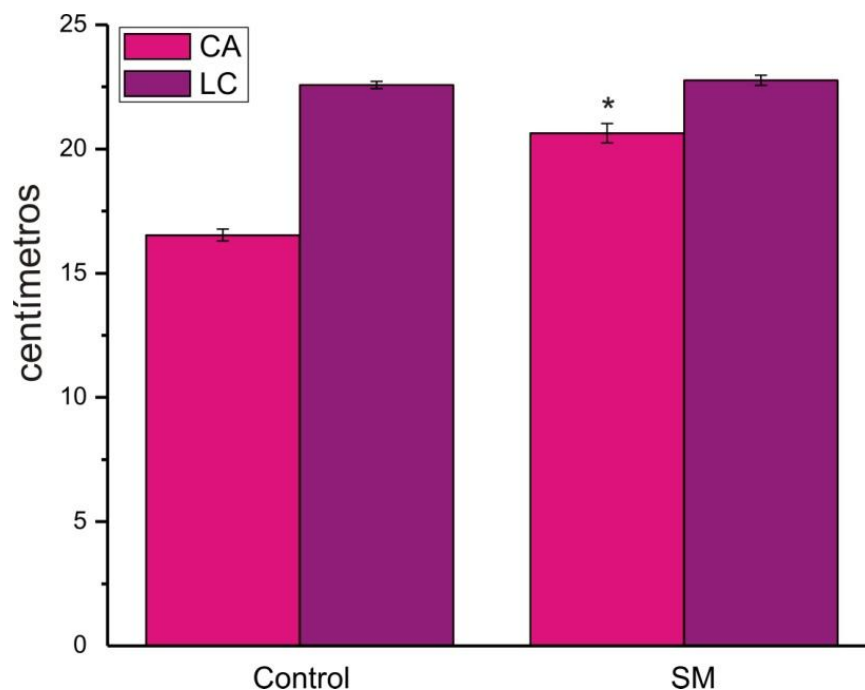


Grasa gonadal (g)	5.0 ± 0.4 n = 39	10.4 ± 0.7* n = 37
Glucosa (mg/dl)	131 ± 5 n = 26	183 ± 7* n = 28
Insulina (µg/l)	7.1 ± 0.1 n = 24	10.6 ± 0.7* n = 25
Triglicéridos (mg/dl)	44 ± 3 n = 22	74 ± 6* n = 25
Presión (mmHg)	107 ± 3 n = 16	125 ± 3* n = 18
Frecuencia cardíaca (latidos/min)	388 ± 8 n = 16	399 ± 12 n = 18

Después de 8 semanas de ingerir sacarosa las ratas hembra presentaron alteraciones metabólicas propias del síndrome metabólico. Los datos representan la media \pm ES. *P \leq 0.001

Al término del tratamiento, el peso corporal (PC) de las ratas control incrementó un 40% con respecto al su peso inicial. Por su parte el grupo SM incrementó su PC en un 62% en ese mismo tiempo. Se observó un incremento significativo en el PC (tabla 4) y la circunferencia abdominal (CA) de las ratas SM comparadas con las del control (gráfica 2). El incremento de la CA está directamente relacionado con el aumento observado en la grasa visceral abdominal. EN la longitud corporal (LC) no se observó diferencia entre

los grupos control y el SM (gráfica 2). Estos parámetros antropométricos correlacionan con el IMC que fue significativamente mayor en el grupo tratado SM.



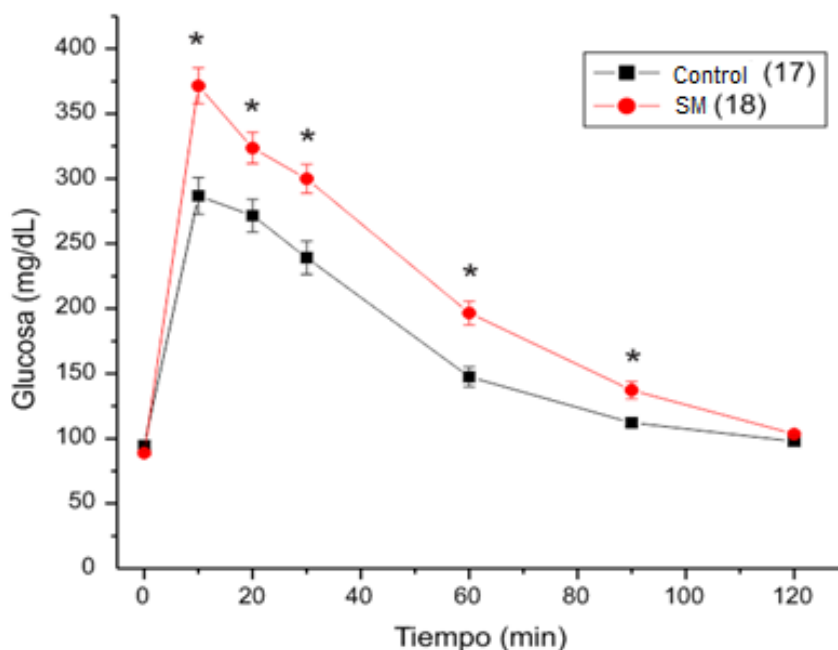
Gráfica 2. Circunferencia abdominal y longitud corporal hembras 8 semanas

CA: circunferencia abdominal; LC: longitud corporal. * $P < 0.001$ con respecto al grupo control.

En la tabla 4 también se muestran los valores de los parámetros metabólicos de los grupos experimentales. El grupo SM presentó mayores niveles de glucosa, triglicéridos e insulina con respecto al grupo control en el plasma. También se observó un incremento significativo en la presión sistólica del grupo SM, sin que se modifique la frecuencia cardíaca (FC).

Curva de tolerancia a la glucosa

En la gráfica 3 se graficó la curva de la prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal.



Gráfica 3. Curva de tolerancia a la glucosa grupo C y SM hembras 8 semanas

Los datos representan la media \pm ES. *P < 0.05.

La curva de tolerancia a la glucosa del grupo control mostró el máximo punto glucémico a los 10 minutos posterior a la administración de la glucosa, seguido por una disminución gradual en la glucosa hasta alcanzar niveles basales en 2 horas, por su parte las ratas SM mostraron el mismo comportamiento pero con valores de glucosa mayores. El área bajo la curva del grupo SM es mayor en comparación al del control indicando una sensibilidad a la insulina disminuida; aún así la insulina tiene acción en sus tejidos blanco y logra alcanzar los valores basales de la glucosa a las 2 horas como el grupo control.



Con estos resultados se afirma que después de 8 semanas de ingerir sacarosa al 20% en el agua de beber las ratas hembra desarrollaron alteraciones propias del SM, como son hiperglucemia, hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia, hipertensión, resistencia a la insulina y obesidad.

Caracterización del modelo de SM en ratas hembra Wistar 24 semanas

En la tabla 5 se muestran las características antropométricas, metabólicas y bioquímicas de los grupo control y SM tratadas durante 24 semanas.

Tabla 5. Características físicas, metabólicas y bioquímicas de los grupo control y SM a las 24 semanas

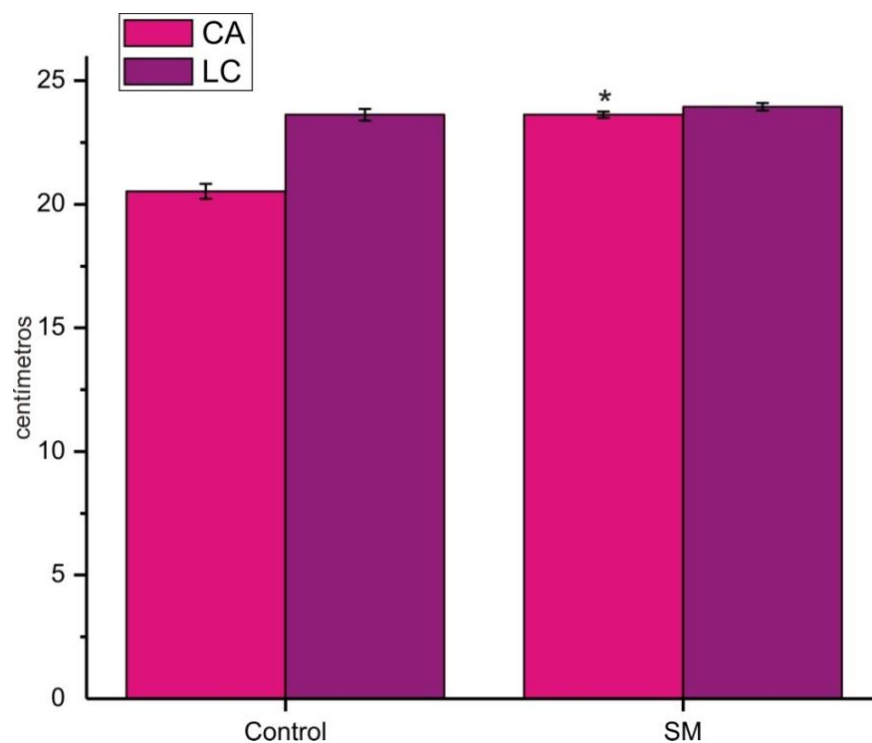
24 semanas		
	Control	SM
Peso corporal (g)	350 ± 7 n = 52	429 ± 9** n = 64
IMC (kg/m²)	6.2 ± 0.1 n = 52	7.5 ± 0.1** n = 64
Grasa peripancreática (g)	1.6 ± 0.1 n = 52	3.7 ± 0.2** n = 64
Grasa gonadal (g)	6.2 ± 0.6 n = 52	14.3 ± 1.1** n = 64
Glucosa (mg/dl)	137 ± 4 n = 39	181 ± 5** n = 42



Insulina ($\mu\text{g/l}$)	7.3 ± 0.1 n = 29	$16.0 \pm 0.8^{**}$ n = 24
Triglicéridos (mg/dl)	65 ± 4 n = 33	$116 \pm 13^*$ n = 34
Presión (mmHg)	88 ± 3 n = 16	$115 \pm 4^*$ n = 18
Frecuencia cardíaca (latidos/min)	373 ± 11 n = 16	$399 \pm 5^*$ n = 18

Después de 24 semanas de ingerir sacarosa las ratas hembra presentaron alteraciones metabólicas propias del SM. Los datos representan la media \pm ES. *P < 0.05; **P < 0.001.

Al término del tratamiento fue evidente la diferencia en el incremento del peso corporal (PC) del grupo SM con respecto al grupo control. El porcentaje de peso ganado del grupo control fue del 60%, mientras que el del grupo SM fue de 91% con respecto al peso inicial (tabla 5). Encontramos una diferencia significativamente mayor en la circunferencia abdominal (CA) del grupo SM comparada con el del control, esta diferencia se relaciona con el aumento en la grasa visceral. La longitud corporal (LC) no mostró diferencia entre los grupos, (gráfica 4). Las diferencias significativas en la cantidad de grasa peripancreática y gonadal, y la CA entre los grupos se reflejaron en el IMC que es mayor en el grupo SM (tabla 5).



Gráfica 4. Circunferencia abdominal y longitud corporal Hembras 24 semanas

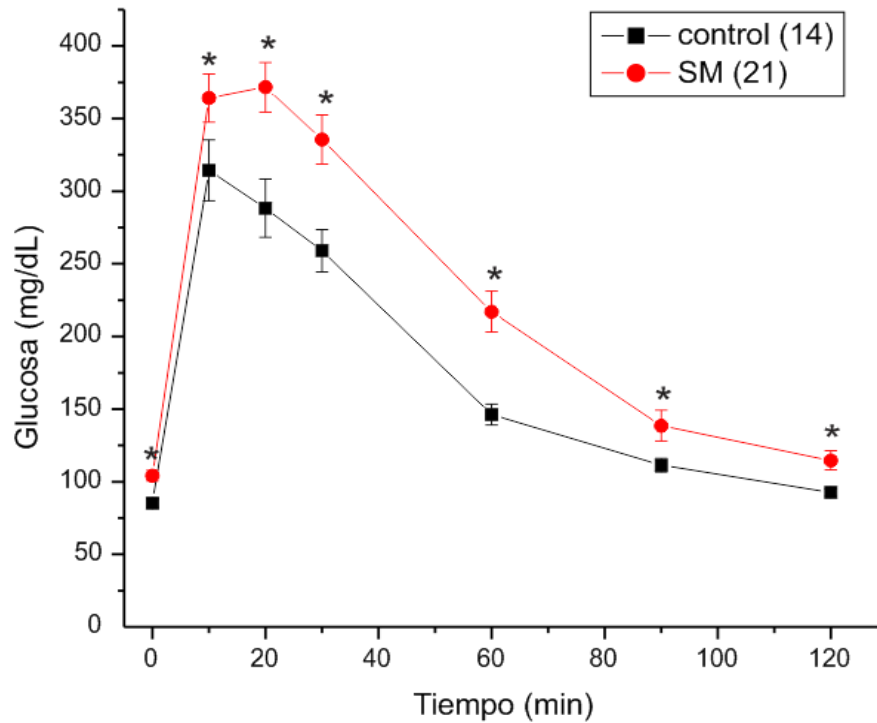
CA: circunferencia abdominal; LC: longitud corporal. * $P < 0.001$ con respecto al grupo control.

El grupo SM presentó un perfil bioquímico y hormonal alterado a nivel de la glucosa, los triglicéridos y la insulina. También hubo diferencias significativas en la presión y en la frecuencia cardíaca (tabla 5).

Curva de tolerancia a la glucosa

En la gráfica 5, se graficó la curva de tolerancia a la glucosa, se observa que el grupo control alcanzó su nivel máximo de glucosa a los 10 minutos y recuperó su valor basal a las 2 horas de la administración de la glucosa intraperitoneal. El grupo SM alcanzó el máximo nivel glucémico a los 20 minutos y no logró alcanzar los niveles de glucosa

basales que mostró al inicio. El área bajo la curva del grupo SM fue mayor que el del grupo control indicando la pérdida de la sensibilidad a la insulina por los tejidos blanco.



Gráfica 5. Curva de tolerancia a la glucosa grupo C y SM hembras 24 semanas

Los datos representan la media \pm ES *P < 0.05.

Las alteraciones provocadas por el consumo de sacarosa durante 24 semanas, como la RI, la hiperinsulinemia, glucosa y triglicéridos elevados, hipertensión y obesidad, son propias del SM.



Caracterización del modelo de SM en ratas macho Wistar después de 12 semanas y su reversibilidad del SM.

En la tabla 8 se muestran los resultados obtenidos de los grupos control, el grupo SM 8/4 semanas, y el grupo SM 12 semanas al final del tratamiento con la sacarosa.

Tabla 6. Características físicas, metabólicas y bioquímicas en los grupos control, SM 8/4 semanas y SM 12 semanas.

Grupo	Control	SM 8/4 semanas	SM 12 semanas
Peso corporal (g)	n = 49 464 ± 8	n = 22 514 ± 4†	n = 18 528 ± 2*
IMC (kg/m ²)	n = 49 7.4 ± 0.1	n = 30 7.6 ± 0.1†	n = 18 8.7 ± 0.07*‡
Grasa peripancreática (g)	n = 49 1.4 ± 0.2	n = 30 1.6 ± 0.2	n = 18 3.0 ± .02*‡
Grasa gonadal (g)	n = 49 3.8 ± 0.2	n = 30 5.2 ± 0.5†	n = 18 9.3 ± 0.3*‡
Glucosa (mg/dL)	n = 45 115 ± 3	n = 22 165 ± 4†	n = 18 183 ± 2*‡
Triglicéridos (mg/dL)	n = 45 40 ± 5	n = 22 51 ± 8	n = 18 97 ± 2*‡
Presión (mmg/Hg)	n = 15 85 ± 2	n = 15 89 ± 5	n = 10 100 ± 2*‡
Insulina (µg/L)	n = 30 5.2 ± 0.2	n = 20 6.1 ± 0.5†	n = 18 7.9 ± 0.9*

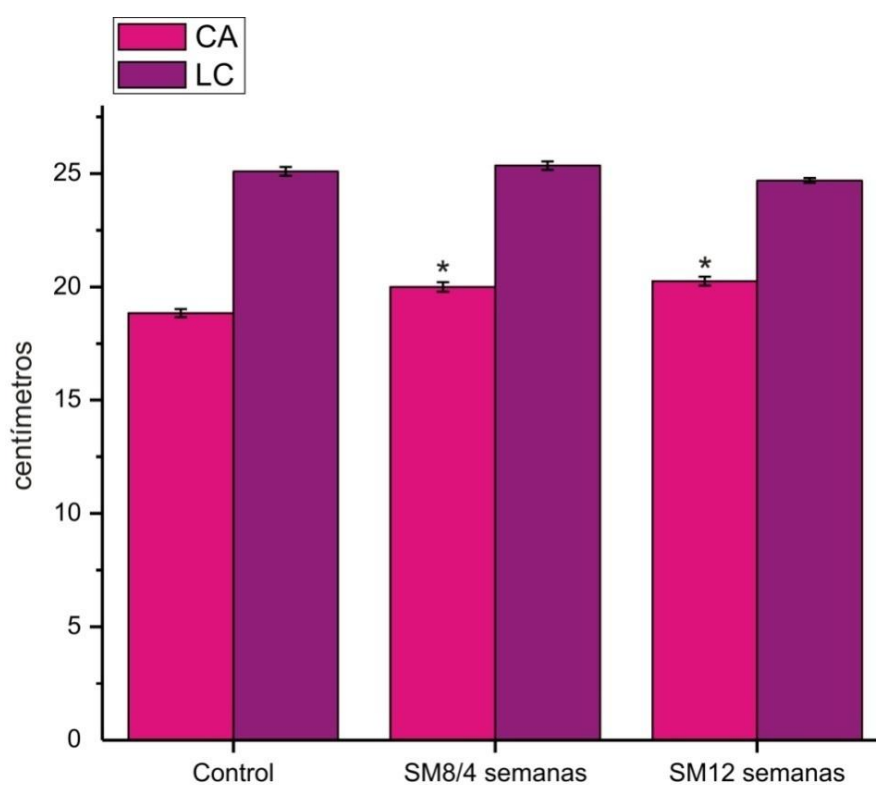
Los datos representan la media ± ES *P < 0.05 entre control y SM 12 semanas;

†P<0.05 entre control y SM8/4 semanas, y ‡P<0.05 entre SM8/4semanas y SM12 semanas.

Al término de las 12 semanas, el porcentaje de peso ganado con respecto al peso inicial para el grupo control fue del 71%, del 92% para el SM 8/4 semanas y del 97% para el grupo SM 12 semanas, hubo diferencia significativa entre los grupos tratados con respecto al control, no así entre los tratados.

La diferencia en el peso corporal y en la grasa visceral entre los grupos tratados con respecto al control se refleja en la circunferencia abdominal (gráfica 6). En la tabla 8 el IMC es diferente para los tres grupos, siendo mayor el del grupo SM 12 semanas.

El grupo SM 8/4 semanas presentó obesidad pero al retirar la sacarosa de su dieta ya no fue semejante a la que presentó el grupo SM 12semanas (tabla 6).



Gráfica 6. Circunferencia abdominal y longitud corporal machos 12 semanas

CA: circunferencia abdominal; LC: longitud corporal. * $P < 0.01$ con respecto al grupo control.

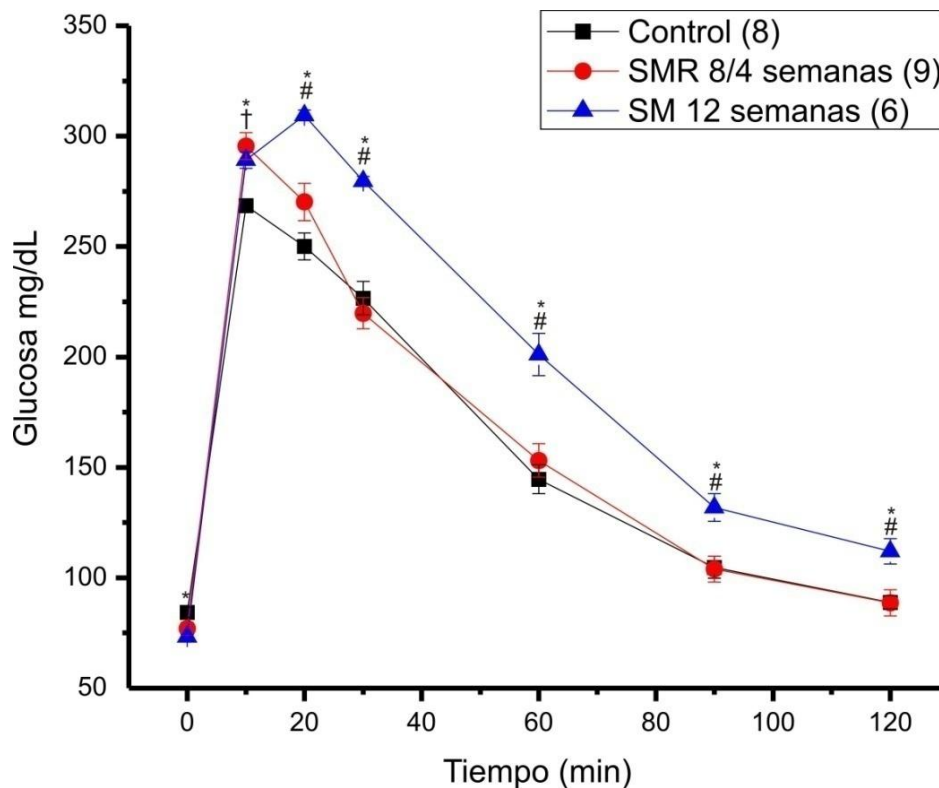
Otros parámetros que mostraron diferencias fueron la presión arterial sistólica, hubo diferencia significativa con respecto al grupo SM 12 semanas. La glucosa e insulina

plasmática por el grupo SM 8/4 semanas fueron menores a la del grupo SM 12 semanas, pero presentó diferencias significativas con respecto a las del grupo control. Estos resultados indican una mejoría en la sensibilidad a la insulina del grupo SM 8/4 semanas.

El grupo SM 8/4 semanas mostró niveles de triglicéridos comparables con los del grupo control, mientras que el grupo SM 12 semanas mostró hipertrigliceridemia.

Curva de tolerancia a la glucosa

En la gráfica 7, está graficada la curva de tolerancia a la glucosa.



Gráfica 7. Curva de tolerancia a la glucosa machos 12 semanas



Los datos representan la media \pm ES. * $P < 0.05$ grupo control contra grupo SM 12 semanas; † $P < 0.01$ grupo control contra grupo SM 8/4 semanas; # $P < 0.01$ grupo SM 8/4 semanas contra grupo SM 12 semanas.

En la curva de tolerancia a la glucosa (gráfica 7) se observan valores de glucosas basales similares entre los grupos control y SM 8/4 semanas, el grupo SM 12 semanas presentó valores significativamente mayores con respecto al grupo control. Al minuto 10 tanto el grupo control como el grupo SM 8/4 semanas alcanzaron su punto glucémico máximo, siendo el punto de la curva para estos dos grupos donde hubo diferencia significativa. El grupo SM 12 alcanzó su punto glucémico máximo en el minuto 20, aunque los niveles de glucosa disminuyen a partir de este punto, no logró alcanzar los valores basales, estos datos indican intolerancia a la glucosa causada por la RI desarrollada.

NGF en plasma para los grupos control y SM

Los valores de NGF en plasma presentaron una amplia dispersión en todos los grupos, la media con su error estándar se muestran en la tabla 9 al final de cada columna. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos debido a la dispersión (tabla 7). Es necesario realizar más experimentos para determinar el significado estadístico de los datos.



Tabla 7. Valores de NGF en los grupos control y SM

Animal	NGF (pg/mL)						
	Hembras				Machos		
	Control	SM 8 semanas	Control	SM 24 semanas	Control	SM 8/4 semanas	SM 12 semanas
1	8.40	10.50	8.40	44.60	17.81	79.6	176
2	9.50	80.60	23.30	110.50	19.47	26.45	18.44
3	48.40	287.00	42.00	40.00	32.47	54.91	11.56
4	33.50	56.40	35.40	18.70	61.88	30.35	19.82
5	84.10	49.00			61.9	85.6	19.47
6	11.90	356.40			18.44		8.62
7		27.20			15.96		35.01
8		108			15.8		
9		56.40			11.67		
10		49.00			22.57		
11					26.46		
12					41.45		
13					14.31		
14					8.95		
Media ± E.S.	33±12	108±37	27±7	50±16	26±5	41±23	55±12

Discusión de resultados

Desde su descripción en 1988, la prevalencia del SM ha incrementado considerablemente a nivel mundial. Una posible explicación a esta epidemia es la elevación dramática en el consumo de carbohidratos en la dieta en las últimas décadas lo cual se ha demostrado tanto en humanos como en modelos animales (Oron, *et al.* 2008).

En estudios previos, en el laboratorio se evaluó en un modelo animal la importancia de una dieta alta en sacarosa como un factor determinante en el desarrollo del SM. La RI, la tolerancia alterada a la glucosa, la hiperinsulinemia, la hipertensión y la hiperlipidemia desarrolladas fueron asociadas con la ingesta de la sacarosa, principalmente por su



contenido de fructosa (Elliot *et al.*, 2002; Oron *et al.*, 2008; Larqué *et al.*, 2011). Con base en estos estudios, los objetivos de esta investigación fueron evaluar la existencia de una reversibilidad en las alteraciones provocadas por la ingesta de sacarosa durante 8 semanas al retirar la sacarosa de la dieta y caracterizar el modelo del SM en ratas hembra.

En la presente investigación se emplearon ratas de la cepa Wistar debido a las ventajas que presenta, tiene un período de vida amplio, está caracterizada antropométrica y bioquímicamente, y no presenta alteraciones genéticas tendientes a desarrollar el SM ni otras enfermedades crónicas (Tofovic y Jackson, 2003).

Es importante mencionar que la dieta alta en sacarosa estuvo en forma líquida por dos razones, simular a las bebidas azucaradas que consume el humano en grandes cantidades actualmente, a las cuales se les ha asociado con incremento en el peso corporal (Isharwal S. *et al.*, 2009); y asegurar que el animal la ingiera la dieta de manera constante.

En relación a la caracterización del modelo, los grupo SM presentaron alteraciones en parámetros antropométricos, metabólicos y bioquímicos (tablas 4, 5 y 6) que tuvieron diferencia significativa con respecto a los grupos control, fueron los mismos que para las ratas macho previamente caracterizadas por nuestro grupo de investigación (Larqué, *et al.*, 2011). En cuanto al dimorfismo sexual observado en los resultados de la caracterización del modelo es evidente que las alteraciones son más severas en los machos, estos resultados se esperaban debido a la protección que tienen las hembras por parte de las hormonas sexuales, particularmente los estrógenos. Los estógenos



afectan la distribución de la grasa corporal, la sensibilidad a la insulina, la tolerancia a la glucosa, y ocasionan el dimorfismo sexual en la liberación y captura de los ácidos grasos (Shi y Clegg, 2009; Livingstone y Collison, 2002; Wajchenberg, 2000).

Estudios previos realizados por Hiriart y Vital se observó dimorfismo sexual en la fisiología de las células β pancreáticas y en la susceptibilidad al desarrollo de diabetes por estreptozocina. Los niveles de insulina en plasma en las hembras son mayores que en los machos control, estos datos concuerdan con los descritos por Hiriart y Vital, esto se debe a que las hembras son menos sensibles a la insulina como consecuencia del dimorfismo sexual en la fisiología de las células β . En el mismo estudio se demuestra que el área y el número de islotes pancreáticos son significativamente más grandes en las hembras que en los machos (Vital *et al.*, 2006).

En esta investigación también se encontró que los machos ganan más peso que las hembras, y depositan mayor cantidad de grasa visceral, mientras las hembras acumulan más grasa subcutánea, esta cantidad de grasa subcutánea explicaría la baja sensibilidad a la insulina. Esta distribución es por las hormonas sexuales, la protección se atribuye principalmente a los estrógenos. Los estrógenos tienen efecto sobre la regulación del tejido adiposo a través de sus receptores, también regulan la ingesta de alimento, interactúan con la señalización de la leptina, pero estos efectos se pierden cuando las hembras alcanzan la menopausia, entonces el organismo empieza a acumular grasa visceral (Vital *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2009).



Es importante mencionar los grupo SM presentaron al menos dos alteraciones propias del SM, siendo el de mayor prevalencia la obesidad abdominal. Esta obesidad desarrollada fue consecuencia de la excesiva ingesta calórica de los grupos SM (Canizales, 2008).

Hace varias décadas se describió que las ratas tienen la capacidad de regular la cantidad de calorías que ingieren, si las ratas tienen libre acceso a una dieta alta en carbohidratos, serán capaces de regular su consumo y mantener así su balance nutricional, las ratas beberán o comerán menos porque sus necesidades calóricas serán satisfechas con menores cantidades de líquido o de alimento (Sclafari y Xenakis, 1984). Esto se observó con los grupos SM, significativamente disminuyeron la cantidad de alimento chow ingerido, y aumentaron la cantidad de agua con respecto a los controles (gráfica 1), con base en esto, el haber empleado una dieta líquida elevada en carbohidratos permitió que los animales no dejaran de ingerirla una vez que sentían satisfechas sus necesidades calóricas.

Las alteraciones presentadas debido a la ingesta de sacarosa por los grupos SM (tablas 4, 5 y 6) son atribuidas principalmente a causa de la obesidad desarrollada, la cual se puede explicar por la alta lipogénesis de novo que realizaron los grupos SM. En la rata, los tejidos adiposo y hepático presentan una alta lipogénesis de novo (McDevitt *et al.*, 2001).

La fructosa en particular ha sido identificada por tener un efecto mayor sobre la lipogénesis que la glucosa, tanto en ratas como en humanos. Esto se ha atribuido a la rápida utilización de la fructosa por el hígado, la cual evita los pasos limitantes de la 6-o



1-fosfofructocinasa de la glucólisis que limita el metabolismo de la glucosa. En diversos experimentos el alimentar durante 6 meses con fructosa a un grupo de ratas resultó en un aumento marcado en la grasa hepática y en una ganancia de peso corporal mayor a aquellas ratas alimentadas con glucosa (Dekker *et al.*, 2010; McDevitt *et al.*, 2001).

La RI observada en los grupos SM puede explicarse de diversas formas, entre ellas la obesidad abdominal. Se ha propuesto que los adipocitos abdominales son más activos que los de otras regiones. Esto se debe a los receptores adrenérgicos (Kahn y Flier SF, 2000). Esta actividad incrementada aumentaría la liberación de los AGL, gliceroles y citocinas que reducirían la sensibilidad hepática a la insulina, incrementaría la liberación de glucosa hepática, y afectaría el metabolismo de los lípidos (Garg, 2010; Elliot *et al.*, 2002; Smith, 2007), lo cual explicaría la hiperglucemia, la hiperinsulinemia y los altos niveles de triglicéridos en los grupos SM (tabla 4, 5 y 6). La hiperinsulinemia desarrollada también incrementaría la RI al regular a la baja los receptores de insulina y desensibilizando las vías posteriores a la unión con su receptor. El excesivo flujo de AGL también induciría RI periférica al inhibir la captura de glucosa por el músculo esquelético contribuyendo a la hiperglucemia presentada por los grupos SM (Kahn y Flier, 2000; Garg, 2010).

La hiperglucemia ocasiona glucotoxicidad que afecta la función de las células β pancreáticas, produce la desensibilización a la glucosa y el agotamiento de las células β . Además de los cambios funcionales, la hiperglucemia crónica puede también disminuir la masa celular β al inducir a apoptosis (Poitout y Robertson, 2002).



Los altos niveles de triglicéridos observados en los grupos SM, así como los bajos niveles del grupo SM 8/4 semanas (tabla 4, 5 y 6) se pueden explicar por el metabolismo de la fructosa proveniente de la sacarosa. Herman y colaboradores reportaron estudios donde ratas alimentadas con dieta alta en fructosa sostuvieron elevaciones en los niveles de triglicéridos en suero durante el tiempo que la fructosa fue ingerida (100 días) y disminuyeron cuando se cambió a una dieta estándar chow (Elliot *et al*, 2002). El mecanismo por el que la fructosa ocasiona hipertrigliceridemia involucra la absorción de la fructosa en el intestino que depende de la actividad de la glucosa-6-fosfatasa. En los roedores la actividad de esta enzima en el intestino es muy baja, por lo que la mayor parte de la fructosa es absorbida como tal (Basciano *et al.*, 2005; Bar y Stein, 1994). Cuando grandes cantidades de fructosa son ingeridas, la vía glucolítica se satura con la fructosa, y la producción de triglicéridos es facilitada (Teff *et al.*, 2004). La fructosa, contraria a la glucosa, no estimula la secreción de insulina de las células β pancreáticas (Teff *et al.*, 2004), debido a que las células β tienen baja cantidad de transportadores de fructosa (GLUT5) (Elliot *et al*, 2002; Teff *et al.* 2004).

La hipertensión observada en los grupos SM se puede explicar principalmente tanto por la RI como por la obesidad abdominal. Se han realizado múltiples estudios para poder elucidar los mecanismos de esta asociación. Estos estudios han mostrado que todos los elementos del SM (figura 16) contribuyen a incrementar la tensión arterial, la cual predispone a daños vasculares, renales y cerebrales. El incremento en la tensión ocasionado por la ingesta de la sacarosa también es atribuido al metabolismo de la fructosa, aunque el mecanismo por el cual se desarrolla la hipertensión aún no está

bien comprendido, factores como la producción de ácido úrico, la hiperinsulinemia, la formación de aldehídos y la alteración en la reactividad vascular si han sido implicados (Duvnjak *et al.*, 2008).

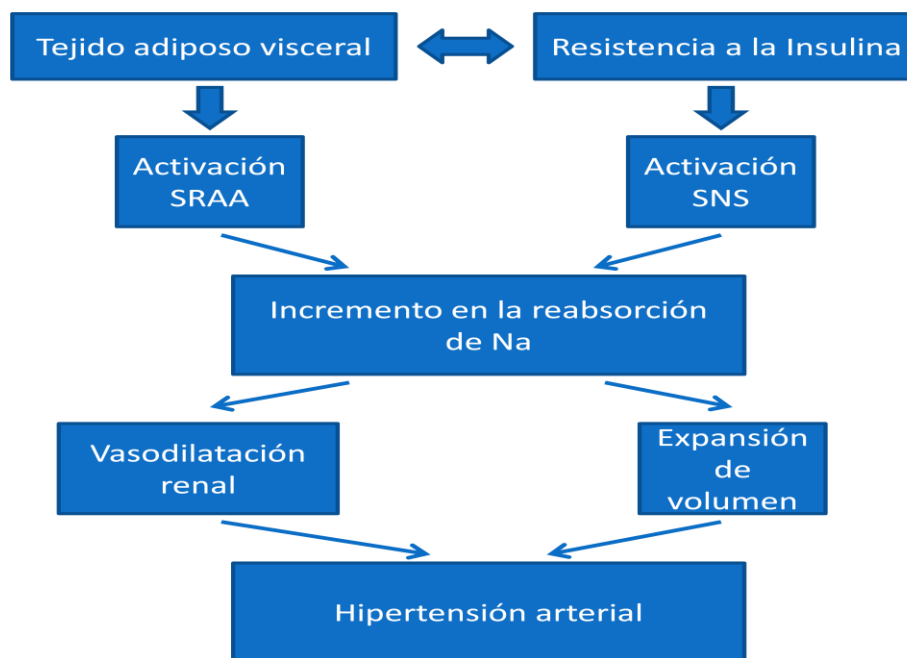


Figura 16. Fisiopatología de la hipertensión en el SM

Los resultados obtenidos para el grupo SM 8/4 semanas (tabla 6) mostraron la mejoría del estado fisiológico con respecto al presentado a la octava semana de ingerir la sacarosa (Larqué *et al.*, 2011). Las alteraciones que tuvieron mejoría significativa fueron la presión arterial, los niveles de triglicéridos y la cantidad de grasa peripancreática, con respecto al grupo SM 12 semanas. Estos resultados demuestran que el SM puede revertirse cuando las alteraciones empiezan a manifestarse, lo importante de estos resultados es que fueron logrados únicamente al cambio de la dieta. Es probable que si se prolonga el tiempo con dieta chow y con actividad física, se logren mejores resultados.



Los adipocitos pueden liberar NGF a la circulación plasmática (Peeraully, 2004). El NGF está constitutivamente presente en la sangre de roedores y humanos, y los niveles incrementan durante el estrés y ciertas enfermedades autoinmunes (Alleva *et al.*, 1996); Aloe, *et al.*, 2002). Se ha observado que la producción elevada y la liberación del NGF están asociadas con el incremento de diversas citocinas proinflamatorias, como son el TNF- α e IL- β , las cuales también son liberadas por los adipocitos, recordemos que la obesidad es descrita como un estado de inflamación (Fox *et al.*, 2001),. Las tendencias observadas en esta investigación indican que los niveles de NGF podrían incrementar con la obesidad. Recientemente, Hristova y Aloe mostraron que los niveles de NGF fueron significativamente mayores en pacientes en etapa temprana del SM, mientras que bajos niveles de esta neurotrofina se presentaron durante una etapa más avanzada. Es probable que las ratas del grupo SM tuvieran mayor cantidad de RNA mensajero de NGF en los adipocitos con respecto al control (Bulló *et al.*, 2007).



Conclusiones

- ❖ Caracterizamos el modelo de SM en ratas Wistar hembra a las 8 y 24 semanas bajo una dieta con sacarosa al 20%.
- ❖ Caracterizamos el modelo de SM en ratas Wistar macho a las 12 semanas bajo una dieta con sacarosa al 20%.
- ❖ El modelo de SM es más severo en los machos, desarrollaron más tejido adiposo visceral con respecto a las hembras, esta diferencia puede explicarse por las hormonas sexuales, en particular los estrógenos.
- ❖ El retirar la sacarosa de la dieta en ratas machos Wistar a las 8 semanas, por un período de 4 semanas permite la mejoría de algunas alteraciones ocasionadas por el consumo de la sacarosa.

Recomendaciones

Con base en los resultados obtenidos en esta investigación han surgido nuevas preguntas, por lo que se recomienda lo siguiente:

- Evaluar la reversibilidad del SM durante 2 meses con una dieta control, y combinando una dieta control con ejercicio, se podría usar una rueda giratoria o una caminadora.
- Caracterizar el modelo en ratas adultas mayores en etapa menopáusica y post menopáusica para entender de mejor manera el papel de las hormonas sexuales como factor de protección en las ratas hembras adultas jóvenes.



Bibliografía

Alberti KGMM, Zimmet PZ for the WHO Consultation 1998. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabetic Medicine*; 15: 539-553.

Alleva E, *et al.* 1996. **NGF regulatory role in stress and coping of rodents and humans.** *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 54 (1): 65-72.

Aloe L, Alleva E y Fiore M. 2002. **Stress and nerve growth factor: Findings in animal models and humans.** *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 73 (1): 159-166.

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

Arai Y, Kojima T, Takayama M y Hirose N. 2009. **The metabolic syndrome, IGF-1, and insulin action.** *Molecular and Cellular Endocrinology*; 299: 124-128.

Ashcroft F y Rorsman P. 2004 **Type 2 diabetes mellitus: not quite exciting enough?** *Human Molecular Genetics*; 13 (1): R21-R31.

Basciano H, *et al.* 2005. **Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia.** *Nutrition & Metabolism*, 2:5.

Bar-On H, and Stein Y. 1994. **Effect of glucose and fructose administration on lipid metabolism in the rat.** *The Journal of Nutrition*. 68: 95-105.

Barg S. 2003. **Mechanism of Exocytosis in Insulin-Secreting B-Cells and Glucagon-Secreting A-Cells.** *Pharmacology & Toxicology*. 92 (1): 3-13.



Barros R, Fabres U, *et al.* 2006. **Estrogen receptors: new players in diabetes mellitus.** Trends in Molecular Medicine.12(9): 425-430.

Biddinger SB y Kahn RC. 2006 **From Mice to Men: Insights into the Insulin Resistance Syndromes.** Annu. Rev. Physiol. 68:123–58.

Biddinger SB y Emanuelli B. 2011. **Insulin resistance in the metabolic syndrome.** Chapter 10, Metabolic Basis of Obesity. Springer. Pp 175-188.

Bohler H, Mokshagundam S, y Winters S.J. 2009. **Adipose tissue and reproduction in women.** Fertility and Sterility. Artículo en línea: 10.1016/j.fertnstert.2009.03.079

Bulló M., Peeraully RM. *et al.* 2007. **Circulating nerve growth factor levels in relation to obesity and the metabolic syndrome in women.** European Journal of Endocrinology.157: 303-310.

Canizales S. 2008. **Aspectos genéticos de la obesidad humana.** Revista de Endocrinología y Nutrición. 16 (1): 9-15.

Carr MC and Brunzell JD. 2004. **Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: importance of type 2 diabetes and familial combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk.** The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 89 (6): 2601-1607.

Choi HS, Ryu SH y Lee K. 2006. **The relationship of microalbuminuria with metabolic syndrome.** Nephron Clinical Practice.104: c85-c93.

Dekker MJ *et al.* 2010. **Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome.** American Journal of Physiology and Endocrinology Metabolism. 299 (5): E685-94.



Duvnjak L, Bulum T y Metelko Z. 2008. **Hypertension and the metabolic syndrome.** Diabetologia Croatica. 37(4): 83-89.

Eckel R.H. 2007. **Mechanisms of the components of the metabolic syndrome that predipose to diabetes and atherosclerotic CVD.** Proceedings of the Nutrition Society. 66: 82-95.

Eckel RH, Grundy SM y Zimmet PZ. 2005. **The metabolic syndrome.** Lancet. 365: 1415-1428.

Elliot S.S., Keim L.N., *et al.* 2002. **Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome.** American Journal Clinical Nutrition. 76: 911-922.

Fox AJ, *et al.* 2001. **Release of nerve growth factor by human pulmonary epithelial cells: role in airway inflammatory diseases.** European Journal of Pharmacology. 424 (2): 159-162.

Fried S y Rao Salome. 2003. **Sugars, hypertriglyceridemia, and cardiovascular disease.** The American Journal of Clinical Nutrition. 78(suppl):873S-80S.

Garber LI, Aguilar CA, *et al.* 2004. **Posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, sobre la definición, fisiopatología y diagnóstico. Características del síndrome metabólico en México.** Revista de Endocrinología y Nutrición. 12 (3): 109-122.

Garg Abhimanyu. 2010. **Regional adiposity and insulin resistance.** The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 89 (9): 4206-4210.

González del Pliego, M. *et al.* 2001. **Ultrastructural changes in pancreatic beta cells treated with NGF and dbcAMP.** Cell. Tissue. Res. 305: 365-378.



Hiriart UM, *et al.* 2001. **Nerve and fibroblast growth factors as modulators of pancreatic beta cell plasticity and insulin secretion.** The Israel Medical Association Journal. 3(2):114-6.

Hiriart UM. 2005. **El páncreas endocrino.** Tratado de fisiología humana. Editorial El Manual Moderno. Capítulo 56, 443-459.

Hiriart UM y Aguilar-Bryan L. 2008. **Channel regulation of glucose sensing in the pancreatic beta-cell.** American Journal of Physiology, Endocrinology & Metabolism. 295(6):E1298-306.

Hollingsworth DR. 1983. **Alterations of maternal metabolism in normal and diabetic pregnancies: difference in insulin dependent, non insulin dependent and gestational diabetes.** American Journal Obstetrics Gynecology. 146: 417-429.

Huffman DM, Barzilai N. 2009. **Role of visceral adipose tissue in aging.** Biochimica et Biophysica Acta. 1790(10):1117-23.

Hugués HB, Rodríguez GJC, *et al.* 2002. **Animales de experimentación como modelos de la diabetes mellitus tipo 2.** Revista Cubana de Endocrinología. 13 (2): 160-8.

International Diabetes Federation. **Fact sheet: impaired glucose tolerance (IGT),** 2011. <http://www.idf.org/fact-sheets/impaired-glucose-tolerance>

Isharwal S, Misra A., *et al.* 2009. **Diet & insulin resistance: A review & Asia Indian perspective.** Indian Journal Medical Res. 129: 485-499.

Kahn B y Flier SF. 2000. **Obesity and insulin resistance.** The Journal of Clinical Investigation. 106(4): 473- 481.



Kahn SE, Hull RL y Utschneider KM. 2006. **Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes.** Nature. 444: 840-846.

Kanaka-Gantenbein, C. *et al.* 1995. **Presence of nerve growth factor and its receptors in an *in vitro* model of islet cell development: implication in normal islet morphogenesis.** Endocrinology. 136: 3154-3162.

Kumar S, Lata K, *et al.* 2010. **Role of estrogen receptors in pro-oxidative and anti-oxidative actions of estrogens: A perspective.** Biochimica et Biophysica Acta. 1800(10):1127-35.

Lann D, LeRoith D. 2007. **Insulin resistance as the underlying cause for the metabolic syndrome.** The Medical Clinics of North America. 91: 1063-1077.

Larqué C, Velasco M, *et al.* 2011. **Early Endocrine and Molecular Changes in Metabolic Syndrome Models.** IUBMB. Life. Received May 9, 2011: accepted July 2, 2011.

Lindholm D *et al.* 1990. **Glucocorticoid hormones negatively regulate nerve growth factor expression in vivo and cultured rat fibroblasts.** European Journal Neuroscience, 2: 795-801.

Livingstone C y Collison M. 2002. **Sex steroids and insulin resistance.** Clinical Science. 102: 151-166.

McDevitt MR, Bott JS, *et al.* 2001. **De novo lipogenesis during controlled overfeeding with sucrose or glucose in lean and obese women.** American Journal Clinical Nutrition. 74: 737-746.



Meshkani R y Adeli K. 2009. **Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease.** Clinical Biochemistry. 42 (13-14): 1331-1346.

Milnar B, Marc J, Janez A y Pfeifer M. 2007. **Molecular mechanisms of insulin resistance and associated diseases.** Clinica Chimica Acta. 375: 20-35.

Miralles, F. *et al.* 1998. **Expression of nerve growth factor and its high-affinity receptor Trk-A in the rat pancreas during embryonic and fetal life.** Journal of Endocrinology. 156: 431-439.

Mooradian D. A. 2009. **Dyslipidemia in type 2 diabetes mellitus.** Nature Clinical Practice. 5(3): 150- 159.

Mykkanen L., Zaccaro J.D., *et al.* 1998. **Microalbuminuria is associated with insulin resistance in nondiabetic subjects.** Diabetes. 47: 793-800.

Nadal A *et al.* 2009. **The pancreatic β -cell as a target of estrogens and xenoestrogens: Implications for blood glucose homeostasis and diabetes.** Molecular and Cellular Endocrinology. 304: 63-68.

Nascimento O, *et al.* 2004. **Regulation of haptoglobin gene expression in 3T3-L1 adipocytes by cytokines, catecholamines, and PPAR γ** Biochemistry and Biophysics Res Commun, 313:702-708.

Navarro-Tableros, V. *et al.* 2004. **Autocrine regulation of single pancreatic β -cell survival.** Diabetes. 53: 2018-2023.

Niewiadomska G, Mietelska PA. and Mazurkiewicz M. 2010. **The cholinergic system, nerve growth factor and the cytoskeleton.** Behavioural Brain Research. 221(2):515-26.



- Oron HM, Kamari Y, *et al.* 2008. **Metabolic syndrome: comparison of the two commonly used animal models.** American Journal of Hypertension. 21(9): 1018-1022.
- Osei Kwame. 1999. **Insulin resistance and systemic hypertension.** American Journal of Cardiology. 84: 33J-36J.
- Peeraully MR, Jenkins JR y Trayhurn P. 2004. **NGF gene expression and secretion in white adipose tissue: regulation in 3T3-L1 adipocytes by hormones and inflammatory cytokines.** American Journal Physiology- Endocrinology and Metabolism. 287: E331-E339.
- Phelan S, *et al.* 2007. **Impact of weight loss on the metabolic syndrome.** International Journal of Obesity. 31: 1442-1448.
- Pierucci, D. *et al.* 2001. **NGF-withdrawal induces apoptosis in pancreatic beta cells in vitro.** Diabetologia. 44: 1281-1295.
- Pineda C. 2008. **Síndrome Metabólico: definición, historia, criterios.** Colombia Médica. 39 (1): 96-106.
- Poitout V y Robertson RP. 2002. **Minireview: Secondary β -cell failure in type 2 diabetes-A convergence of glucotoxicity and Lipotoxicity.** Endocrinology. 143(2): 339-342.
- Polderman KH *et al.* 1994. **Induction of insulin resistance by androgens and estrogens.** Journal Clinical Endocrinology Metabolism. 79: 265-71.
- Reimer MK *et al.* 2003. **Local growth factors are beneficial for the autonomic reinnervation of transplanted islets in rats.** Pancreas. 26: 392-397.



Rosenbaum, T. *et al.* 1998. **Pancreatic β cells synthesize and secrete nerve growth factor.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95: 7784-7788.

Sánchez MF, García MR, *et al.* 2005. **Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune.** Gaceta Médica México. 141(6): 505-512.

Sánchez N, Julio C, *et al.* 2010. **Adipokines and metabolic syndrome: multiple aspects of a complex pathophysiological process.** Revista. Colombiana de Cardiología. 17(4):167-176. ISSN 0120-5633.

Scharfmann, R. *et al.* 1993. **Expression of functional nerve growth factor receptors in pancreatic β cell lines and fetal rat islets in primary culture.** Diabetes. 42: 1829-1836.

Sclafani A y Xenakis S. 1984. **Sucrose and polysaccharide induced obesity in the rat.** Physiology Behavior. 32(2):169-174.

Shaw DI, Hall WL y Williams CM. 2005. **Metabolic syndrome: what is it and what are the implications?.** Proceedings of the Nutrition Society. 64: 349-357.

Shi H y Clegg DJ. 2009. **Sex differences in the regulation of body weight.** Physiology & Behavior. 97: 199 - 204.

Shi H, Seeley RJ, y Clegg DJ. 2009. **Sexual differences in the control of energy homeostasis.** Frontiers in Neuroendocrinology. 30: 396-404.

Sigman-Grant M. y Morita J. 2003. **Defining and interpreting intakes of sugars.** American Journal of Clinical Nutrition. 78(suppl): 815S-26S.

Slack JM. **Developmental biology of the pancreas.** Development. 1995; 121: 1569-1580.



Smith AD. 2007. **Tratamiento de la dislipidemia de la resistencia a la insulina.** Medical Clinical N Am, 91: 1185-1210.

Stolar Mark MD. 2007. **Metabolic syndrome: controversial but useful.** Cleveland Clinic Journal of Medicine. 74(3): 199 – 208.

Tébar MFJ y Escobar JF. 2009. **La diabetes mellitus en la práctica clínica.** Editorial Médica Panamericana. Capítulo 3: 19-24.

Teff KL, *et al.* 2004. **Dietary fructose reduces circulating insulin and leptin, attenuates postprandial suppression of ghrelin, and increases triglycerides in women.** The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 89(6): 2963-2972.

Tofovic SP y Jackson EK. 2003. **Rat models of the metabolic syndrome.** Renal Disease. Methods in Molecular Medicine. 86:1, 29-46.

Tessarollo L. 1998. **Pleiotropic functions of neurotrophins in development.** Cytokine & Growth Factor Reviews. 9(2): 125-137.

Vidaltamayo, R. *et al.* **Neuron-like phenotypic changes in pancreatic α -cells induced by NGF, FGF, and dbcAMP.** Endocrine. 1996; 4: 19-26.

Vidaltamayo R, *et al.* 2002. **Nerve growth factor increases sodium channel expression in pancreatic β cells identified with the reverse hemolytic plaque assay.** J. Gen. Physiol. 91: 617- 639.

Vidaltamayo R, *et al.* 2003. **Expression of nerve growth factor in human pancreatic β cells.** Growth Factors. 21: 103-107.

Vital P, Larrieta E. e Hiriart M. 2006. **Sexual dimorphism in insulin sensitivity and susceptibility to develop diabetes in rats.** Journal of Endocrinology. 190: 425-432.



Wajchenberg BL. 2000. **Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome.** Endocrine Reviews. 21 (6): 697-738.

Yamamoto Y y Oue E. 2006. **Antihypertensive effect of quercetin in rats fed with a high-fat high-sucrose diet.** Biosci. Biotechnol. Biochem., 70 (4), 933-939.

Zimmet P, Alberti G, y Serrano M. 2005. **Una nueva definición mundial del síndrome metabólico propuesta por la Federación Internacional de Diabetes: fundamento y resultados.** Revista Española de Cardiología. 58 (12): 1371-1376.