



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**EVALUACIÓN DE LA HIPERTROFÍA DEL ADIPOCITO EN UN MODELO DE  
RATA CON SÍNDROME METABÓLICO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**

**QUIMICA**



**PRESENTA**

**YOLANDA GUTIÉRREZ ALVAREZ**

**DIRECTOR DE TESIS**

**DR. ISRAEL PEREZ TORRES**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. 2018**



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.

**JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE: DR. ROGELIO RODRIGUEZ SOTRES**

**VOCAL: DR. JESUS FERNANDO MONTIEL AGUIRRE**

**SECRETARIO: DR. ISRAEL PÉREZ TORRES**

**1er. SUPLENTE: DR. FELIX MORALES FLORES**

**2° SUPLENTE: DR. ALBERTO GARCIA LOZANO**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA “IGNACIO CHÁVEZ”**

**ASESOR DEL TEMA:**

**SUSTENTANTE (S):**

\_\_\_\_\_  
DR. ISRAEL PÉREZ TORRES

\_\_\_\_\_  
YOLANDA GUTIÉRREZ ALVAREZ

## ABREVIACIONES

### Abreviación

SM

RI

HDL

FID

PA

APT-III

PNEC

ENSANUT

IMC

NOM

AG

TG

LPL

LTG

HSL

MG

TNF- $\alpha$

IL-6

AGL

TAGs

PKA

AMP<sub>c</sub>

VLDL

LDL

PAS

AGEs

C

AGNES

HOMA-IR

CT

### Palabra

Síndrome Metabólico

Resistencia a la insulina

Lipoproteínas de alta densidad

Federación Internacional de Diabetes

Presión arterial

Panel de Tratamiento del Adulto III

Programa Nacional de Educación de Colesterol

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

Índice de masa corporal

Norma Oficial Mexicana

Ácidos grasos

Triglicéridos

Lipasa lipoproteica

Lipasa de triacilgliceroles

Lipasa sensible a hormonas

Lipasa de monoacilgliceroles

Factor de necrosis tumoral- $\alpha$

Interleucina-6

Ácidos grasos libres

Triacilgliceroles

Proteína cinasa A

Adenosina monofosfato cíclico

Lipoproteínas de muy baja densidad

Lipoproteínas de baja densidad

Presión arterial sistólica

Productos de glucosilación avanzada

Control

Ácidos grasos no esterificados

Índice de resistencia a la insulina

Colesterol

## ÍNDICE

RESUMEN	1
SINDROME METABÓLICO	3
OBESIDAD	4
ETIOLOGÍA	5
COMPOSICIÓN DEL TEJIDO ADIPOSO	5
FISIOLOGIA DEL TEJIDO ADIPOSO	6
METABOLISMO DE LÍPIDOS	7
LIPÓLISIS	8
LIPOGÉNESIS	10
HSL Y LPL EN LA OBESIDAD Y RESISTENCIA A LA INSULINA	11
ÁCIDOS GRASOS TOTALES	11
ANTECEDENTES EXPERIMENTALES DEL MODELO CON SM	12
PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	14
JUSTIFICACIÓN	15
HIPÓTESIS	16
OBJETIVOS, GENERALES Y PARTICULARES	17
MATERIAL Y MÉTODOS	18
MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA	18
SACRIFICIO	18
HISTOLOGÍA DEL TEJIDO ADIPOSO	19
EXTRACCIÓN DE ADIPOCITOS	19
MEDICIONES BIOQUÍMICAS EN SUERO	20
DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE:	
LA LPL, PERILIPINA A, HSL Y PKA POR INMUNODETECCIÓN	20
ACTIVIDAD DE LA LPL Y HSL	21
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	22
RESULTADOS	23
CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO, MEDICIÓN DE PESO Y PRESIÓN ARTERIAL EN RATAS C Y SM	23

MEDICIÓN SÉRICA DE GLUCOSA, TRIGLICÉRIDOS, INSULINA, HOMA-IR, LEPTINA Y CT EN RATAS C Y SM	25
MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LPL EN RATAS C Y SM	27
MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE HSL EN RATAS C Y SM	28
MEDICIÓN DE LA EXPRESIÓN DE HSL DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM	29
MEDICIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LPL DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM	30
MEDICIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PERILIPINA A DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM	31
MEDICIÓN DE LA EXPRESIÓN DE PKA DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM	32
CONTEO DEL NÚMERO DE CELULAS POR CAMPO DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM	33
ÁREA DE LOS ACIPOCITOS DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM	34
FOTOMICROGRAFÍAS DE LOS ADIPOCITOS DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM	35
DISCUSIÓN	37
CONCLUSIONES	44
BIBLIOGRAFÍA	45

## RESUMEN

El síndrome metabólico (SM) prevalece en los países desarrollados, es influenciado en gran parte por factores ambientales que, asociados a la predisposición genética, ocasionan trastornos a corto y a largo plazo, en órganos y sistemas. La principal patología que comprende el SM es la obesidad, que es caracterizada por el exceso de tejido adiposo en el organismo. El tejido adiposo puede responder con rapidez y de forma dinámica al exceso de nutrientes ocasionando la hipertrofia del adipocito. La hipertrofia se define como el incremento en el almacenamiento de lípidos intracelulares, aumentando el tamaño de adipocito, sin aumento en el número de células. El objetivo general fue evaluar la participación progresiva de las enzimas involucradas en la lipólisis y lipogénesis, que conducen a la hipertrofia del adipocito intra-abdominal, en un modelo en rata que desarrolla SM mediante el consumo de sacarosa al 30% en el agua de bebida. Material y métodos: se utilizaron 100 ratas Wistar macho, estas se dividieron en dos grupos SM y C, cada uno de estos se dividió en 5 subgrupos. Antes del sacrificio se midió la presión arterial. Posterior al sacrificio, se disecó la grasa intra-abdominal y se extrajeron los adipocitos, en estos se determinaron la expresión de la lipasa lipoproteica (LPL), la perilipina A, la lipasa sensible a hormonas (HSL) y la proteína cinasas A (PKA) por Western Blot. La actividad de la LPL y la HSL fue determinada por espectrofotometría. También, se le realizaron tinciones histológicas a muestras del tejido adiposo. Resultados: se obtuvieron diferencias significativas ( $p=0.001$ ) en presión arterial, HOMA-IR, leptina, triglicéridos, insulina, grasa intra abdominal y número de células por campo. ( $p=0.01$ ) en los productos de glucosilación avanzada (AGEs), expresión de perilipina, área de los adipocitos y actividad de LPL y HSL. ( $p<0,001$ ) en expresión de HSL y en expresión de ( $p=0.03$ ) PKA en los grupos SM en comparación con los grupos C de manera progresiva a partir del tercer mes de tratamiento con sacarosa. En conclusión los resultados sugieren que el consumo crónico de sacarosa altera progresivamente las enzimas involucradas en la lipólisis y lipogénesis en el adipocito del tejido adiposo intra-abdominal. Aparentemente, la

lipólisis está aumentada por el incremento de la actividad de la LPL, pero al mismo tiempo, la actividad y la expresión de la PKA y de la HSL asociados a la hiperinsulinemia explican el incremento en la liberación de los ácidos grasos libres (AGL) ocasionando un cuadro de retroalimentación positiva, que se propone contribuye al desarrollo de la hipertrofia del adipocito y que se asocia a la progresión del SM.



## SÍNDROME METABÓLICO

El síndrome metabólico (SM) prevalece en los países desarrollados, convirtiéndose en uno de los problemas de salud pública del siglo XXI y se espera que sea más prevalente en el futuro cercano. El SM es influenciado en gran parte por factores ambientales (entre lo que destaca una dieta inadecuada rica en hidratos de carbono y/o grasas saturadas, e inactividad física), que asociados a la predisposición genética ocasionan trastornos a corto y a largo plazo en órganos y sistemas (como diabetes tipo 2, enfermedad cardiovascular, enfermedad del hígado graso, alteraciones en el sueño y ovario poliquístico, entre otros) lo que producirá disminución en la sobrevivencia de los pacientes (Locatelli, 2006).

Para dar el diagnóstico del SM, de acuerdo a la organización Mundial de la Salud (OMS), se deben mostrar más de dos factores de riesgo adicional, los cuales incluyen obesidad, hipertensión, hipertrigliceridemia, disminución de colesterol (CT) de lipoproteínas de alta densidad (HDL, por sus siglas en inglés, *High Density Lipoprotein*) bajo y resistencia a la insulina (RI) (Pineda, 2008).

La Federación Internacional de Diabetes (FID) pone como principal criterio a la obesidad, para diagnosticar el SM, indicando que la mejor medida es el perímetro abdominal, por su relación con la RI, además de sumar dos de los siguientes criterios: hipertrigliceridemia, HDL bajo, presión arterial (PA) y glicemia elevada (Pineda, 2008).

De acuerdo al Panel de Tratamiento del Adulto III (APT-III por sus siglas en inglés) del Programa Nacional de Educación de Colesterol (PNEC); (Arbañil, 2011), el SM se asocia con diferentes patologías, como obesidad (circunferencia de cintura  $\geq 102$  cm en hombres y  $\geq 88$  cm en mujeres), hipertrigliceridemia ( $\geq 150$  mg/dL), niveles bajos de CT-HDL ( $< 40$  mg/dL en hombres y  $< 50$  mg/dL en mujeres), PA elevada (presión sistólica  $\geq 130$  mmHG y PA diastólica  $\geq 85$  mmHG) y diabetes o

glucosa en ayuno elevada ( $>100$  mg/dL), las cuales pueden aparecer de forma simultánea o secuencial en un individuo (Anderson, 1986).

De acuerdo a los tres criterios anteriores se requieren tres o mas factores de estas patologías para diagnosticar al SM (Lorenzo, 2008). En los criterios anteriores del SM dadas por el ATP-III, la OMS y la FID, el parámetro constante en el SM para su diagnóstico es la obesidad (García, 2008). En México, de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) de 2016, la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en la población mayor de 20 años es de 72.5%, en comparación con la encuesta del 2012 (71.2%). Aunado a lo anterior, la obesidad abdominal alcanzó un registro de 76.6% donde la prevalencia es mayor en mujeres (87.7%) en comparación con hombres (65.4%). Estos datos son aún mas altos en personas de 40 a 79 años. A pesar de que la prevalencia conjunta de sobrepeso y obesidad en los adultos mexicanos se ha mantenido en los últimos diez años, debe destacarse que es de las mas altas a nivel mundial (ENSANUT, 2016).

## OBESIDAD

La obesidad es el aumento del tejido adiposo en el organismo como consecuencia de dieta hipercalórica asociada a bajo gasto energético por la inactividad física. La obesidad abdominal es la patología mas relacionada con el SM (Carrillo, 2007).

La Norma Oficial Mexicana (NOM) define a la obesidad como: enfermedad caracterizada por el exceso de tejido adiposo en el organismo, la cual se determina en personas adultas cuando existe el índice de masa corporal (IMC) igual o mayor a  $30 \text{ kg/m}^2$  (para talla promedio) y con el IMC igual o mayor a  $25 \text{ kg/m}^2$  en adultos de talla baja (NOM, 2010). Mientras que al sobrepeso lo define como la condición de riesgo para la obesidad, el cual es caracterizado por la existencia de IMC igual o mayor a  $25 \text{ kg/m}^2$  y menor a  $29,9 \text{ kg/m}^2$  (para talla promedio), y IMC igual o mayor a  $23 \text{ kg/m}^2$  y menor a  $25 \text{ kg/m}^2$  en adultos de talla

baja. Asimismo la OMS define al sobrepeso y la obesidad como acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud (NOM, 2016).

En la actualidad, la obesidad es considerada un problema de salud pública (NOM, 2010), de modo alarmante, México ocupa el segundo lugar en obesidad a nivel mundial (NOM, 2016). En México, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012, realizada por el Instituto Nacional de Salud Pública, se demuestra que la incidencia, la prevalencia del sobrepeso y la obesidad han aumentado de manera progresiva durante los últimos 60 años y de modo alarmante en los últimos 20 años, hasta alcanzar cifras de 10 a 20% en la infancia, 30 a 40% en las adolescencia y 60 a 70% en los adultos. Se prevé que para el 2050, el 88% de los hombres y el 91% de las mujeres presenten sobrepeso y obesidad (NOM, 2016).

## ETIOLOGÍA

La obesidad está en especial crecimiento en países desarrollados. Por lo tanto, no existe razón única que explique la pandemia de la obesidad, ya que es compleja y, además, está influenciada por la dieta, etapa de desarrollo, edad, actividad física, carga genética y ambiente, principalmente (Xie, 2012).

## COMPOSICIÓN DEL TEJIDO ADIPOSO

El tejido adiposo se encuentra distribuido a nivel dérmico, subcutáneo, mesentérico, perigonadal, perirrenal y retroperitoneal. Se distinguen dos tipos de tejido adiposo, el tejido adiposo blanco y el tejido adiposo pardo o marrón. El tejido adiposo pardo es el responsable de la actividad termogénica debido a que expresa y acumula la proteína desacoplante I (Moreno, 2002). El tejido adiposo blanco está constituido por adipocitos maduros y la fracción estroma vascular (Suganami, 2012).

## FISIOLOGÍA DEL TEJIDO ADIPOSO BLANCO

Las funciones principales del tejido adiposo blanco son: estructural (aislante térmico y protector de órganos), metabólica (lipogénesis y lipólisis) y endócrina (responde a hormonas y secreta hormonas); (Sánchez, 2005; Pérez, 2007; Weisberg, 2003) .

Las funciones metabólicas del tejido adiposo blanco son: lipogénesis descrita como la síntesis de ácidos grasos (AG) seguido del almacenamiento de estos en forma de triglicéridos (TG) en el tejido adiposo (Kersten, 2001) y lipólisis descrita como la hidrólisis de TG almacenados en el adipocito hasta la circulación sistémica (Gil, 2002; Zechner, 2012). Durante los momentos de privación de energía, el tejido adiposo blanco experimenta aumento en la lipólisis, llevándose a cabo la hidrólisis de TG y generando AG y glicerol libre, que son liberados a la circulación, para ser usados por otros órganos como sustrato energético (Duncan, 2007). Las enzimas clave en los procesos de lipogénesis y lipólisis en el adipocito son: la lipasa lipoproteica (LPL), la lipasa de triacilgliceroles (LTG), la perilipina, la lipasa sensible a hormonas (HSL) y la lipasa de monoacilglicéridos (MG); (Frayn, 2003; Lass, 2011).

Además, los adipocitos secretan una variedad de moléculas biológicamente activas denominadas adipocinas. Por mencionar algunas: la adiponectina, la leptina y la resistina; estas últimas inducen la liberación y expresión del factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) y la interleucina-6 (IL-6); (Singa, 2010). En la obesidad, se ha demostrado un incremento en las adipocinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-6, resistina) y decremento de las adipocinas antiinflamatorias (adiponectina), las cuales modifican la RI, desencadenando la arteriosclerosis y otras complicaciones microvasculares (Fausto, 2005).

La leptina es una hormona que funciona como mediador del equilibrio energético y transmite información sobre el agotamiento o la acumulación de reservas de grasa

del cuerpo al cerebro. Aunque la leptina funge en el control en la homeostasis energética, no queda claro si interviene en el proceso inflamatorio causado por la obesidad abdominal. Se ha descrito que las concentraciones séricas de leptina aumentan en proporción a la cantidad de tejido adiposo corporal, por lo tanto, los individuos obesos con SM generalmente tienen altas concentraciones circulantes de leptina. Sin embargo, los individuos obesos, parecen ser resistentes a los efectos hipotalámicos de esta hormona, por lo que, las vías catabólicas diseñadas para reducir el apetito y aumentar el gasto energético no se activan y se mantiene el exceso de peso corporal. Otros estudios en roedores, sugieren que esta citosina contribuye a la inflamación crónica de bajo grado asociada con el SM (Brent, 2004).

Las moléculas proinflamatorias tienen efectos directos sobre el metabolismo celular, siendo los macrófagos su principal fuente, por ejemplo, el TNF- $\alpha$  antagoniza la señalización de la insulina disminuyendo directamente la sensibilidad de esta hormona y aumenta la lipólisis en los adipocitos. Además, la IL-6 regula la homeostasis energética y la inflamación, por lo tanto, la relación entre cantidad de macrófagos en la grasa y la inflamación pueden preceder al desarrollo de RI, hipertrigliceridemia *in vivo* al estimular la lipólisis, secreción de TG hepáticos y al aumento de los niveles séricos de ácidos grasos libres (AGL) asociados con la obesidad (Weisberg, 2003).

## METABOLISMO DE LÍPIDOS

Por otra parte, los principales lípidos en la dieta son triacilgliceroles (TAGs) que se hidrolizan hasta monoacilgliceroles y AG en el intestino, después se vuelven a esterificar en la mucosa intestinal. Ahí son encapsulados con lipoproteínas para ser secretados al torrente sanguíneo como quilomicrones y lipoproteínas de mayor tamaño, a través de la linfa intestinal (Harker, 2010).

Al pasar los quilomicrones a la circulación periférica, estos entran en contacto con la LPL y son almacenándolos en el tejido adiposo y músculo esquelético. La mayoría de los TAGs de los quilomicrones sufren hidrólisis, sin embargo, las partículas de lipoproteínas permanecen intactas y son devueltas a la circulación en forma de remanente de quilomicrones, estos conservan ésteres de CT y algunos TG en su núcleo. Los cuales son captados directamente por el hígado (Harper, 2010).

Además, el metabolismo de los TAGs está íntimamente relacionado con el de la glucosa, de tal manera que, el exceso de carbohidratos en la alimentación es transformado por el organismo en TAGs. Esta situación condiciona desequilibrio entre la lipogénesis y la lipólisis a favor de la primera, llevando al desarrollo de la obesidad (García, 2007).

## LIPÓLISIS

Los TAGs del tejido adiposo son la principal reserva de combustible del cuerpo. Estos al hidrolizarse liberan glicerol y AG hacia la circulación. El glicerol libre es el sustrato para la gluconeogénesis, mientras que los AG son transportados unidos a albúmina sérica y son captados por casi todos los tejidos excepto por el cerebro o los eritrocitos (Harper, 2010).

De manera fisiológica, la lipólisis es llevada a cabo por la hidrólisis inicial de los TAGs por unión de la LTG del adipocito con la proteína desnutrina (Duncan, 2007). En los adipocitos la proteína cinasa A (PKA) fosforila a la lipasa sensible a hormonas (HSL) en respuesta a la estimulación de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos por adrenalina, norepinefrina y glucagón, cuya señalización es a través de adenosina monofosfato cíclico (AMPC) asimismo también, la PKA regula la fosforilación de la perilipina, que en condiciones no fosforilada es la proteína encargada de evitar la hidrólisis de TAGs en el depósito graso del adipocito (Romero, 2016). La perilipina, proteína comprendida en la formación de gotas de

lípidos en los adipocitos, inhibe la lipólisis en condiciones basales al impedir el acceso de las enzimas lipasas a los TAGs almacenados. Es decir, la perilipina permite el almacenamiento y la desintegración de TAGs, además es regulada de acuerdo a las necesidades metabólicas del cuerpo (Harper, 2010).

Sin embargo, la perilipina fosforilada permite la translocación de la HSL del citosol al depósito de TAGs para iniciar la hidrólisis por lo que a mayor fosforilación, mayor acceso de la HSL a los TAGs en la gota lipídica. Posteriormente, entran en acción la lipasa de diacilglicerol y la monoacilglicerol que completan la hidrólisis de los TAGs en glicerol y AG (Romero, 2016). Los cuales son liberados a la circulación para ser utilizado como sustrato energético. La enzima más importante en el proceso de lipólisis es la HSL, ya que en estudios en animales genéticamente modificados con ausencia de las otras lipasas, muestran que la lipólisis puede llevarse a cabo (Duncan, 2007).

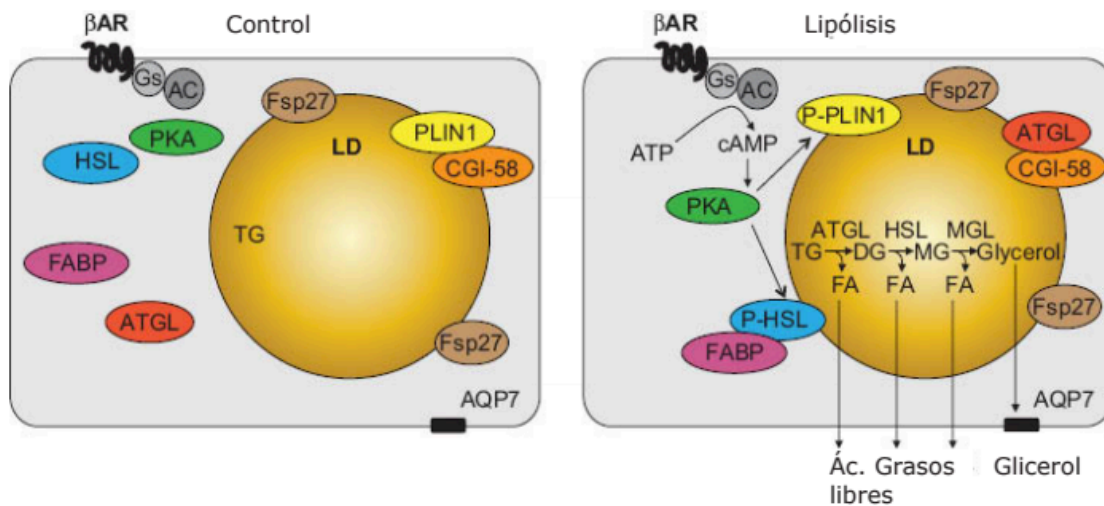


Ilustración 1. Mecanismo de la lipólisis en cuerpos lipídicos. Mecanismo de la lipólisis en cuerpos lipídicos. La PKA fosforila a la perilipina 1 y a la HSL en la superficie del LD. Con la fosforilación de la perilipina 1 se permite el acceso de la lipasa a los TAG de los LD y la consecuente degradación de los lípidos neutros del núcleo. HSL, lipasa sensible a hormonas; MGL, monoacilglicerol lipasa; FA, ácido graso; AQP7, acuaporina 7; FABP, proteína de unión a ácidos grasos; Fsp27, proteína específica de grasa; CGI-58, gen comparativo de identificación 58;  $\beta$ AR, receptor adrenérgico de mamíferos; AC, adenilato ciclasa; Gs, sub unidad de la proteína G heterotrimérica que activa a la vía dependiente de cAMP activando a la adenilato ciclasa. (Romero, 2016).

## LIPOGÉNESIS

En el hígado, a partir de la lipogénesis, AG libres y remanentes de quilomicron se secretan TAGs hacia la circulación en forma de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), del inglés *very low density lipoprotein*, dichos TAGs tiene un destino similar al de los quilomicrones, la oxidación parcial de AG en el hígado conduce a la producción de cuerpos cetónicos (cetogénesis) que se transportan hacia los tejidos extrahepáticos, donde actúan como combustible en el ayuno y la inanición prolongados (Pérez, 2007). Aunado a esto, la LPL presente en el adipocito y en otros tejidos como músculo e hígado, hidroliza los TAGs de los quilomicrones y VLDL (Wai, 2009) presentes en la circulación, generando AG libres y glicerol, que son re-esterificados y almacenados en el adipocito.

La LPL tiene un papel central en el metabolismo global de las lipoproteínas, la interacción sucesiva de VLDL con la LPL genera lipoproteínas de baja densidad (LDL), que están implicadas en el transporte reverso del CT. Además, las partículas remanentes de lipoproteínas formadas a partir de la catálisis de la LPL contribuye a la maduración de los precursores de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), implicados en el transporte reverso del CT (Wai, 2009).

Por otra parte, la insulina estimula la lipogénesis por medio de varios mecanismos. Por ejemplo, al incrementar la actividad de acetil-CoA carboxilasa y el transporte de glucosa en el adipocito, con lo que incrementa la disponibilidad tanto de piruvato para la síntesis de AG, como de glicerol-3-fosfato para la esterificación de AG recién formados. Además, convierte la forma inactiva de la piruvato deshidrogenasa en la forma activa en el tejido adiposo, no así en el hígado. Asimismo, la insulina mediante su capacidad para deprimir la concentración de AMPc intracelular, inhibe la lipólisis en el adipocito y reduce la concentración de AGL (Harper, 2010).



## HSL Y LPL EN LA OBESIDAD Y RESISTENCIA A LA INSULINA

Alteraciones en la expresión y/o actividad de la LPL derivadas de RI dan lugar a consecuencias metabólicas, como hipertrigliceridemia y obesidad presentes en el SM (Wai, 2009). Durante el desarrollo de la obesidad, el balance energético positivo favorece el almacenamiento de lípidos en el adipocito. Sin embargo, al alcanzar el umbral crítico de almacenamiento, se desarrollara la hipertrofia que ocasionará disfunción del adipocito, esto se asocia con hipertrigliceridemia con almacenamiento ectópico de TG (Pérez, 2007). Además, se ha descrito que la insulina tiene efecto regulador sobre la LPL, lo que puede modificar su actividad (Lafontan, 2014). Mientras que alteraciones en la actividad lipolítica de HSL se asocian con obesidad y RI, debido a que la insulina tiene efecto antilipolítico, lo que genera aumento en la liberación de AG (Zechner, 2012). Experimentalmente, se ha demostrado que durante la RI la expresión de HSL no se modifica, solo aumenta su actividad; de igual manera, se ha descrito que el estrés del retículo endoplasmático, presente en la obesidad, estimula la respuesta lipolítica crónica de la HSL (Jingna, 2012), generando aumento de TAGs a la circulación.

## ÁCIDOS GRASOS TOTALES

Los TAGs están formados por una molécula de glicerol y tres de AG. El aumento de los AG totales en el adipocito se relaciona con la cantidad de TAGs almacenados en la vacuola lipídica y la hipertrofia del adipocito contribuyendo al desarrollo de hipertrigliceridemia, RI e hiperinsulinemia (Ramírez, 2012., O'Rourke, 2009., Tripathi, 2012). Además de alterar la expresión y/o actividad de las enzimas responsables de la lipogénesis y lipólisis.

## **ANTECEDENTES EXPERIMENTALES DEL MODELO CON SÍNDROME METABÓLICO**

En el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” se ha desarrollado un modelo en rata con SM, este es una variante del modelo descrito por Reaven (Reaven, 1991), en el cual las dietas con concentraciones altas de sacarosa inducen hipertensión, hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia, RI, además de acumulación de tejido graso intra-abdominal. Este cuadro patológico es muy frecuentemente en la clínica.

El modelo desarrollado, tiene anormalidades metabólicas y funcionales que son inducidos en ratas Wistar por la administración de azúcar comercial al 30% en el agua de bebida por 24 semanas, los hallazgos más relevantes son los siguientes:

1.- El azúcar refinada comercial añadido al agua (30%) de beber a ratas Wistar produjo hipertrigliceridemia, hipertensión, hiperinsulinemia y RI comparables a las encontradas por otros autores que administraron los carbohidratos (al 60%) en el alimento sólido. En este modelo únicamente se prolongó el tiempo de tratamiento a 20-24 semanas para obtener diferencias significativas con respecto a los testigos (Reaven, 1991; Baños, 1997).

2.- La reactividad vascular de las ratas con SM reveló dos tipos de anormalidades:

A) Alteración en el tejido vascular (aórtico y mesentérico) manifestado por hipercontractilidad a vasoconstrictores e hiporelajación a vasodilatadores a acetilcolina, dependientes de óxido nítrico endotelial, que ocasiona daño endotelial (Baños, 1997).

B) Un componente plasmático, posiblemente los lípidos circulantes alterados, que al ser adicionado a preparaciones de vasos *in vitro* indujo

hipercontractilidad e hiporelajación dependiente de acetilcolina y de óxido nítrico (Baños, 1997).

3.- Se encontraron diferencias significativas en el metabolismo de los AG y peroxidación con diferencias asociadas al género de los animales. Los machos presentan mayor susceptibilidad a la peroxidación lipídica que las hembras (Carrillo, 2007).

4.- El consumo crónico de sacarosa al 30% en la rata ocasionó obesidad, caracterizada por acumulación de grasa intra-abdominal e hipertrofia del adipocito comparadas las ratas de los grupos control al término de 20-24 semanas (El Hafidi, 2004).

Es importante notar que en los antecedentes antes mencionados no se ha podido evaluar el desarrollo de la hipertrofia del adipocito en función del tiempo, factor clave en las patologías que comprenden el SM como la obesidad y la RI.

## **PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

El aumento de grasa corporal en individuos, se manifiesta por sobrepeso y obesidad, estos son uno de los problemas de salud pública teniendo cifras de hasta el 72.5%. La obesidad en el SM traen consigo afectación negativa en el estilo y calidad de vida de quienes lo padecen, aunado a un impacto económico y social. Por lo tanto, es necesario comprender con claridad la acción de las principales enzimas involucradas en el metabolismo de lípidos tanto de la lipólisis como de la lipogénesis y como estas enzimas se ven alteradas, con respecto al tiempo, durante el SM.

## **JUSTIFICACIÓN**

La obesidad abdominal es considerada como el principal parámetro diagnóstico del SM y en México su prevalencia se ha incrementado de manera alarmante. Por ello, es necesario comprender con claridad las alteraciones en el metabolismo de las principales enzimas que participan en la lipólisis y lipogénesis, las que se asocian al desarrollo de la hipertrofia del adipocito y favorecen el desarrollo de esta enfermedad crónica.

## **HIPÓTESIS**

El consumo crónico de sacarosa ocasiona modificación en la expresión y/o actividad de las enzimas involucradas en la lipólisis y lipogénesis en el adipocito del tejido graso intra-abdominal que conducen a hipertrofia del adipocito, lo que resulta en obesidad a largo plazo. Sin embargo, no se ha tipificado en específico el perfil alterado de dichas enzimas, a lo largo del tiempo.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la participación progresiva de las enzimas involucradas en la lipólisis y lipogénesis que conducen a la hipertrofia del adipocito en la grasa intra-abdominal, en un modelo en rata con síndrome metabólico.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- 1.- Valorar la expresión de las enzimas: LPL, perilipina, HSL y PKA en el adipocito.
- 2.- Examinar la actividad de la LPL y la HSL en el adipocito.
- 3.- Demostrar el desarrollo progresivo de la hipertrofia del adipocito.
- 4.- Cuantificar los marcadores de obesidad (grasa intra-abdominal, triglicéridos, glucosa, insulina y HOMA-IR).
- 5.- Cuantificar la leptina.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Se utilizaron 100 ratas Wistar macho de  $100 \pm 5$  gramos, se dividieron en dos grupos:

- Grupo 1: 50 ratas que consumieron sacarosa al 30% en el agua de bebida (SM).
- Grupo 2: 50 ratas controles (C) que consumieron agua sin sacarosa.

Todos los animales recibieron alimento comercial para roedores. Cada grupo se dividió en 5 subgrupos (subgrupo SM1, SM2, SM3, SM4, SM5 y C1, C2, C3, C4, C5) cada subgrupo pareado fue sacrificado cada 4 semanas, de tal forma, que entre el primero y el último grupo presentó una diferencia de 20 semanas.

### **MEDICIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL SISTÓLICA**

Al final del tratamiento se midió la presión arterial sistólica (PAS) con un pletismógrafo que consistió en un sistema que utiliza un sensor que se coloca en la cola del animal, conectado a un transductor de presión, que envía las señales a una computadora equipada con un programa para la captura y procesamiento de datos con el programa SIEVART 1.1.

### **SACRIFICIO**

Antes de sacrificar a los animales, se pesaron luego de mantenerse en ayuno de 12 horas. El sacrificio de las ratas fue por decapitación; después se realizó un corte longitudinal en la zona abdominal de las ratas. Se localizó, disecó y pesó el total del tejido adiposo intra-abdominal.



## HISTOLOGÍA DEL TEJIDO ADIPOSO

Se lavaron 250 mg de grasa intra-abdominal en cloruro de sodio 0.9% (NaCl) por 60 segundos, se decantó la solución y se agregó amortiguador de fosfatos con formalina al 10% por 24 horas, después el tejido se procesó de acuerdo a la técnica histológica convencional, se realizaron cortes histológicos y se tiñeron mediante la técnica de tricrómica de Masson, los cortes histológicos fueron analizados mediante un microscopio de luz marca Olympus BX51 equipada con una cámara digital CoolSNAP-Pro de 9 megapíxeles y se realizó la densitofotometría de las imágenes con el software SigmaScan Pro 5.5.

## EXTRACCIÓN DE ADIPOCITOS

La extracción de adipocitos se realizó en base al método descrito por Robdell con algunas modificaciones realizadas por Cambray Guerra R. (Rodbell M. Y col., 1964). A 10 g de tejido adiposo, se agregaron 10 mg de colágenasa tipo II disuelta en 10 ml de amortiguador de Krebs que contiene albúmina al 2% (ABS), 118 mM de cloruro de sodio (NaCl), 24 mM de bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ), 1.2 mM de fosfato de potasio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), 1.2 mM de sulfato de magnesio ( $\text{MgSO}_4$ ), 4.7 mM de cloruro de calcio ( $\text{Ca}_2\text{Cl}$ ) y 4.5 mM de D-glucosa a pH 7.35, posteriormente, se procedió a cortar la grasa mecánicamente con tijeras y se colocó en termo-agitación suave a 37°C durante 90 minutos, después se filtró y centrifugó durante 1 minuto a 1500 rpm, en una centrifuga marca Beckman Allegra 64R. Se recuperó la capa densa superficial y se lavó con 10 ml de buffer de Krebs sin albúmina pH 7.35 y se centrifugó durante 1 minuto a 1500 rpm, este proceso se realizó dos veces mas y, posteriormente, se agregaron 900  $\mu\text{l}$  de amortiguador de sacarosa que contenía etilendinitrilo tetraacetato disódico (EDTA) 1 mM, 2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol (TRIS) 10 mM y sacarosa 250 mM y 100  $\mu\text{l}$  de inhibidor de proteasa (1 mM fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF), 2 mM pepstatina A, 2 mM leupeptina y 0.1% aprotinina), se agitó vigorosamente, homogenizó y centrifugó cinco minutos a 3500 rpm, se recuperó el sobrenadante y

congeló a  $-30^{\circ}\text{C}$ , hasta su uso. La concentración de proteína en el homogenizado de adipocitos se determinó por el método descrito por Bradford (Bradford, 1976).

## MEDICIONES BIOQUÍMICAS EN SUERO

La sangre se recuperó y centrifugó a 3000 rpm por 20 minutos  $4^{\circ}\text{C}$ , en una centrifugadora marca Beckman Allegra 64R, se recolectó el suero y, en este, se midieron los TG, la glucosa, la insulina, la leptina, mediante kits comerciales y siguiendo el método de rutina recomendada por el fabricante.

El índice de resistencia la insulina (HOMA-IR) se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$HOMA - IR = \left[ \text{insulina} \frac{\mu\text{U}}{\text{ml}} \right] * \left[ \frac{\text{glucosa mM}}{22.5} \right]$$

## DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE: LA LPL, PERILIPINA, HSL Y PKA POR INMUNODETECCIÓN

Se mezclaron 100  $\mu\text{g}$  de proteína de homogeneizado de adipocitos con amortiguador de carga (glicerol 59% v/v, 2-amino-2-hidroximetil-propano-1,3-diol (Tris-HCl) a pH 6.5, dodecil sulfato de sodio (SDS) 1% p/v, azul de bromofenol 0.1% p/v, 2-mercaptoetanol). La mezcla se calentó a  $100^{\circ}\text{C}$  por 1-2 minutos y las proteínas se separaron en el gel de SDS/PAGE al 10% bajo condiciones reductoras. Al término de la electroforesis el gel se transfirió a una membrana de nitrocelulosa Hybond-C marca Millipore. La membrana se bloqueó durante dos horas con amortiguador de TBS-GC (Tris 0.5 M, NaCl 0.15 M, 10% de leche descremada y 15% glicina) pH 7.4. Después, la membrana se incubó con una dilución 1/1000 de anticuerpo primarios policlonales de conejo, según el caso, contra LPL, perilipina y monoclonal de ratón contra PKA y HSL marca Santa Cruz Biotechnology, toda la noche, a  $4^{\circ}\text{C}$ , con agitación constante.

La membrana se enjuagó tres veces con TBS y se incubó con una dilución 1/1000 de anticuerpos secundarios policlonales de cabra, anti inmunoglobulina G (IgG) de conejo o ratón, con TBS-TGC por tres horas, a temperatura ambiente, se reveló con 3,3'-diaminobenzidina y se analizó por densitofotometría, mediante el programa Image Kodak versión 3.5.

## ACTIVIDAD DE LA LPL Y HSL

La actividad de la LPL fue determinada por la velocidad de hidrólisis del sustrato emulsionado de trioleína por la LPL endógena. En paralelo se tuvieron dos preparaciones de la misma muestra que contenían:

- Muestra A: 100µg de homogenado de adipocitos más 100µl de 10 mM de trioleína y 100µl de 0.2 M de Tris-HCl, pH 7.4.
- Muestra B: 100µg de homogenado de adipocitos más 100µl de 0.2 M de Tris-HCl, pH 7.4.

Las muestras se incubaron una hora a 37°C en baño María con agitación constante. Al final del periodo de incubación, se añadieron 50µl de NaCl 1M frío para detener la reacción. La concentración de glicerol libre en las muestras se determinó mediante el uso de un kit colorimétrico comercial (reacción de Trinder para glicerol libre) y se leyó la absorbancia a 540 nm. El valor obtenido de la muestra A menos el de la muestra B, indica la velocidad de liberación de glicerol por la LPL y representa su actividad. Los datos se expresaron como nmol de glicerol libre por mg de proteína.

La actividad de la HSL fue determinada por la velocidad de hidrólisis de los TG endógenos del adipocito. 100 µg de tejido adiposo se incubaron en paralelo:

- Muestra A: 100 µg de tejido adiposo más 100 µl de isoproterenol 100nM y 900 µl amortiguador de Krebs, pH 7.35. Con agitación constante, a 37°C, por 60 min.
- Muestra B: 100 µg de tejido adiposo más 1 ml amortiguador de Krebs, pH 7.35, con agitación constante, a 37°C, por 60 min.

Al final del periodo de incubación, se añadieron 50 µl de NaCl 1M frío para detener la reacción. La concentración de glicerol libre en las muestras se determinó mediante el uso de un kit colorimétrico comercial (reacción de Trinder para glicerol libre) y se leyó la absorbencia a 540 nm. El valor obtenido de la muestra A menos el de la muestra B, indica la velocidad de liberación de glicerol por HSL y representa su actividad. Los datos se expresaron como nmol de glicerol libre por g de tejido.

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico y las gráficas se realizaron con el programa Sigma Plot (Sigma Plot 11, Jandel Corporation, 1986-2010). Los datos se presentan como la media  $\pm$  error estándar. La significancia estadística se determinó por ANOVA de dos vías y con una prueba *post Hoc* de Tukey. Una  $p \leq 0.05$  se consideró como significativa.

## RESULTADOS

### CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO, MEDICIÓN DE PESO Y PRESIÓN ARTERIAL EN RATAS C Y SM

En la tabla 1 se muestran los resultados de peso, la cantidad de agua tomada, alimento ingerido y la presión a cada una de las ratas de los grupos SM como de C, teniendo los siguientes resultados:

Tabla 1. Características generales en los grupos experimentales.

Variables	Mes 1		Mes 2		Mes 3		Mes 4		Mes 5	
	C	SM	C	SM	C	SM	C	SM	C	SM
<b>Peso (g)</b>	228.2 ± 11.1	228.2 ± 17.1	317.2 ± 12.3	302.1 ± 16.7	413.7 ± 16.3	422.0 ± 17.2	491.3 ± 22.4	477.1 ± 21.5	443.0 ± 23.6	492.6 ± 13.4
<b>Agua (ml)</b>	27.5 ± 1.0	15.7 ± 0.4	24.7 ± 1.6	13.2 ± 1.2	21.7 ± 1.8	29.8 ± 0.8	29.0 ± 1.5	17.2 ± 4.8	19.1 ± 1.6	<b>11.4 ± 1.7**</b>
<b>Alimento (g)</b>	37.1 ± 1.4	26.4 ± 1.4	39.2 ± 1.7	41.0 ± 1.1	53.5 ± 4.4	46.4 ± 1.7	50.7 ± 2.7	50.7 ± 4.5	45.0 ± 4.2	<b>78.5 ± 6.4**</b>
<b>Presión (mmHg)</b>	120.4 ± 2.9	125.9 ± 1.3	128.1 ± 1.4	<b>136.9 ± 1.5**</b>	121.5 ± 0.4	<b>135.6 ± 0.4**</b>	125.2 ± 0.2	<b>139.4 ± 0.5**</b>	125.2 ± 0.8	<b>136.3 ± 0.2**</b>

Los valores se expresan como la media ± error estándar, (n=7). Abreviaturas:

C= control, SM= síndrome metabólico \*\* C vs. SM p=0.001

El peso en los grupos C de cada mes no presentó diferencia significativa en comparación con el peso de los grupos de SM.

En cuanto a la toma de agua, no se presentó diferencia significativa entre los grupos C y los grupos de SM para el primero, segundo, tercero y cuarto mes. En el quinto mes el grupo C (19.1 ± 1.6 ml) consumió significativamente mas agua (p=0.001) en comparación con el grupo SM (11.4 ± 1.7 ml).

Para el alimento ingerido, no se presentó diferencia significativa entre los grupos C y los grupos con SM para el primero, segundo, tercero y cuarto mes. Sin embargo,

en el quinto mes el grupo C ( $45.0 \pm 4.2$  g) consumió significativamente menos alimento ( $p=0.001$ ) en comparación con el grupo SM ( $78.5 \pm 6.4$  g).

La PA registrada en el primer mes no presentó diferencia significativa entre los grupos C y SM. Al comparar la PA en el segundo, tercer, cuarto y quinto mes de los grupos C ( $128.1 \pm 1.4$  mmHg,  $121.5 \pm 0.4$  mmHg,  $125.2 \pm 0.2$  mmHg y  $125.2 \pm 0.8$  mmHg respectivamente) con la PA de los grupos SM ( $136.9 \pm 1.5$  mmHg,  $135.6 \pm 0.4$  mmHg,  $139.4 \pm 0.5$  mmHg y  $136.3 \pm 0.2$  mmHg respectivamente) se observó aumento significativo ( $p=0.001$ ).

En la figura 1, se observa que la grasa intra-abdominal del primer y segundo mes no presenta diferencia significativa entre los grupos C y SM. Sin embargo, a partir del tercer, cuarto y quinto mes se observa aumento significativo de grasa intra-abdominal ( $p=0.001$ ) entre los grupos SM en comparación con sus grupos C.

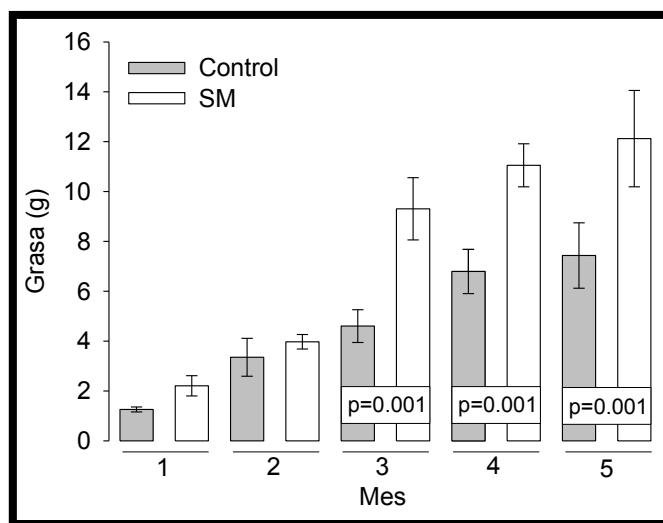


Figura 1. Grasa intra-abdominal expresada en gramos, en los grupos experimentales.

Los valores se expresan como la media  $\pm$  error estándar, ( $n=7$ ).

Abreviaturas: C= control, SM= síndrome metabólico.

## MEDICIÓN SÉRICA DE GLUCOSA, TRIGLICERIDOS, INSULINA, HOMA-IR, LEPTINA y CT, EN RATAS C Y SM

En la tabla 2 se muestran las variables bioquímicas que se midieron a las ratas y que revelan lo siguiente:

Tabla 2. Características bioquímicas en plasma en los grupos experimentales.

Variables	1 Mes		2 Mes		3 Mes		4 Mes		5 mes	
	C	SM	C	SM	C	SM	C	SM	C	SM
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	94.8 ± 2.6	92.7 ± 9.2	107.8 ± 4.5	102.3 ± 7.2	107.3 ± 2.4	103.1 ± 2.1	100.7 ± 2.4	107.1 ± 2.5	101.6 ± 7.1	97.5 ± 2.6
<b>TG (mg/dL)</b>	51.7 ± 2.1	<b>110.1 ± 16.6**</b>	55.5 ± 3.7	<b>127.2 ± 14.5**</b>	52.6 ± 2.0	<b>100.0 ± 9.6**</b>	44.8 ± 2.2	<b>114.3 ± 7.0**</b>	62.7 ± 4.4	<b>94.7 ± 14.5**</b>
<b>Insulina (μU/mL)</b>	1.5 ± 0.1	1.3 ± 0.3	2.0 ± 0.3	3.0 ± 0.4	2.6 ± 0.1	<b>4.1 ± 0.2**</b>	2.0 ± 0.2	<b>3.5 ± 0.3**</b>	1.7 ± 0.3	<b>4.0 ± 0.5**</b>
<b>HOMA IR</b>	0.3 ± 0.04	0.3 ± 0.1	0.5 ± 0.06	0.6 ± 0.1	0.6 ± 0.05	<b>1.0 ± 0.06**</b>	0.5 ± 0.06	<b>0.9 ± 0.09**</b>	0.4 ± 0.08	<b>1.1 ± 0.2**</b>
<b>Leptina (ng/mL)</b>	4.2 ± 0.4	4.7 ± 0.5	5.7 ± 0.4	<b>8.0 ± 0.4**</b>	4.4 ± 0.6	<b>8.8 ± 1.1**</b>	3.9 ± 0.9	<b>9.7 ± 1.4**</b>	6.7 ± 1.5	<b>12.7 ± 2.0**</b>
<b>CT (mm/dL)</b>	55.0 ± 3.0	59.2 ± 2.2	55.5 ± 2.7	52.2 ± 1.9	53.3 ± 1.7	50.7 ± 2.9	52.0 ± 1.4	53.8 ± 0.3	56.0 ± 2.7	47.5 ± 3.3
<b>AGEs (mU/mL)</b>	235.5 ± 5.0	282.4 ± 26.4	259.5 ± 22.3	262.5 ± 74.1	185.5 ± 11.3	227.8 ± 18.1	145.1 ± 13.3	<b>218.4 ± 30.4*</b>	162.4 ± 26.3	<b>262.7 ± 30.7*</b>

Los valores se expresan como la media ± error estándar, (n=7). Abreviaturas:

C= control, SM= síndrome metabólico. \*\*C vs. SM p=0.001, \*C vs. SM p=0.01

No presentaron diferencias significativas en el contenido sérico de glucosa y CT entre los grupos C y SM de cada mes.

Los niveles de TG séricos, en todos los grupos C, fueron significativamente menores (p=0.001) en comparación con sus grupos SM.

La concentración de insulina en suero en el primer y segundo mes no presentó diferencia significativa entre los grupos C y SM. Sin embargo, en el tercer, cuarto y quinto mes; la concentración de insulina en suero presentó diferencia significativa (p=0.001) entre los grupos C (2.6 ± 0.1 μU/mL, 2.0 ± 0.2 μU/mL, 1.7 ± 0.3 μU/mL

respectivamente) en comparación con los grupos SM ( $4.1 \pm 0.2 \mu\text{U/mL}$ ,  $3.5 \pm 0.3 \mu\text{U/mL}$ ,  $4.0 \pm 0.5 \mu\text{U/mL}$ , respectivamente).

El índice HOMA-IR en el primer y segundo mes no presentó diferencia significativa entre los grupos C y SM. Pero, en el tercer, cuarto y quinto mes se presentó diferencia significativa en el índice HOMA-IR ( $p=0.001$ ) entre los grupos C ( $0.6 \pm 0.05$ ,  $0.5 \pm 0.06$ ,  $0.4 \pm 0.08$  respectivamente) y los grupos SM ( $1.0 \pm 0.06$ ,  $0.9 \pm 0.09$ ,  $1.1 \pm 0.2$ , respectivamente).

Con respecto a la concentración de leptina medida en suero, no se observó diferencia significativa entre el grupo C y grupo SM del primer mes. Sin embargo, la concentración de leptina medida en suero en el segundo, tercer, cuarto y quinto mes se presentó diferencia significativa ( $p=0.001$ ) entre los C ( $5.7 \pm 0.4 \text{ ng/mL}$ ,  $4.4 \pm 0.6 \text{ ng/mL}$ ,  $3.9 \pm 0.9 \text{ ng/mL}$ ,  $6.7 \pm 1.5 \text{ ng/mL}$ , respectivamente) y los SM ( $8.0 \pm 0.4 \text{ ng/mL}$ ,  $8.8 \pm 1.1 \text{ ng/mL}$ ,  $9.7 \pm 1.4 \text{ ng/mL}$ ,  $12.7 \pm 2.0 \text{ ng/mL}$ , respectivamente ).

Para los AGEs medidos en suero, no se observó diferencia significativa entre el grupo C y el grupo SM en el primer, segundo y tercer mes. Sin embargo, en el cuarto y quinto mes se presentó una diferencia significativa en los AGEs ( $p=0.01$ ) entre los C ( $145.1 \pm 13.3 \text{ mU/mL}$ ,  $162.4 \pm 26.3 \text{ mU/mL}$ , respectivamente) y los SM ( $218.4 \pm 30.4 \text{ mU/mL}$ ,  $262.7 \pm 30.7 \text{ mU/mL}$ , respectivamente).



## MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LPL EN RATAS C Y SM

En la figura 2 se observa que la actividad de la LPL en el primer y segundo mes no presento incremento significativo entre los grupos C y SM. Sin embargo, en el tercer, cuarto y quinto mes hubo incremento en la actividad de la LPL en el grupo SM en comparación con el grupo C ( $p=0.05$ ,  $p=0.03$  y  $p=0.01$ , respectivamente).

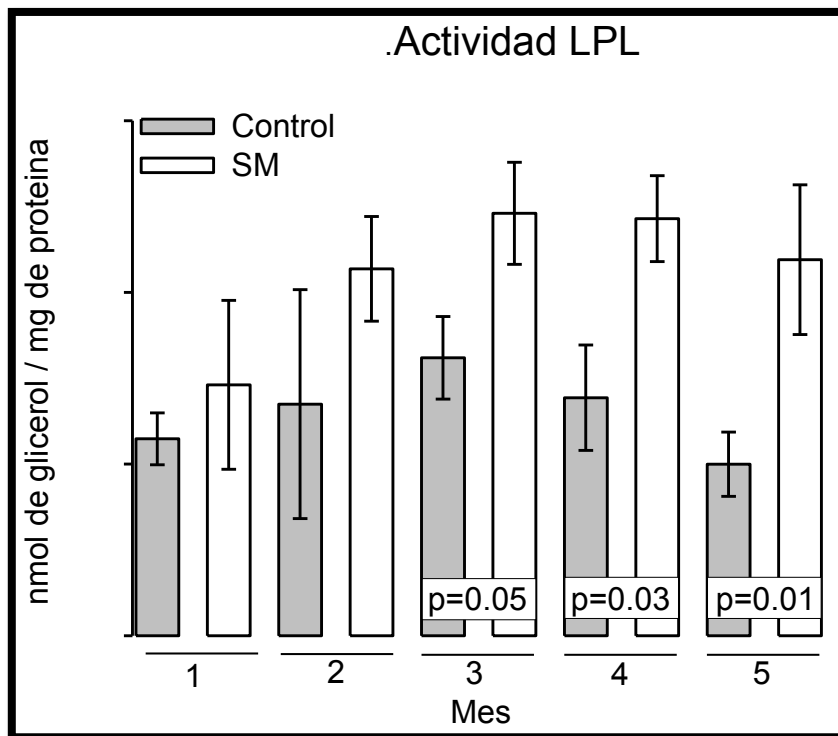


Figura 2. Actividad enzimática de LPL en los grupos experimentales

Los valores se expresan como la media  $\pm$  error estándar, (n=7).

Abreviaturas: C= control, SM= síndrome metabólico.

## MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA HSL EN RATAS C Y SM

En la figura 3 se puede observar que, tanto en el primer y segundo mes, no se observa aumento significativo en la actividad de la HSL entre el grupo C y SM. Sin embargo, en los grupos SM del tercer, cuarto y quinto mes se observa incremento en la actividad de la HSL en comparación con los grupos C ( $p=0.05$ ,  $p=0.05$ ,  $p=0.01$ , respectivamente).

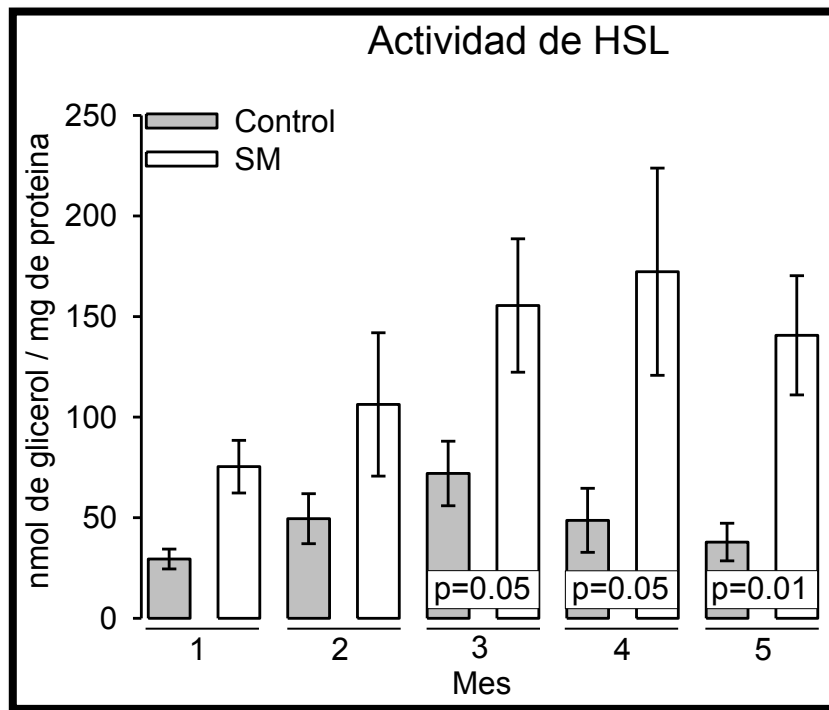


Figura 3. Actividad enzimática de HSL en los grupos experimentales.

Los valores se expresan como la media  $\pm$  error estándar, ( $n=7$ ).

Abreviaturas: C= control, SM= síndrome metabólico.

## MEDICIÓN DE LA EXPRESIÓN DE HSL DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM

En la figura 4 se observa que no hay diferencia significativa entre el grupo SM y el C del primer mes. No obstante al comparar la expresión de la HSL en los grupos SM con los grupos C del segundo, tercer, cuarto y quinto mes, se observa incremento significativo en la expresión de la HSL ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ,  $p = 0.01$ ,  $p = 0.02$ , respectivamente).

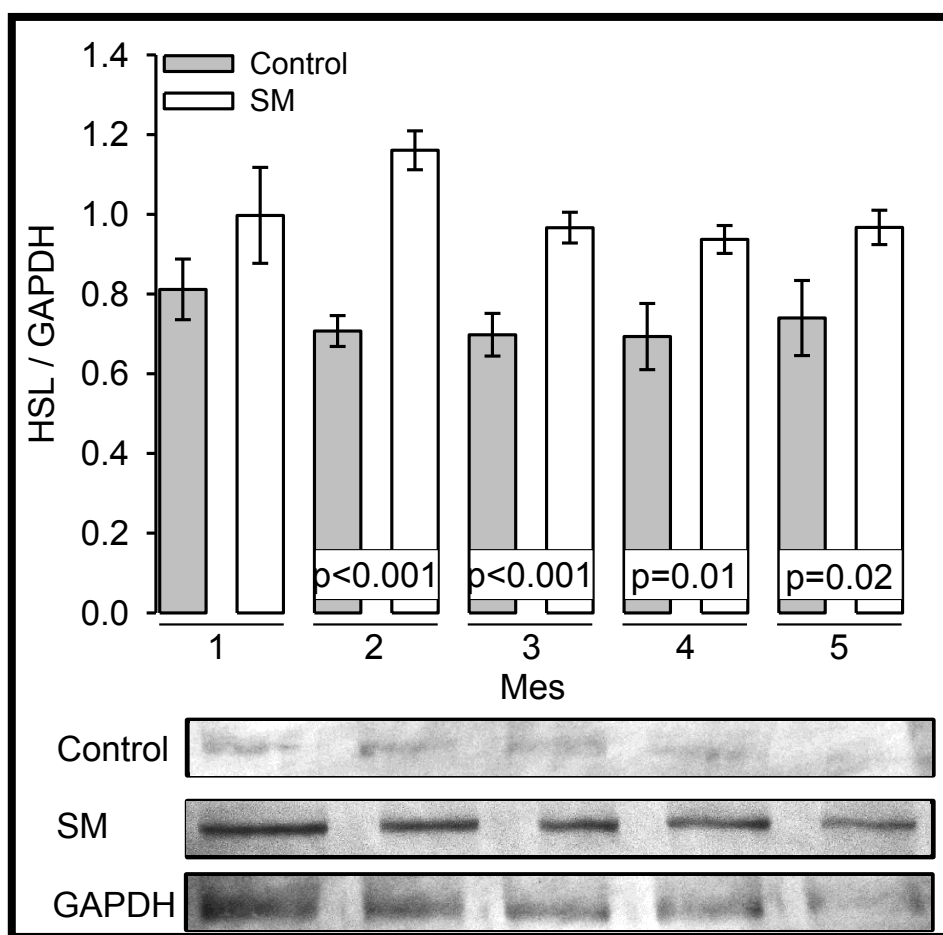


Figura 4. Expresión enzimática de HSL en los grupos experimentales.

Los valores se expresan como la media  $\pm$  error estándar, (n=7).

Abreviaturas: C= control, SM= síndrome metabólico.

## MEDICIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LPL DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM

En la figura 5, puede observarse que no se presentaron diferencias significativa en la expresión de la LPL en los cinco meses comparando los grupos SM con los grupos C.

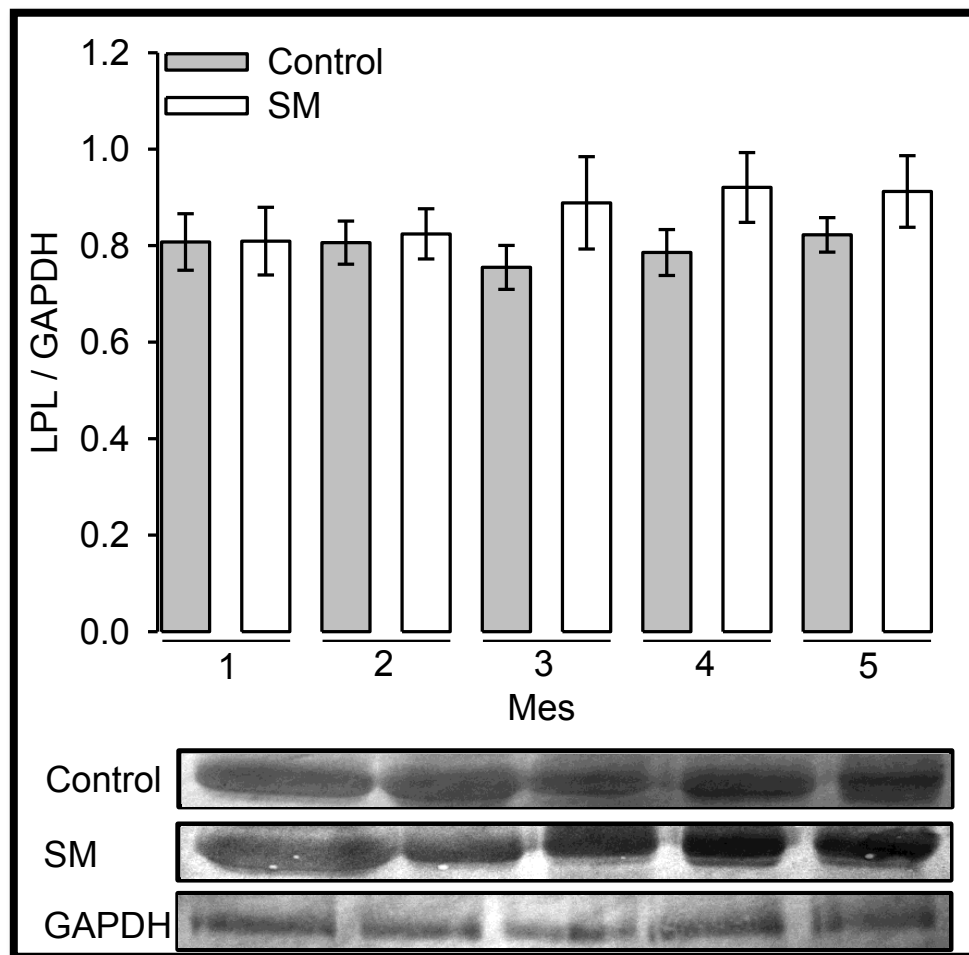


Figura 4. Expresión enzimática de HSL en los grupos experimentales.

Los valores se expresan como la media  $\pm$  error estándar, (n=7).

Abreviaturas: C= control, SM= síndrome metabólico.

## MEDICIÓN DE LA EXPRESION DE LA PERILIPINA A DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM

En la figura 6 se observa que no hay incremento significativo entre los grupos SM y C del primer, segundo y cuarto mes en la expresión de la perilipina A. Sin embargo, en el tercer y quinto mes, se puede apreciar que hay un incremento significativo en la expresión de la perilipina A en el grupo C ( $p=0.03$ ,  $p=0.01$ , respectivamente) en comparación con el grupo SM.

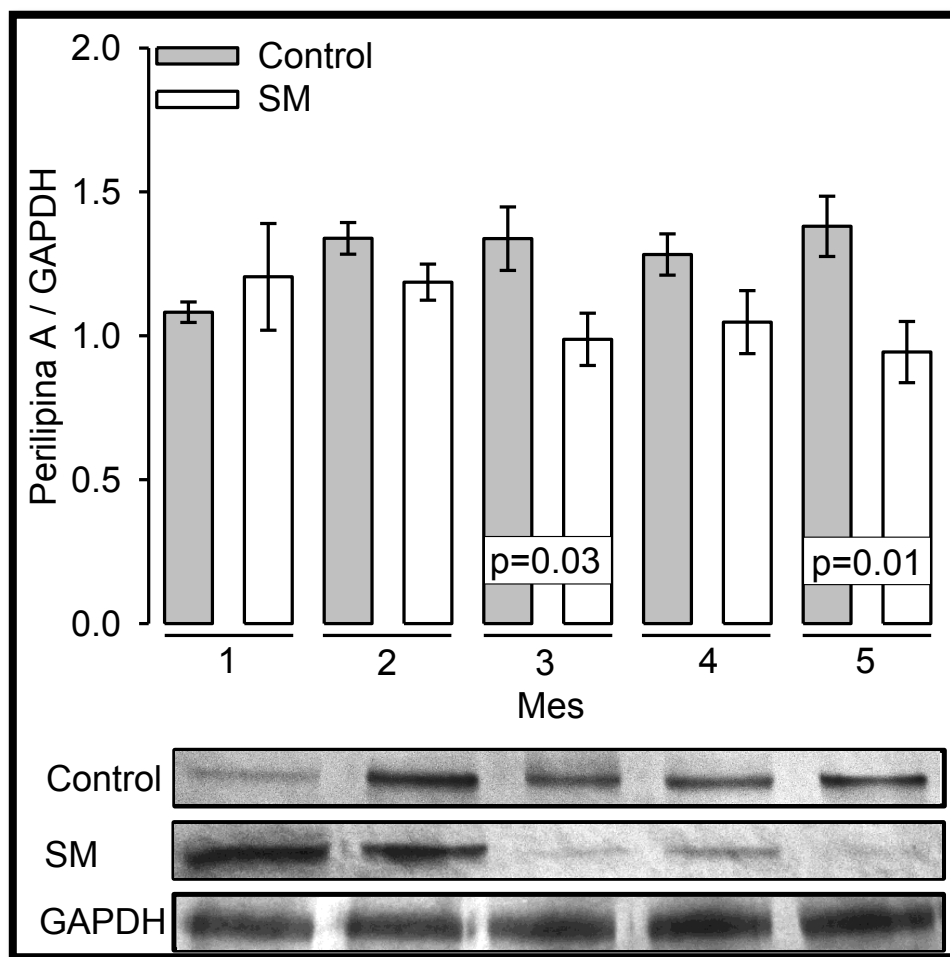


Figura 6. Expresión enzimática de perilipina A en los grupos experimentales.

Los valores se expresan como la media  $\pm$  error estándar, (n=7).

Abreviaturas: C= control, SM= síndrome metabólico.

## MEDICIÓN DE LA EXPRESION DE LA PKA DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM

La figura 7 muestra que en los grupos SM y C del primer mes no hay diferencia significativa en la expresión de la PKA. Mientras que a partir del segundo, tercero, cuarto y quinto mes se observa incremento significativo en los grupos SM ( $p=0.03$ ,  $p=0.03$ ,  $p=0.03$ ,  $p=0.05$ , respectivamente) en comparación con sus grupos C.

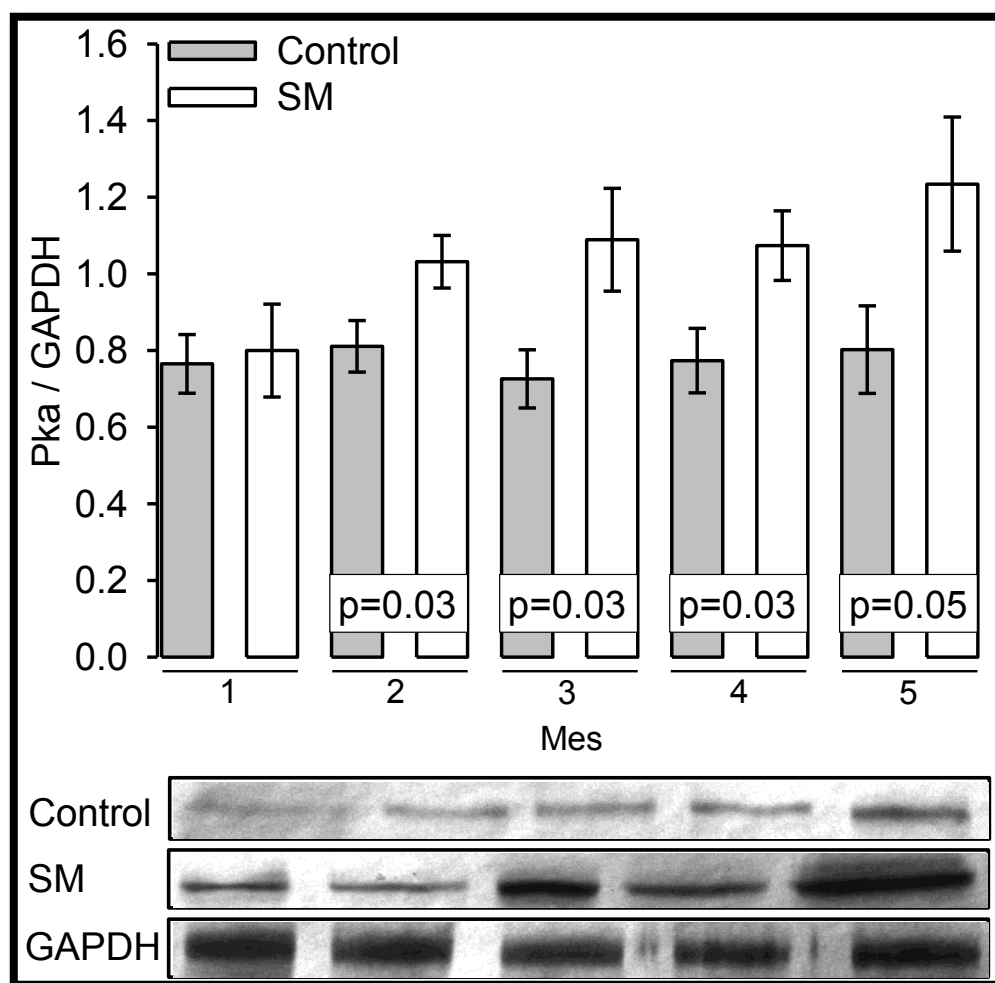


Figura 7. Actividad enzimática de PKA en los grupos experimentales.

Los valores se expresan como la media  $\pm$  error estándar, (n=7).

Abreviaturas: C= control, SM= síndrome metabólico.

## CONTEO DEL NÚMERO DE CELULAS POR CAMPO DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM

En la figura 8 se observa que no hay diferencia significativa entre los grupos SM y C en el primer y segundo mes en el número de células por campo y sin embargo, se observa aumento significativo en el número de células por campo entre los grupos SM y grupos C del tercer, cuarto y quinto mes ( $p=0.001$ ,  $p=0.002$ , respectivamente).

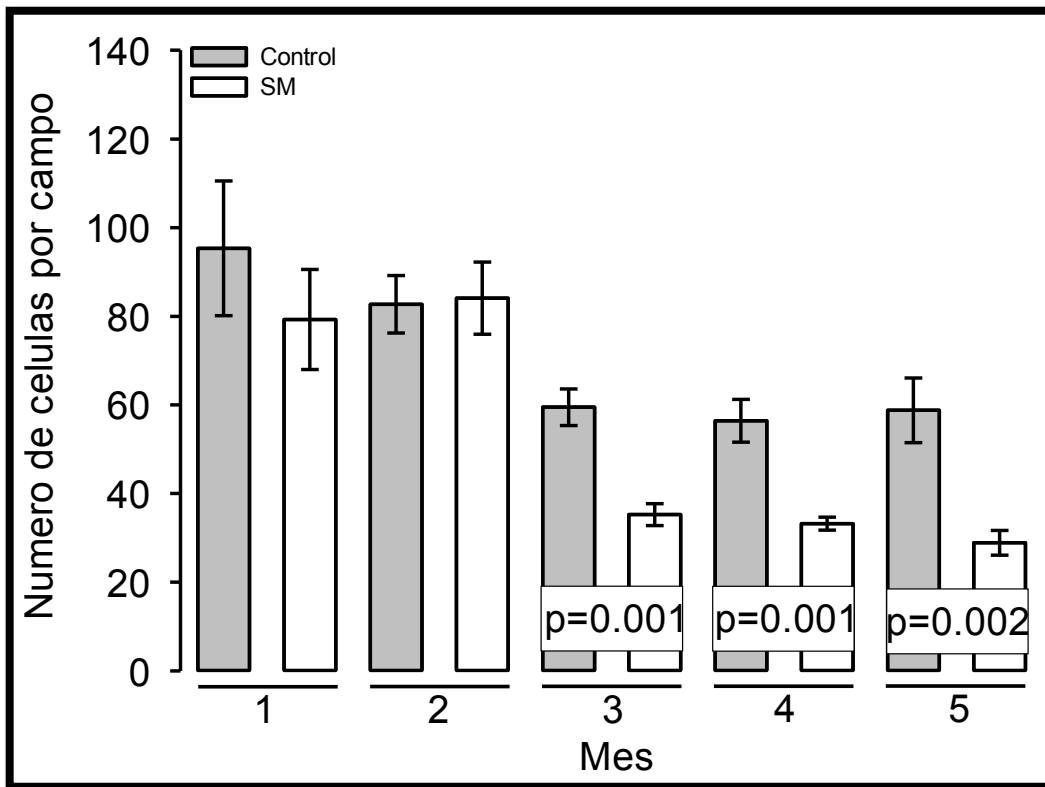


Figura 8. Número de células por campo en los grupos experimentales.

Los valores se expresan como la media  $\pm$  error estándar, (n=7).

Abreviaturas: C= control, SM= síndrome metabólico.

## ÁREA DE LOS ADIPOCITOS DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM

En la figura 8 se observa que no hay diferencia significativa en el área de los adipocitos entre los grupos SM y C en el primer y segundo mes. Sin embargo, hay aumento en la significancia en el área de los adipocitos entre los grupos SM ( $p=0.001$ ,  $p=0.001$ ,  $p=0.005$ , respectivamente) y grupos C del tercer, cuarto y quinto mes en el área de los adipocitos.

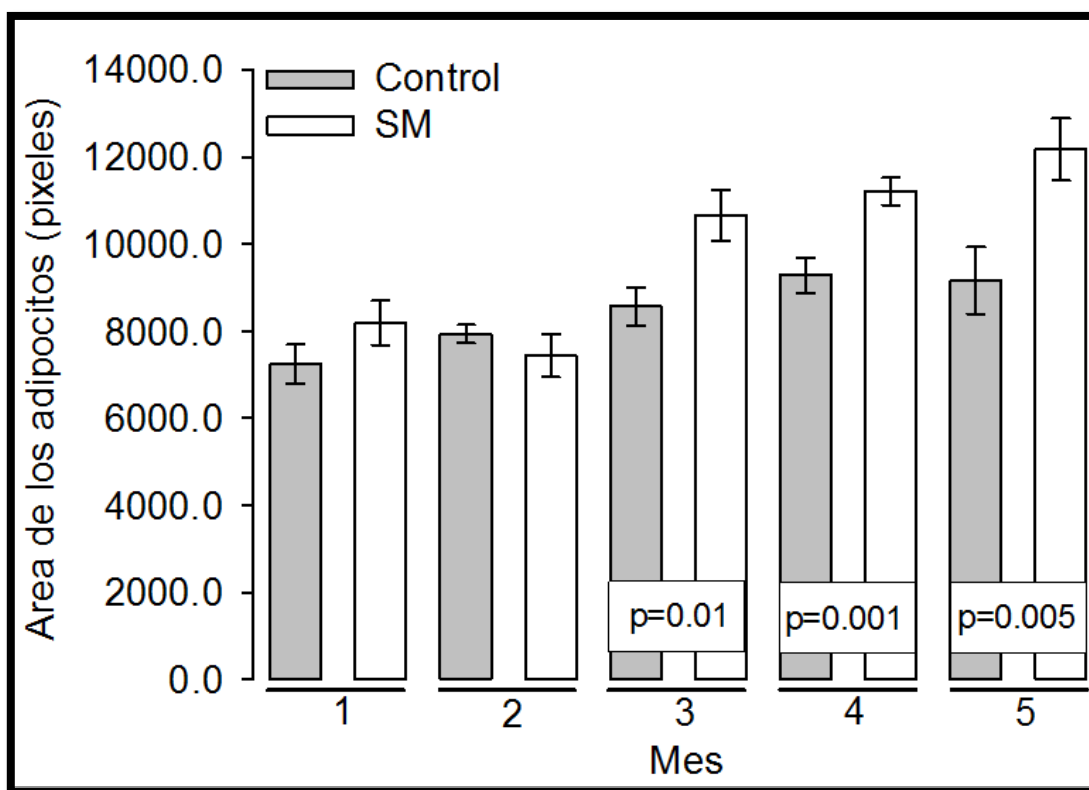


Figura 9. Área de los adipocitos expresado en pixeles en los grupos experimentales.

Los valores se expresan como la media  $\pm$  error estándar, (n=7).

Abreviaturas: C= control, SM= síndrome metabólico.



## FOTOMICROGRAFIAS DE LOS ADIPOCITOS DEL TEJIDO GRASO EN RATAS C Y SM

En la figura 10 se muestran las fotomicrografías del tejido adiposo, obtenidas de las muestras de tejido graso en ratas C y SM:

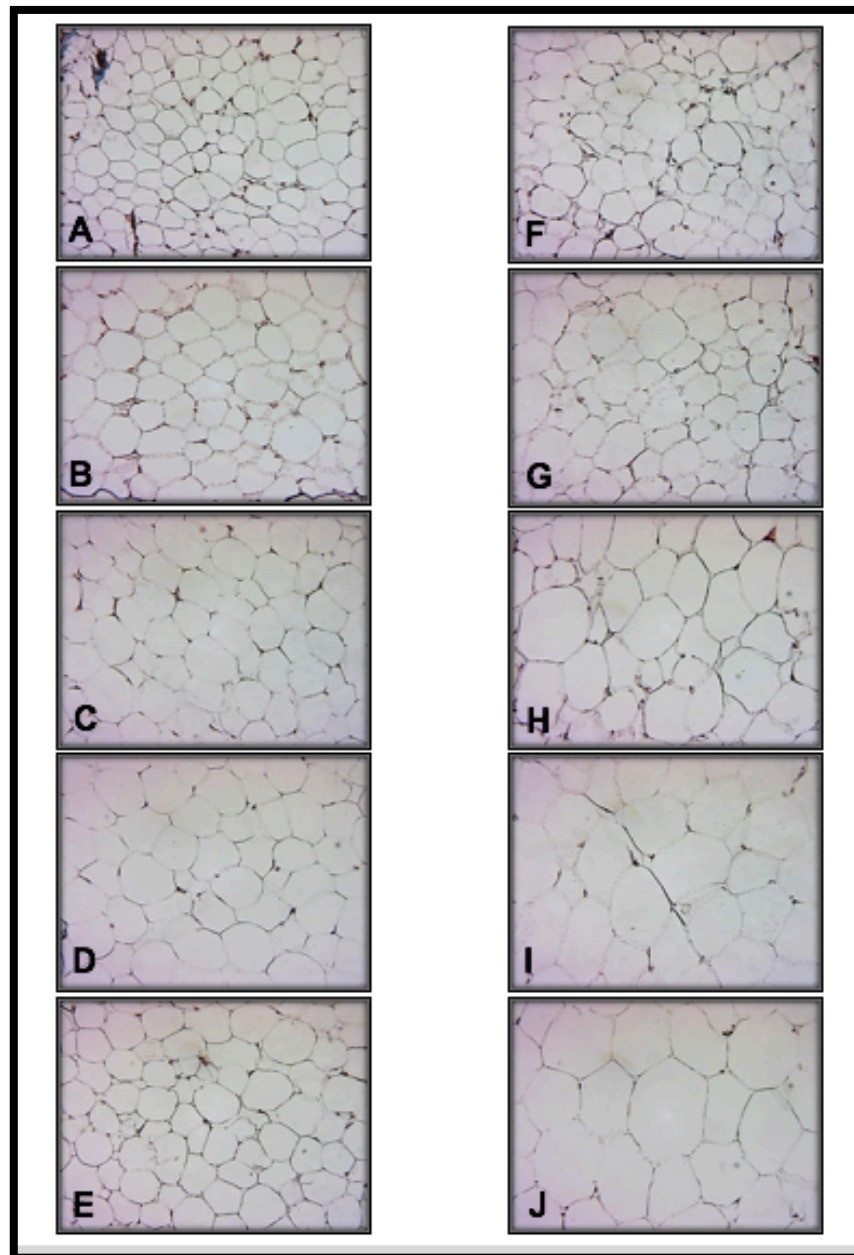


Figura 10. Fotomicrografías representativas del tejido blanco de los grupos experimentales que muestran el tamaño en la hipertrofia de los adipocitos.

Los tejidos se prepararon con procesos histológicos convencionales y las secciones histológicas se realizaron mediante la técnica tricrómica de Masson, a 40 x con microscopio Carl Zeiss, 40x. Abreviaturas: A = 1 mes control, B= 2 mes control, C = 3 mes control, D= 4 mes control, E= 5 mes control, F= 1 mes SM, G= 2 mes SM, H= 3 mes SM, I= 4 mes SM, J= 5 mes SM

En la figura 10, paneles A, B, C, D y E se muestran microfotografías representativas de tejido adiposo intra-abdominal de los grupos C que corresponden sucesivamente a los meses de tratamiento (por ejemplo; A= 1mes, etc), en las que se puede apreciar que los adipocitos tienen citoplasma limitado por la membrana celular, el núcleo se encuentra orientado a la periferia, las células tienen forma cuasi hexagonal.

En la figura 10F, paneles G, H, I y J se muestran microfotografías representativas de tejido adiposo intra-abdominal de los grupos SM en las que se observa que: los adipocitos muestran el núcleo totalmente orientado a la periferia de forma oval e incrementó en la circunferencia de las células conforme el paso de cada mes. Además, en las figuras 10H, I y J, se observa con poca claridad el espacio del citoplasma. Estos resultados histológicos se asociaron con la hipertrofia del adipocito ya que la medición del área mostró aumento significativo a partir del tercer mes entre los grupos SM en comparación con los grupos C (Figura 9, significancia  $p=0.001$ ,  $0.001$ ,  $0.005$ , respectivamente) y al decremento en el número de células por campo en los grupos SM en comparación con los grupos C (Figura 8, significancia  $p=0.001$ ,  $0.001$ ,  $0.002$ , respectivamente).

## DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue determinar como el consumo crónico de azúcar comercial al 30% ocasiona hipertrofia en los adipocitos en ratas Wistar macho a través del tiempo, los resultados indican que el modelo de SM muestra incremento en el peso, grasa abdominal, alimento ingerido y PA en los grupos SM de manera progresiva a partir del tercer mes en comparación con los grupos C.

Se ha descrito que después de generarse hipertrofia en los adipocitos, estos experimentan espontáneamente necrosis al alcanzar su tamaño crítico asociados con la pérdida de almacenamiento y expansión (Kim, 2007) pudiendo generarse cambios en la membrana celular a través de los AGEs, interfiriendo con la accesibilidad de la insulina a su receptor y generando RI (Pérez, 2013) además del acumulamiento ectópico de lípidos, que desestabilizan la homeostasis del adipocito (Kim, 2007).

Un estudio en animales mostró que la administración de sacarosa al 30% en el agua de bebida durante 21 semanas condujo al desarrollo de SM en ratas Wistar macho con aumento de peso corporal, PAS, insulina, TAG, CT total, LDL y AGL (Sok K. W. 2016, Aguilera, 2004). Esos resultados coinciden con los nuestros, donde los TAGs, la insulina, los productos de glicosilación avanzada (AGEs) y la PA se ven incrementados paulatinamente mes con mes en los grupos SM en comparación con los grupos C. No así el peso corporal, ya que hubo aumento en el peso tanto en el grupo C como en el SM, pero sin diferencia significativa (Lee, 2012) entre ambos grupos de cinco meses. Sin embargo, se observó progresivamente ganancia en el aumento en la grasa intra-abdominal en los grupos SM a partir del tercer mes (Berger, 1999), lo que sugiere que este aumento podría acompañarse de disminución de la masa muscular en las ratas SM. Ello posiblemente debido a que las ratas alimentadas con sacarosa consumen menos alimentos sólidos pero tienen mayor ingesta de calorías, lo que significa menos ingesta de proteínas y minerales, probablemente desarrollándose sarcopenia, en

la que hay mayor masa grasa total en el cuerpo y menor masa muscular (Rubio, 2014). Sin embargo, se requieren mas estudios para confirmar esta hipótesis.

Así mismo, los grupos SM presentaron valores elevados de TG, insulina, HOMA-IR y leptina en comparación con los grupos C. En este respecto, se ha descrito que el adipocito hipertrófico posee mayor síntesis y liberación de adipocinas (Carrillo, 2007) generando metabolitos activos, hormonas esteroides y péptidos que regulan las funciones en diferentes órganos como cerebro, músculo, hígado y páncreas (O’Rahilly, 2007); que pueden deteriorar el metabolismo lipídico y glúcido, teniendo efectos pro-inflamatorios. Además, la resistencia a la leptina se relaciona de manera directa con la RI (Carrillo, 2007) y obesidad (García, 2015). Hattori y col. (2011) han reportado que la cepa de ratas DS/obesas que son similares a los humanos con SM a pesar de ser alimentadas con dieta normal durante 18 semanas, tienen concentración sérica elevada de leptina e insulina. Lo cual muestra que la leptina suprime la secreción de insulina a través de acciones centrales y efectos directos sobre las células beta pancreáticas oponiéndose a la RI, en parte, a través de la activación de la fosforilación de la PKA, que da como resultado una reducción en la deposición de lípidos en los tejidos sensibles a la insulina. Sin embargo, en la obesidad, esta señalización está alterada ocasionando resistencia a la leptina lo cual promueve obesidad, hiperinsulinemia y RI. De ésta manera, se ha descrito que los niveles circulantes de leptina son proporcionales a la cantidad de grasa corporal, por lo que, en sujetos obesos existe apetito exagerado (hiperfagia) a pesar de tener un exceso de leptina, produciendo resistencia a la leptina (Morales, 2010). Huang y col. (2004) obtuvieron aumento significativo en la leptina y los TG a la octava semana de ingesta de dieta hipercalórica en ratas Sprague-Dawley, lo cual se asemeja a los resultados obtenidos aquí reportados y en los que la leptina se incrementó significativamente al tercer mes, al igual que los TG.

Además, en sujetos obesos, se ha descrito que la RI provoca el incremento de la hidrólisis intracelular de los TG y, por consiguiente, la disminución de la internalización de AG no esterificados (AGNES) por los adipocitos, por lo que los

niveles de AGNES en plasma se encuentran elevados y esto se ha relacionado con hipertensión (Carrillo, 2007). Durante la RI, la acción de la insulina a nivel celular está reducida, lo que aumenta la secreción de esta hormona por el páncreas (Carrasco, 2013). En este sentido, el índice HOMA-IR ha sido utilizado como indicador de IR. Por ejemplo, un estudio realizado en sujetos sanos sin diferencias de sexo, edad o patología, avalan el uso de HOMA-IR como indicador de la sensibilidad a la insulina (Acosta, 2002). Además otro estudio, en el que se administró fructosa (20-25%) en el agua de beber a ratas Wistar macho, mostró un aumento significativo de HOMA-IR en el SM a partir de la novena semana (Dupas, 2017), lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo. Los cuales revelaron un aumento significativo en el índice HOMA-IR a partir del tercer mes de consumo de sacarosa por parte de las ratas con SM. Se ha demostrado que los valores de HOMA-IR están estrechamente relacionados con las concentraciones de AGEs (Song, 2012), que aumentan por el consumo crónico hipercalórico asociados a la RI que podrían estar mediados por el estrés oxidante (Mark, 2014), además se ha demostrado que la glicación de la albúmina por los AGEs aumenta la producción de TNF-alfa, el cual se ha relacionado con la RI mediante la inducción de procesos proinflamatorios que suprimen la transducción de la señal de insulina en el adipocito, ocasionando alteración en la actividad de la LPL (Song, 2012).

Por otra parte, se ha descrito que la actividad de la LPL, controla la acumulación de TAGs en los adipocitos. En ratas Zucker de 12 días con SM, la actividad de esta enzima está elevada, mucho antes de que los animales puedan ser identificados visualmente como obesos. Este cambio podría preceder a otros factores determinantes de la obesidad, como mayor lipogénesis hepática e hiperinsulinemia (Artiñano, 2009), en lo datos obtenidos, como se muestra en la figura 2, la actividad de la LPL se incrementó significativamente a partir del tercer mes en los grupos SM en comparación con los grupos C. Sin embargo, la expresión de la LPL permanece sin cambios a través del tiempo, puesto que su expresión se relaciona inversamente con la actividad de esta (Martínez, 2003).

Estos resultados fueron semejantes a los descritos por Cheng y col. (2017) donde usaron ratas macho Sprague Dawley para inducir SM mediante dieta hipercalórica por ocho semanas. Lo que les generó a las ratas hipertrofia en el adipocito, desde el destete y obesidad e hipertensión en adultos. Sin embargo, otro estudio por Castillo y col. (2018) mostraron que: la LPL está sobreexpresada en sujetos con SM, en comparación con sujetos sanos. Otros estudios en modelos animales y en humanos, sugieren que la insulina puede estimular a las catecolaminas que inhiben la LPL de forma específica en diferentes tejidos, por ejemplo, la LPL del músculo esquelético se regula negativamente en estado hiperinsulinémico, mientras que en el tejido adiposo se regula positivamente. Esto, en comparación con los resultados obtenidos, en los que se muestra que las actividades de la HSL y LPL (en la Figura 2 y 3) se incrementan de manera progresiva a través del tiempo, lo cual sugiere que el insulto de consumo crónico del carbohidrato induce una respuesta de elevación progresiva de la actividad de estas enzimas, lo que favorece la hipertrofia del adipocito que se asocia con el incremento de grasa intra-abdominal, hiperinsulinemia y RI. Es decir, en un estado hiperinsulinémico agudo, en el adipocito se altera la HSL y aumentara la actividad de la LPL, lo que favorecería la deposición neta de grasa en este, conduciendo al desarrollo de la obesidad hipertrófica (Berger, 1999).

Tanto para la actividad de la LPL como de la HSL se tomaron en consideración los valores de concentración del glicerol, debido a que ha sido demostrado que la molécula de TAG en el tejido adiposo es completamente hidrolizada (Bortz, 1972). Para ello, se recuperó el sobrenadante de glicerol endógeno del adipocito, ya que el tejido adiposo tiene nivel bajo de glicerol cinasa y solo una pequeña fracción del glicerol producido por hidrólisis intracelular puede ser utilizado y convertido en alfa-glicerofosfato para ser usado en la síntesis de TAG. (Berger, 1999). Los resultados obtenidos sugieren que hay relación entre la actividad de la HSL y expresión de la HSL y que ambas se incrementaron, en los grupos SM, a través del tiempo. Se ha reportado que la expresión de HSL por su capacidad lipolítica en las células de grasa proviene de mediciones directas de su actividad, esto sugiere

que puede existir asociación directa entre su expresión y actividad (Large V., 1998). Berger y col. (1999) han descrito aumento significativo en la actividad de la HSL en ratas Fischer hembras a los dos meses de consumo de dieta hipercalórica, en comparación con dieta baja en calorías, desarrollándose RI/hiperinsulinemia. Nuestros resultados concuerdan con lo anterior y sugieren que la actividad de la HSL está determinada por el tamaño del adipocito, ya que la actividad basal va en aumento al ser estimulado por el insulto crónico hipercalórico de sacarosa asociándose progresivamente con el tamaño del adipocito (Berger, 1999). Esto podría parecer paradójico, porque se esperaría una disminución en el tamaño del adipocito pero lo que ocurre es que la lipogénesis está aumentada por el incremento de la actividad de la LPL, pero al mismo tiempo la expresión y actividad de la HSL asociados a la hiperinsulinemia incrementan la liberación de los AGL, ocasionando un cuadro de retroalimentación positiva que contribuye significativamente a la progresión del SM. Lo anterior es apoyado con los resultados obtenidos aquí, los cuales mostraron asociación con aumento significativo en la actividad de la HSL y la expresión de la HSL en los grupos SM en comparación con los grupos C, en el área de adipocitos a partir del tercer mes (Figura 9), lo cual condujo a la hipertrofia evidenciado por el aumento en el área pero del decremento del número de células por campo (Figura 10) con aumento de la significancia progresiva en los dos meses posteriores a partir del tercer mes (Figura 8); así mismo, se observó ésta relación en ratas Fischer hembras, pero al segundo mes de ingesta calórica alta (Berger, 1999). Por otro lado, la hiperglucemia y la hiperinsulinemia son alteraciones presentes, frecuentemente, en la obesidad y diabetes tipo 2 y se asocian también a mayores tasas de lipólisis (Botion, 1999). En línea con lo anterior, se ha encontrado que la exposición a largo plazo ( $\geq 16$  h) de las células e islotes INS-1 de ratas a altas concentraciones de glucosa (20-30mM) induce una mayor expresión de HSL, en forma dependiente de la concentración. Tal inducción es paralela al aumento de la lipólisis y se acompaña de un aumento de la actividad, la cantidad de proteína y el nivel de mRNA, lo que indica que el efecto está mediado por transcripción del gen que codifica para la HSL (Winzell, 2001). Otro estudio mostró que la exposición

continua, por 16 horas, de adipocitos aislados a altas concentraciones de insulina (25 ng/ml) y glucosa (20 mM) aumenta la tasa de lipólisis y la expresión de la HSL (Botion, 1999). En nuestro modelo de SM, se observó que el insulto crónico de sacarosa mantuvo la glucosa sin diferencia significativa, pero si aumentó significativamente la concentración de insulina plasmática, a partir del segundo mes asociado con la expresión de la HSL. Por otro lado, los valores de glucosa obtenidos en los grupos SM fueron menores que los grupos C. Sin embargo, otro estudio describió pacientes de SM con valores de glicemia sin alteraciones (Carrasco, 2013).

En cuanto a la expresión de la perilipina, se ha descrito que está disminuida en los grupos de mujeres obesas, así como en el tejido adiposo intra-abdominal en sujetos obesos asociados con decremento en el mRNA de ésta enzima (Ray, 2009). Además, se ha descrito alteración de la reactividad vascular mediada por norepinefrina en este modelo, lo que sugiere sensibilidad de esta catecolamina en diferentes órganos, lo cual podría contribuir al aumento progresivo en la expresión de la PKA en los adipocitos y la modificación en la expresión/actividad de la perilipina A (Pérez, 2007). Los resultados muestran que la disminución en la expresión de la perilipina A, a partir del tercer mes en los grupos SM, parece ser la enzima clave alterada en el adipocito en estos grupos, porque contrasta con las otras proteínas que intervienen en la lipólisis y lipogénesis en el adipocito, como la LPL y la HSL (Wang, 2003), lo anterior sugiere que: la disminución de la expresión en la perilipina A refleja la ausencia de esta enzima en la vacuola lipídica y la HSL pueda permanecer con acceso constante a los TG almacenados en la vacuola lipídica. La HSL al tener libre acceso a los TG, se favorece la hidrólisis y la liberación de AG a la circulación. Los AG en la circulación se han asociado a hiperinsulinemia y RI (Tansey, 2001). Torre y col., en 2008, demostraron que al dar una dieta hipercalórica a ratas Sprague-Dawley durante 180 días y observaron aumento en la expresión de la perilipina en estas ratas en comparación con sus grupos C, con el consecuente aumento de insulina y leptina sérica. Sin embargo, nuestros resultados revelaron una reducción significativa, a partir del tercer, en la



expresión de dicha enzima. Además, Tansey y col., en 2011, encontraron que al dar una dieta hipercalórica durante 14 semanas a ratas hembras y machos knockout a la perilipina, estas fueron resistentes a la obesidad y con concentraciones bajas de AG, CT y TG, pero intolerantes a la glucosa con resistencia periférica a la insulina, en comparación con ratas silvestres. Tal resultado se asoció con el aumento de la lipólisis en los adipocitos de las ratas knockout y tal cosa sugiere que, la pérdida de la acción protectora de la perilipina fosforilada en la superficie de la gota lipídica favorece la expresión o actividad de la HSL.

Por otra parte, se ha propuesto que la leptina activa a la PKA de forma directa con participación parcial de catecolaminas (Zamora, 2004). En los cardiomiocitos de ratas C57BL/6J macho con dieta hipercalórica por 8 semanas, se demostró, que el incremento agudo de la insulina promueve el acoplamiento y fosforilación de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos en la membrana celular del adipocito, lo cual promueve la fosforilación de la PKA, que a su vez fosforila a la perilipina A y promueve el ingreso de la HSL a la vacuola lipídica (Fu, 2016). Nuestros resultados muestran que la PKA presentó aumento significativo a partir del segundo mes en ratas con SM asociado a la disminución de la perilipina A y aumento de la HSL. Por otro lado, Kou y col. (2012) estudiaron que el tratamiento de 4-14 días con un inhibidor de PKA, la bilobetina (uno de los ingredientes activos de Ginko Biloba), a ratas Sprague-Dawley previamente alimentadas con dieta hipercalórica reguló la transcripción de los genes de la LPL y mejoró la RI. Otro estudio muestra que después de dos semanas de exposición a dieta hipercalórica en ratones knockout deficientes a  $R\text{II}\beta$ , una de las principales subunidades reguladoras de PKA en el tejido adiposo, mas el mismo inhibidor resultó en resistencia a la obesidad, glucosa y esteatosis hepática, en comparación con ratones silvestres, además de que la actividad de la PKA disminuyó en el hígado pero aumentó en el tejido adiposo gonadal (London, 2014).

## CONCLUSIONES

Los resultados sugieren que el modelo de SM ocasionado por el consumo crónico de sacarosa al 30% por 24 semanas, se alteran progresivamente a partir del tercer mes las enzimas involucradas en la lipólisis y lipogénesis en el adipocito del tejido adiposo intra-abdominal.

La expresión de la HSL y PKA aumentó y la perilipina A disminuyó progresivamente, a partir del tercer mes, en el adipocito del tejido graso intra-abdominal de las ratas con SM. Sin cambios en la expresión de la LPL. Lo anterior se asoció con la disminución en número de células por campo y aumento en la grasa intra-abdominal, generándose progresivamente hipertrofia en el adipocito.

Los parámetros indicadores de SM, como son: grasa intra-abdominal, insulina, HOMA-IR, leptina y TG aumentaron progresivamente, sin diferencia significativa en la glucosa, a partir del tercer mes.

La lipogénesis está aumentada por el incremento en la actividad de la LPL a partir del tercer mes, ocasionada por el consumo crónico de sacarosa al 30% en el agua de beber, lo que conduce a la hipertrofia del adipocito que se asocia con el cuadro progresivo de hiperinsulinemia y RI lo cual va alterando la expresión y actividad de la PKA, perilipina y HSL, lo que conduce al incremento de la lipólisis ocasionando incremento de los AGL resultado de la retroalimentación positiva entre todas las vías metabólicas en el adipocito que contribuye a las patologías que comprenden el SM.

## BIBLIOGRAFÍA

Acosta B. A. M., Escalona O. M., Maiz G. A., Pollak C. F. Leighton P. F., Determinación del índice de resistencia insulínica mediante HOMA en una población de la Región Metropolitana de Chile, *Revista Médica de Chile*, 2002, vol. 130, no. 11, p.p. 1227-1231.

Aguilera A. A., Hernández D. G., Lara B. M., Angulo G. O., Olier R. R. M., Effects of fish oil on hypertension, plasma lipids, and tumor necrosis factor- $\alpha$  in rats with sucrose-induced metabolic syndrome, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2004, vol. 15, no. 6, p.p. 350-357.

Arbañil H. G. C., Simposio: Síndrome metabólico. Síndrome metabólico-definición y prevalencia, *Revista Peruana de ginecología y obstetricia*, 2011, vol. 57, no. 4, p.p. 233-236.

Baños G., Carvajal K., Cardoso G. Vascular reactivity and effect of serum in a rat model of hypertriglyceridemia and hypertension, *American Journal of Hypertension*, 1997, vol. 10, p.p.379-388.

Berger J. J., Barnard R.J., Effect of diet on fat cell size and hormone-sensitive lipase activity, *Journal of Applied Physiology*, 1999, vol. 87, no. 1, p.p. 227-232.

Bortz W. M., Paul P., Haff A. C., Holmes W. L., Glycerol Turnover and Oxidation in Man, *Journal of Clinical Investigation*, 1972, vol. 51, no. 6, p.p. 1537-1546.

Botton L.M., Green A., Long-term regulation of lipolysis and hormone-sensitive lipase by insulin and glucose, *Diabetes*, 1999, vol. 48, no. 9, p.p.1691–1697.

Bradford M. M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, 1976, vol. 72, no. 1-2, p.p. 248-254.

Brent E. W., The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity, *Journal of the American Society of Nephrology*, 2004, vol. 15, no. 11, p.p. 2792-2800.

Carrasco N. F., Galgani F. J. E., Reyes J. M., Síndrome de resistencia a la insulina. Estudio y manejo, *Revista Médica Clínica Las Condes*, 2013, vol. 25, no. 5, p.p. 827-837.

Carrillo S. S. del C, El Hafidi B. M., Efecto de los ácidos grasos no esterificados sobre la sensibilidad a la insulina en un modelo experimental de Síndrome Metabólico inducido por alto consumo de sacarosa (tesis de maestría), UNAM, México 2007.

Castillo C. D., Indias I. M., García J. C. F., Torres J. A., Santos I. M., Ocaña L., Gluckman E., Tinahones F., Ortuño M. I. Q., Cardona F., Adipose tissue LPL methylation is associated with triglyceride concentrations in the metabolic syndrome, *Clinical Chemistry*, 2018, vol. 64, no. 1, p.p. 201-218.

Cheng H. S., Ton S. H., Phang S. C. W., Tan J. B. L., Kadir K. A., Increased susceptibility of post-weaning rats on high-fat diet to metabolic syndrome, *Journal of Advance Research*, 2017, vol. 8, no. 6, p.p. 743-752.

Duncan R. E., Ahmadian M., Jaworski K., Sarkadi-Nagy E., Sook Sul H., Regulation of lipolysis in adipocytes, *Annual Review Nutrition*, 2007, vol. 27, p.p. 79-101.

Dupas J., Feray A., Goanvec C., Guernec A., Samson., Bougaran P., Guerrero F, Mansourati J., Metabolic Syndrome and hypertension resulting from fructose diet in Wistar rats, *BioMed Research International*, 2017, vol. 2017, no. 2494067, p.p. 1-10.

El Hafidi M., Pérez T. I., Zamora J., Soto V., Carvajal-Sandoval G., Baños G. Glycine intake decreases plasma free fatty acids, adipose cell size, and blood pressure in sucrose-fed rats, *American Journal of Physiology Regulatory*,

Integrative and Comparative Physiology, 2004, vol. 287, no. 6, p.p. 1387-1393.

Emanuela F., Grazia M., Marco R., Maria Paola L., Giorgio F., Marco B., Inflammation as a Link between Obesity and Metabolic Syndrome, Journal of Nutrition and Metabolism, 2012, vol. 12, p.p. 476380.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. México, D.F. Instituto Nacional de Salud Pública; 2016 (Consulta el 22 de marzo de 2018).

Sánchez M. F., García M. R., Alarcón A. F., y Cruz M., Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune, Gaceta médica de México, 2005, vol. 141, no. 6, p.p. 505-512.

Frayn K.N., Karpe F., Fielding B. A., Macdonald I. A., Coppack S. W., Integrative physiology of human adipose tissue, Integrative physiology of human adipose tissue, 2003, vol. 27, no. 8, p.p. 875–888.

Fu Q., Hu Y., Wang Q., Liu Y., Li N., Xu B., Kim S., Chiamvimonvat N., X Y. K., High-fat diet induces protein kinase A and G-protein receptor kinase phosphorylation of  $\beta_2$ -adrenergic receptor and impairs cardiac adrenergic reserve in animal hearts, The Journal of Physiology, 2016, vol. 595, no. 6, p.p. 1973-1986.

García G. E., De la Plata R. M., Kaufer H. M., Tusié L. M. T., Calzada L. R., Vázquez V. V., Barquera C. S., Caballero R. A. J., Orozco L., Velásquez F. D., Rosas P. M., Barriguete M. A., Zacarías C. R., Sotelo M. J., Grupo académico para el estudio, la prevención y el tratamiento de la obesidad y el síndrome metabólico de la Comisión Coordinadora de los Institutos Nacionales de Salud, Hospitales Federales de Referencia y Hospitales de Alta Especialidad, Salud Pública de México, 2008, vol. 50, no. 6, p.p. 530-547.

García J. S., Bernal F. G., Martínez S. M. F., Monroy N. A., Toledano J. C., Meneses A. A., González M. L., Aveleyra O. E., Terrazas M. M. A., Marie C. B., Sánchez A. M. A., Serum Leptin is Associated With Metabolic Syndrome in Obese Mexican Subjects, Journal of Clinical Laboratory Analysis, 2015, vol. 29, no. 1, p.p.

5-9.

García R., del Riesgo L., Orfa R. M., Bioquímica: la pregunta como base de la inquietud científica, Universidad del Rosario, 2007, Colombia, 1ª edición, p.p. 40.

Geloneze B., Junqueira V. A. C., Camargo S. C. F., Pareja J. C., Páez de L. R. L.E., de Gil A., Obesidad y genes, Vox Pediátrica, 2002, vol. 10, no 2, p.p. 40-45.

Harper H. A., Murray R., K., Bioquímica ilustrada, McGraw Hill, 28ª edición, 2010, p.p.155-222.

Hattori T., Murase T., Ohtake M., Inoue T., Tsukamoto H., Takatsu M., Kato Y., Hashimoto K., Murohara T., Nagata K., Characterization of a new animal model of metabolic syndrome: the DahlS.Z-*Lep<sup>fa</sup>/Lep<sup>fa</sup>* rat, Nutrition and Diabetes, 2011, no.1, vol.1, p.p. e1

Huang B. W., Chiang M. T., Yao H. T., Chiang W., The effect of high-fat and high-fructose diets on glucose tolerance and plasma lipid and leptin levels in rats, Diabetes, Obesity and Metabolism, 2004, vol 6, no. 2, p.p. 120–126.

Jingna D., Shangxin L., Liangqiang Z., Chong X., Geng B., Guoheng X., Lipolysis response to endoplasmic reticulum stress in adipose cells, The Journal of Biological Chemistry, 2012, vol. 287, no. 9, p.p. 6240-6249.

Kersten S., Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis, EMBO Reports, 2001, vol. 2, no. 4, p.p. 282-286.

Kim J. Y., van de Wall E., Laplante M., Azzara A., Trujillo M. E., Hofmann S. M., Schraw T., Durand J. L., Li H., Li G., Jelicks L. A., Mehler M. F., Hui D. Y., Deshaies Y., Shulman G. I., Schwartz G. J., Scherer P. E., Obesity-associated improvements in metabolic profile through expansion of adipose tissue, 2007, vol. 117, no. 9, p.p. 2621-2637.

Kou X. H., Zhu M. F., Chen D., Lu Y., Song H. Z., Ye J. L., Yue L. F. Bilobetin ameliorates insulin resistance by PKA-mediated phosphorylation of PPAR $\alpha$  in rats

fed a high-fat diet, *British Journal of Pharmacology*, 2012, vol. 165, no. 8, p.p. 2692-2706.

Lafontan M., Adipose tissue and adipocyte dysregulation, *Diabetes and Metabolism*, 2014, vol. 40, no. 1, p.p. 16-28.

Large V., Arner P., Reynisdottir S., Grober J., Van Harmelen V., Holm C., Langin D., Hormone-sensitive lipase expression and activity in relation to lipolysis in human fat cells, *Journal of Lipid Research*, 1998, vol. 39, no. 8, p.p. 1688-1695.

Lass A., Zimmermann R., Oberer M., Zechner R., Lipolysis – A highly regulated multi-enzyme complex mediates the catabolism of cellular fat stores, *Institute of Molecular Biosciences*, 2011, vol 50, no. 1, p.p. 14- 27.

Lee S., Kim T., Kim S., Sarcopenic Obesity Is More Closely Associated With Knee Osteoarthritis Than Is Nonsarcopenic Obesity, *American College of Rheumatology*, 2012, vol. 64, no. 12, p.p. 3947-3954.

Locatelli F., Pozzoni P., del Vecchio L., Renal manifestations in the metabolic syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology*, 2006, vol. 17, no. 4, p.p. S81-S85.

London E., Nesterova M., Sinaii N., Cganturiya T., Mastroyannis S. A., Gavrilova O., Stratakis C. A., Differentially regulated Protein Kinase A (PKA) activity in adipose Tissue and liver is associated with resistance to diet-induced obesity and glucose intolerance in mice that lack PKA regulatory subunit type  $\alpha$ , *Endocrinology*, 2014, vol. 155, no. 9, p.p. 3397-3408.

Lorenzo C., Williams K., Hunt K., Haffner S. M., The National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III, International Diabetes federation, and World Health Organization Definitions of the metabolic syndrome as Predictors of incident cardiovascular disease and diabetes, *Diabetes Care*, 2007, vol. 30, no. 1, p.p. 8-13.

Martínez de M. B.E., Rodríguez M.C., Martínez J.A., Síndrome metabólico, resistencia a la insulina y metabolismo tisular, España. *Endocrinología Nutrición*, España, 2003, vol. 50, no.8, p.p. 324-333.

Mark A. B., Poulsen M. W., Andersen S., Andersen J. M., Bak M. J., Ritz C., Holst J. J., Nielsen J., Courten B., Dragsted L. O., Bugel S. g., Consumption of a Diet Low in Advanced Glycation End Products for 4 Weeks Improves Insulin Sensitivity in Overweight Women, *Diabetes Care Journals*, 2014, vol. 37, no. 1, p.p. 88-95.

Matthew R. R., Edward A. U., Laboratory animal diets: a critical part of your in vivo research, *Research Diets*, 2005, vol. 4, no. 6, p.p. 1-6.

Morales C. M., Carvajal G. C. F., Obesidad y resistencia a la leptina, *Gaceta Médica Boliviana*, 2010, vol. 33, no. A, p.p. 63-68.

Moreno M. J., Martínez J. A., El tejido adiposo: órgano de almacenamiento y órgano secretor, *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 2002, vol. 25, no. 1, p.p. 29-39.

Norma Oficial Mexicana (NOM-008-SSA3-2010) para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad.

Pérez T. I., Zuñiga M. A., Beltrán R. U., Díaz D. E., Martinez M. R., Guarner L. V., Modification of the liver fatty acids by *Hibiscus sabdariffa* Linnaeus (Malvaceae) infusion, its, posible effect on vascular reactivity in a metabolic syndrome model. *Clinical and Experimental Hypertens*, 2013, vol. 36, no. 3, p.p. 123-131.

Proyecto de modificación a la NORMA Oficial Mexicana (NOM-008-SSA3-2010) para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad, para quedar como Norma Oficial Mexicana (NOM-008-SSA3-2016) para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad.

O'Rahilly S., Human obesity and insulin resistance: lesson from experiments of nature, *Novartis Found Symposium*, 2007, vol. 286, p.p. 13-20



O'Rourke R. W., Inflammation in obesity-related disease. *Surgery*, 2009, vol. 145, no. 3, p.p. 255–259.

Pérez T. I., El Hafidi M., Zamora G. J., Infante O., Chavira R., Baños G., Modulation of aortic vascular reactivity by sex hormones in a male rat model of metabolic syndrome, *Life Sciences*, 2007, vol. 80, no. 23, p.p. 2170-2180.

Pineda C. A., Síndrome metabólico: definición, historia, criterios, *Colombia médica*, 2008, vol 39, no. 1, p.p. 96-106.

Queiroz E. C., Tambascia M. A., Índice de HOMA1-IR y HOMA2-IR para identificar la resistencia a la insulina y el síndrome metabólico-estudio de síndrome metabólico brasileño (BRAMS), *Arquivos Brasileiros de Endocrinología y metabologia*, 2009, vol. 53, no. 2, p.p. 281-287.

Ramírez A. M. M., Sánchez R. C., Relación entre los niveles séricos de la proteína C reactiva y medidas antropométricas; una revisión sistemática de los estudios realizados en Suramérica, *Nutrición Hospitalaria*, 2012, vol. 27, no. 4, p.p. 971-977.

Ray H., Pinteur C., Frering V., Beylot M., Large V., Depot-specific differences in perilipin and hormone-sensitive lipase expression in lean and obese, *Lipids in Health and Disease*, 2009, vol. 8, no. 58, p.p. 1-10.

Reaven G., Ho H., Sugar-induced hypertension in Sprague-Dawley rats, *American Journal of Hypertension*, 1991, vol. 4, no. 7, p.p. 610-614.

Romero A. L., Guerra S. G., Pardo P. J., y Luqueño B. O. I., Cuerpos lipídicos: organelos metabólicamente activos, *Revista de Educación Bioquímica*, 2016, vol. 35, no. 4, p.p.115-124.

Rubio R. M. E., Pérez T. I., Diaz D. E., Pavón N., Guarner L. V., Non-steroidal anti-inflammatory drugs attenuate the vascular responses in aging metabolic syndrome rats, *Acta Pharmacologica Sinica*, 2014, vol 35, no. 11, p.p. 1364-1374.

Sánchez M. F., García M. C., Alarcón A. F., Cruz M., Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune, *Gaceta Médica de México*, 2005, vol. 141, no. 6, p.p. 505-512.

Singla P., Bardoloi A., Parkash A. A., Metabolic effects of obesity: A review, *World Journal of Diabetes*, 2010, vol. 1, no. 3, p.p. 76-88.

Song F, Schmidt AM., Glycation & Insulin Resistance: Novel Mechanisms and Unique Targets?, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 2012, vol 32, no. 8, p.p. 1760-1765.

Wong S. K., Chin K. Y., Suhaimi F. H., Fairus A., Ima-Nirwana S., Animal models of metabolic syndrome: a review, *Nutrition and Metabolism*, 2016, vol. 13, no. 1, p.p. 65.

Suganami T., Tanaka M., Ogawa Y., Adipose tissue inflammation and ectopic lipid accumulation, *Endocrine Journal*, 2012, vol. 59, no. 10, p.p. 849-857.

Tansey J. T., Sztalryd C., Gruia-Gray J., Roush D. L., Zee J. V., Gavrilova O., Reitman M. L., Deng C. -X., Li C., Kimmel A. R., Londos, C., Perilipin ablation results in a lean mouse with aberrant adipocyte lipolysis, enhanced leptin production, and resistance to diet-induced obesity, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2001, vol. 98, no. 11, p.p. 6494-6499.

Torre V. I., Tovar A. R., Ramos B. V. E., Cerbón C. M. A., Torres N., Soy protein ameliorates metabolic abnormalities in liver and adipose tissue of rats fed a high fat diet, *The Journal of Nutrition*, 2008, vol. 138, no. 3, p.p. 462-468.

Tripathi Y. B., Pandey V., Obesity and endoplasmic reticulum (ER) stresses, *Frontiers in Immunology*, 2012, vol 3, p.p. 240.

Wai Y. A., Yoke Y. C., Shih Y. L., So Ha T., Khalid A. K., Sharifah N. A., Syed H.,

Lipoprotein lipase expression, serum lipid and tissue lipid deposition in orally-administered glycyrrhizic acid-treated rats, *Lipids in Health and Disease*, 2009, vol. 8, p.p. 31.

Weisberg S. P., McCann D., Desai M., Rosenbaum M., Leibel R. L., Ferrante A. W. Jr., Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue, *The Journal of Clinical Investigation*, 2013, vol. 112, no. 12, p.p. 1796-1808.

Winzell M. S., Svensson H., Arner P., Ahrén b., Holm C., The expression of hormone-sensitive lipase in clonal -cells and rat islets is induced by long-term exposure to high glucose, *Diabetes*, 2001, vol. 50, no. 10, p.p. 2225-2230.

Xie B., Waters M. J., Schirra H. J., Investigating Potential Mechanisms of Obesity by Metabolomics, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, vol. 2012, 805683.

Zamora V. D., Chávez T. N. C., Méndez S. N., Mecanismos moleculares de resistencia a la insulina, *Medica Sur*, 2004, Vol. 11, núm. 3, p.p. 149-159.

Zechner R., Zimmermann R., Eichmann T. O., Kohlwein S. D., Haemmerle G., Lass A., Madeo F., Fat signals lipases and lipolysis in lipid metabolism and signaling, *Cell Metabolism*, 2012, vol. 15, no. 3, p.p. 279-291.