



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EL EFECTO DEL RESVERATROL SOBRE EL ESTRÉS DEL RETICULO
ENDOPLÁSMICO EN LA LIPOGÉNESIS RENAL DE RATONES C57BL/6**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO DE ALIMENTOS

PRESENTA

ELIZABETH IRINA FIGUEROA JUÁREZ



MÉXICO, D.F.

2015



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: M. en C. Lucía Cornejo Barrera

VOCAL: Dr. Samuel Canizales Quinteros

SECRETARIO: Dra. Claudia Teresa Tovar Palacio

1er. SUPLENTE: Dr. José Ignacio Páramo Ramírez

2° SUPLENTE: Dra. Iliana Elvira González Hernández

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN;

SALVADOR ZUBIRÁN

ASESOR DEL TEMA:

Dra. Claudia Teresa Tovar Palacio _____

SUSTENTANTE:

Elizabeth Irina Figueroa Juárez _____

“Let food be your medicine and medicine be your food”

- Hippocrates

Dedicatoria

A mi abuelo, el Dr. Aníbal Figueroa Uriza, y a mis padres, la Dra. Irina Elizabeth Juárez Muñoz y el Dr. Germán Figueroa Castrejón, por su amor, trabajo y sacrificios durante toda mi vida. Gracias por su ejemplo para enseñarme a enfrentar la vida, a ustedes les debo todo lo que soy.

En memoria de mi abuela Luz María Castrejón, por ser el ángel que me guía desde el cielo y haber sido mi apoyo y guía toda mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, mi alma máter, por el honor de haber formado parte de su comunidad estudiantil. A la Facultad de Química, por forjarme como profesionalista, por haberme permitido hacer de sus instalaciones mi segunda casa y por todas las oportunidades que me brindó a lo largo de mi carrera en todos los aspectos.

Al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, por haberme dado la oportunidad de formar parte de ésta institución y por el apoyo durante la realización de diferentes estancias de investigación, mi servicio social y ésta tesis.

Principalmente, quiero agradecer a la Dra. Claudia Teresa Tovar Palacio, por su guía, paciencia, tiempo, apoyo, consejo, amistad y confianza. Gracias por haber creído en mí desde el inicio y por haberme enseñado tanto en todos los aspectos. No pude haber tenido mejor guía durante ésta etapa tan importante de mi vida.

Al Dr. Samuel Canizales Quinteros, por haber sido uno de los maestros que más me marcó durante mi carrera y una de las personas que me guió en el camino de la investigación en ciencias médicas. Gracias por su tiempo y sus aportaciones en la revisión de ésta tesis, y sobretodo, gracias por su apoyo incondicional en mi desarrollo académico.

A la Dra. Lucía Cornejo Barrera, por ser un ejemplo a seguir como persona y una figura de guía y apoyo para todos los estudiantes de Química de Alimentos en la Facultad de Química. Gracias por su tiempo y sus comentarios en la revisión de ésta tesis, y por ser parte de los mejores recuerdos de mi carrera.

Al Dr. Ricardo Correa Rotter, por facilitar el trabajo operativo y administrativo durante la realización de este estudio y por permitirme formar parte del departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral en el INCMNSZ.

A los doctores: Armando Tovar, Lilia Noriega, Gabriela Alemán, Guillermo Ordaz y Andrea Villaseñor del departamento de Fisiología de la Nutrición del INCMNSZ, por sus enseñanzas diarias, su contribución, su ayuda, su apoyo y su aprecio durante la realización de ésta tesis y toda mi estancia en el INCMNSZ, gracias por permitirme formar parte de su equipo de trabajo. Y en especial, me gustaría agradecer al Dr. Iván Torre, por su apoyo, trabajo y contribución en éste proyecto.

A título personal, quiero hacer un agradecimiento especial para mi abuelo, el Dr. Aníbal Figueroa Uriza, por ser mi mejor amigo, mi cómplice, mi consejero y mi ejemplo a seguir desde que tengo memoria. Gracias por tus enseñanzas y tu compañía, gracias por haberme dejado compartir los mejores momentos de mi vida a tu lado y por haber trascendido en mi vida. A ti te dedico este trabajo, porque tu me enseñaste a trabajar y nunca renunciar hasta alcanzar mis metas. Gracias por las sonrisas inolvidables, los sueños compartidos, los recuerdos invaluable y tus brazos abiertos 24 horas al día y 7 días a la semana. Te amo Totó.

A mis padres, Irina Juárez y Germán Figueroa, por su paciencia, sus enseñanzas y todos los sacrificios que han hecho por mí desde antes de nacer. Gracias por compartir mis

alegrías y mis llantos, por ser mis incondicionales. Gracias por enseñarme a luchar y a ser mejor todos los días, no encuentro las palabras para expresarles lo mucho que los amo y lo mucho que les agradezco el hacerme saber todos los días que tengo a mi lado a dos extraordinarias personas que me brindaron la oportunidad de estar en este mundo y haber llegado hasta donde estoy el día de hoy. Ustedes son las personas que más admiro en esta vida. Es un honor para mí ser su hija, por ustedes daría todo lo que soy. Gracias por ser mi ejemplo en la investigación, en la medicina y en la vida diaria.

A mi hermano, Germán Andrés Figueroa, por haber crecido conmigo de la mano en todos los aspectos, por haberme enseñado cómo tomar el camino correcto en mi vida y por ser mi cómplice incondicional. Gracias por todos los consejos, las aventuras y las frases que voy a recordar toda mi vida. Gracias por ser mi compañero eterno y mi más leal protector. Te amo.

A mi segunda madre, Constantina Morales, y a Juana Anastasio, por haber sido esos ángeles que formaron parte de mi familia aunque no lleven el mismo apellido. Gracias por consentirme y apoyarme todos los días. Gracias por tanto amor y por estar a mi lado siempre.

A mi abuela Luz María, por haberme enseñado tanto y por llevarme siempre en tu corazón, porque sé que siempre me has llevado de la mano en tu camino. Gracias por hacer que una parte de ti viva en mí. No caben los recuerdos a tu lado en una página de agradecimientos, porque no tengo palabras para decirte lo mucho que te amo Tita.

A mi abuela María Rosa Muñoz, por guiarme y enseñarme el camino espiritual siempre. Gracias por tus consejos y las palabras cuando más las necesito. Gracias por guiarme por el camino correcto y por ser alguien a quien admiro por su fuerza y tenacidad interminables. Te amo.

A mi tíos: Rosa De la Vega, Arturo Huertas, Didier Juárez, Silvia Baca, Fabiola Juárez, Eduardo Figueroa, Leticia Ortega, Aníbal Figueroa y Gloria Castorena, por sus consejos, su apoyo y su paciencia, y por ser los segundos padres que me dio la vida. A mis primos: Mariana Huertas, Santiago Huertas, Fernanda Huertas, Maricela Sánchez, Grecia Marañón, Lluvia Marañón, Brenda Juárez, Didier Juárez, Natalia Figueroa y Estefania Figueroa, por haber crecido a mi lado, por los errores aprendidos juntos y por el apoyo incondicional que me han dado toda mi vida, ustedes son para mí mis hermanos, los amo. A mi abuelo José Juárez y mi prima Carolina Juárez, por haber creído siempre en mí, y compartir momentos maravillosos conmigo. Gracias por estar ahí para mí, los quiero mucho.

A mi mejor amiga Mariana, por haber compartido 12 años de mi vida a mi lado y ser la amiga más incondicional y leal que he conocido en mi vida. Gracias por compartir los mejores momentos juntas, por tus palabras, por tus consejos, por tu apoyo y tus brazos sin importar día ni hora, crecimos juntas y sé que seguiremos juntas por el resto de nuestra vida. Y en especial, quiero agradecerle por haber estado conmigo todos los días mientras escribía esta tesis, en fines de semana y vacaciones, trabajando conmigo sólo para acompañarme. Te amo Wewa. Así mismo, quisiera agradecer a la familia Morales, por sus consejos, sus detalles y su apoyo desde hace tantos años.

A mi mejor amigo Germán, por haber ido a donde quiera que fui yo, por haber pasado tantos momentos juntos en la universidad y fuera de ella. Gracias por haberme apoyado en mis éxitos y mis derrotas, por haberme esperado cuando salía tarde del laboratorio y jamás dejarme sola, por ser mi confidente y convertirme en parte de mi familia. Gracias por ser una extensión de mí, por ser un extraordinario colega y por haber compartido a mi lado tantas tardes de estudio y trabajo, así como de diversión y sueños. Y en especial, quiero agradecerte por tu apoyo, trabajo y contribución en ésta tesis cuidando animalitos incluso en Navidad y año nuevo. Te adoro Volován.

A la familia Hurtado: Rosalina Garmendia, Isidro Hurtado, Rosalina Hurtado, Alejandro Hurtado y Concepción Zavala, por su apoyo, sus consejos, sus palabras de aliento y por tener siempre las puertas de su casa abiertas para mí. Y en especial quiero agradecer, a mi mejor amigo y hermano desde hace 12 años, Jesús Hurtado, por tantos momentos inolvidables compartidos juntos, por su apoyo en los momentos más difíciles y por estar presente en mis mejores recuerdos, gracias por demostrarme todos los días que en ti tengo un hermano más que un amigo, gracias por todo Chucho, te adoro. Así mismo, quiero agradecer de forma dirigida a un amigo muy especial, Marco Hurtado, por todo su apoyo desde que nos conocimos, por los momentos compartidos dentro y fuera del hospital, por hacerme sonreír siempre y por demostrarme que la distancia nos mantiene lejos pero nunca separados, te quiero mucho Yosquito.

A mi gran amiga Itzel Rodríguez, por todo el apoyo que me ha brindado siempre, la compañía, la ayuda y las enseñanzas dentro de las clases en la facultad y dentro del laboratorio en el INCMNSZ. No pude compartir con alguien mejor que tu ésta experiencia en mi vida. Te quiero muchísimo.

A Elizabeth Amador, Raúl Chávez y en especial a gordi, por su apoyo incondicional todos éstos años, sus palabras, su compañía, su cariño sincero, y los momentos tan especiales que compartimos juntos durante gran parte de la carrera. Gracias por todo, siempre los llevaré conmigo. Gracias por haber estado a mi lado y haberme guiado con su ejemplo siempre. Tienen un pedazo enorme de mi corazón y así será toda mi vida.

A mis amigos del Instituto México Secundaria y el Centro Universitario México, que han estado a mi lado durante todos estos años: Ricardo Murguía, Diego Hinojosa, Verónica García, Adriana Oliver, Viviana Zuñiga, Carlos Medrano, Antonio De Luna, Omar Jalili y Natalia García, por todos éstos años de amistad, de recuerdos inolvidables y de compañía invaluable. Gracias por ser de las personas más extraordinarias que he conocido en mi vida, espero que jamás salgan de ella. Los quiero muchísimo.

A mis amigos de la Facultad de Química: Ilse Hernández, Luis Ortíz Mena, Lorena Rosas, Clara Granados, Leslie Nuñez, Gerardo Lazo, Mario Pérez, José Miguel Castro, Paola Toríz, Víctor Méndez, Gustavo Ponce, Libier Cabrera y Carolina Rivera, por su compañía y amistad durante toda la carrera, por los desvelos que compartimos, las comidas rápidas, las madrugadas y las noches en la facultad, las tardes de estudio en los departamentales, los reportes de laboratorio, los trabajos en equipo, las exposiciones, por haber aprendido y crecido académicamente conmigo. A mis maestras Martha Giles-Gómez y Adela Castillejos Salazar, por sus enseñanzas, no sólo en cuanto a conocimiento sino en todos los aspectos. Muchas gracias por apoyarme y enseñarme a lo largo de toda mi carrera.

0.0 ÍNDICE GENERAL

1. RESUMEN.....	Página 1
2. ANTECEDENTES.....	Página 3
2.1 OBESIDAD: DEFINICIÓN Y PREVALENCIA EN MÉXICO	
2.2 LA ENFERMEDAD RENAL ASOCIADA A OBESIDAD	
• ACUMULACIÓN DE LÍPIDOS EN TEJIDO RENAL EN LA ENFERMEDAD RENAL ASOCIADA A OBESIDAD	
2.3 IMPORTANCIA DEL ESTRÉS DE RETÍCULO ENDOPLÁSMICO EN LA LIPOGÉNESIS RENAL ASOCIADA A OBESIDAD	
• FUNCIÓN CELULAR DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO	
• DEFINICIÓN DEL ESTRÉS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO	
• ESTRÉS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO Y RESPUESTA A PROTEÍNAS NO PLEGADAS (UPR: UNFOLDED PROTEIN RESPONSE)	
• EL ESTRÉS DE RETÍCULO ENDOPLÁSMICO EN LA OBESIDAD	
• EL ESTRÉS DE RETÍCULO ENDOPLÁSMICO EN LA LIPOGÉNESIS RENAL	
2.4 EL RESVERATROL: ESTRUCTURA, CARACTERÍSTICAS Y BENEFICIOS A LA SALUD	
• ESTRUCTURA, CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y GENERALIDADES SOBRE EL RESVERATROL	
• EL VINO EN MÉXICO	
• EL RESVERATROL EN LA SALUD	
3. JUSTIFICACIÓN.....	Página 33
4. HIPÓTESIS.....	Página 34
5. OBJETIVOS.....	Página 34

5.1	Objetivos generales.....	Página 34
5.2	Objetivos específicos.....	Página 34
6.	METODOLOGÍA.....	Página 35
6.1	Resumen del procedimiento seguido.....	Página 35
6.2	Animales.....	Página 36
6.3	Dietas	Página 37
6.4	Prueba de tolerancia a la glucosa.....	Página 38
6.5	Calorimetría indirecta.....	Página 39
6.6	Análisis de parámetros bioquímicos en suero.....	Página 40
6.7	Análisis estadístico.....	Página 40
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	Página 41
7.1	Efecto de los tratamientos dietarios en el peso corporal y la ganancia de peso.....	Página 41
7.2	Prueba de tolerancia a la glucosa.....	Página 47
7.3	Calorimetría indirecta	Página 53
7.4	Análisis de parámetros bioquímicos en suero.....	Página 65
7.4.1	Glucosa	Página 65
7.4.2	Colesterol Total	Página 68
7.4.2.1	Colesterol LDL	Página 71
7.4.2.2	Colesterol HDL	Página 74
7.4.3	Triglicéridos	Página 77
7.4.4	Perfil Hepático	Página 80
7.4.5	Perfil renal	Página 85
8.	CONCLUSIONES.....	Página 92

9. PERSPECTIVAS..... Página 96

10. BIBLIOGRAFÍA..... Página 97

0.1 ÍNDICE DE FIGURAS

1. Esquema de la vía de IRE1 α durante la Respuesta a Proteínas No plegadas.
2. Esquema de la vía de ATF6 durante la Respuesta a Proteínas No plegadas.
3. Esquema de la vía de PERK durante la Respuesta a Proteínas No plegadas.
4. Efecto del estrés de retículo endoplásmico en histologías de tejido renal.
5. Efecto del estrés de retículo endoplásmico sobre la concentración de triglicéridos en tejido renal y la expresión del factor de iniciación de la traducción eIF2 α y P- eIF2 α .
6. Estructura química del cis-resveratrol y trans-resveratrol.
7. Esquema de la biosíntesis de resveratrol.
8. Esquema a manera de resumen de los efectos benéficos de la suplementación con resveratrol de pruebas clínicas en humanos conducido en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, obesidad, enfermedades cardiovasculares y diferentes tipos de cáncer.
9. Efecto mimético del resveratrol con una dieta con restricción calórica mediante la inhibición de la cAMP fosfodiesterasa (PDE).
10. Diagrama de metodología y tratamientos utilizados durante el protocolo de investigación
11. Efecto de los tratamientos dietarios utilizados sobre el peso corporal de los animales.
12. Comparación del efecto de los tratamientos dietarios utilizados sobre el peso corporal final de los animales.
13. Fotografía comparativa de apariencia física de dos ratones C57BL/6 con dos de los tratamientos dietarios: (C) y (AG).
14. Efecto de los cuatro tratamientos dietarios utilizados sobre la tolerancia a la glucosa intraperitoneal en los animales alimentados

15. Gráfico comparativo de concentración de glucosa en sangre (mg/dL) basal y final durante la prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal para cada uno de los cuatro tratamientos dietarios utilizados
16. Gráficos comparativos del efecto en los grupos alimentados con los cuatro tratamientos dietarios utilizados sobre el coeficiente respiratorio entre un periodo de ayuno (8 h) y un periodo de posprandio (12 h).
17. Gráficos comparativos del efecto del resveratrol sobre el volumen de oxígeno consumido (VO_2) y el volumen de dióxido de carbono producido (VCO_2) por los grupos alimentados con los cuatro tratamientos dietarios utilizados entre un periodo de ayuno (8 h) y un periodo de posprandio (12 h).
18. Gráficos comparativos del efecto del resveratrol sobre el calor producido (kcal/h) por los grupos alimentados con los cuatro tratamientos dietarios utilizados entre un periodo de ayuno (8 h) y un periodo de posprandio (12 h).
19. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del retículo endoplásmico por tunicamicina sobre la concentración de glucosa (mg/dL) en suero
20. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del retículo endoplásmico por tunicamicina sobre la concentración de colesterol total (mg/dL) en suero
21. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del retículo endoplásmico por tunicamicina sobre la concentración de colesterol transportado en lipoproteínas de baja densidad (LDL) (mg/dL) en suero.
22. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del retículo endoplásmico por tunicamicina sobre la concentración de colesterol transportado por lipoproteínas de alta densidad (HDL) (mg/dL) en suero.
23. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del retículo endoplásmico por tunicamicina sobre la concentración de triglicéridos (mg/dL) en suero.
24. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del retículo endoplásmico por tunicamicina sobre el perfil hepático en los

ocho grupos experimentales propuestos: composición corporal de hígado (g/100g peso corporal) y transaminasas ALT y AST (U/L).

- 25.** Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del retículo endoplásmico por tunicamicina sobre la composición corporal de riñón (g/100g peso corporal)
- 26.** Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del retículo endoplásmico por tunicamicina sobre el perfil renal en los ocho grupos experimentales propuestos: concentración de creatinina en suero (mg/dL).
- 27.** Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del retículo endoplásmico por tunicamicina sobre el perfil renal en los ocho grupos experimentales propuestos: concentración de albúmina en suero (mg/dL).

0.2 ÍNDICE DE TABLAS

1. Contenido de trans-resveratrol (mg/l) en las variedades más populares de vino tinto.
2. Proporciones del Mercado Mexicano de Vinos en 2012
3. Diseño Experimental
4. Composición de las dietas experimentales
5. Valores promedio de peso corporal inicial, peso corporal final, ganancia final de peso corporal, consumo de alimento y kilocalorías de consumo de alimento de los cuatro grupos experimentales alimentados con los diferentes tratamientos dietarios propuestos

0.3 RESUMEN DE ABREVIATURAS

ACC	Acetil CoA carboxilasa
ALT	Alanina aminotransferasa
AMP	Adenosin monofosfato
AMPK	Proteína cinasa activada por el 5' adenosin monofosfato
AST	Aspartato aminotransferasa
ATF4	Factor activador de la transcripción 4
ATF6	Factor de activación de la transcripción 6
ATP	Adenosin trifosfato
C/EBP	Proteína potenciadora de unión de CCAAT
cAMP	Adenosin monofosfato cíclico
CHOP	Proteína homóloga del potenciador de la proteína de unión CCAAT
CREB	Elemento de respuesta de cAMP
DNA	Ácido desoxirribonucleico
eIF2 α	Factor de iniciación eucariótico α
ERAD	Vía de degradación de proteínas asociada al retículo endoplásmico
FAS	Ácido grasa sintasa
GAPDH	Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa
GD P	Guanosin difosfato
GLSs	Señales de localización del aparato de Golgi
GRP78	Proteína chaperona del retículo endoplásmico regulada por glucosa 78
GTP	Guanosin trifosfato
HDL	Lipoproteína de alta densidad
HSL	Lipasa sensible a hormonas
IMC	Índice de masa corporal

IRE1 α	Proteína reclutadora de inositol 1
JNK	Cinasa c-Jun N-terminal
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LXR	Receptor X hepático
NOS	Sintasa de óxido nítrico
PERK	Proteína cinasa del retículo endoplásmico semejant a PKR
PGC-1 α	Coactivador del proliferador de peroxisoma-receptor activado γ
PKA	Proteína cinasa A dependiente de cAMP
PPAR α	Receptor activado por proliferador de peroxisoma α
PPAR γ	Receptor activado por proliferador de peroxisoma γ
RE	R Retículo Endoplásmico
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Especies reactivas de oxígeno
S1P	Proteasa de sitio 1
S2P	Proteasa de sitio 2
Sirt1	Sirtuína 1
SREBP-1	Proteínas de unión a los elementos reguladores de esteroides 1
SREBP-2	Proteínas de unión a los elementos reguladores de esteroides 2
UPR	Respuesta a proteínas no plegadas
XBP1	Proteína de unión a X-box 1

ABREVIATURAS CORRESPONDIENTES A LOS GRUPOS EXPERIMENTALES

(C)	Grupo control
(CR)	Grupo control suplementado con resveratrol
(AG)	Grupo alta en grasa
(AGR)	Grupo alta en grasa suplementado con resveratrol
(C+T)	Grupo control administrado con tunicamicina
(CR+T)	Grupo control suplementado con resveratrol administrado con tunicamicina
(AG+T)	Grupo alta en grasa administrado con tunicamicina
(AGR+T)	Grupo alta en grasa suplementado con resveratrol administrado con tunicamicina



TESIS

EL EFECTO DEL RESVERATROL SOBRE EL ESTRÉS DE RETICULO ENDOPLASMÁTICO EN LA LIPOGÉNESIS RENAL EN RATONES C57BL/6

1.0 RESUMEN

Cuando existen perturbaciones en la homeostasis del retículo endoplásmico (RE), se puede ocasionar una alteración en la traducción y plegamiento normal de proteínas que provoca el estrés del RE, y la respuesta ante ésta condición se conoce como Respuesta a las proteínas mal plegadas (Unfolded protein response, UPR). Se ha demostrado que diversas condiciones en el establecimiento de la obesidad provocan la inducción del estrés del RE y la activación de la UPR (Ozcan et al., 2004, Hotamisligil, 2010, Bravo et al., 2013).

Por otro lado, durante el establecimiento de la enfermedad renal asociada a obesidad se ha descrito la presencia de depósitos lipídicos en el riñón, y se ha propuesto que éstos depósitos pueden desarrollar un papel importante en la patogénesis de ésta enfermedad (Soetikno et al., 2013). Se ha demostrado que la inducción farmacológica del estrés de RE por medio de tunicamicina, provoca el aumento en la lipogénesis renal de ratones C57BL/6 (Tovar-Palacio et al., 2014). Por lo que se propone que el estrés de RE como uno de los posibles mecanismos responsables del desarrollo de depósitos lipídicos en esta enfermedad.

El resveratrol es una fitoalexina polifenólica que se encuentra de forma natural en muchas especies de plantas, incluyendo vides de uva y bayas. Ésta molécula se considera como un posible tratamiento para ayudar a combatir diversas enfermedades crónicas degenerativas y desórdenes metabólicos como la obesidad (Fernández-Mar et al., 2012) debido a que produce diversos efectos benéficos para salud, por lo que se propone al resveratrol como un posible compuesto modulador de la respuesta al estrés del RE.

El objetivo de éste proyecto fue determinar si existe un efecto modulador del resveratrol (200 mg/kg pc/día) en ratones C57BL/6 alimentados con en una dieta alta en grasa, ante la respuesta al estrés del RE a nivel renal. Con éste fin se propusieron cuatro tratamientos dietarios durante 28 semanas: 1) Control (C), 2)

Control + resveratrol (CR), 3) Alta en grasa (AG) y 4) Alta en grasa + resveratrol (AGR), y a la mitad de los animales de cada uno de los tratamientos dietarios se le administró tunicamicina (T) (inductor del estrés del RE).

En éste proyecto se realizó una curva de crecimiento y ganancia de peso corporal, una prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal, una calorimetría indirecta y la determinación de parámetros bioquímicos en suero (glucosa, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, triglicéridos, ALT, AST, creatinina y albúmina)

Los principales hallazgos encontrados en este proyecto consistieron en que la suplementación con resveratrol indujo cambios estadísticamente significativos en el peso corporal, la velocidad oxidativa del metabolismo y la concentración de colesterol total y LDL. Así mismo, la suplementación con resveratrol mostró una tendencia a mejorar el perfil de parámetros renales en suero, tanto en la concentración de creatinina como en la concentración de albúmina, y mantuvo la concentración de ambos parámetros en valores normales a diferencia de los grupos no suplementados con resveratrol, aunque no presentaron diferencia significativa.

Ante la inducción del estrés del RE, la tunicamicina indujo cambios de forma estadísticamente significativa en la concentración de glucosa, colesterol total y LDL, triglicéridos, ALT y AST; mientras que los grupos suplementados con resveratrol y tratados con tunicamicina no mostraron cambios significativos respecto a los grupos sin tunicamicina en éstos parámetros y se mantuvieron en valores normales. En los parámetros renales, la tunicamicina indujo una tendencia a incrementar la concentración de creatinina en todos los grupos respecto a los grupos sin tunicamicina, por lo que todos los grupos presentaron valores mayores a los establecidos en el rango normal siendo mayor en el grupo HF+T, sin embargo, no presentaron diferencia estadísticamente significativa respecto a los grupos sin tunicamicina. Y finalmente, la tunicamicina indujo una tendencia a reducir los valores de la concentración de albúmina en todos los grupos, y posicionó a los grupos C+T y AG+T en valores menores al rango normal a diferencia de los grupos CR+T y AGR+T, aunque ninguno de los grupos presentó diferencia estadísticamente significativa respecto a los grupos sin tunicamicina.

2.1 OBESIDAD: DEFINICIÓN Y PREVALENCIA EN MÉXICO

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, la obesidad se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud (OMS, 2015).

El índice de masa corporal (IMC) es un indicador de la relación entre el peso y la talla que se utiliza para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos, y se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos entre el cuadrado de la talla en metros (kg/m^2) (Lobstein, 2015). De acuerdo a la definición de la OMS, un IMC igual o superior a $25 \text{ kg}/\text{m}^2$ determina sobrepeso y un IMC igual o superior a $30 \text{ kg}/\text{m}^2$ determina obesidad (OMS, 2015).

La obesidad es una epidemia mundial que se ha convertido en el sexto factor principal de riesgo de defunción en el mundo (OMS, 2015). Cada año fallecen 3.4 millones de personas adultas como consecuencia del sobrepeso o la obesidad (OMS). La prevalencia del sobrepeso y la obesidad ha incrementado dramáticamente a nivel mundial (Lobstein, 2015), y se ha descrito a México como el noveno país con mayor prevalencia en los últimos 10 años (Federation, 2014).

La causa fundamental del sobrepeso y la obesidad es un desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas (OMS, 2015), además de factores sociales, económicos y culturales (Federation, 2014). En el mundo se ha producido un fenómeno de aumento en el consumo de la ingesta de alimentos hipercalóricos que son ricos en grasa, sal y hidratos de carbono pero pobres en vitaminas, minerales, proteínas y otros micronutrientes; aunado a un descenso en la actividad física (Lobstein, 2015).

La obesidad es un importante factor de riesgo de enfermedades no transmisibles como las enfermedades cardiovasculares (Bastien et al., 2014), la diabetes

(Tyrovolas et al., 2015), la dislipidemia (Bays et al., 2013), la aterosclerosis (Lovren et al., 2015), la hipertensión arterial (Reisin and Jack, 2009), enfermedad renal (Snyder et al., 2014, Wickman and Kramer, 2013, Cignarelli and Lamacchia, 2007), entre otros (Lobstein, 2015). Además del alto riesgo de desarrollar estas patologías, la obesidad también genera una disminución en la capacidad funcional de las personas que la padecen, disminución en la esperanza y la calidad de vida, y problemas psicológicos importantes (Morelli and Davis, 2013). El desarrollo de estas enfermedades crónicas secundarias al establecimiento de la obesidad, a su vez ha provocado un incremento importante en el costo de los servicios de salud, que en cifras proyectadas para el año 2030 superará el presupuesto estimado del Sector Salud (Lobstein, 2015).

Los niños pequeños en los países de ingresos bajos se encuentran expuestos a una nutrición insuficiente y al contacto constante de alimentos hipercalóricos de bajo costo; esta situación combinada con una escasa actividad física, tienen como resultado un incremento significativo en la obesidad infantil y con ello una predisposición a padecer obesidad durante la edad adulta (OMS, 2015) (Lobstein, 2015).

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud (ENSANUT) realizada en México en el año 2012, el 69.4% de las mujeres y 73.0% de los hombres mayores de 20 años padecen sobrepeso u obesidad. El aumento en la prevalencia de obesidad en México se encuentran entre los más rápidos documentados en el plano mundial, al haber incrementado del 9.5% a 35.2% entre los años 1988 a 2012 (Pública, 2012).

Con base en el Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria de estrategias contra el sobrepeso y obesidad, México ocupa el segundo lugar con mayor prevalencia de obesidad a nivel mundial (Salud., 2010).

2.2 LA ENFERMEDAD RENAL ASOCIADA A OBESIDAD

Los riñones son los principales órganos que componen el sistema renal. (Hall and Guyton, 2011). Cada riñón está constituido por nefronas que contienen un penacho de capilares glomerulares incapaces de regenerarse, cuya función es formar orina a partir de la ultrafiltración de la sangre (Hall and Guyton, 2011).

La enfermedad renal se debe a una pérdida progresiva e irreversible de un gran número de nefronas funcionales, provocando una pérdida progresiva de las funciones del riñón, y es una de las causas más importantes de muerte e incapacidad en muchos países del mundo (Hall and Guyton, 2011) (Shafi and Coresh, 2010). Entre los factores más importantes que desencadenan el desarrollo de la enfermedad renal crónica, y que en forma reciente han cobrado gran importancia, se encuentra la obesidad (Decleves and Sharma, 2015), ya que es un importante factor de riesgo para la hipertensión y la diabetes, las dos causas más importantes asociadas a la enfermedad renal crónica y la enfermedad renal terminal (Snyder et al., 2014).

Por otro lado, la obesidad genera un estado de inflamación crónica de bajo nivel provocada por un exceso de consumo de nutrimentos, y también se ha asociado a la progresión de la enfermedad renal (Hotamisligil, 2010).

Aproximadamente el 10% de la población mundial presenta insuficiencia renal crónica, y en México se ha reportado una prevalencia del 9.2% de la población general (Morales Ruiz and Praga Terente, 2008).

ACUMULACIÓN DE LÍPIDOS EN TEJIDO RENAL EN LA ENFERMEDAD RENAL ASOCIADA A OBESIDAD

Durante el establecimiento de la enfermedad renal asociada a obesidad, se da lugar a diversas alteraciones fisiológicas como: la pérdida de proteínas en orina por la afectación en la filtración glomerular (proteinuria) (Snyder and John, 2014); el reemplazo de tejido glomerular por proteínas de matriz extracelular (glomeruloesclerosis) (Wang et al., 2015a); y fibrosis alrededor de los túbulos renales (fibrosis tubulointersticial) (Soetikno et al., 2013).

Se ha descrito la presencia de depósitos lipídicos en el riñón de humanos obesos y de animales experimentales obesos, y se ha propuesto que éstos depósitos pueden desarrollar un papel importante en la patogénesis de la enfermedad renal asociada a obesidad (Soetikno et al., 2013).

Los mecanismos exactos por los cuales los depósitos lipídicos en riñón contribuyen en el daño renal no han sido descritos, pero se sabe que contribuyen en la localización de células espumosas y macrófagos en los glomérulos y las regiones intersticiales de los túbulos del riñón (Keane et al., 1993), así como la producción de especies reactivas de oxígeno que oxidan a las lipoproteínas de baja densidad (LDLs) y estimulan un proceso de inflamación y fibrosis a nivel renal, así como de apoptosis celular (Keane, 2000). Por otro lado, se ha descrito que la acumulación de lípidos en el riñón induce lipotoxicidad (alteraciones funcionales en la célula por acumulación de lípidos) y lipoapoptosis (muerte celular por acumulación de lípidos) en la células de tejido renal (Dominguez et al., 2007). Por ello, la acumulación de depósitos lipídicos anormales en riñón se considera un mediador de la enfermedad renal asociada a obesidad (Soetikno et al., 2013).

Las proteínas de unión a los elementos reguladores de esteroides (SREBPs) son una familia de factores de transcripción maestros que regulan múltiples genes involucrados en la síntesis de colesterol y ácidos grasos (Sun et al., 2002). Se han identificado y caracterizado tres isoformas: SREBP-1a, SREBP-1c y SREBP-2 (Brown and Goldstein, 1997). Se sabe que SREBP-1 y SREBP-2 tienen efectos

relativos diferentes sobre la expresión de genes blanco (Sun et al., 2002). SREBP-1 activa preferencialmente genes involucrados en la síntesis de ácidos grasos, incluyendo acetil CoA carboxilasa (ACC) y ácido graso sintasa (FAS); y SREBP-2 activa preferencialmente genes involucrados en la biosíntesis de colesterol, como la hidroximetilglutaril CoA sintasa y la hidroximetilglutaril CoA reductasa (Sun et al., 2002).

Se ha descrito en el modelo animal murino, que la regulación del factor de transcripción SREBP-1, se encuentra involucrada en la modulación del metabolismo lipídico a nivel renal (Sun et al., 2002). Además se ha demostrado asociación entre la sobreexpresión de SREBP-1, FAS y ACC con el incremento en la acumulación de triglicéridos y de depósitos lipídicos en tejido renal (Sun et al., 2002). Por lo que se ha propuesto que el incremento en la expresión de SREBP-1 y sus genes blanco se correlaciona con la glomerulosclerosis renal desarrollada durante el establecimiento de la enfermedad renal asociada a obesidad (Soetikno et al., 2013).

Otro importante modulador del metabolismo lipídico, es la proteína cinasa activada por el 5' adenosin monofosfato (AMPK) un sensor de energía y estado nutricional de células eucarióticas (Hardie, 2014). La relación entre la cantidad de adenosin monofosfato (AMP) y adenosín trifosfato (ATP) describe la situación de equilibrio energético celular (Hardie, 2014), ya que el ATP es el nucleótido fundamental de obtención de energía celular y el AMP se forma por la hidrólisis de ATP. La proteína AMPK, censa la relación AMP/ATP y si detecta un déficit de energía (mayor cantidad de AMP que ATP), restaura la homeostasis energética activando rutas metabólicas catabólicas (de oxidación) para la producción de ATP y desactivando las rutas metabólicas anabólicas (de síntesis) que consumen energía (Hardie, 2014). Se ha reportado que el AMPK es regulado por algunos polifenoles naturales de plantas como la curcumina (Kim et al., 2009) y el resveratrol (Price et al., 2012).

Se ha demostrado que la activación de AMPK por el consumo de curcumina (polifenol natural encontrado en la planta *C. Longa*) (Kim et al., 2009) conlleva a la

supresión de la expresión de SBREBP-1c en el tejido renal de murinos diabéticos, e inhibe la acumulación de triglicéridos renales, la formación de depósitos lipídicos y la expresión de genes lipogénicos blanco de la proteína SREBP-1 en tejido renal (Soetikno et al., 2013). La disminución de lípidos en tejido renal por la inhibición de SREBP-1 mejoró la proteinuria y la glomeruloesclerosis de las ratas tratadas con curcumina (Soetikno et al., 2013).

2.3 IMPORTANCIA DEL ESTRÉS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO EN LA LIPOGÉNESIS RENAL ASOCIADA A OBESIDAD

FUNCIÓN CELULAR DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO

El Retículo Endoplásmico (RE) es un orgánulo celular localizado en la región perinuclear del citoplasma (Bravo et al., 2013). Se han descrito dos tipos de estructuras membranosas del RE distinguidas por sus propiedades bioquímicas, morfológicas y sus características de sedimentación: el RE rugoso unido a ribosomas y el RE liso libre de ribosomas (Bravo et al., 2013).

El RE tiene un amplio rango de procesos dentro de los que se encuentran: la síntesis, plegamiento, modificación y transporte de proteínas (Hotamisligil, 2010, Schroder and Kaufman, 2005); la síntesis y distribución de lípidos y esteroides ya que es el sitio principal para ello (Bravo et al., 2013, Schroder and Kaufman, 2005); y el almacenamiento y liberación regulada de iones calcio (Bravo et al., 2013).

Las proteínas destinadas al RE y a otros orgánulos, o destinadas para secreción, se sintetizan en el RE (Bravo et al., 2013). Una vez sintetizadas en su conformación nativa, se lleva a cabo el plegamiento, las modificaciones post-traduccionales y el correcto ensamblaje del nuevo polipéptido (Schroder and Kaufman, 2005), y para lo que el RE cuenta con proteínas especializadas para asistir en este proceso (Bravo et al., 2013). Posteriormente, en el RE se realiza un control de calidad en donde sólo las proteínas plegadas correctamente se exportan al complejo de Golgi y las proteínas mal plegadas se retienen en el RE

para completar el proceso correctamente o ser degradadas (Schroder and Kaufman, 2005).

DEFINICIÓN DEL ESTRÉS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO

La alteración de la homeostasis y el correcto funcionamiento del RE por condiciones de estrés fisiopatológico, genera una alteración denominada como estrés de RE (Cunard and Sharma, 2011). Hay diversos factores asociados a esta condición, como la falta de nutrimentos, el exceso de nutrimentos, alteración de la glucosilación de proteínas, la inflamación, entre otros (Cunard and Sharma, 2011, Bravo et al., 2013). La presencia de estos factores ocasiona la alteración a las funciones del RE (Colgan et al., 2011) provocando una interferencia en el plegamiento normal y la maduración de las proteínas recién sintetizadas en el RE (Cunard and Sharma, 2011, Schroder and Kaufman, 2005), lo que provoca una acumulación de proteínas recién sintetizadas no plegadas o mal plegadas en el lumen del RE (Hotamisligil, 2010).

La acumulación de proteínas no plegadas o mal plegadas en el lumen del RE induce su agregación y propicia una toxicidad celular subsecuente, que puede afectar de manera muy importante la integridad de la célula (Cunard and Sharma, 2011), induciendo la condición de estrés del RE (Schroder and Kaufman, 2005). Por esta razón, corregir el estrés de RE es esencial para la supervivencia de la célula, ya que si no lo hace, esta condición puede conllevar a su muerte (Bravo et al., 2013).

ESTRÉS DEL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO Y RESPUESTA A PROTEÍNAS NO PLEGADAS (UPR: UNFOLDED PROTEIN RESPONSE)

La respuesta celular ante el estrés de RE es conocida como respuesta a proteínas mal plegadas o no plegadas (UPR: Unfolded Protein Response) (Hotamisligil, 2010, Bravo et al., 2013). La UPR es una ruta de señalización intracelular que induce la inhibición general de la traducción de proteínas para reducir la cantidad de proteína en tránsito a través del RE (Bravo et al., 2013), excepto por las

proteínas chaperonas del RE implicadas en ésta respuesta celular (Cunard and Sharma, 2011, Colgan et al., 2011), que a su vez buscan prevenir la agregación y facilitar el correcto plegamiento de las proteínas (Bravo et al., 2013). Así mismo, incrementa la degradación de proteínas no plegadas por la activación de la vía de degradación de proteínas asociada al RE (ERAD: ER Associated Degradation) (Bravo et al., 2013), vía que consiste en el marcaje por la unión covalente de cadenas de ubiquitina unidas a los residuos de lisina de las proteínas mal plegadas, que actúan como señal para la degradación de las mismas dentro de un complejo proteico denominado proteasoma (Meusser, 2005)(Cunard and Sharma, 2011). Finalmente, incrementa el volumen del RE por la estimulación de la síntesis de lípidos de membrana (Bravo et al., 2013), ya que ante la inducción del estrés del RE hay una alteración en el metabolismo de lípidos que provoca la síntesis acelerada de los mismos a partir de la sobreexpresión de genes maestros reguladores de lipogénesis (Colgan et al., 2011), cuyo mecanismo propuesto se describirá más adelante.

En principio, la respuesta a las proteínas mal plegadas o no plegadas (UPR) busca restablecer el funcionamiento normal del RE utilizando múltiples estrategias que actúan en paralelo y en serie (Cunard and Sharma, 2011) mediadas por tres sensores del RE 1) la proteína reclutadora de inositol 1 (IRE1) (**Figura 1**), 2) el factor de activación de la transcripción 6 (ATF6) (**Figura 2**), 3) la proteína cinasa del RE semejante a PKR (PERK) (Colgan et al., 2011) (**Figura 3**); sin embargo en condiciones de estrés de RE prolongado se activan vías dependientes de la UPR para inducir apoptosis (Colgan et al., 2011).

En condiciones normales, la activación de la UPR es reprimida por la unión de la proteína chaperona del RE regulada por glucosa 78 (GRP78: Glucose Regulated Protein 78) a los dominios luminales de IRE1, ATF6 y PERK y los mantiene inactivos (Cunard and Sharma, 2011). Cuando se induce el estrés del RE, GRP78 se disocia para unirse preferentemente a las proteínas no plegadas o mal plegadas (Cunard and Sharma, 2011), provocando la activación de las vías de estos tres sensores (Colgan et al., 2011) (**Figuras 1, 2 y 3**).

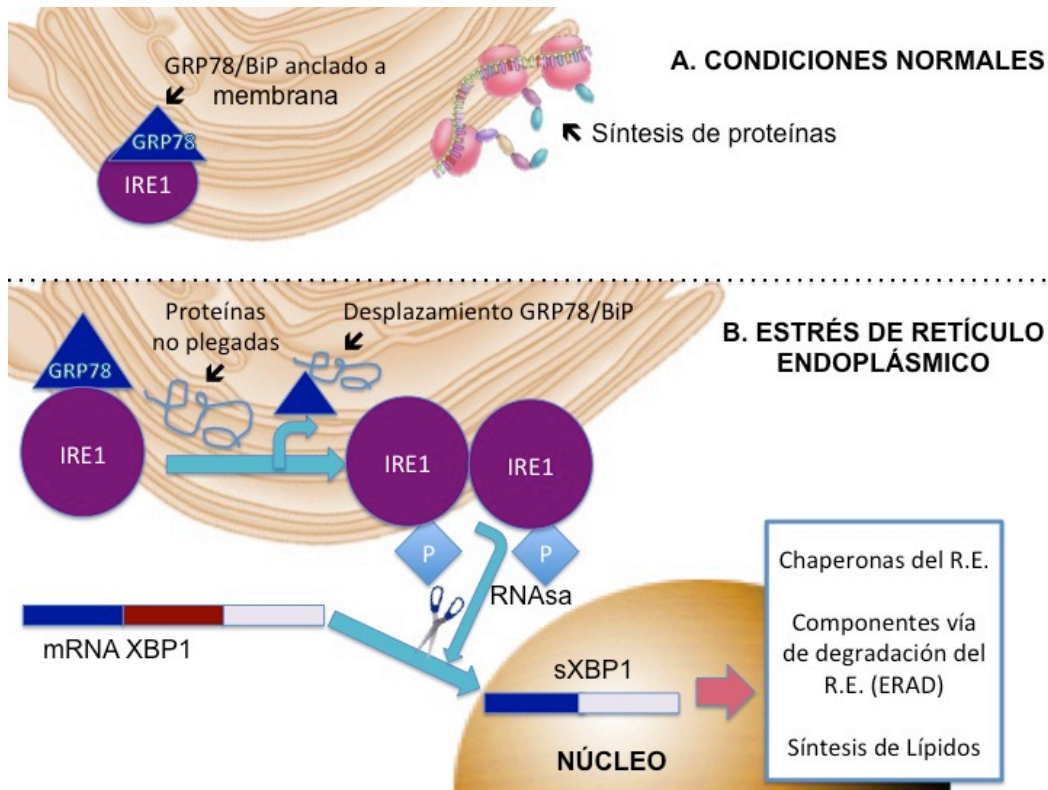


Figura 1. Esquema de la vía de IRE1 α durante la Respuesta a Proteínas No plegadas. **A.** En condiciones normales IRE1 (proteína transmembranal del RE) se encuentra unida a GRP78 y la síntesis de proteínas se lleva a cabo de manera adecuada. **B.** En presencia de la acumulación de proteínas no plegadas, GRP78 se disocia permitiendo la activación de IRE1 seguida de una dimerización y autofosforilación (Colgan et al., 2011). Posterior a la autofosforilación, la propiedad de RNAsa (Enzima que corta el ácido ribonucleico) de IRE1 α actúa sobre el mRNA del gen de la proteína de unión a X-box 1 (XBP1: X-box Binding Protein 1) removiendo un intrón y permitiendo la traducción de sXBP1 (spliced XBP1) a un factor de transcripción que induce la expresión de genes de proteínas chaperonas del RE componentes de la vía de degradación del RE y síntesis de lípidos (Colgan et al., 2011).

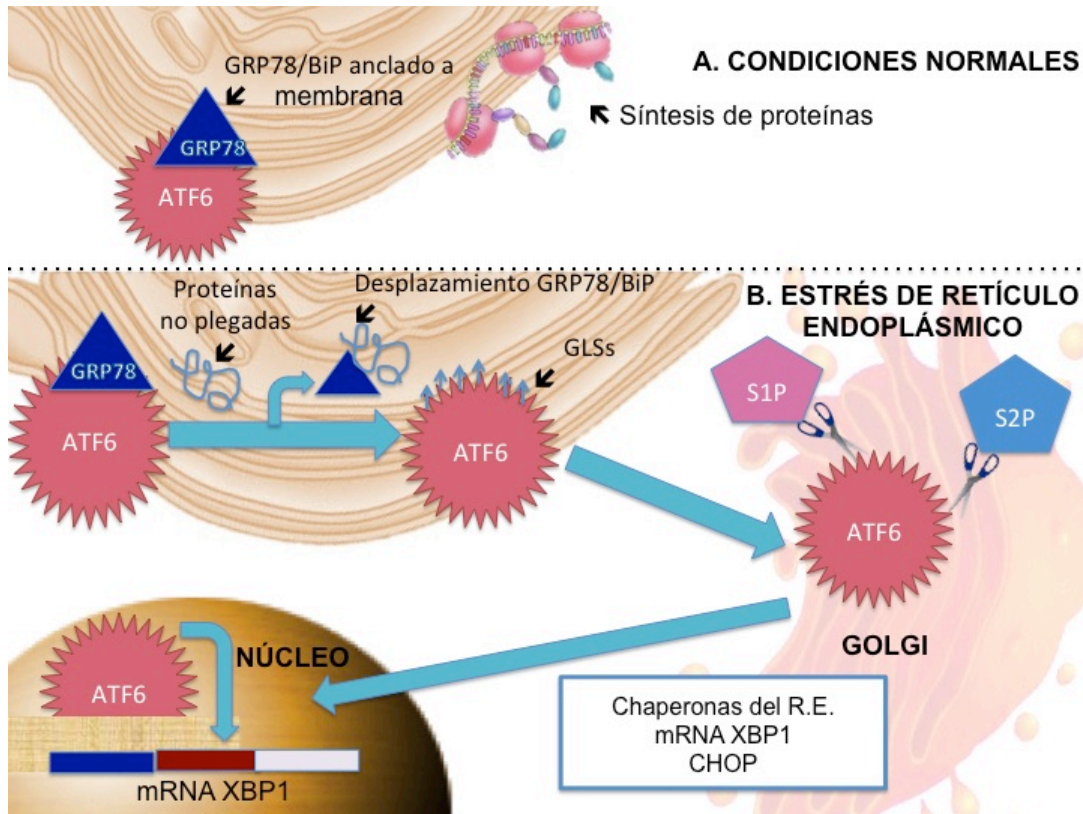


Figura 2. Esquema de la vía de ATF6 durante la Respuesta a Proteínas No plegadas. **A.** En condiciones normales ATF6 (proteína transmembranal del RE) se encuentra unida a GRP78 y la síntesis de proteínas se lleva a cabo de manera adecuada. **B.** En la acumulación de proteínas no plegadas, las señales de localización del aparato de Golgi (GLSs: Golgi Localisation Signals) en el dominio luminal de ATF6 son expuestas, seguido de la disociación de GRP78 (Colgan et al., 2011). Los GLSs expuestos promueven la translocación de ATF6 del RE al aparato de Golgi, donde sufre un corte proteolítico por las proteasas de sitio 1 y 2 (S1P: Site 1 Protease y S2P: Site 2 Protease), que son las mismas que llevan a cabo el corte de las proteínas de unión a los elementos reguladores de esteroides (SREBPs) (Colgan et al., 2011). Después del corte proteolítico, ATF6 se trasloca al núcleo e induce la expresión genética de XBP1, generando más sustrato para la vía de IRE1. Así mismo, induce la expresión de genes de proteínas chaperonas del RE y del factor de transcripción que induce muerte celular CHOP (proteína homóloga del potenciador de la proteína de unión CCAAT) (Colgan et al., 2011).

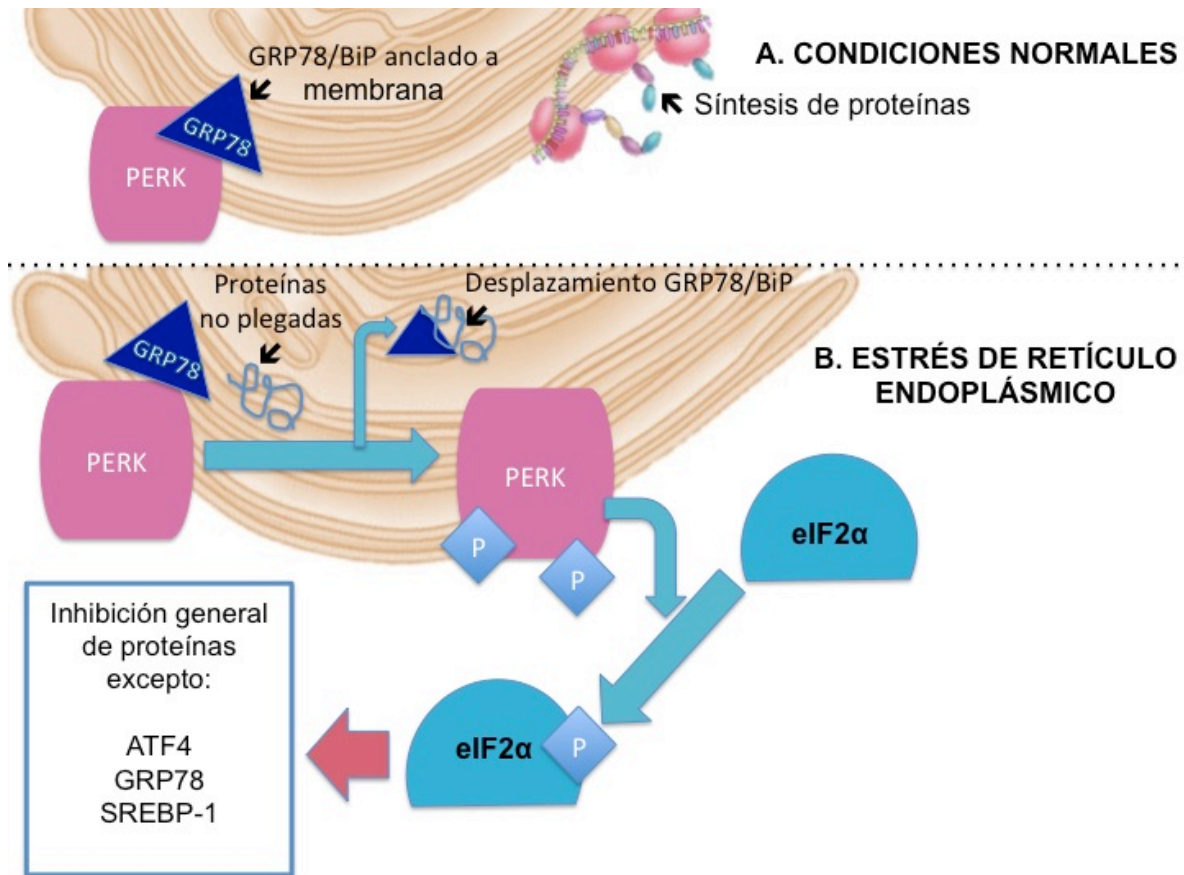


Figura 3. Esquema de la vía de PERK durante la Respuesta a Proteínas No plegadas. **A.** En condiciones normales PERK (proteína sensor transmembranal del RE) se encuentra unida a GRP78 y la síntesis de proteínas se lleva a cabo de manera adecuada. **B.** En presencia de proteínas no plegadas, GRP78 se disocia permitiendo la activación del dominio citosólico de cinasa de PERK seguida de una dimerización y autofosforilación (Colgan et al., 2011). Posterior a la autofosforilación, la propiedad de cinasa de PERK actúa sobre el factor eucariótico de iniciación de la traducción eIF2 α (Colgan et al., 2011). La fosforilación de eIF2 α provoca una inhibición general de la traducción de proteínas, excepto por ciertas chaperonas del RE, factores de la vía de degradación del RE y aquellas implicadas a la respuesta al estrés del RE como la proteína de unión al elemento regulador de esteroides 1 (SREBP-1), el factor activador de la transcripción 4 (ATF4) y GRP78, cuya expresión incluso se ve incrementada.

Los tres sensores de estrés del RE utilizan diferentes mecanismos para activar la UPR, sin embargo, en ciertos puntos, las tres vías se comunican entre sí; por ejemplo, la transcripción de XBP1 incrementa por la vía de ATF6 (**Figura 2**) y éste actúa como regulador negativo de XBP1 y, así mismo, promueve el corte del mRNA de XBP1 para la obtención de sXBP1 por la vía de IRE1 (**Figura 1**) (Bravo et al., 2013).

El estrés de RE altera importantes vías metabólicas al activar las tres vías de la UPR, lo que propone a esta condición como uno de los mecanismos potenciales involucrados en el establecimiento de enfermedades metabólicas crónicas como la obesidad, la resistencia a la insulina y la diabetes mellitus tipo 2, ya que las rutas metabólicas que altera el estrés del RE son críticas en estos padecimientos (Hotamisligil, 2010).

La vía de PERK (**Figura 3**) induce la fosforilación del factor de iniciación de la traducción eucariótico eIF2 α (eucariotic initiation factor 2 α). El factor de iniciación eIF2- α es una proteína encargada de tomar GTP y transformarlo a GDP al unirse al Met-tRNA (RNA de transferencia para el aminoácido de metionina inicial en la traducción de proteínas) y de transferirlo para formar el complejo de pre-iniciación traduccional (Sonenberg and Hinnebusch, 2009); la fosforilación de eIF2- α la inactiva y con ello propicia la inhibición general de la síntesis de proteínas. Sin embargo, existen ciertos RNAs mensajeros que no se ven afectados por la inhibición generalizada de la traducción de proteínas, e incluso incrementan su expresión (Colgan et al., 2011). Estos mRNAs son aquellos asociados a las vías de respuesta de la UPR, a la apoptosis y a la síntesis de lípidos (Colgan et al., 2011) entre los que se encuentran ATF4 (Factor de activación de la transcripción 4; Activating transcription factor 4) (Cunard and Sharma, 2011, Colgan et al., 2011), GRP78 (Colgan et al., 2011), SREBP-1c (Colgan et al., 2011, Wang et al., 2005), entre otros.

SREBP-1c, como se mencionó en el apartado de lipogénesis renal en la enfermedad renal asociada a obesidad, es un gen maestro de lipogénesis, que al incrementar su expresión durante el establecimiento del estrés del RE, incrementa

la biosíntesis de ácidos grasos y triglicéridos (Wang et al., 2005). Así mismo, el estrés de RE incrementa la expresión de SREBP2, otro gen maestro del metabolismo lipídico que incrementa la expresión de factores transcripcionales para la biosíntesis de colesterol (Colgan et al., 2011, Lhotak et al., 2012).

El incremento en la expresión de SREBP-1 y SREBP-2, incrementa a su vez la expresión de reguladores transcripcionales de la síntesis de lípidos: el receptor y activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR γ : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ), el receptor α activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR α : Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α), la ácido graso sintasa (FAS), la proteína potenciadora de unión CCAAT (C/EBP: CCAAT-Enhancer Binding Protein), entre otros (Daemen et al., 2013, Bravo et al., 2013). Así mismo, la expresión de sXBP-1 por las vías de IRE1 y ATF6, también induce la expresión de estos mismos genes de proteínas involucradas en la síntesis de lípidos (Colgan et al., 2011). Por ello, este mecanismo se propone como el motivo de la alteración en la regulación del metabolismo lipídico que propicia el incremento en la acumulación de lípidos, tanto a nivel renal (Tovar-Palacio et al., 2014) como a nivel hepático (Malhi and Kaufman, 2011) a consecuencia del establecimiento del estrés de RE.

Estas alteraciones fisiopatológicas ocasionadas por la activación del estrés del RE, se han relacionado a diversas patologías como la Diabetes Mellitus tipo 2, la resistencia a la insulina y la obesidad (Bravo et al., 2013).

EL ESTRÉS DE RETÍCULO ENDOPLÁSMICO EN LA OBESIDAD

Se sabe que la obesidad provoca anormalidades en el flujo intracelular de energía (Hotamisligil, 2010), disminuye la disponibilidad de nutrientes (Bravo et al., 2013), aumenta la acumulación excesiva de lípidos (Bravo et al., 2013), activa rutas de señalización de estrés celular e inflamación (Ozcan et al., 2004, Hotamisligil, 2010) y provoca estrés del RE (Ozcan et al., 2004).

Se demostró en un modelo animal de obesidad inducida por dieta y genética (ob/ob), que la obesidad es un estímulo crónico para el estrés de RE en tejidos periféricos (Ozcan et al., 2004, Ozcan et al., 2009), en donde se muestra que la obesidad provoca la inactivación del factor de iniciación eIF2 α (p-eIF2 α) (Ozcan et al., 2004), la activación de la proteína transmembranal PERK involucrada en la UPR (p-PERK) (Ozcan et al., 2004, Ozcan et al., 2009), la activación del factor proapoptótico JNK (p-JNK) (Ozcan et al., 2004, Ozcan et al., 2009), el incremento en la expresión del mRNA de la proteína chaperona GRP78 (Ozcan et al., 2004).

El estrés del RE, también es un mecanismo clave involucrado en el establecimiento de la resistencia a la insulina (Ozcan et al., 2004). Se demostró en un modelo murino de obesidad inducida por dieta que la activación de la vía de IRE1 α activa la cascada del factor proapoptótico JNK (c-Jun-N-terminal kinase), e inhibe la acción de la insulina (Ozcan et al., 2004), al mismo tiempo que altera la señalización del receptor de insulina por medio de sXBP1 (Ozcan et al., 2004). Lo que demuestra que la activación de la cascada de JNK y la expresión de sXBP1 relacionan el estrés del RE con la diabetes mellitus tipo 2 en un modelo murino de obesidad inducida por dieta (Ozcan et al., 2004).

EL ESTRÉS DE RETÍCULO ENDOPLÁSMICO EN LA LIPOGÉNESIS RENAL

En un proyecto realizado por nuestro grupo de trabajo, se demostró que el estrés del RE provoca la acumulación excesiva de lípidos en tejido renal ante la inducción farmacológica del estrés de RE por tunicamicina (Tovar-Palacio et al., 2014). La tunicamicina se utilizó como un inductor farmacológico del estrés del RE debido a que es un inhibidor de la glucosilación de proteínas y la formación de enlaces carbohidrato-proteína N-glucosídicos (Nair et al., 2007), lo que propicia la acumulación de proteínas mal plegadas en el lumen del RE y con ello induce el estrés del RE y la activación de la UPR.

Como se mencionó en un apartado anterior, la acumulación de triglicéridos y la formación anormal de depósitos lipídicos se encuentran asociados con el desarrollo de la enfermedad renal asociada a obesidad (Dominguez et al., 2007)

(Soetikno et al.), por lo que se propuso al estrés de RE como un posible mecanismo causante de la lipogénesis renal en la enfermedad renal asociada a obesidad (Tovar-Palacio et al., 2014).

Algunos de los resultados más relevantes que se obtuvieron en este proyecto (Tovar-Palacio et al., 2014) se muestran y se describen a continuación.

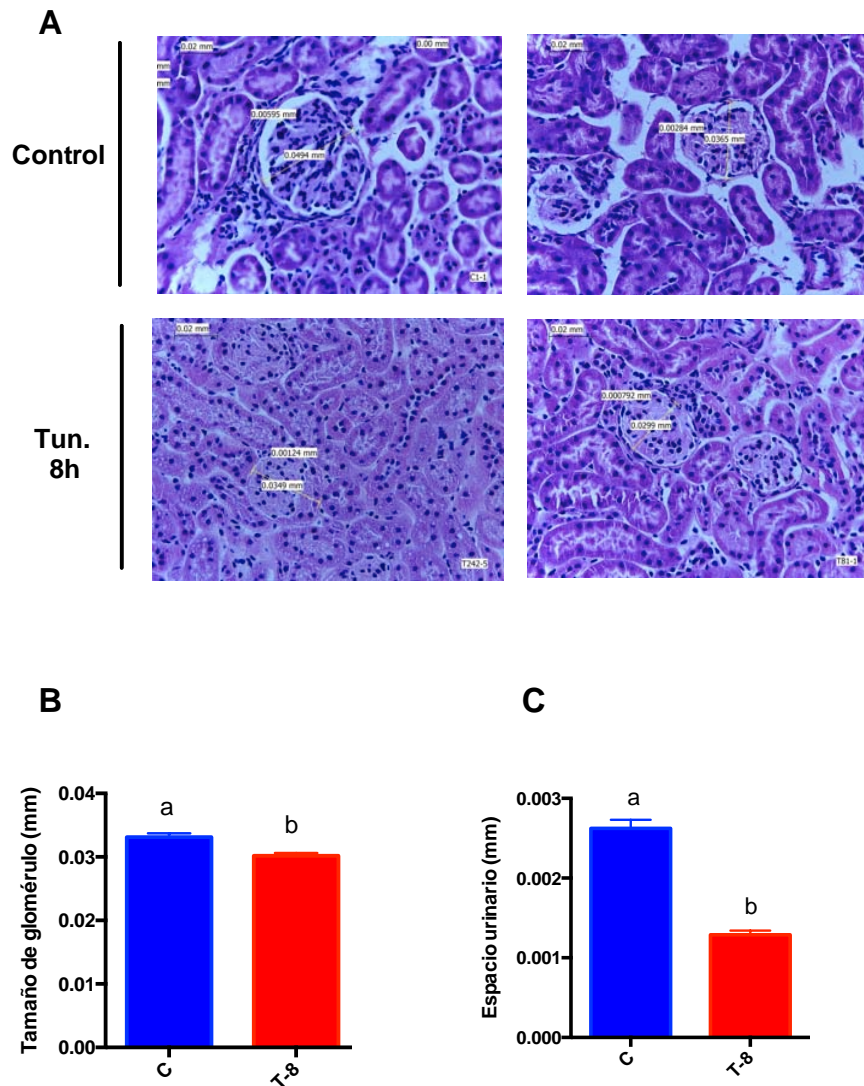


Figura 4. Efecto del estrés del RE en histologías de tejido renal. **A.** Imágenes del análisis histológico de cortes de tejido renal teñidos con hematoxilina-eosina. **B.** Gráfico de comparación de valores del tamaño de glomérulo renal (mm). **C.** Gráfico de comparación de valores de tamaño de espacio urinario en el glomérulo renal (mm). n=4 por grupo exp., 10 glomérulos por animal. ANOVA 1 vía (a>b) (Tovar-Palacio et al., 2014).

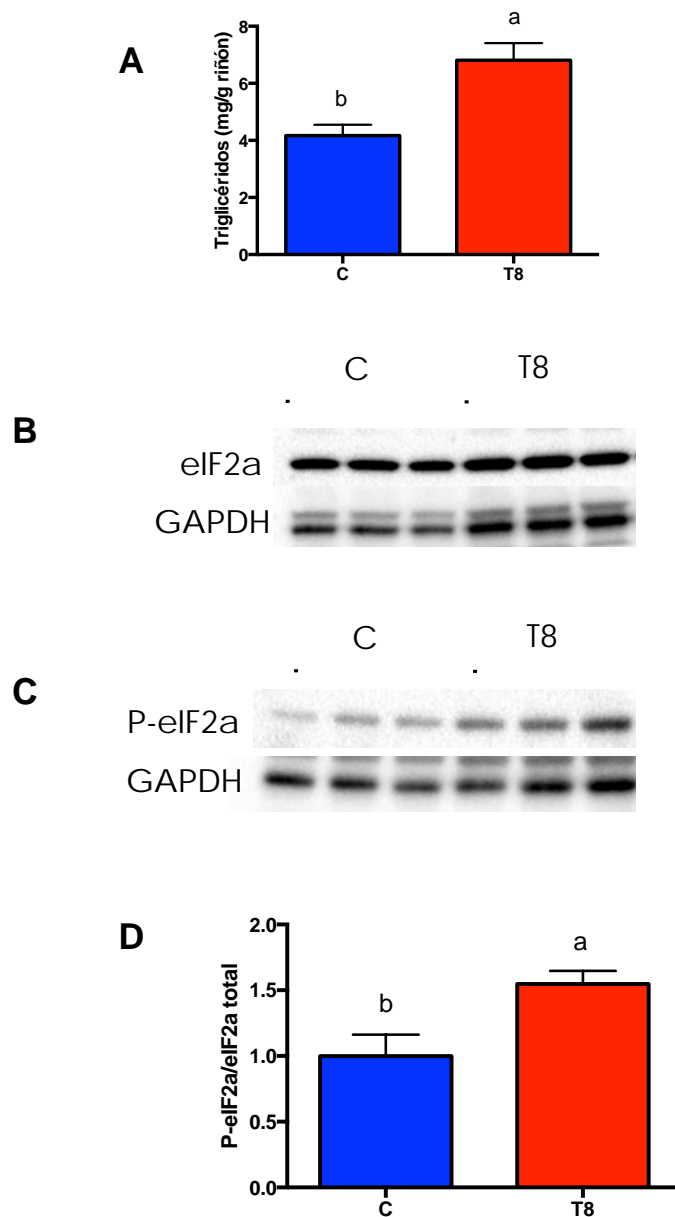


Figura 5. Efecto del estrés de RE sobre la concentración de triglicéridos en tejido renal y la expresión del factor de iniciación de la traducción eIF2 α y P- eIF2 α . **A.** Concentración de triglicéridos (mg/g riñón) en tejido renal. **B.** Western blot de eIF2 α total, housekeeping GAPDH. **C.** Western blot de P- eIF2 α , housekeeping GAPDH. **D.** Relación de densitometría de P-eIF2 α /eIF2 α total normalizadas con GAPDH. n=3 por grupo experimental. ANOVA 1 vía (a>b) (Tovar-Palacio et al., 2014).

En la **Figura 4A** se muestran dos imágenes de cortes histológicos de tejido renal teñidos con hematoxilina-eosina para cada tratamiento, un grupo control (C),

grupo administrado con tunicamicina 8 h previas a la eutanasia (T8), y las mediciones de los mismos. En las **Figuras 4B y C**, se muestra la relación de los valores del tamaño de glomérulo y de espacio urinario, en donde se demuestra que en el modelo animal en ratones C57BL/6 con inducción del estrés del RE (T8), el tamaño de glomérulo y el espacio urinario disminuyen significativamente, debido a la atrofia del glomérulo renal (disminución adquirida del tamaño y volumen celular del glomérulo renal) como mecanismo de respuesta a la lesión aguda por la inducción del estrés del RE; así mismo, la inflamación aguda en el interior del glomérulo provoca que el espacio urinario disminuya ante la lesión, generando como consecuencia la disminución del índice de filtrado glomerular, antecedente previo de la insuficiencia renal crónica (Morales Ruiz and Praga Terente, 2008).

En la **Figura 5A** se muestra el incremento en la concentración de triglicéridos en tejido renal del grupo expuesto a la inducción farmacológica del estrés del retículo endoplásmico (T8) en relación al grupo control (C). Como se mencionó previamente (**Figura 3**), durante la activación de la UPR en el estrés del retículo endoplásmico, a pesar de la fosforilación del factor de iniciación de la traducción eIF2- α , algunos RNAs mensajeros no se ven afectados por la inhibición generalizada de la traducción; uno de estos mRNAs es SREBP-1c, gen maestro de lipogénesis (Colgan et al., 2011), lo que provoca que la síntesis de lípidos no se vea afectada e incluso incrementa su expresión ante la inducción del estrés de retículo endoplásmico, lo que provoca el incremento en la síntesis de lípidos en tejido renal y por lo tanto, el aumento en la concentración de triglicéridos en tejido renal (Tovar-Palacio et al., 2014).

Adicional a la extracción de triglicéridos mostrada, nuestro equipo de trabajo determinó la expresión de la proteína de SREBP-1c en tejido renal, en donde se demostró el incremento significativo de la expresión de esta proteína lipogénica en el grupo que al que se le indujo estrés del RE (T8) en relación al grupo control (C). Esto demuestra que el incremento de triglicéridos en tejido renal está asociada al incremento en la expresión de SREBP-1c (Tovar-Palacio et al., 2014). Por ello, se propuso que el estrés de RE induce la lipogénesis renal a través del gen maestro

de lipogénesis SREBP-1, y es un posible mecanismo de la formación de depósitos lipídicos en la enfermedad renal asociada a obesidad (Tovar-Palacio et al., 2014).

En la **Figura 5 B**, se muestra la disminución de la expresión del factor de iniciación de la traducción eIF2- α total de los ratones en los que se indujo estrés del RE con tunicamicina 8 h previas a la eutanasia (T8) respecto al grupo control (C); y en la **figura 5 C** se observa el incremento en la expresión del factor de iniciación eIF2- α fosforilado (inactivo) en el grupo tratado con tunicamicina 8 h previas a la eutanasia (T8) respecto al grupo control (C). La relación de la expresión relativa del factor de iniciación eIF2- α fosforilado entre el factor de iniciación eIF2- α total, se muestra en la **Figura 5 D** (Tovar-Palacio et al., 2014).

El incremento significativo en la fosforilación del factor de iniciación de la traducción eIF2- α (estado inactivo) en los ratones del grupo al que se indujo el estrés del RE (T8), muestra la activación de la UPR por medio de la vía de respuesta de la proteína transmembranal PERK, que conduce a la fosforilación de eIF2- α (Colgan et al., 2011). La fosforilación de éste factor de iniciación de la traducción provoca la inhibición de la traducción de proteínas por efecto de la inducción del estrés de RE como mecanismo de defensa celular, para detener la síntesis de nuevas proteínas mal plegadas que continúen acumulándose en el lumen del RE y no se permita resolver la condición de estrés del RE endoplásmico (Cunard and Sharma, 2011), lo que provoca la disminución de la traducción del factor de iniciación eIF2- α total y por lo tanto su expresión (Tovar-Palacio et al., 2014).

Por lo que, con este proyecto previo, se demostró que la inducción farmacológica del estrés del RE, por medio de administración de tunicamicina 8 h previas a la eutanasia, causa inflamación importante de los glomérulos renales disminuyendo de forma significativa el tamaño de espacio urinario y provoca una alteración fisiológica que conlleva a una reducción en la tasa de filtrado glomerular; la inducción del estrés del RE provoca un incremento en la expresión de SREBP-1c en tejido renal, lo que provoca una acumulación excesiva anormal de triglicéridos en tejido renal, lo que se ha descrito como un mecanismo de la enfermedad renal crónica asociada a obesidad; y finalmente, el incremento en la expresión de la

fosforilación del factor de iniciación de la traducción eIF2- α confirma la activación de la UPR por la inducción del estrés del RE a nivel renal, provocando una inhibición general de la traducción de proteínas, excepto por algunos mRNAs, entre los que se encuentra SREBP-1c antes mencionado (Tovar-Palacio et al., 2014).

Por lo tanto, al demostrar que el estrés del RE provoca lipogénesis renal, se puede proponer como un posible mecanismo del desarrollo de la enfermedad renal asociada a obesidad, dado que la obesidad se ha demostrado que es un estímulo crónico para la inducción del estrés del RE (Tovar-Palacio et al., 2014), por lo que es importante encontrar algún compuesto modulador de la respuesta al estrés del RE y por lo tanto de la lipogénesis renal durante el establecimiento de la obesidad.

Para ello se propone observar el efecto del resveratrol, un polifenol natural de la dieta, sobre el estrés del RE en la lipogénesis renal. Ya que, se ha demostrado que el AMPK, modulador importante del metabolismo lipídico, es regulado por el resveratrol (Price et al., 2012) y podría modificar la respuesta ante la inducción del estrés del RE en el establecimiento de la obesidad al disminuir la acumulación de triglicéridos en tejido renal, disminuir la expresión del gen maestro lipogénico SREBP-1 y de sus genes lipogénicos blanco en tejido renal, y en consecuencia, mejorar la función renal; como se demostró con la curcumina, un polifenol natural activador de la ruta de AMPK (Soetikno et al., 2013).

2.4 EL RESVERATROL: ESTRUCTURA, CARACTERÍSTICAS Y BENEFICIOS A LA SALUD

ESTRUCTURA, CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y GENERALIDADES SOBRE EL RESVERATROL

El resveratrol (3, 5, 4'-trans-trihidroxiestilbeno) es un polifenol natural miembro de la familia de los estilbenos (Gambini et al., 2013, Fernández-Mar et al., 2012). Su estructura base consiste en la unión de dos anillos fenólicos por un doble enlace estireno que forma el 3,5,4'-trihidroxiestilbeno, con un peso molecular de 228.25 g/mol (Gambini et al., 2013)

El doble enlace estireno que el resveratrol posee en su estructura permite la existencia de dos formas isoméricas de este compuesto; *cis*-resveratrol y *trans*-resveratrol (Gambini et al., 2013) (**Figura 6**). Siendo el isómero *trans* el más estable desde el punto de vista estérico (Gambini et al., 2013).

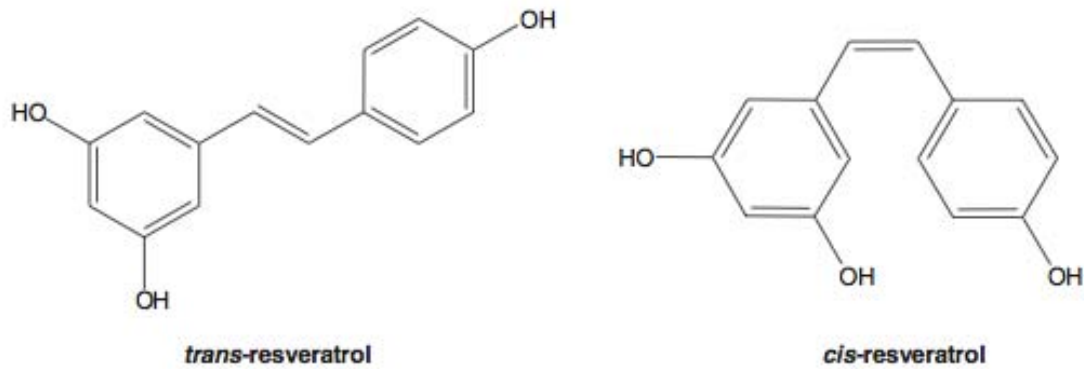


Figura 6. Estructura química del *cis*-resveratrol y *trans*-resveratrol (Imagen de Gambini et al., 2013)

La síntesis del *trans*-resveratrol inicia con la biotransformación de una molécula de fenilalanina en Cumaril CoA, que se condensa con tres moléculas de Malonil CoA por medio de la enzima resveratrol sintetasa, que pertenece a la familia de las estilbeno sintetasa (Gambini et al., 2013) (**Figura 7**).

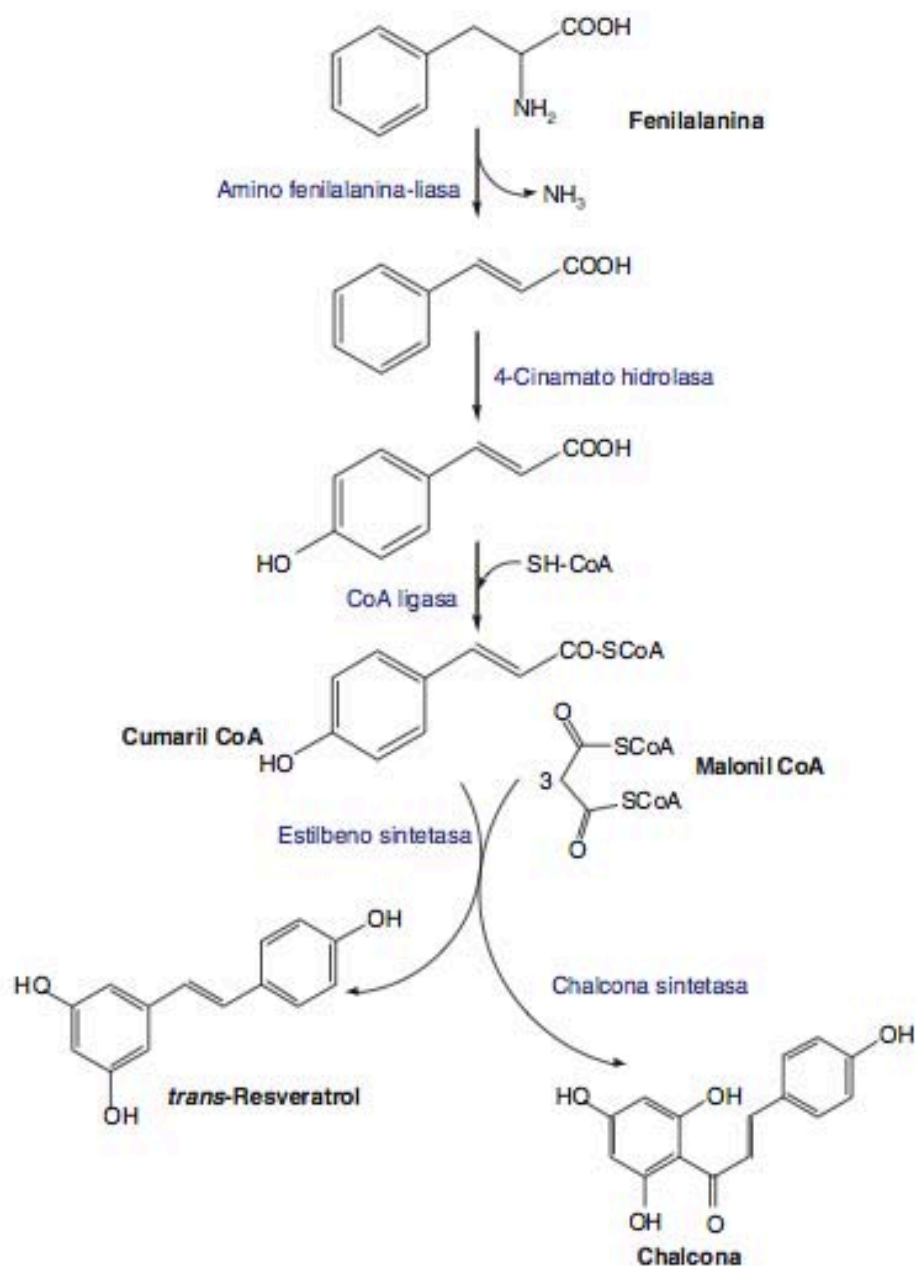


Figura 7. Esquema de la biosíntesis de resveratrol (Imagen de Gambini et al., 2013)

La familia de las estilbeno sintetetas, dentro de la que se encuentra la resveratrol sintetasa, es codificada por una familia multigénica de genes agrupados de acuerdo a su sensibilidad ante señales externas, como estrés abiótico o señales bióticas originadas por células fúngicas (Gambini et al., 2013). Por lo que el resveratrol es sintetizado en las hojas de más de 70 especies de plantas (como

Veratrum grandiflorum (Gambini et al., 2013), *Vitis vinífera* (Fernández-Mar et al., 2012), entre otras) como una respuesta ante situaciones estresantes para la planta, como infecciones fúngicas o exposición a radiación ultravioleta (Fernández-Mar et al., 2012)(Gambini, 2013).

El resveratrol pertenece al grupo de las fitoalexinas (Fernández-Mar et al., 2012, Gambini et al., 2013), sustancias químicas producidas como consecuencia de un mecanismo de resistencia a las condiciones adversas, caracterizadas por ser capaces de inhibir el progreso de ciertas infecciones fúngicas al inactivar las ATPasas de ciertos hongos e inducir la disociación de algunas chaperonas de su citoesqueleto (Gambini, 2013).

El resveratrol está presente en diversos alimentos que forman parte de la dieta humana (Gambini et al., 2013), tales como: diferentes tipos de bayas, arándanos (*Vaccinum spp.*), moras (*Vaccinum spp.*), cacahuete (*Arachis hypogaea*), pistache (*Pistaciaceae*), uvas (*Vitaciaceae*), entre otros (Gambini et al., 2013) (Novelle et al., 2015). De todos los alimentos mencionados, las uvas de viñedo *Vitis vinifera* presentan el mayor contenido de resveratrol, por lo que el vino es una de las fuentes principales de resveratrol en la dieta (Fernández-Mar et al., 2012, Gambini et al., 2013), ya que además, el alcohol producido durante la fermentación del vino favorece su solubilidad y extracción (Gambini et al., 2013).

El isómero más abundante en el vino es el *trans*-resveratrol (Gambini et al., 2013), y su contenido procede de las semillas y la piel de la uva (Fernández-Mar et al., 2012). Su concentración es mayor en el vino tinto que en el vino blanco y rosado, ya que en el proceso de la obtención del vino tinto, la piel de la uva y las semillas están en contacto todo el proceso de fermentación (Fernández-Mar et al., 2012); mientras que en el vino blanco y rosado se desechan esas partes (Gambini et al., 2013). Por esta razón, la concentración promedio de resveratrol en el vino tinto es mayor que en el vino rosado y blanco (Fernández-Mar et al., 2012).

La concentración de resveratrol en las diferentes variedades de vino depende de varios factores, tales como la variedad de la uva, la región geográfica, los factores agronómicos, los factores climáticos, las condiciones de estrés de la planta, entre

otros (Fernández-Mar et al., 2012). Algunos ejemplos sobre la concentración y la variedad del contenido de trans-resveratrol en el vino se presentan en la **tabla 1**.

Tabla 1. *Contenido de trans-resveratrol (mg/l) en las variedades más populares de vino tinto.* (Tabla de datos modificada de Fernández-Mar et al., 2012).

Variedad	<i>trans-resveratrol (mg/l)</i>		<i>trans-resveratrol (mg/l)</i>
	Bajo	Alto	<i>promedio</i>
<i>Merlot</i>	0.3	14.3	2.8 ± 2.6
<i>Graciano</i>	0.8	2.5	1.9 ± 0.8
<i>Syrah</i>	0.2	3.2	1.8 ± 0.9
<i>Cabernet Sauvignon</i>	n.d.	9.3	1.7 ± 1.7
<i>Tempranillo</i>	0.2	2.5	1.3 ± 0.7

EL VINO EN MÉXICO

En México, la demanda de la categoría de vino en el mercado ha venido creciendo a ritmos del 12% anual durante la última década. Aproximadamente el 17% de la población adulta mexicana consume vino, y el consumo per cápita es de aproximadamente 0.55 litros per capita (Consejo Mexicano Vitivinícola).

Tabla 2. *Proporciones del Mercado Mexicano de Vinos en 2012* (Tabla obtenida del sitio Web del Consejo Mexicano Vitivinícola).

Volumen	62 134 000 litros
	6 903 000 cajas
Valor	10 300 millones de pesos

Se espera que en la actual década de 2010-2020, el consumo per cápita incremente a niveles de 2 litros per cápita, así como un crecimiento en la producción hasta niveles entre 15 y 20 millones de cajas (Consejo Mexicano Vitivinícola).

Dentro de la clasificación mundial del mercado de vino, México se considera un país importador de vino no tradicional, siendo uno de los 10 principales países que importan vino a España (Mariani et al., 2012).

Actualmente, la industria mexicana del vino está integrada por más de 100 bodegas y productores de uva para vino, ubicados en las diferentes zonas vitivinícolas del país: Baja California, Coahuila, Querétaro, Zacatecas, Guanajuato y Aguascalientes; ofreciendo más de 350 etiquetas de vinos mexicanos.

EL RESVERATROL EN LA SALUD

El resveratrol es un compuesto bioactivo que ha demostrado tener diversos efectos benéficos para salud (Novelle et al., 2015). Entre éstos efectos benéficos se encuentra la reducción de la inflamación en ciertas patologías (Vella et al., 2015, Inoue and Nakata, 2015), la disminución de marcadores de estrés oxidante (Vella et al., 2015) (Bagul et al., 2012), la contribución al control de la hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia (Xie et al., 2014, Alberdi et al., 2013), la regulación de la concentración de glucosa en suero y la mejora en la sensibilidad a la insulina (Sin et al., 2015, Burgess et al., 2011), la disminución de la acumulación de lípidos en hígado (esteatosis hepática) (Alberdi et al., 2013, Andrade et al., 2014, Choi et al., 2014), entre otros. Es por ello que el resveratrol se considera como una molécula útil en la prevención y tratamiento de diversas enfermedades crónicas (Novelle et al., 2015), y en éste proyecto se plantea al resveratrol como un posible modulador de la respuesta al estrés del RE en la lipogénesis renal .

En la **Figura 8.** se presenta un esquema general sobre los efectos benéficos del resveratrol reportados en diversos protocolos clínicos en humanos con diabetes mellitus tipo 2 (Bhatt et al., 2012, Brasnyo et al., 2011), obesidad (Mendez-del Villar et al., 2014, Poulsen et al., 2013), enfermedades cardiovasculares (Magyar et al., 2012, Tome-Carneiro et al., 2012), y distintos tipos de cáncer (Zhu et al., 2012, Howells et al., 2011).

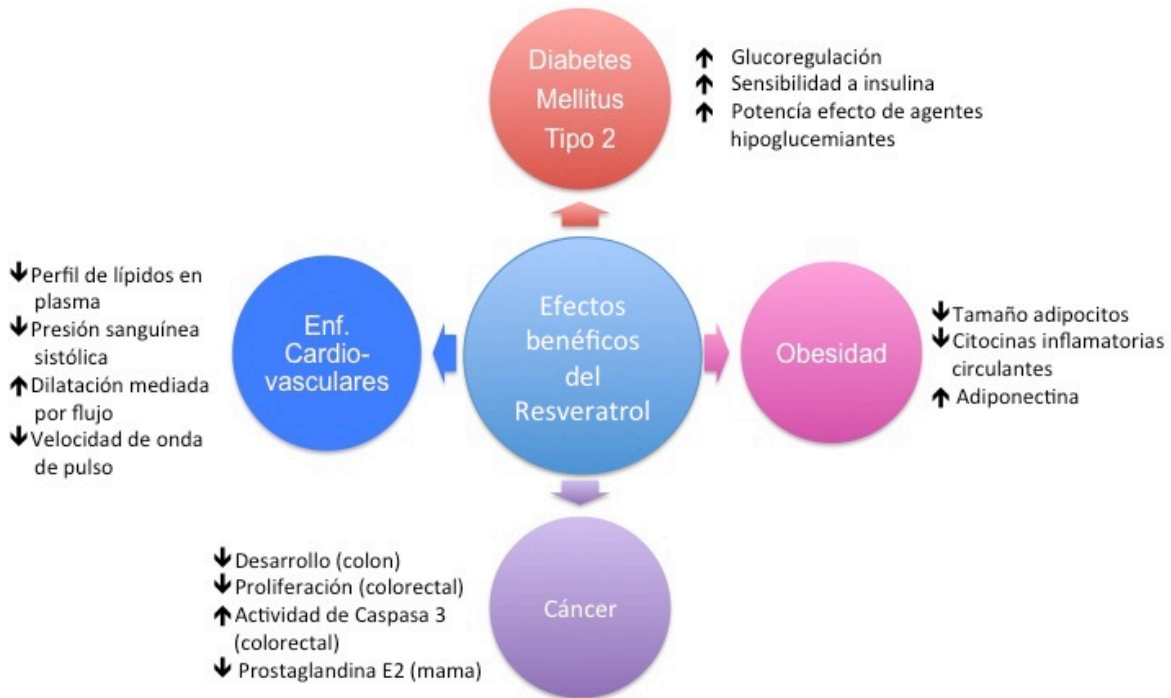


Figura 8. Esquema a manera de resumen de los efectos benéficos de la suplementación con resveratrol de pruebas clínicas en humanos conducido en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, obesidad, enfermedades cardiovasculares y diferentes tipos de cáncer. (Esquema modificado de Novelle, et al. 2015).

Se ha demostrado que el resveratrol es capaz de incrementar la esperanza de vida en numerosos organismos menores como *Saccharomyces cerevisiae* (Howitz et al., 2003), *Caenorhabditis elegans* (Wood et al., 2004) y *Drosophila melanogaster* (Wood et al., 2004, Lam et al., 2013), sin embargo, no se ha reportado la extensión de la esperanza de vida en estudios con animales alimentados con una dieta estándar (Miller et al., 2011, Strong et al., 2013, Novelle et al., 2015). Esto a su vez, se encuentra relacionado con el concepto donde se ha propuesto que el resveratrol, es efectivo únicamente bajo condiciones de estrés metabólico (Baur et al., 2006) (Novelle et al., 2015).

El resveratrol está asociado con la regulación de la expresión de genes del metabolismo energético, de fosforilación oxidativa y de biogénesis mitocondrial, ya que induce la activación de la enzima sirtuina 1 (Sirt1: silent mating-type information regulation 2 homolog 1) (Price et al., 2012, Petrovski et al., 2011, Samuel et al., 2008) y la fosforilación de la proteína cinasa activada por AMP (AMPK) (Wang et al., 2015b, Price et al., 2012). La activación de Sirt1 y AMPK incrementa la velocidad metabólica oxidativa (Xu and Si, 2012, Lagouge et al., 2006) y la temperatura corporal durante el ayuno en el establecimiento de la obesidad a partir de una dieta alta en grasa (Lagouge et al., 2006, Xu and Si, 2012). Por ello se dice que el resveratrol induce un efecto metabólico similar al de una dieta con restricción calórica, ya que se ha demostrado que en el consumo de resveratrol a largo plazo, se inducen patrones en la expresión de Sirt1, AMPK y genes adipogénicos muy semejantes a los que presenta una dieta con restricción calórica (Chung et al., 2012, Price et al., 2012, Lam et al., 2013)

La enzima AMPK es una cinasa encargada de mantener el balance entre la producción y el consumo de ATP en células eucariotas (Hardie, 2014). La activación de esta enzima se da debido a la elevación de la relación de AMP/ATP intracelular, generalmente causada por restricción energética (Bandow et al., 2015) (Hardie, 2014). La activación del AMPK por el resveratrol resulta de la inhibición competitiva de la fosfodiesterasa específica de adenosín monofosfato cíclico (cAMP) (PDE-4: phosphodiesterase 4) que eleva el nivel de cAMP, esto genera la activación de un factor de intercambio de nucleótidos de guanina regulado por cAMP (Epac1) y la proteína cinasa A dependiente de cAMP (PKA), que activan la ruta CaM-cinasa-cinasa β -AMPK, que resulta en la fosforilación de AMPK y con ello su activación (**Figura 3**) (Chung et al., 2012).

Una vez activa AMPK, se activa el factor de transcripción denominado Elemento de respuesta de cAMP (CREB: cAMP response element-binding), que induce la transcripción del coactivador del Receptor activado por proliferador de peroxisoma γ (PGC-1 α : peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1; cofactor transcripcional de PPAR α y PPAR γ , asociado a termogénesis y biogénesis mitocondrial) paralelamente a un incremento en los niveles de NAD⁺ (Nicotinamida Adenina Dinucleótido; coenzima encargada del intercambio de

electrones en la producción de energía intracelular) y a la inducción la activación de la enzima Sirt 1 (**Figura 9**) (Chung et al., 2012, Xu and Si, 2012).

La enzima Sirt1 pertenece una familia de proteínas que poseen actividad de desacetilasas, y contribuyen a la regulación celular modulando diversos procesos biológicos asociados al metabolismo energético y respuestas al estrés oxidante (Price et al., 2012). La Sirt1 desacetila al coactivador PGC-1 α en los residuos de lisina, lo que provoca su activación (**Figura 9**), y con ello promueve la termogénesis y la biogénesis mitocondrial (Xu and Si, 2012, Lagouge et al., 2006) de manera dependiente a la fosforilación de AMPK (Hardie, 2014, Price et al., 2012). La activación de PGC-1 α por el consumo de resveratrol, está asociada a una reducción en la acumulación de lípidos en tejido adiposo (Hardie, 2014, Chung et al., 2012), una mejora en la tolerancia a hidratos de carbono y la sensibilidad a la insulina (Hardie, 2014, Lagouge et al., 2006) ,y un incremento en el rendimiento físico (Lagouge et al., 2006, Hardie, 2014, Chung et al., 2012).

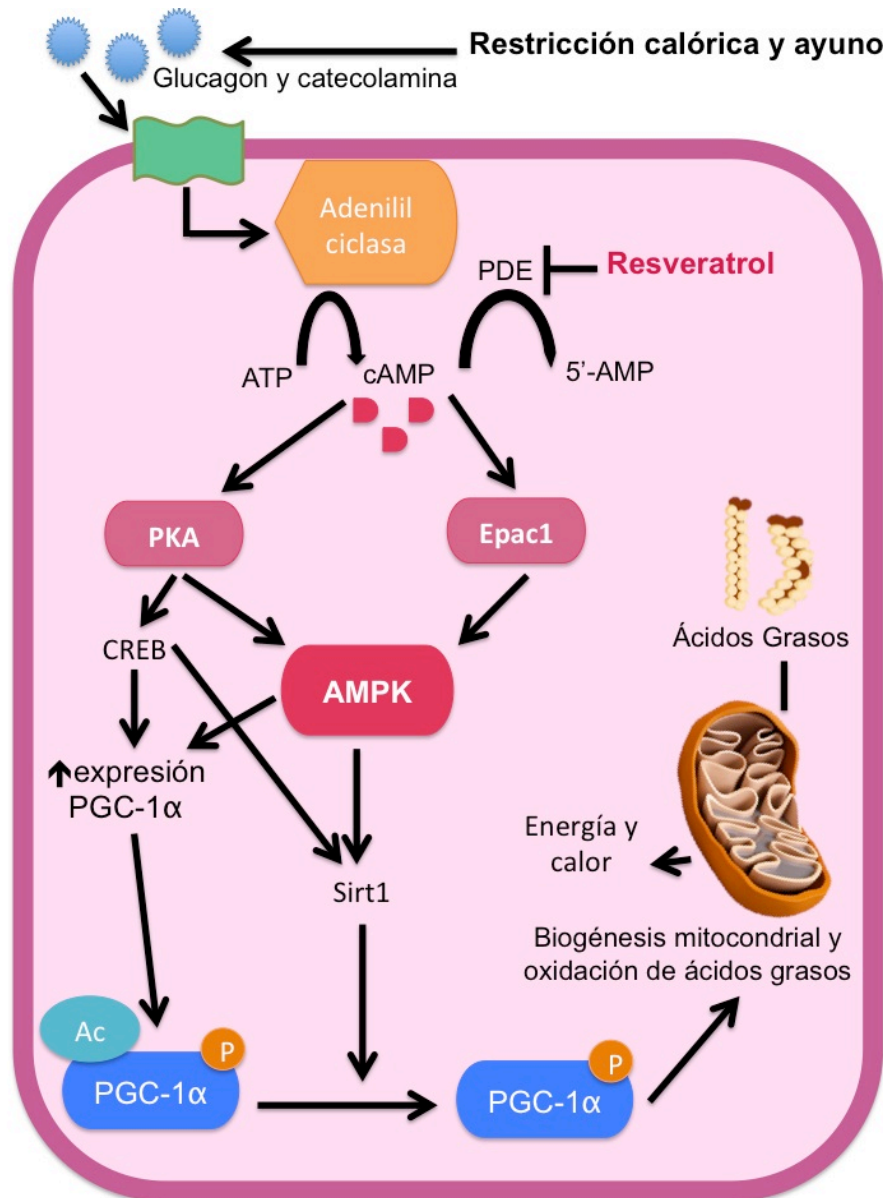


Figura 9. Efecto mimético del resveratrol con una dieta con restricción calórica mediante la inhibición de la cAMP fosfodiesterasa (PDE). (Imagen modificada basada en Chung, et al., 2012)

Se ha evaluado la suplementación de resveratrol en estudios donde se han reportado dosis desde 4.9 mg/kg p.c./día (Barger et al., 2008) y hasta 4 g/kg pc/día (Dolinsky et al., 2011). Con ello se ha demostrado que el resveratrol activa la vía de Sirt1 en dosis de moderadas a altas (150 mg/kg pc/día a 2 g/kg pc/día) (Chung et al., 2012). La dosis utilizada para la suplementación de resveratrol en la dieta de este estudio fue de 200 mg/kg pc/d, considerada como una dosis moderada, que

ha demostrado tener efectos benéficos a nivel metabólico, ya que Lagouge y colaboradores, así como Robb y colaboradores, han demostrado que el resveratrol activa la ruta de AMPK/Sirt1 a partir de ésta dosis y en mayores (Lagouge et al., 2006, Robb et al., 2008), por lo que se propone que utilizando esta dosis sea posible tener un efecto significativo en el metabolismo lipídico en estudio.

Por otro lado, se sabe que la absorción del resveratrol por consumo vía oral es del 75%, sin embargo, la biodisponibilidad de éste compuesto es del 1%, por lo que para obtener efectos significativos las dosis empleadas en general se utilizan entre moderadas y altas.

Se ha reportado que la activación de las enzimas Sirt1 y el incremento en la fosforilación de AMPK por el consumo de resveratrol, disminuyen la expresión de diversos factores adipogénicos, como la proteína sintasa de ácidos grasos (FAS) (Kim et al., 2011) (Rayalam et al., 2008), el receptor activado por proliferador de peroxisoma γ (PPAR- γ) (Kim et al., 2011) (Rayalam et al., 2008), la proteína de unión aceleradora de CCAT α (C/EBP α) (Kim et al., 2011) (Rayalam et al., 2008), la proteína de unión reguladora de esteroides 1c (SREBP-1c) (Kim et al., 2011) (Wang et al., 2009) (Rayalam et al., 2008), la lipasa sensible a hormonas (HSL) (Kim et al., 2011) (Rayalam et al., 2008), el receptor X hepático (LXR) (Rayalam et al., 2008), entre otros (Kim et al., 2011) (Rayalam et al., 2008). Así mismo, incrementa la expresión de genes reguladores de la actividad mitocondrial (Rayalam et al., 2008), como la termogenina (UCP1: uncoupling protein 1) (Wang et al., 2015b).

La inhibición del gen maestro de lipogénesis SREBP-1, le confiere al resveratrol un efecto anti-lipogénico que provoca la disminución de la acumulación de lípidos en hígado (Wang et al., 2009) y en tejido adiposo (Kim et al., 2011). Por lo que el efecto del resveratrol sobre la inhibición de la expresión de SREBP-1 (Wang et al., 2009) es especialmente importante en el planteamiento de este estudio, debido a que se propone que el resveratrol podría ser un posible modulador de la lipogénesis renal a partir de la inhibición de la expresión de SREBP-1 durante el estrés del RE en la enfermedad renal asociada a obesidad.

Se ha demostrado que la sobreexpresión hepática de Sirt1 inducida por adenovirus en RE, inhibe la expresión de proteínas asociadas a la UPR: XBP-1, GRP78 y CHOP (Li et al., 2011). Por lo que se concluye que el consumo de resveratrol atenúa el estrés del RE en hígado (Li et al., 2011).

Así mismo, en tejido renal, se ha demostrado que el consumo de resveratrol en una dosis baja (5mg/kg pc/día) en ratas con nefropatía diabética, normaliza los parámetros de depuración de creatinina, péptido-C, adiponectina, entre otros, y eleva la concentración de enzimas antioxidantes (superóxido dismutasas, catalasa, entre otras) (Palsamy and Subramanian, 2011). Con ello se mostró que el resveratrol promueve un efecto renoprotector al atenuar los marcadores de estrés oxidante en el tejido renal de ratas con nefropatía diabética (Palsamy and Subramanian, 2011). Sin embargo, el impacto del resveratrol sobre la lipogénesis renal y su relación con el estrés del RE y UPR no han sido descritos. Por lo tanto, en nuestro estudio se postula que el resveratrol podría producir este mismo efecto a nivel renal.

3.0 JUSTIFICACIÓN

La obesidad es una epidemia mundial que se encuentra dentro de los principales factores de riesgo de defunción (OMS). La obesidad es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades no transmisibles entre las que se encuentra la enfermedad renal asociada a la obesidad (Snyder et al., 2014, Ritz and Koleganova, 2009). En el establecimiento de la enfermedad renal asociada a obesidad se ha descrito la presencia de depósitos lipídicos y acumulación excesiva de triglicéridos en tejido renal, y se ha propuesto que éstos depósitos desarrollan un papel importante en la patogénesis de ésta enfermedad (Soetikno et al., 2013).

El retículo endoplásmico (RE) es el sitio principal de plegamiento y maduración de las proteínas (Bravo et al., 2013). Cuando hay una alteración en las funciones del RE por diversos factores, se da como consecuencia la acumulación de proteínas mal plegadas en el lumen del RE, lo que resulta tóxico para la célula, y provoca una condición denominada estrés del RE (Colgan et al., 2011). Se ha demostrado que la obesidad induce el estrés del RE (Ozcan et al., 2004, Ozcan et al., 2009) y que éste es un mecanismo que induce la lipogénesis renal (Tovar-Palacio et al., 2014). Es por ello que se ha planteado que el estrés del RE es un posible mecanismo del desarrollo de depósitos lipídicos en la enfermedad renal asociada a obesidad, por lo que la identificación de compuestos naturales moduladores de la respuesta del estrés del RE en la lipogénesis renal, es de importancia para la prevención y tratamiento de la enfermedad renal.

El resveratrol es un compuesto fenólico encontrado en diversas fuentes en la dieta, entre las que se encuentra el vino (Fernández-Mar et al., 2012). Éste compuesto activa la vía de AMPK-Sirt1 (Price et al., 2012) y con ello promueve la oxidación de ácidos grasos (Lagouge et al., 2006), la biogénesis mitocondrial (Lagouge et al., 2006) e inhibe la expresión de diversos genes lipogénicos (Kim et al., 2011, Rayalam et al., 2008), dentro de los que se encuentra SREBP-1 (Wang et al., 2009). Por ello, se propone al resveratrol como un posible modulador del estrés del RE en la lipogénesis renal.

4.0 HIPÓTESIS

Si se alimentan ratones C57BL/6 macho con una dieta alta en grasa suplementada con resveratrol por tiempo crónico, el consumo de resveratrol reducirá el estrés a la respuesta a las proteínas no plegadas y disminuirá la síntesis endógena de lípidos, y por consecuencia, reducirá el daño renal

5.0 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVOS GENERALES.

Determinar el efecto de una dieta alta en grasa suplementada con resveratrol sobre la respuesta a la inducción crónica y aguda de las proteínas mal plegadas y su impacto en el metabolismo de lípidos en el tejido renal y hepático en ratones C57BL/6.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Determinar la ganancia de peso y el consumo de alimento de los ratones a los largo de 28 semanas de tratamiento en los 4 tratamientos dietarios para observar el efecto del resveratrol sobre la ganancia de peso corporal.
- Evaluar la respuesta del resveratrol sobre la tolerancia a los hidratos de carbono en los 4 tratamientos dietarios mediante una curva de tolerancia a la glucosa oral en un modelo de obesidad inducida por dieta suplementado con resveratrol.
- Evaluar el gasto calórico de los ratones en los 4 tratamientos dietarios para observar el efecto del resveratrol sobre el metabolismo de sustratos y la velocidad del mismo en un modelo de obesidad inducida por dieta suplementada con resveratrol mediante calorimetría indirecta.

- Analizar los parámetros bioquímicos en los 8 grupos de tratamiento finales para observar el efecto del resveratrol en un modelo de obesidad inducida por dieta ante la inducción de estrés de retículo endoplásmico (glucosa, triglicéridos, colesterol total, LDL, HDL, ALT, AST, creatinina, albúmina).

6.0 METODOLOGÍA

6.1 RESUMEN DEL PROCEDIMIENTO SEGUIDO

A continuación se muestra un diagrama donde se presenta un resumen de las metodologías y los tratamientos utilizados (Figura 10).

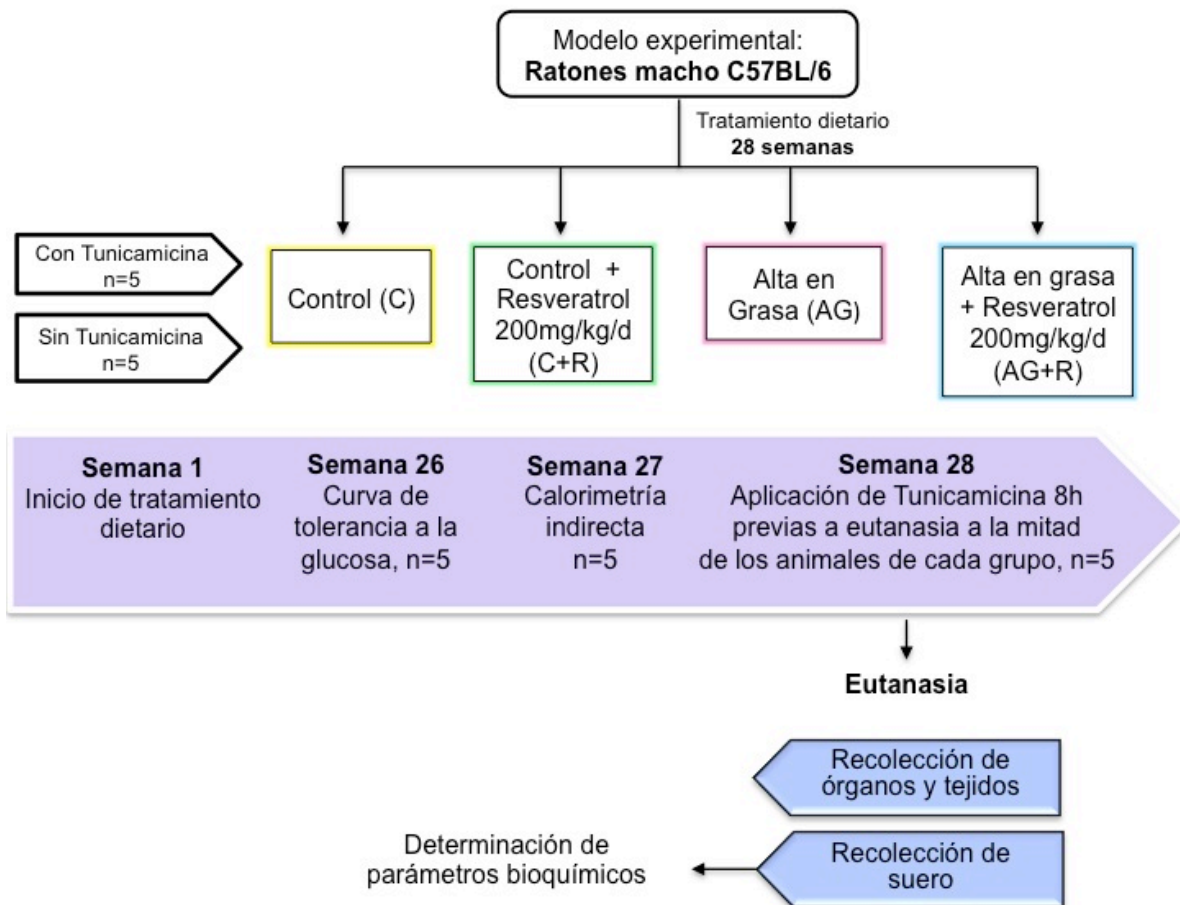


FIGURA 10. Diagrama de metodología y tratamientos utilizados durante el protocolo de investigación

6.2 ANIMALES

Se utilizaron ratones de la cepa C57BL/6 macho de 5-6 semanas de edad procedentes del Bioterio del INCMN, SZ. Se mantuvieron en jaulas microaisladores con un ciclo de luz/oscuridad de 12h con acceso de agua potable y alimento *ad libitum*. La temperatura a la cual se mantuvieron los ratones fue de 20-22°C, con una humedad relativa del 40-60%. El alimento se almacenó a 4°C. Los ratones se dividieron al azar en 3 diferentes grupos de tratamientos dietarios más un grupo correspondiente al control. Cada grupo estuvo formado por una n de 10 animales. Los animales fueron alimentados durante 28 semanas con las dietas experimentales (**Tabla 3**). Se determinó diariamente el consumo de alimento y fue evaluado el peso corporal una vez a la semana. Se indujo el estrés del RE en la mitad de los animales (n=5), de cada uno de los grupos dietarios. Para inducir el estrés del RE se administró una dosis única de tunicamicina por vía intraperitoneal. La dosis administrada fue de 100 mg/ml de tunicamicina (Sigma, St. Louis, MO, EE.UU.). diluido en dextrosa 150 mM a 1 g/kg de peso corporal. La eutanasia de los ratones se realizó 8 horas posteriores a la inyección de tunicamicina. Los grupos experimentales fueron los siguientes: grupo control (C), grupo control tratado con tunicamicina (C+T), grupo control suplementado con resveratrol (CR), grupo control suplementado con resveratrol y tratado con tunicamicina (CR+T), grupo alimentado con una dieta alta en grasa (AG), dieta alta en grasa y tratado con tunicamicina (AG+T), dieta alta en grasa, suplementado con resveratrol (AGR), y finalmente una dieta alta en grasa, suplementada con resveratrol y tratado con tunicamicina (AGR+T). (**Tabla 3**)

Tabla 3. *Diseño Experimental*

	Sin tunicamicina		Con tunicamicina	
	Sin resveratrol	Con resveratrol	Sin resveratrol	Con resveratrol
Dieta Control	Grupo 1 (C)	Grupo 2 (CR)	Grupo 5 (C+T)	Grupo 6 (CR+T)

Dieta Alta en Grasa	Grupo 3 (AG)	Grupo 4 (AGR)	Grupo 7 (AG+T)	Grupo 8 (AGR+T)
----------------------------	--------------	---------------	----------------	-----------------

Al final del estudio, los ratones se colocaron en cajas metabólicas durante 24h para la recolección de orina. Los ratones fueron privados de alimento durante 8 h previas a la eutanasia y anestesiados con CO₂. La sangre fue recolectada de la vena cava con jeringas de 1 mL, con anticoagulante (BD, Franklin Lakes, NJ, EE.UU.) El suero se obtuvo previa centrifugación de la sangre a 10 000 rpm, por 10 min, a 4°C y se almacenó a -70°C hasta su análisis. Los riñones fueron disectados, lavados en solución salina al 0.9%, se pesó el riñón derecho de todos los animales para tener consistencia en los datos, congelados en nitrógeno líquido y almacenados a -70°C. El protocolo animal fue aprobado por el Comité de Ética para la Investigación con animales experimentales del INCMN,SZ.

6.3 DIETAS

La dieta (C) siguió la recomendación del Instituto Americano de Nutrición, American Institute of Nutrition, AIN por sus siglas en Inglés) AIN-93M (Reeves et al., 1993) para la composición mínima estimada de nutrientes necesarios para el mantenimiento del roedores adultos, con 12.02% de kcal de grasa. La dieta (CR), también sigue la recomendación de la dieta AIN-93M más *trans*-resveratrol en polvo con 99% de pureza (Mega Resveratrol, Danbury, EE.UU.) en una dosis de 200 mg/kg p.c./día. La dieta (AG) contiene 45.22% de kcal de grasa. La dieta (AGR) contiene 45.22% kcal de grasa más *trans*-resveratrol en polvo con 99% de pureza (Mega Resveratrol, Danbury, EE.UU.) en una dosis de 200 mg/kg p.c./día.

Las dietas utilizadas no fueron comerciales. La composición exacta de las dietas experimentales se presenta en la **Tabla 4**.

Tabla 4. *Composición de las dietas experimentales.*

Porcentaje (%)	Control (C)	Control + 200 mg/Kg pc/d resveratrol (CR)	Dieta alta en grasa (AG)	Dieta alta en grasa + 200 mg/Kg pc/d resveratrol (AGR)
Caseína	19.87	19.87	24.14	24.14
Cistina	0.14	0.14	0.17	0.17
Aceite de soya ^a	5.16	5.16	5.75	5.75
Manteca ^b	----	----	17.72	17.72
Vitaminas	1.89	1.89	2.99	2.99
Colina	0.19	0.19	0.23	0.23
Minerales	4.73	4.73	5.75	5.75
Celulosa	2.84	2.84	3.44	3.44
Dextrina	16.59	16.59	29.46	29.46
Sacarosa	16	16	10.35	10.35
Almidón	32.59	32.59	0	0
Resveratrol	0	+ 200 mg/kg pc/día	0	+ 200 mg/kg pc/día
Total	100	100	100	100

6.4 PRUEBA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA

Después de 26 semanas de tratamiento dietario, 6 animales de cada uno de los tratamientos dietarios: (C), (CR), (AG) y (AGR), fueron colocados en ayuno

durante 7h. Se administró una solución de glucosa vía intraperitoneal a una dosis de glucosa de 2mg/kg pc. Se midió el valor basal de la concentración de glucosa en sangre realizando una pequeña incisión en la cola de los animales previo a la inyección intraperitoneal de glucosa (valor considerado como tiempo cero). Posterior a la inyección, se midió la concentración de glucosa en sangre con el mismo procedimiento durante los siguientes intervalos: 15min, 30min, 45min, 60min, 90min, 120min y 150min. La concentración de glucosa en sangre se determinó utilizando un glucómetro de tiras reactivas (FreeStyle Optium, Abbott, Witney, UK; Tiras reactivas FreeStyle Optium para prueba de glucosa en sangre, Abbott, UK) y el análisis para la prueba se llevó a cabo calculando el área bajo la curva para glucosa en sangre (AUC) para las 2h y media del tiempo de la prueba.

6.5 CALORIMETRÍA INDIRECTA

Después de 28 semanas de tratamiento dietario, se realizó una calorimetría indirecta utilizando un sistema de circuito abierto controlado por computadora (Oxymax, Comprehensive Lab Animal Monitoring System, Columbus Instruments, Columbus, OH). Los animales fueron colocados en cámaras limpias individuales (20 x 10 x 12.5 cm) con una base elevada de acero inoxidable. Cada cámara contenía un bebedero de agua potable con un tubo de acero inoxidable. Los sensores del equipo fueron calibrados con un tanque compuesto por una mezcla gaseosa conocida. A partir de la calibración, el equipo determina el volumen de oxígeno consumido (VO_2) y el volumen de CO_2 producido (VCO_2) con sensores específicos para su estimación. El volumen de oxígeno consumido lo determina por diferencia entre el volumen de oxígeno que entra a la cámara metabólica y el volumen de oxígeno que sale de la misma; así mismo, el volumen de dióxido de carbono producido se determina a partir de la diferencia entre el volumen de dióxido de carbono que entra a la cámara y el volumen de dióxido de carbono que sale de la misma. El equipo realizó una determinación de VO_2 y VCO_2 a cada cámara en intervalos 22 minutos. El coeficiente de intercambio respiratorio (RER) fue calculado por el cociente entre la producción de dióxido de carbono (VCO_2) entre el consumo de oxígeno (VO_2). La generación de calor se calculó a partir de la siguiente fórmula: $\text{Calor (kcal/h)} = [(3.815 + 1.232 \cdot \text{RER}) \cdot VO_2(\text{en litros})]$, del valor de calor en kcal/h, se obtuvo en valor de calor (kcal) por litro de O_2 consumido,

valor a partir del cual se realizó un análisis de la oxidación de sustratos (hidratos de carbono y lípidos) a partir de la tabla de Lusk (Lusk, 1928).

Los animales fueron colocados en cámaras individuales durante aproximadamente 48 h, utilizando las primeras 24 h como periodo de adaptación, 8 h para el periodo de ayuno y 12 h para el periodo de posprandio. Fueron seleccionaron 5 ratones de cada uno de los grupos de tratamiento dietario: (C), (C+R), (AG) y (AG+R) para la prueba.

6.6 ANÁLISIS DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN SUERO

A partir del suero extraído, se determinó la concentración de parámetros bioquímicos generales, marcadores de daño renal y actividad de enzimas hepáticas: glucosa (mg/dL), colesterol total (mg/dL), colesterol de baja densidad LDL (mg/dL), colesterol de alta densidad HDL (mg/dL), triglicéridos (mg/dL), actividad de transaminasas ALT (U/L), actividad de transaminasas AST (U/L), creatinina (mg/dL) y albúmina (g/L).

Las mediciones se determinaron utilizando métodos estándar del analizador automático Cobas c111 (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland).

6.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores están expresados como la media \pm S.E.M. ó media \pm desviación estándar del promedio como se indica en cada figura o tabla. Los datos de los gráficos de peso corporal inicial, peso corporal final y la curva de tolerancia a la glucosa fueron evaluados por un análisis de varianza (ANOVA) de una vía seguido por la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, y las diferencias significativas entre grupos se indicaron con diferentes letras en cada figura, siendo “a” el de valor mayor (a>b>c>d). Los datos de los gráficos de calorimetría indirecta y los parámetros bioquímicos analizados fueron evaluados por un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías seguido por la prueba de comparaciones múltiples de Tukey y las diferencias se indicaron con diferentes letras en cada figura (a>b>c>d). En todos los casos, $P<0.05$ se consideró como estadísticamente significativo (GraphPad Prism 6.0, San Diego, CA, USA).

7.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS DIETARIOS EN EL PESO CORPORAL Y LA GANANCIA DE PESO.

Durante 26 semanas de tratamiento dietario se registró y se graficó el peso semanal de los 10 animales correspondientes a cada uno de los cuatro tratamientos dietarios utilizados: (C), (CR), (AG) y (AGR).

A continuación, se muestra el gráfico lineal de peso corporal y de ganancia de peso corporal a lo largo del tratamiento dietario de cada uno de los grupos experimentales (**Figura 11**); así como el gráfico comparativo por columnas del peso corporal inicial y del peso corporal final de los animales de los diferentes tratamientos dietarios (**Figura 12**). Finalmente, se muestran los valores promedio de peso corporal inicial, peso corporal final y ganancia de peso final de los ratones correspondientes a cada uno de los tratamientos dietarios (**Tabla 5**).

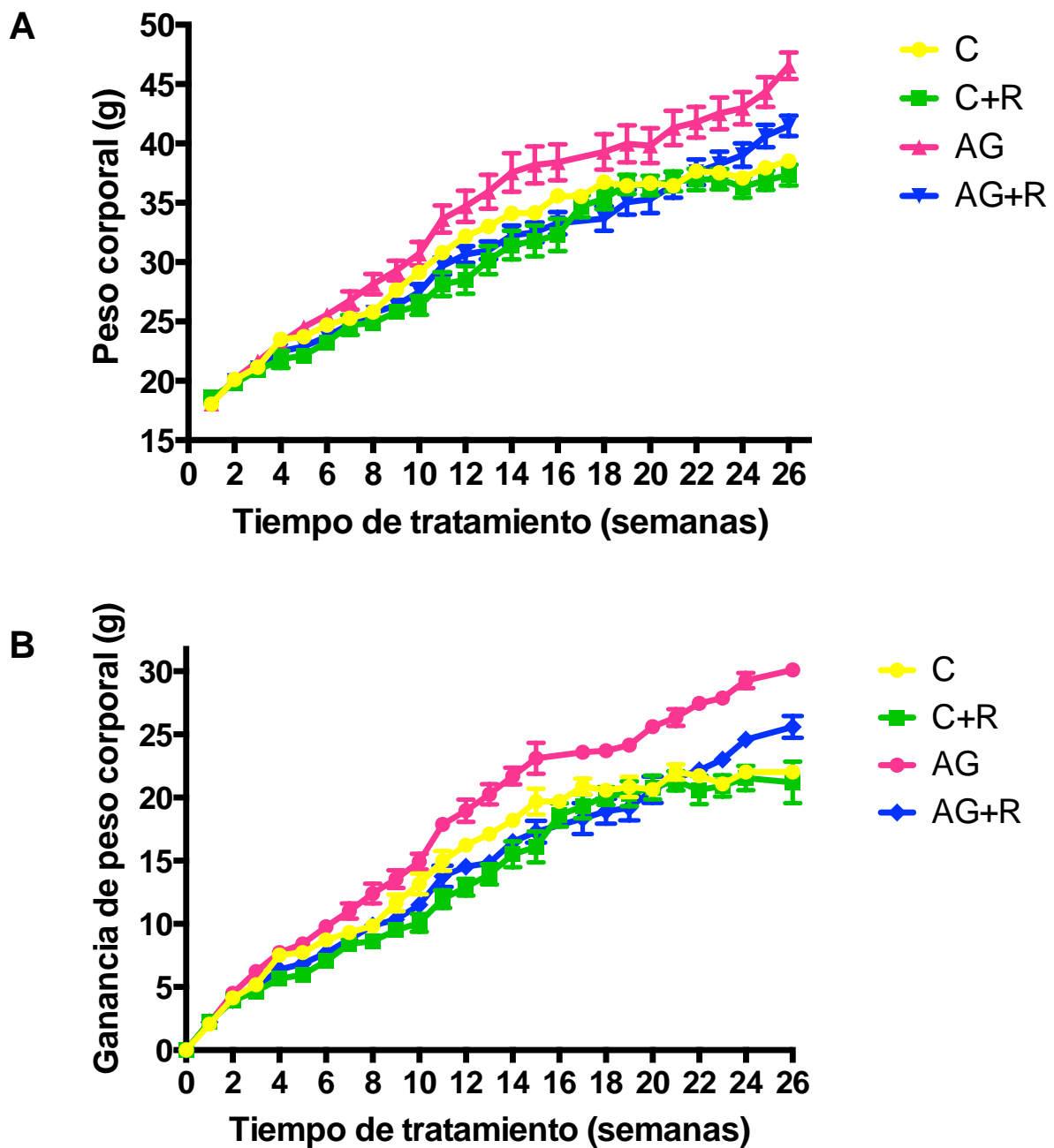


Figura 11. Efecto de los diferentes tratamientos dietarios sobre el peso corporal de los animales. **A.** Gráfico lineal de peso corporal (g) **B.** Gráfico lineal de ganancia de peso corporal (g). n=10 para cada grupo experimental.

[C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

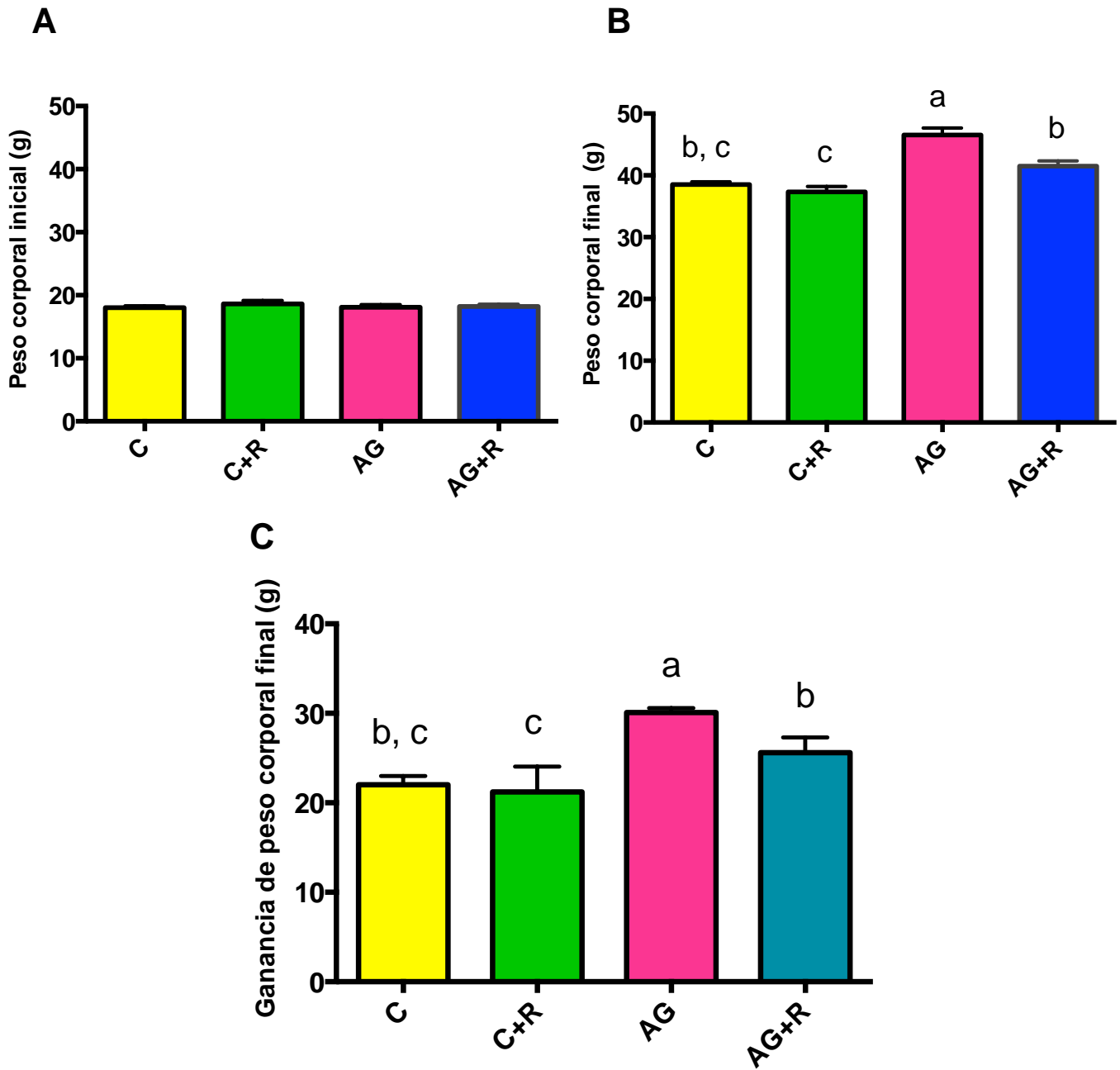


Figura 12. Comparación del efecto de los diferentes tratamientos dietarios utilizados sobre el peso corporal final de los animales. **A.** Gráfico de columnas del peso corporal inicial (g). **B.** Gráfico de columnas del peso corporal final (g). **C.** Gráfico de columnas de la ganancia de peso corporal final. n=10 para cada grupo experimental. Diferentes letras representan diferencia significativa (a>b>c). P<0.05.

[C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

Tabla 5. Valores promedio de peso corporal inicial, peso corporal final, ganancia final de peso corporal, consumo de alimento y kilocalorías de consumo de alimento de los cuatro grupos experimentales alimentados con los diferentes tratamientos dietarios propuestos. n=10 [C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

Tratamiento dietario	Peso corporal inicial (g)	Peso corporal final (g)	Ganancia de peso corporal (g)	Alimento consumido (g)	Alimento consumido (kcal)
(C)	18.03 ± 0.79	38.52 ± 1.126	22.02 ± 0.69	3.11 ± 0.41	11.34 ± 1.39
(CR)	18.61 ± 1.39	37.33 ± 2.02	21.20 ± 2.02	3.05 ± 0.33	11.45 ± 1.17
(AG)	18.09 ± 1.19	46.54 ± 3.37	30.17 ± 0.34	2.41 ± 0.30	11.38 ± 1.27
(AGR)	18.21 ± 0.93	41.49 ± 2.47	25.59 ± 1.23	2.43 ± 0.38	11.47 ± 1.56

En las **Figuras 11 A y B**, se observa que todas las curvas de crecimiento describen un comportamiento similar durante las primeras 20 semanas de tratamiento dietario y a partir de la semana 21, el grupo alimentado con la dieta (AG) alcanzó un peso corporal y una ganancia de peso estadísticamente mayor, con respecto a los grupos (AGR), (C) y (CR), que continuó hasta el final del tratamiento. Así mismo, se observa que a partir de la semana 23 de tratamiento dietario, el grupo (AGR) alcanzó un peso corporal y una ganancia de peso estadísticamente mayor respecto al grupo (CR); sin embargo, ninguno de los dos grupos mostró diferencia significativa respecto al grupo (C) a lo largo de todo el tratamiento dietario.

En la **Figura 12 A** se muestra que no existió diferencia significativa entre el peso inicial de los animales de cada uno de los grupos, ya que los animales fueron distribuidos de manera homogénea en todos los grupos experimentales de acuerdo a su peso corporal siguiendo la distribución de la “curva de culebra japonesa”.

En las **Figuras 12 B y C** se muestra que el grupo alimentado con la dieta (AG) presentó un incremento estadísticamente significativo de peso corporal final y ganancia de peso corporal final respecto a los grupos alimentados con las dietas (AGR)(-15.15%), (C)(-26.99%) y (CR) (-29.71%). Así mismo, se muestra que los grupos (AGR) y (CR) no son estadísticamente diferentes respecto al grupo (C); sin embargo, el grupo (AGR) presentó un incremento estadísticamente significativo respecto al grupo (CR)(-17.15%).

Así mismo, de acuerdo a los valores descritos en la **Tabla 5**, se muestra que estas diferencias en el incremento de peso corporal, no se deben a variaciones en el consumo de alimento ó en el consumo calórico en alguno de los grupos.

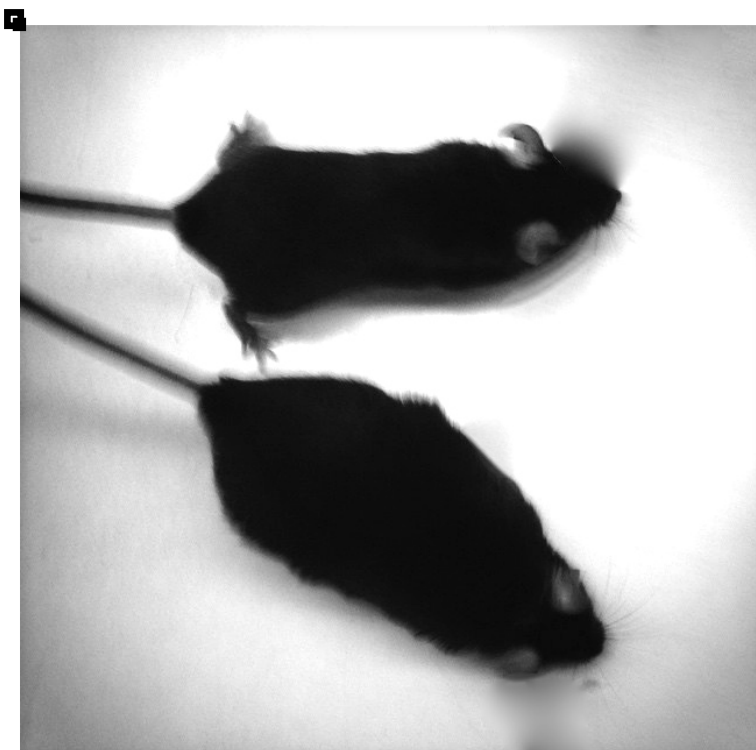


Figura 13. *Fotografía comparativa de apariencia física de dos ratones C57BL/6 con dos de los tratamientos dietarios: (C) y (AG). En la fotografía aparece un ratón alimentado con la dieta control (parte superior) y un ratón alimentado con la dieta alta en grasa (parte inferior), donde se observa la diferencia en la apariencia física presentada entre la distribución corporal de cada uno de ellos.*

Los resultados mostrados en la **Tabla 5** y las **Figuras 11 y 12**, muestran que en la comparación del grupo (CR) respecto al grupo (C), el grupo (CR) mostró una tendencia hacia una menor ganancia de peso corporal respecto al grupo (C) a lo largo del tratamiento dietario, sin embargo ésta no resultó estadísticamente significativa. Mientras que, en la comparación entre el grupo (AGR) respecto al grupo (AG), se observa que el grupo (AG) mostró un efecto obesogénico inducido por el consumo de la dieta alta en grasa (que se observa también en la **Figura 13**), mientras que el grupo (AGR) no presentó este efecto, y adoptó un comportamiento similar al del grupo (C) por lo que mostró ser estadísticamente significativa respecto al grupo (AG).

En un estudio conducido por Lagouge y col. (2006) se analizó el efecto de la suplementación de una dieta alta en grasa con resveratrol. Se utilizó un modelo de obesidad inducido por dieta alta en grasa y se administró resveratrol a una dosis de 400 mg/kg/pc/d. La ganancia de peso corporal fue estadísticamente menor en el grupo alimentado con la dieta alta en grasa suplementada con resveratrol respecto al grupo alimentado con la dieta alta en grasa, pero no mostró diferencia significativa respecto al grupo control. En este trabajo se encontró, que la ganancia de peso corporal fue menor en los animales alimentados con la dieta alta en grasa con resveratrol, y que la diferencia en el peso se debía a una menor acumulación de grasa corporal (Lagouge et al., 2006).

Contrario a esto, en un estudio donde utilizaron un modelo de obesidad inducido por una dieta comercial con 60% de grasa suplementado con resveratrol a una dosis baja (5.2 ó 22.4 mg/kg pc/día), no se observaron cambios significativos en la ganancia de peso corporal del grupo alimentado con la dieta alta en grasa suplementada con resveratrol respecto al grupo alimentado con la dieta alta en grasa (Baur et al., 2006).

Al comparar estos diferentes estudios (Lagouge et al., 2006) (Baur et al., 2006), se puede sugerir que el resveratrol produce un efecto metabólico benéfico sobre la ganancia de peso corporal en un modelo de obesidad inducido por dieta de manera dosis-dependiente, y este efecto es estadísticamente significativo a una dosis de 200 mg/kg pc/día.

Así mismo, se ha demostrado que el estado metabólico del individuo que recibe la suplementación con resveratrol influye en el efecto del mismo (Lam et al., 2013), por lo que se puede sugerir que de acuerdo a los resultados arrojados en nuestro estudio, el resveratrol no modifica la ganancia de peso corporal en un modelo sano con una dieta suplementada con resveratrol a una dosis de 200 mg/kg pc/día.

7.2 PRUEBA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA INTRAPERITONEAL

El metabolismo de glucosa es un componente esencial de la regulación de energía corporal y cuando existe una alteración de su regulación genera complicaciones serias como el síndrome metabólico, eventos cardiovasculares y diabetes mellitus tipo 2 (Association, 2009). Las pruebas de tolerancia a la glucosa se utilizan como herramientas de diagnóstico para la detección del riesgo de padecer diabetes mellitus tipo 2 ó del establecimiento de la enfermedad tanto en humanos (Association, 2009) como en roedores (Rozman et al., 2015).

En seres humanos, se ha descrito que la historia natural de la diabetes mellitus tipo 2 consiste en las siguientes etapas (Association, 2009):

1. **Normoglucemia**
 - a. Normoinsulinemia
 - b. Hiperinsulinemia
2. **Alteración de la glucemia**
 - a. Ayuno
 - b. Posprandio
3. **Hiperglucemia**

En el modelo experimental murino, se ha descrito que la cepa C57BL/6 es la más eficiente comparada con otras para la caracterización del desarrollo de diabetes tipo 2 temprana al utilizar un modelo de obesidad inducida por dieta alta en grasa (Winzell and Ahren, 2004). El diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 en ratones C57BL/6 mediante la prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal, se puede asumir al observar que el comportamiento de la curva de concentración de glucosa en sangre presenta niveles de hiperglucemia, que se mantiene después

de 2h de la carga de glucosa (Winzell and Ahren, 2004). Este efecto se ve reflejado en un análisis comparativo del área bajo la curva significativamente mayor respecto a un grupo con comportamiento normal que retoma valores normoglucémicos 2h posteriores a la carga de glucosa (172-372mg/dL; Charles River Laboratories International) (Fernandez et al., 2010), así como un incremento en la concentración de glucosa en ayuno en comparación a un grupo normoglucémico (Association, 2009, Winzell and Ahren, 2004).

Durante la semana 26 de tratamiento dietario se llevó a cabo una prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal de 150min (8 puntos), cuyos resultados y análisis comparativo se muestran en la **Figura 15**.

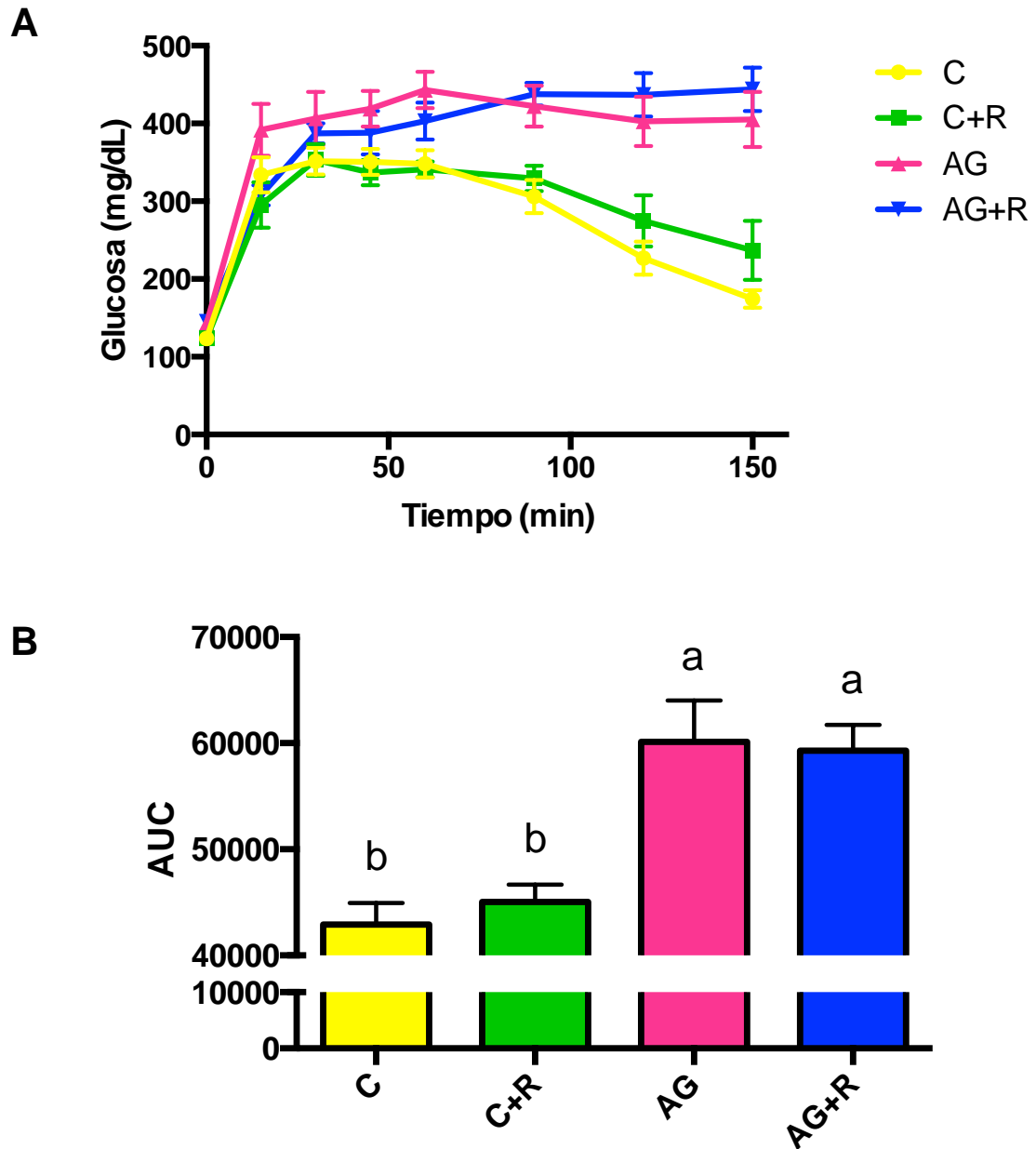


Figura 15. Efecto de los cuatro tratamientos dietarios sobre la tolerancia a la glucosa intraperitoneal en los ratones C57BL/6. **A.** Curva de concentración de glucosa en sangre a los tiempos 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120 y 150min después de una inyección intraperitoneal de glucosa a una dosis de 2mg/g pc. **B.** Área bajo la curva (AUC) de prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal después de 26 semanas de tratamiento dietario. n=6 por cada grupo experimental. Diferentes letras representan diferencia significativa (a>b>c). P<0.05.

[C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

En la **Figura 15 A** se observa un comportamiento muy similar entre la curva de los valores de concentración de glucosa en sangre del grupo alimentado con la dieta (CR) respecto al grupo (C) y de la curva del grupo alimentado con la dieta (AGR) respecto a la dieta (AG).

En las curvas descritas para los grupos (C) y (CR) en la **Figura 15 A** durante la prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal, se aprecia un incremento en la concentración de glucosa en sangre durante los minutos 15, 30, 45 y 60 de la prueba después de la inyección intraperitoneal de la carga de glucosa; mientras que durante en los minutos 90, 120 y 150 se observa un descenso en la concentración de glucosa hasta llegar a valores cercanos a la concentración de glucosa basal, encontrándose en valores normoglucémicos para esta cepa de animales (172-372mg/dL; Charles River Laboratories International) (Fernandez et al., 2010).

Así mismo, en la **Figura 15 A**, en las curvas descritas por los grupos (AG) y (AGR) durante la prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal, se aprecia un incremento en la concentración de glucosa en sangre durante los minutos 15, 30, 45 y 60 de la prueba después de la carga intraperitoneal de glucosa, sin embargo, a diferencia de las curvas descritas por los grupos de las dietas (C) y (CR), la concentración de glucosa en sangre de los grupos (AG) y (AGR) no disminuye transcurrido este tiempo, y se mantiene elevada en valores que se consideran como hiperglucémicos, lo que muestra un comportamiento como el propuesto para el diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2 en este tipo de animales (Gao et al., 2014) (Winzell and Ahren, 2004) (Rozman et al., 2015).

En la **Figura 15B**, se muestra el valor obtenido de calcular el área bajo la curva de cada uno de los promedios de cada uno de los tratamiento dietarios en la prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal. Se observa que los grupos (AG) y (AGR), no presentaron diferencia estadísticamente significativa entre ellos, sin embargo, mostraron un incremento estadísticamente significativo en el valor del área bajo la curva respecto a la de los grupos alimentados (C) y (CR); a su vez, se observa que los grupos (C) y (CR) no presentaron diferencia estadísticamente significativa entre ellos.

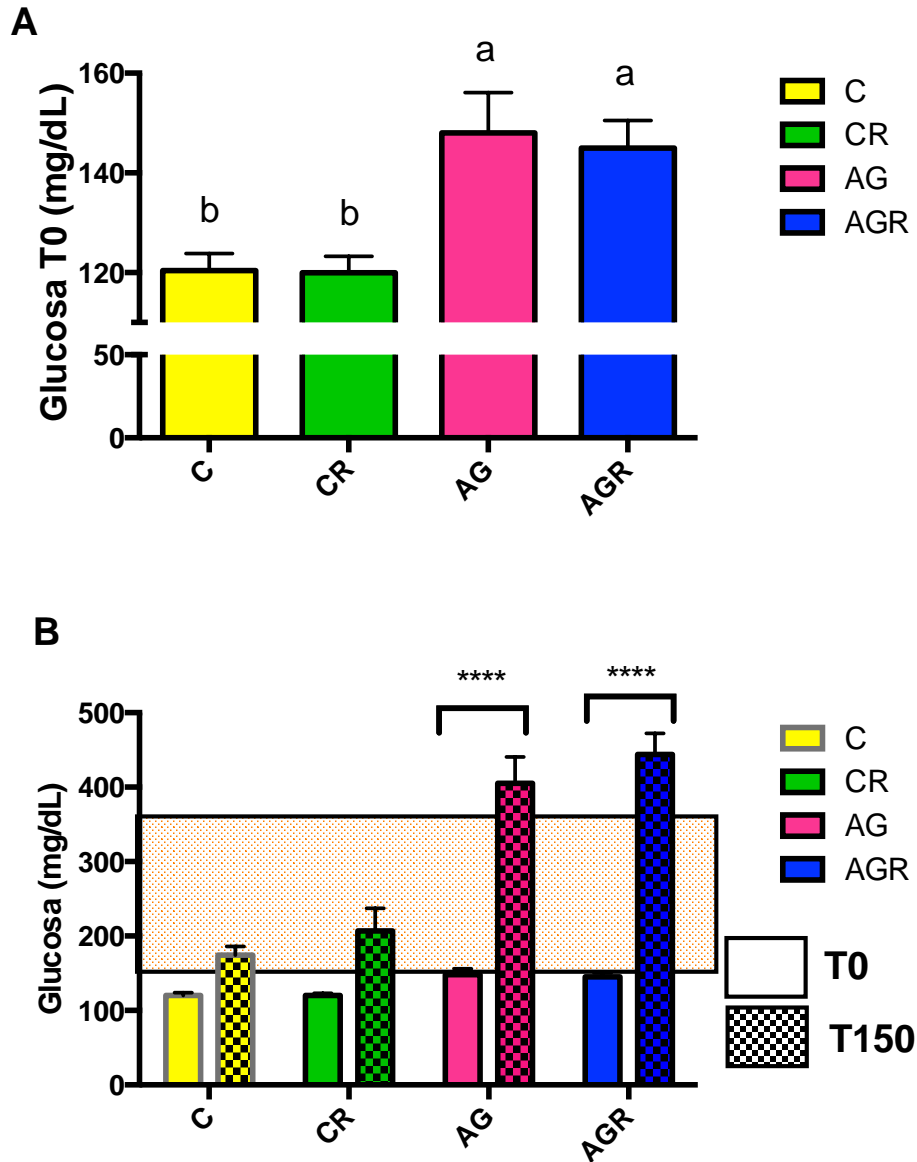


Figura 16. Gráfico comparativo de concentración de glucosa en sangre (mg/dL) basal y final durante la prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal para cada uno de los cuatro tratamientos dietarios utilizados. **A.** Gráfico de concentración de glucosa al tiempo cero (concentración de glucosa basal con 7h de ayuno) **B.** Gráfico de concentración de glucosa al tiempo 150 (150min), punto final de la prueba de tolerancia a la glucosa. (*) representa diferencia significativa. $P < 0.05$.

[C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

En la **Figura 16A** se muestra que existe un incremento estadísticamente significativo entre la concentración de glucosa basal (Tiempo 0) entre los grupos alimentados con las dietas (AG) y (AGR) respecto a los grupos alimentados con las dietas (C) y (CR). Es decir, los grupos (AG) y (AGR) describen un comportamiento que sugiere que presentan intolerancia a la glucosa y, posiblemente, de diabetes mellitus tipo 2 (Winzell and Ahren, 2004).

Finalmente, la **Figura 14B** muestra que los grupos alimentados con las dietas (C) y (CR) describen un comportamiento similar en donde el incremento del valor de la concentración de glucosa basal (Tiempo 0) y final (Tiempo 150) no es significativo entre ellos, y en ambos casos se encuentra dentro del rango establecido como normoglucémico. En el caso de los grupos alimentados con las dietas (AG) y (AGR), el valor de la concentración de glucosa final es significativamente mayor al valor basal; adicionalmente, el valor de la concentración de glucosa final de ambos grupos se encuentra por arriba del rango establecido como normoglucémico, por lo que se considera que los ratones pertenecientes a estos dos tratamientos dietarios presentan hiperglucemia, lo que muestra nuevamente, que los grupos (AG) y (AGR) describen un comportamiento que sugiere que presentan intolerancia a la glucosa y, posiblemente, de diabetes mellitus tipo 2 (Winzell and Ahren, 2004).

De acuerdo al comportamiento mostrado en los resultados de este estudio, podemos sugerir que los ratones alimentados con la dieta (AG) y (AGR) presentan intolerancia a la glucosa y muestran un cuadro sugestivo de diabetes mellitus tipo 2, provocada por el modelo de inducción a obesidad por efecto de la alimentación de una dieta alta en grasa.

El comportamiento descrito en las **Figuras 13 y 14**, muestra que el tipo de dieta (control o alta en grasa) influye de forma significativa en como el animal maneja la glucemia y de forma indirecta en la sensibilidad a la insulina. Sin embargo, los grupos suplementados con resveratrol: (CR) y (AGR), no muestran una diferencia estadísticamente significativa respecto a los grupos no suplementados con el mismo: (C) y (AG), por lo que la suplementación con resveratrol no presentó

ningún beneficio metabólico respecto a la tolerancia a la glucosa en ninguna de las dos dietas utilizadas: control y alta en grasa.

A diferencia de los resultados obtenidos en este estudio, en la bibliografía se ha reportado el efecto significativo del resveratrol sobre la resistencia a la insulina y la tolerancia a hidratos de carbono en ratones al ser suplementados con resveratrol a una dosis de 400mg/kg pc/d o mayores (Kang et al., 2012) (Chen et al., 2012). Esto sugiere que, al igual que en el caso de la diferencia en el incremento de peso corporal, no se observe un efecto en la prueba de tolerancia a la glucosa debido a que probablemente se trate de un efecto dosis-dependiente, y la dosis utilizada en nuestro estudio es menor a las dosis reportadas en donde se ha visto un efecto significativo. Adicionalmente, el grupo (CR) no muestra un cambio probablemente debido a que el estado metabólico de este grupo dietario está sano: se mantiene normoglucémico y muestra un comportamiento muy similar al del grupo (C), y como se mencionó en la sección anterior, el resveratrol no induce cambios metabólicos cuando el metabolismo energético presenta un comportamiento normal (Lam et al., 2013).

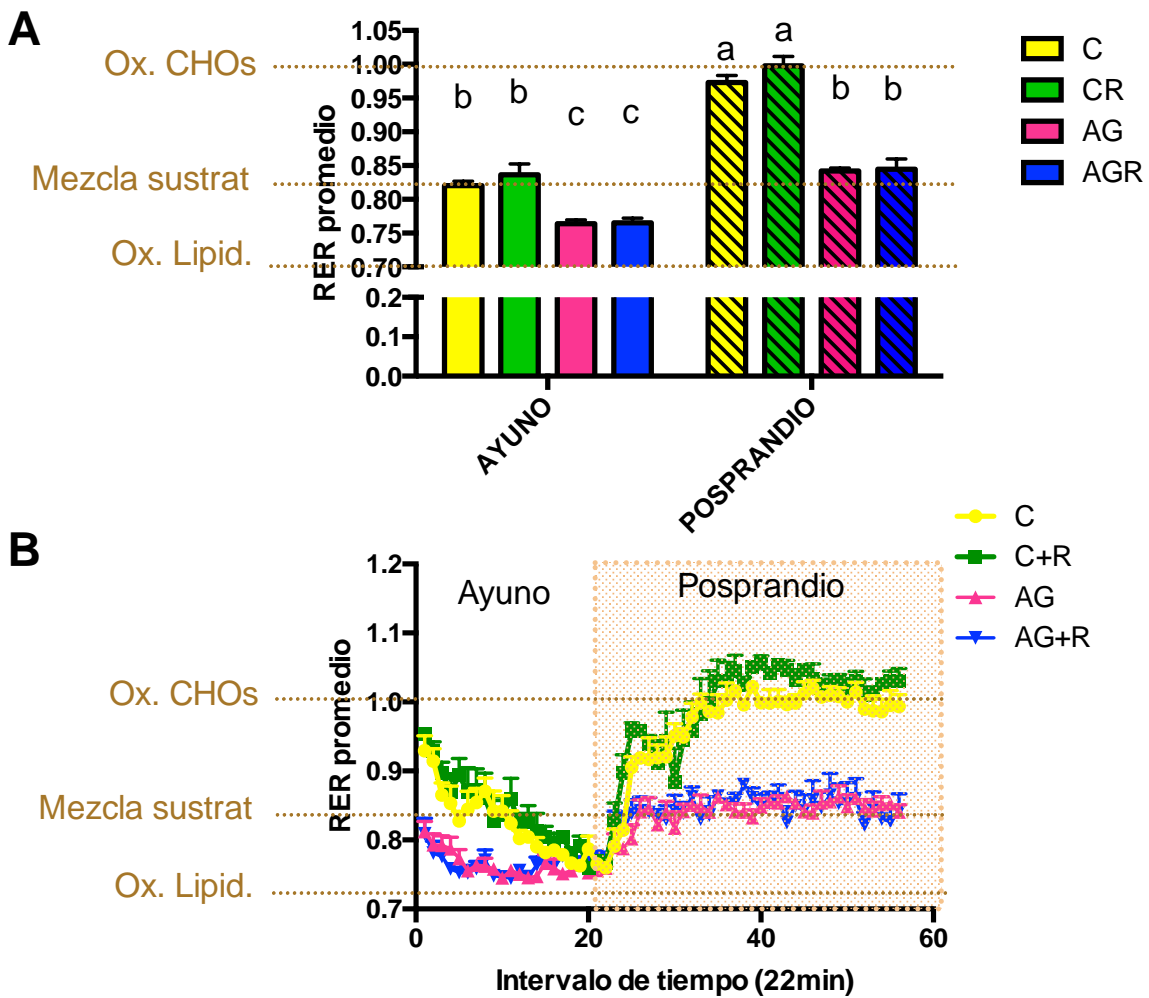
7.3 CALORIMETRÍA INDIRECTA

La calorimetría indirecta es un método por el cual se estima el tipo y velocidad de la oxidación de sustratos por el organismo, así como el metabolismo energético *in vivo* a partir de mediciones de intercambio gaseoso: el consumo de oxígeno, la producción de dióxido de carbono y la liberación de calor específica para la naturaleza del sustrato energético que está siendo oxidado (Ferrannini, 1988).

Esta técnica proporciona información única acerca de la medida del intercambio respiratorio, que se ve determinado por el metabolismo energético de cierta combinación de sustratos y por lo tanto, por la producción de calor de un organismo vivo (Even et al., 1994). Es una técnica no invasiva y puede ser combinada con otros métodos experimentales para obtener información sobre numerosos aspectos acerca de la asimilación de nutrientes, termogénesis, y la patogénesis de enfermedades metabólicas (Ferrannini, 1988) (Even et al., 1994). Por lo que esta prueba determina la proporción aproximada de la oxidación de

hidratos de carbono y lípidos principalmente a partir de fórmulas ya establecidas, (Even et al., 1994).

Durante la semana 27 de tratamiento dietario, se realizó la prueba de calorimetría indirecta en 5 animales de cada uno de los tratamientos dietarios. Se realizó la calorimetría para hacer una estimación sobre el tipo de los sustratos oxidados en cada uno de los tratamientos dietarios y la velocidad metabólica oxidativa en cada uno de ellos. Específicamente, para evaluar el efecto del resveratrol en éstos dos parámetros metabólicos. Los resultados obtenidos a partir de esta prueba se muestran en las **Figuras 17, 18 y 19**.



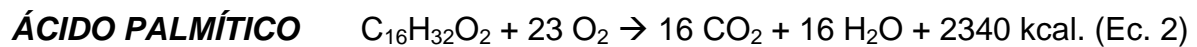
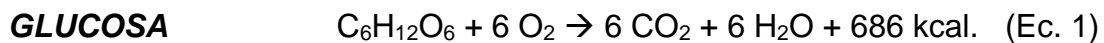
Valor de P			
	Tiempo	Dieta	Tiempo x dieta
RER	<0.0001	<0.0001	NS

Figura 17. Gráficos comparativos del efecto en los grupos alimentados con los cuatro tratamientos dietarios utilizados sobre el coeficiente respiratorio entre un periodo de ayuno (8 h) y un periodo de posprandio (12 h). **A.** Gráfico comparativo de columnas entre el promedio de valores de coeficiente respiratorio durante un periodo de ayuno y un periodo de posprandio para cada tratamiento. **B.** Gráfico lineal de los valores de coeficiente respiratorio para cada uno de los tratamientos respecto al tiempo durante un periodo de ayuno seguido de un periodo de posprandio. n=6 por cada grupo experimental. Diferentes letras representan diferencia significativa (a>b>c). P<0.05. [C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

La obtención de energía en los organismos vivos se da por la oxidación de nutrientes, siguiendo la siguiente ecuación general del metabolismo oxidativo:



El calor producido depende del coeficiente térmico de oxígeno determinado para cada determinado sustrato; así mismo, el volumen de oxígeno y el volumen de dióxido de carbono van de acuerdo a las ecuaciones químicas planteadas para cada sustrato (Jequier and Felber, 1987). Por ejemplo:



El coeficiente respiratorio (RER: Respiratory Exchange ratio), es la relación que existe entre el dióxido de carbono producido y el oxígeno consumido (VCO_2/VO_2), y de acuerdo a las ecuaciones presentadas en la parte superior se puede observar que éste valor es característico del sustrato metabolizado, ya que la cantidad de oxígeno consumido y de dióxido de carbono producido son características del sustrato. En el caso de la glucosa, el valor del RER es 1 debido a que por cada mol de oxígeno consumido se produce un mol de dióxido de carbono ($6 \text{CO}_2/6 \text{O}_2$) (Ec. 1). En cambio, en el caso del ácido palmítico y en general de los ácidos grasos, éste valor disminuye a valores cercanos a 0.70 ($16 \text{CO}_2/23 \text{O}_2$) (Ec. 2) (Jequier and Felber, 1987) (Even et al., 1994).

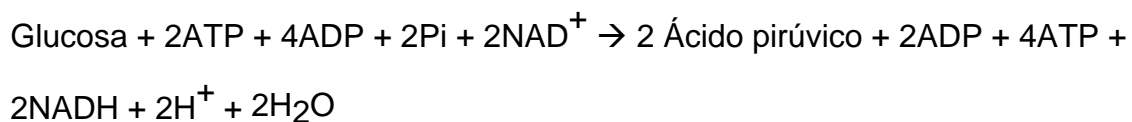
De acuerdo a lo mencionado en el párrafo anterior, en la **Figura 17**, se observan las diferencias entre el RER y la proporción de sustratos oxidados, para cada uno de los tratamientos dietarios. En la **Figura 17A**, se observa el promedio del RER para cada grupo durante el periodo de ayuno (8 h) y el periodo de posprandio (12 h). De acuerdo a los valores establecidos (Jequier and Felber, 1987),(Lusk, 1968) (Even et al., 1994), se considera que el valor de 1 en el RER se refiere a la oxidación preferentemente de hidratos de carbono para la obtención de energía; el valor de 0.82-0.85 se refiere a la oxidación de una mezcla de sustratos entre lípidos y hidratos de carbono; y el valor de 0.70-0.75 se refiere a la oxidación de

lípidos. Estos valores se marcan de forma superpuesta en los gráficos de la **Figura 17**.

Con base en los valores mencionados del RER, se puede observar que los grupos alimentados con las dietas control (C) y (CR) oxidan una mezcla de hidratos de carbono y lípidos durante el ayuno (valor aproximado de 0.83); mientras que, durante el posprandio, oxidan principalmente hidratos de carbono (valor aproximado de 1).

Por otra parte, los grupos alimentados con las dietas (AG) y (AGR) oxidan una mezcla de sustratos compuesta principalmente por lípidos durante el ayuno (valor aproximado de 0.75); y durante el periodo de posprandio, también oxidan una mezcla de sustratos, pero incluyen una proporción mayor de hidratos de carbono que la que incluyen durante el periodo de ayuno (valor aproximado de 0.84), que consiste en una proporción similar a la oxidada por los grupos alimentados con la dieta (C) y (CR) durante el periodo de ayuno.

La **Figura 17B** se muestra el comportamiento mencionado en el párrafo anterior, presentando con mayor claridad de cómo varía el RER con respecto al tiempo durante periodo el ayuno y posprandio. Los grupos alimentados con las dietas (C) y (CR), muestran la disminución paulatina del RER durante el periodo de ayuno, desde el valor de 1 (oxidación de hidratos de carbono) hasta 0.75 (principalmente oxidación de lípidos). Lo que explica que el metabolismo oxidativo, utiliza primero los hidratos de carbono disponibles (Valor RER de 1) obtenidos del consumo de alimento para la producción de energía por medio de la vía metabólica glucólisis (CARMONA, 2010.):



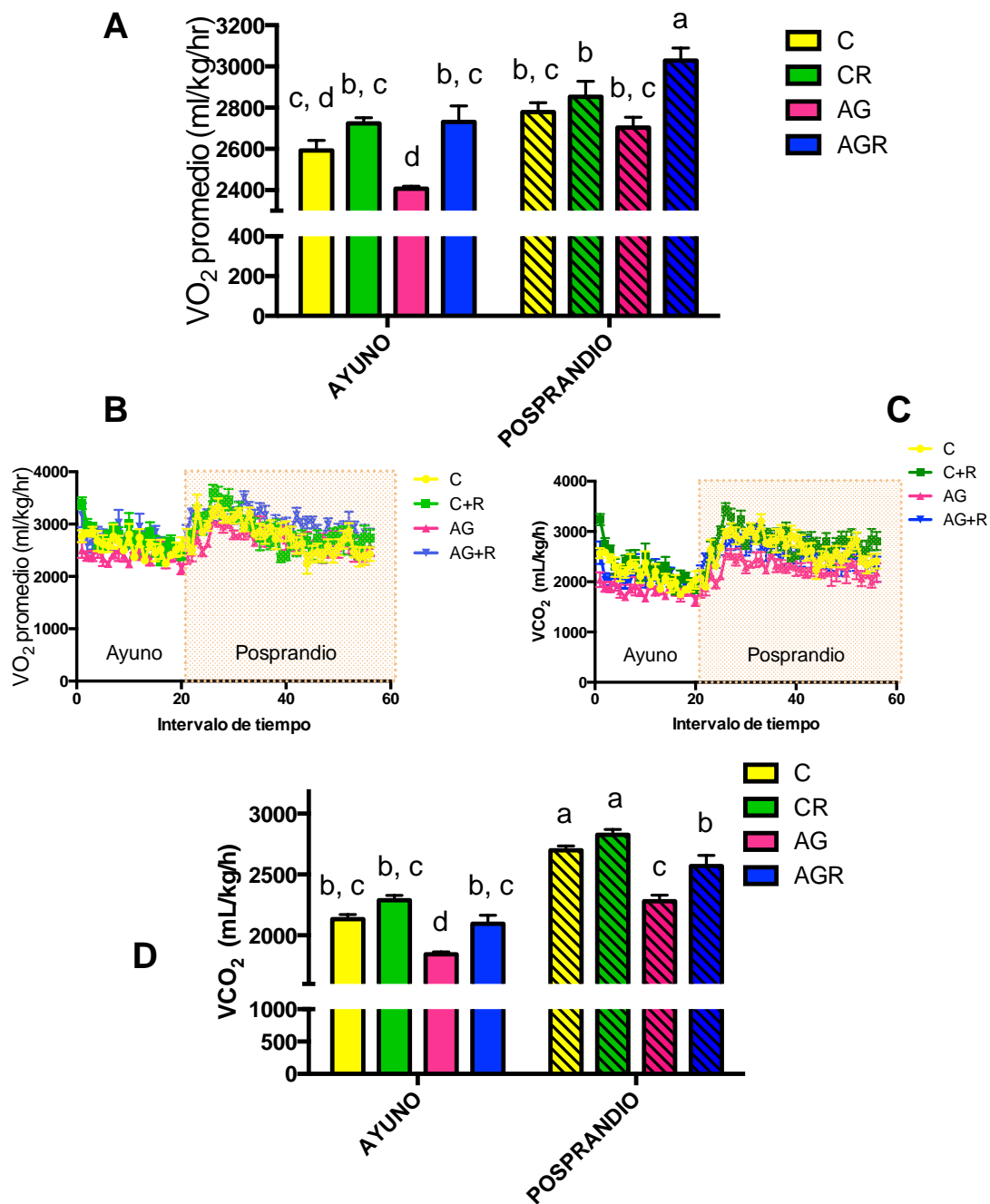
Y al agotarse los hidratos de carbono disponibles en el periodo de ayuno, utiliza la vía metabólica de la gluconeogénesis, que consiste en la biosíntesis de glucosa a partir de la oxidación de componentes carbonados diferentes a los hidratos de

carbono, como glicerol, aminoácidos y ácidos grasos (Valor RER menor a 1 dependiendo del sustrato oxidado) (CARMONA, 2010.) .

Por ello, el valor inicial del RER en el periodo de ayuno de los grupos (C) y (CR) (**Figura 17B**) es de un valor cercano a uno , ya que están oxidando hidratos de carbono por medio de la vía metabólica de glucólisis, y conforme avanza el periodo de ayuno oxidan una mezcla de sustratos diferente a los hidratos de carbono por medio de la vía metabólica de gluconeogénesis activada al agotarse los hidratos de carbono en el periodo de ayuno. Así mismo, en cuanto inicia el periodo de posprandio, se observa que el valor del RER incrementa nuevamente a valores cercanos a 1, lo que demuestra que el metabolismo oxidativo vuelve a utilizar la vía metabólica de glucólisis al tener acceso nuevamente a hidratos de carbono disponibles por el consumo de alimento.

Por otro lado, los grupos alimentados con las dietas (AG) y (AGR), no siguen el comportamiento metabólico normal, ya que tanto el periodo de ayuno como en el periodo de posprandio utilizan la oxidación de ácidos grasos como reacción metabólica principal para la obtención de energía, lo que hace referencia a una inflexibilidad metabólica a consecuencia del consumo de una dieta alta en grasa. Es decir, que los grupos (AG) y (AGR) no pueden alternar el tipo de sustratos que se están oxidando durante el ayuno y el posprandio, ya que se oxidan ácidos grasos en ambos periodos, a diferencia de los grupos (C) y (CR) donde si presentan flexibilidad metabólica y alternan la utilización de sustratos oxidando ácidos grasos durante el ayuno y hidratos de carbono durante el posprandio.

Respecto a la comparación de los grupos suplementados con resveratrol, se muestra que no hay una diferencia estadísticamente significativa ni en el grupo (CR) respecto al grupo (C), ni en el grupo (AGR) respecto al grupo (AG). Lo que sugiere que la suplementación con resveratrol no indujo un efecto sobre el valor del RER, y por lo tanto, sobre la proporción de sustratos oxidados, ni en el grupo (CR) ni en el grupo (AGR), tanto en un periodo de ayuno como en un periodo de posprandio



Valor de P			
	Tiempo	Dieta	Tiempo x dieta
VO ₂	<0.0001	<0.0001	NS
VCO ₂	< 0.0001	<0.0001	0.0352

Figura 18. Gráficos comparativos del efecto del resveratrol sobre el volumen de oxígeno consumido (VO₂) y el volumen de dióxido de carbono producido (VCO₂) por los grupos alimentados con los cuatro tratamientos dietarios utilizados entre un periodo de ayuno (8 h) y un periodo de posprandio (12 h). **A.** Gráfico comparativo entre el promedio de VO₂ durante un periodo de ayuno y un periodo de posprandio para cada tratamiento. **B.** Gráfico lineal de los valores de VO₂ para cada uno de los tratamientos respecto al tiempo durante un periodo de ayuno seguido de un periodo de posprandio. **C.** Gráfico lineal de los valores de VCO₂ para cada uno de los tratamientos respecto al tiempo durante un periodo de ayuno seguido de un periodo de posprandio. **D.** Gráfico comparativo entre el promedio de VCO₂ durante un periodo de ayuno y un periodo de posprandio para cada tratamiento. n=6 por cada grupo experimental. Diferentes letras representan diferencia significativa. P<0.05. [C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

En las **Figuras 18 A y B**, se observa que en los grupos (AG) y (AGR) hay un incremento estadísticamente significativo en el volumen de oxígeno consumido durante el periodo de posprandio respecto al periodo de ayuno; así mismo, en los grupos (C) y (CR) se observa la tendencia hacia un incremento en el volumen de oxígeno consumido en el periodo de ayuno respecto al periodo de posprandio en éstos dos grupos, a pesar de no ser estadísticamente significativa. Lo que demuestra que todos los grupos, y principalmente los grupos (AG) y (AGR) tienen una velocidad metabólica oxidativa mayor durante el periodo de posprandio respecto al periodo de ayuno.

Se muestra que los grupos con mayor consumo de oxígeno estadísticamente significativo en ambos periodos (ayuno y posprandio), son los grupos suplementados con resveratrol: (AGR) y (CR); respecto a los grupos no suplementados con resveratrol: (C) y (AG). Así mismo, se observa que el grupo (AG) presenta un consumo estadísticamente menor de oxígeno respecto a los demás tratamientos dietarios (AGR, CR y C) tanto en el periodo de ayuno como en el periodo de posprandio.

Se observa que en el modelo de obesidad inducido por el consumo de una dieta alta en grasa (AG), la velocidad metabólica oxidativa disminuye significativamente debido al desbalance metabólico que presenta éste modelo, por lo que el grupo (AG) presenta el menor consumo de oxígeno en ambos periodos.

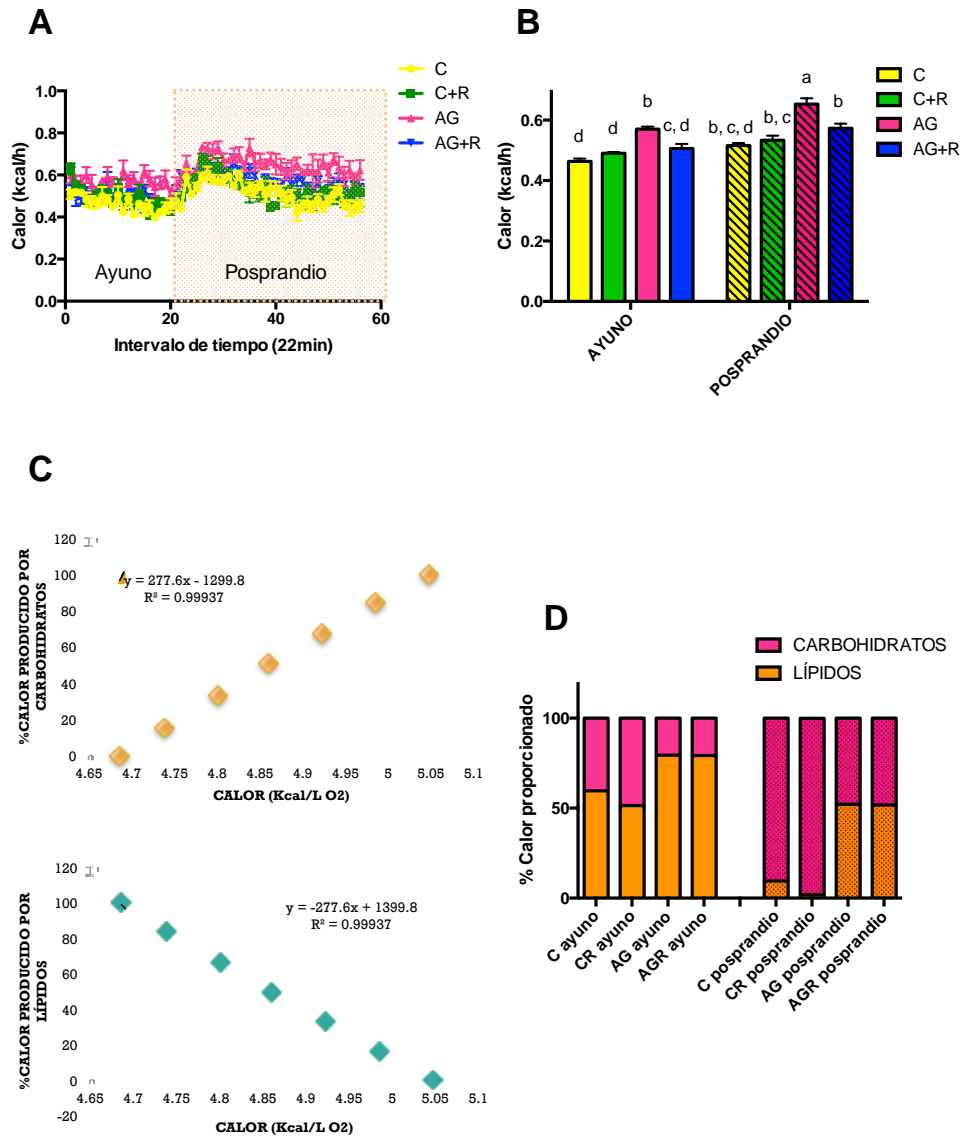
En la literatura se ha reportado este mismo comportamiento en un modelo de inducción a obesidad a partir de una dieta alta en grasa suplementada con resveratrol a una dosis de 400 mg/kg pc/día (Lagouge et al., 2006), en donde demostró que el grupo alimentado con la dieta alta en grasa suplementada con resveratrol no presentó diferencias en el valor de RER pero sí en el volumen de oxígeno consumido, ya que Lagouge y colaboradores mostraron que el resveratrol promueve la utilización de ácidos grasos como sustrato primario e incrementa la actividad oxidativa mitocondrial (Lagouge et al., 2006).

Esto sugiere que el grupo alimentado con la dieta (AGR) es el grupo con mayor consumo de oxígeno y la velocidad metabólica más alta respecto a los demás tratamientos dietarios, dado que oxida ácidos grasos la mayor parte del tiempo,

tanto en el periodo de ayuno como de posprandio, al igual que el grupo (AG), pero con una velocidad oxidativa significativamente mayor debido a que el resveratrol promueve la biogénesis mitocondrial y una mayor efectividad en la actividad oxidativa mitocondrial. Así mismo, el grupo alimentado con la dieta (CR) consume un volumen mayor de oxígeno respecto al grupo (C), dado que utiliza una mezcla de sustratos con la misma proporción de hidratos de carbono que el grupo (C), pero tiene un metabolismo oxidativo más acelerado por la suplementación con resveratrol debido a una mayor efectividad en la actividad oxidativa mitocondrial.

En las **Figuras 17 C y D** se muestra que el grupo (AG) presenta una producción de dióxido de carbono menor estadísticamente significativa respecto a los grupos (CR), (C) y (AGR), tanto en el periodo de ayuno como en el periodo de posprandio. Así mismo, se observa que en los tratamientos dietarios C, CR y AG hay una producción mayor estadísticamente significativa de dióxido de carbono durante el periodo de posprandio respecto al periodo de ayuno, y se mantiene la misma tendencia entre los grupos que en el periodo de ayuno, excepto por el grupo (AGR). El grupo (AGR) no presentó diferencia significativa respecto a los grupos (C) y (CR) durante el periodo de ayuno, sin embargo, durante el periodo de posprandio produjo un volumen de dióxido de carbono significativamente menor al volumen de dióxido de carbono producido por los grupos (C) y (CR), y no presentó diferencia significativa entre el volumen de dióxido de carbono producido durante el periodo de posprandio respecto al que produjo en el periodo de ayuno.

El orden descendente del volumen de dióxido de carbono producido (CR>C>AGR>AG) es diferente al orden descendente del volumen de oxígeno producido (AGR>CR>C>AG), ya que en la oxidación de hidratos de carbono, la relación del volumen oxígeno consumido es igual al volumen de dióxido de carbono producido (1:1); mientras que en la oxidación de ácidos grasos, el volumen de oxígeno consumido es mayor al volumen de dióxido de carbono producido (23:16). Debido a esto, el volumen de dióxido de carbono producido en el grupo (AGR) está posicionado más abajo que en el orden del volumen de oxígeno consumido, pero es congruente con la explicación desarrollada sobre el volumen de oxígeno consumido acerca del metabolismo oxidativo acelerado debido a la suplementación con resveratrol.



Valor de P			
	Tiempo	Dieta	Tiempo x dieta
Calor	<0.0001	<0.0001	NS

Figura 19. Gráficos comparativos del efecto del resveratrol sobre el calor producido (kcal/h) por los grupos alimentados con los cuatro tratamientos dietarios utilizados entre un periodo de ayuno (8 h) y un periodo de posprandio (12 h). **A.** Gráfico lineal de los valores de calor producido para cada uno de los tratamientos respecto al tiempo **B.** Gráfico comparativo entre el promedio de calor producido. **C.** Gráficos obtenidos de la tabla de Lusk, 1928, para el análisis de la oxidación de mezclas de hidratos de carbono y lípidos a partir del calor producido y del volumen de oxígeno consumido. **D.** Gráfico representativo del porcentaje de calor proporcionado a partir de hidratos de carbono y lípidos para cada uno de los tratamientos dietarios utilizados. n=6 por cada grupo experimental. Diferentes letras representan diferencia significativa (a>b>c>d). P<0.05.

[C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

En las **Figuras 19 A y B**, se observan las diferencias del calor producido (kcal/h) entre los cuatro tratamientos dietarios utilizados durante el periodo de ayuno y el periodo de posprandio. Al comparar el periodo de ayuno y el periodo de posprandio, se observa que al incrementar la velocidad metabólica de todos los tratamientos dietarios durante el periodo de posprandio respecto al periodo de ayuno, la producción de calor también incrementa de forma estadísticamente significativa para todos los grupos respecto al periodo de ayuno.

Durante el periodo de ayuno, se observa que el grupo (AG) produjo una cantidad de calor estadísticamente mayor respecto a los grupos (AGR), (CR) y (C); así mismo, durante el periodo de posprandio, se observa la misma tendencia que durante el periodo de ayuno, en donde el grupo (AG) produce una cantidad de calor estadísticamente mayor respecto a los grupos (AGR), (CR) y (C). Por otro lado, al comparar los valores de calor producido durante el periodo de posprandio respecto al periodo de ayuno, se muestra que existe un incremento estadísticamente significativo en la cantidad de calor producida en los grupos (CR), (AG) y (AGR), y únicamente el grupo (C) muestra una tendencia a incrementar pero sin mostrar diferencia significativa entre los periodos de ayuno y posprandio.

La reacción de oxidación de los ácidos grasos se producen (Ec. 2) de 2340 kcal./mol, es decir aproximadamente 9 kcal./g (FAO <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/006/y5022e/y5022e00.pdf>); mientras que en la oxidación de hidratos de carbono se producen (Ec. 1) 686 kcal./mol, es decir aproximadamente 4 kcal./g (FAO). Al relacionar éstos valores con los datos obtenidos a partir de la interpretación de los valores obtenidos del RER, se observa que los grupos (C) y (CR) oxidan principalmente hidratos de carbono, mientras que los grupos (AG) y (AGR) oxidan principalmente lípidos, por lo que la cantidad de calor producida por el grupo (AG) es mayor dado que oxida principalmente ácidos grasos y éstos producen una cantidad de calor mayor. Así mismo se ha reportado que en el modelo de inducción a obesidad a partir de una dieta alta en grasa, la energía corporal es significativamente mayor a la del grupo control, debido al incremento en la acumulación de grasa corporal (Lin et al., 1979). Por ello, como el grupo (AG) desarrolló un efecto obesogénico debido al

consumo de la dieta alta en grasa, presentó el valor mayor de calor producido tanto en ayuno como en posprandio; y como el grupo (AGR) no desarrolló éste efecto obesogénico de acumulación de grasa, a pesar de oxidar aproximadamente las mismas proporciones de sustratos oxidados que el grupo (AG), el grupo (AGR) presentó una producción de calor menor al grupo (AG).

Por otra parte, a partir del valor de calor proporcionado por cada uno de los diferentes grupos de tratamientos dietarios se puede obtener información más exacta sobre la proporción de la mezcla de sustratos que cada uno de los grupos se encuentra oxidando al utilizar la tabla de Lusk (Lusk, 1968), que proporciona la relación existente entre el valor del calor total producido y el porcentaje de calor producido por cada sustrato.

Para obtener esta relación a partir de la tabla de Lusk (Lusk, 1968) se graficaron los valores de calor producido entre el volumen de oxígeno consumido y el peso de los animales (kcal/L O_2) que menciona la tabla contra el porcentaje de calor producido por hidratos de carbono y el porcentaje de calor producido por lípidos para cada valor de calor (**Figura 19C**), y se obtuvo la ecuación de la recta, en donde se sustituyeron en los valores de “x” los valores de calor de cada grupo y así se obtuvo la proporción de sustratos oxidados (lípidos y hidratos de carbono) para la producción de calor durante el periodo de ayuno y el periodo de posprandio (**Figura 19D**).

En la **Figura 19D** se muestra el porcentaje de calor producido por cada tipo de sustrato para cada uno de los grupos. Se muestra que los grupos alimentados con la dieta (C) y (CR) oxidan entre 50-60% de hidratos de carbono y entre 40-50% de lípidos durante el periodo de ayuno; mientras que los grupos (AG) y (AGR) oxidan aproximadamente 20% de hidratos de carbono y 80% de lípidos. Por otro lado, durante el periodo de posprandio, los grupos (C) y (CR) oxidan entre 90% y 98% de hidratos de carbono y entre 2% y 10% de lípidos; mientras que los grupos (AG) y (AGR) oxidan aproximadamente 50% de hidratos de carbono y 50% de lípidos. Ésta relación resulta congruente con el análisis de los valores del RER y los valores obtenidos de calor producido, así como las proporciones entre el volumen de oxígeno y dióxido de carbono.

7.4 ANÁLISIS DE PARÁMETROS BIOQUÍMICOS EN SUERO

7.4.1 GLUCOSA

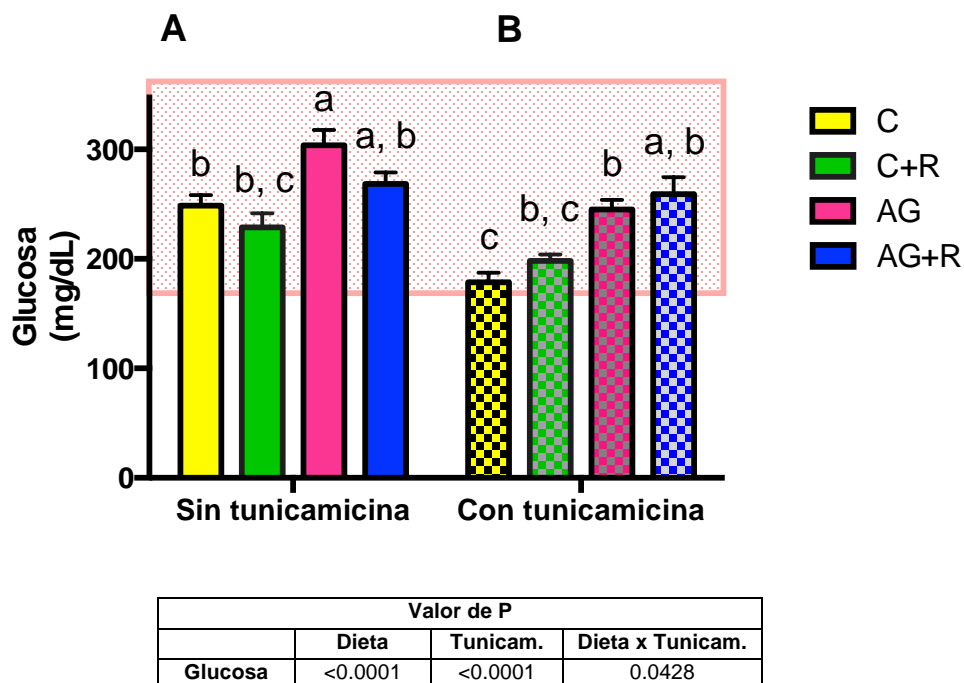


Figura 20. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del RE por tunicamicina sobre la concentración de glucosa (mg/dL) en suero. **A.** Concentración de glucosa en suero de los cuatro grupos de animales pertenecientes a los cuatro tratamientos dietarios en los que no se administró tunicamicina. **B.** Concentración de glucosa en suero de los cuatro grupos de animales pertenecientes a los cuatro tratamientos dietarios en los que si se aplicó tunicamicina 8 h previas a la eutanasia para inducir estrés del RE. n=5 por cada grupo experimental. Diferentes letras representan diferencia significativa (a>b>c). P<0.05. ANOVA 2 vías.

[C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

Análisis de resultados para grupos no tratados con tunicamicina

En la **Figura 20A** se muestra la concentración de glucosa en suero de los grupos en los que no se administró tunicamicina, en donde se aprecia que el grupo (AG) presentó una concentración estadísticamente mayor de glucosa respecto a los grupos (C) y (CR); a su vez, el grupo (AGR) no resultó estadísticamente diferente

de los grupos (AG), (C) y (CR); y finalmente, los grupos (C) y (CR) no presentaron diferencia estadísticamente significativa entre sí. Todos los valores se encontraron dentro del rango normal para glucosa en esta cepa (Charles River Laboratories International) (Fernandez et al., 2010).

Se puede observar que, existe diferencia estadísticamente significativa entre el grupos alimentado con la dieta alta en grasa (AG) respecto a las dietas control (C) y (CR); así mismo, los grupos alimentados suplementados con resveratrol tanto en la dieta control como en la dieta alta en grasa, (CR) y (AGR), muestran una tendencia a disminuir la concentración de glucosa en suero a pesar de no ser significativa.

En un estudio conducido por Kang *et al.* se reportó un efecto estadísticamente significativo en la reducción de la concentración de glucosa utilizando un modelo de obesidad en roedores por medio de una dieta alta en grasa suplementada con resveratrol a una dosis de 30 mg/kg pc/día (Kang et al., 2012). Sin embargo, en otro estudio dirigido por Lagouge *et al.*, donde se utilizó un modelo de obesidad en roedores a partir de una dieta alta en grasa suplementada con 400 mg/kg pc/día de resveratrol (Lagouge et al., 2006), no se observó diferencia significativa en la concentración de glucosa en suero. Por lo que los resultados obtenidos en este estudio, son consistentes con los resultados previamente reportados por Lagouge y colaboradores (Lagouge et al., 2006).

En este estudio no se observó algún efecto de la suplementación con resveratrol sobre la reducción de la concentración de glucosa ni en los animales alimentados con una dieta control ni con una dieta alta en grasa.

Análisis de resultados para grupos tratados con tunicamicina

En la **Figura 20B** se muestra la concentración de glucosa en suero de los grupos de ratones en los que se administró tunicamicina. Se observa que el grupo (AGR+T) presenta una concentración de glucosa en suero estadísticamente mayor respecto al grupo (C+T), pero no presenta diferencia respecto a los grupos (CR+T) y (AG+T); a su vez el grupo (AG) resultó estadísticamente mayor respecto al grupo (C) pero no presentó diferencia estadística respecto al grupo (CR), y

finalmente, el grupo (CR) no presentó diferencia estadística respecto al grupo (C). Todos los valores se encontraron dentro del rango normal para glucosa en ésta cepa de ratones (Charles River Laboratories International) (Fernandez et al., 2010).

Al comparar los valores de los grupos (C+T) y (AG+T) en la **Figura 18B** respecto a los mostrados en la **Figura 18A** de los grupos (C) y (AG), se puede observar que los grupos (C+T) y (AG+T) tuvieron una reducción estadísticamente significativa en los valores de concentración de glucosa en suero, aunque se mantuvieron dentro del rango normal de valores.

Sin embargo, los grupos alimentados con las dietas suplementadas con resveratrol no presentaron diferencia estadísticamente significativa en la concentración de glucosa al comparar los grupos (CR+T) y (AGR+T) respecto a los grupos (CR) y (AGR), lo que muestra un efecto del resveratrol como restaurador de la homeostasis del metabolismo glucosa a pesar de la inducción del estrés del RE.

7.4.2 COLESTEROL TOTAL

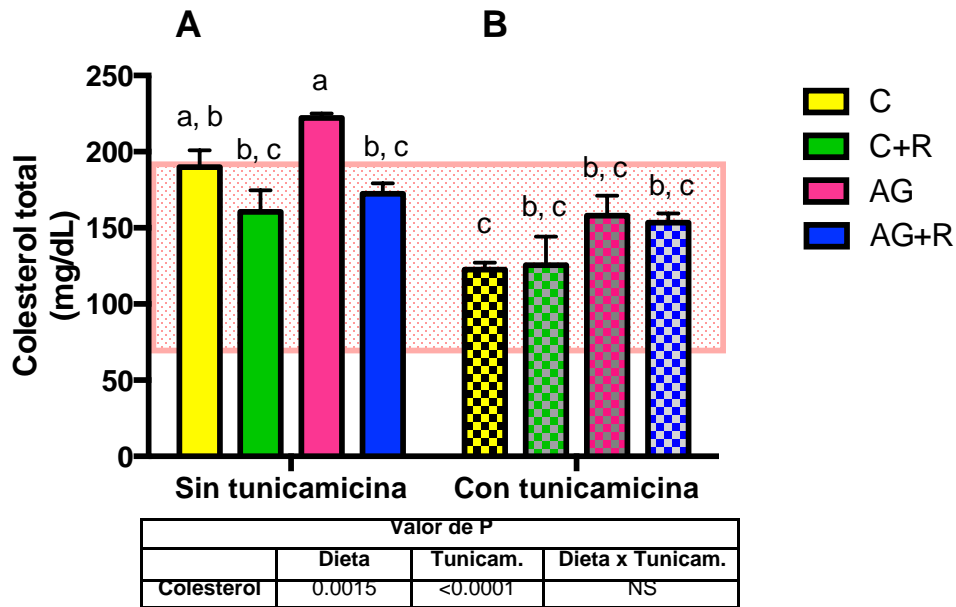


Figura 21. Efecto del resveratrol y de la tunicamicina sobre la concentración de colesterol total (mg/dL) en suero. **A.** Concentración de colesterol total en suero de los cuatro grupos de animales pertenecientes a los cuatro tratamientos dietarios en los que no se administró tunicamicina. **B.** Concentración de colesterol total en suero de los cuatro grupos de animales pertenecientes a los cuatro tratamientos dietarios en los que sí se administró tunicamicina 8 h previas a la eutanasia para inducir estrés de RE. n=5 por cada grupo experimental. Diferentes letras representan diferencia significativa ($a>b>c$). $P<0.05$.

[C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

Análisis de resultados para grupos no tratados con tunicamicina

En la **Figura 21A** se muestra la concentración de colesterol total en suero de los grupos en los que no se administró tunicamicina, en donde se observa que el grupo (AG) presenta la mayor concentración de colesterol total en suero, y es mayor a los valores del rango normal de colesterol establecido para esta cepa (69 a 192 mg/dL) (Charles River Laboratories International) (Fernandez et al., 2010), (Mazzaccara et al., 2008), a diferencia de los grupos (C), (CR) y (AGR) que sí se encuentran dentro del rango normal. Así mismo, el grupo (AG) muestra un

incremento en la concentración de colesterol total estadísticamente significativo respecto a los grupos suplementados con resveratrol (CR) y (AGR) pero no respecto al grupo (C). Por otro lado, el grupo (C) no presenta diferencia significativa respecto a los grupos suplementados con resveratrol (CR) y (AGR), mismos que tampoco presentan diferencia significativa entre sí.

En esta figura (**Figura 21A**) se muestra una reducción en la concentración de colesterol total entre los grupos alimentados con la dieta (CR) y (AGR) respecto a los grupos no suplementados con resveratrol (C) y (AG), que presenta diferencia estadísticamente significativa únicamente entre el grupo (AGR) respecto al grupo (AG). Lo que demuestra que la suplementación con resveratrol sobre un modelo de obesidad inducida por dieta provoca la reducción estadísticamente significativa de la concentración de colesterol total en plasma manteniéndola dentro del rango normal de valores en ratones C57BL/6.

En la literatura se ha reportado que en un modelo experimental murino de obesidad inducida por dieta la suplementación de resveratrol a una dosis de 22.4 mg/kg pc/día (Baur et al., 2006) y de 400 mg/kg pc/día (Lagouge et al., 2006) no mostró diferencia estadísticamente significativa entre el valor de colesterol total en suero del grupo alimentado con la dieta alta en grasa suplementada con resveratrol respecto al grupo alimentado con la dieta alta en grasa. Por lo que los resultados obtenidos en este estudio difieren de los resultados reportados por Baur et al. 2006 y Lagouge et al. 2006.

En este estudio se muestra el efecto benéfico del resveratrol sobre la reducción estadísticamente significativa en el valor de colesterol total en suero del grupo de animales alimentados con una dieta alta en grasa suplementada con resveratrol. Sin embargo, este efecto no se aprecia en la suplementación de resveratrol en una dieta control.

Análisis de resultados para grupos tratados con tunicamicina

En la **Figura 21B**, se muestra la concentración de colesterol total en suero de los grupos en los que se administró tunicamicina. Se aprecia que el grupo (AG+T) presenta la mayor concentración de colesterol total, seguido por el grupo

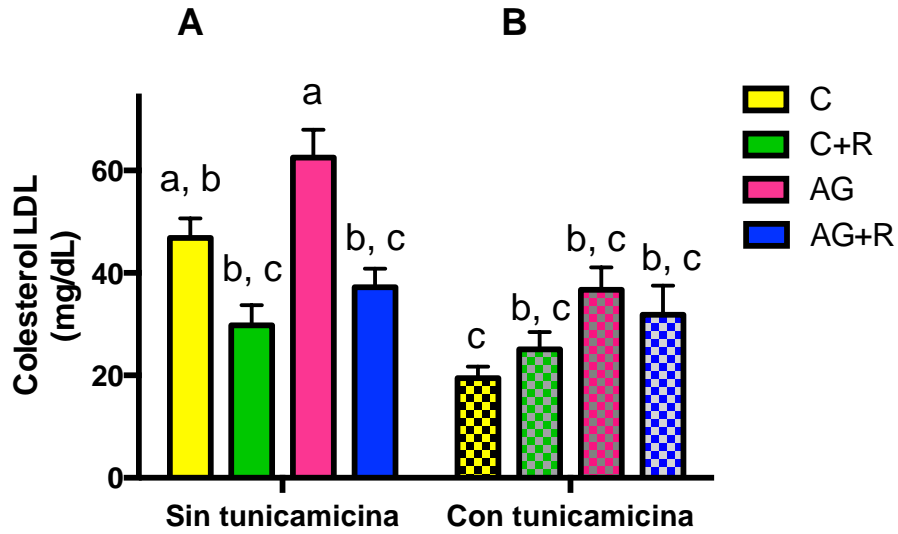
alimentado con la dieta alta en grasa suplementada con resveratrol (AGR+T), el grupo (CR+T) y el grupo (C+T), sin presentar diferencia significativa entre ninguno de los grupos. Los valores de colesterol total en suero de todos los grupos se encontraron dentro del rango normal de valores para ésta cepa.

Al comparar los valores de los grupos mostrados en la **Figura 21B** respecto a los con los valores de los grupos en la **Figura 21A**, se observa que los grupos (C+T) y (AG+T) presentaron una disminución estadísticamente significativa en los valores de concentración de colesterol total respecto a los grupos (C) y (AG), lo que demuestra que la inducción del estrés del RE provoca una alteración en la homeostasis del metabolismo de colesterol que provoca la reducción de la concentración de colesterol total en suero en éstos dos grupos.

Por otro lado, se observa que en la comparación de los grupos alimentados con las dietas suplementadas con resveratrol (CR+T) y (AGR+T) (**Figura 21B**) respecto a los grupos (CR) y (AGR) (**Figura 21A**), no hay una diferencia estadísticamente significativa en la concentración de colesterol total.

Este estudio sugiere que el resveratrol induce un efecto restaurador de la homeostasis del metabolismo de colesterol a pesar de la inducción del estrés del RE en una dieta control, así como en una dieta alta en grasa suplementada con resveratrol.

7.4.2.1 COLESTEROL LDL



Valor de P			
	Dieta	Tunicam.	Dieta x Tunicam.
LDL	<0.0001	0.0002	0.0126

Figura 22. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del RE por tunicamicina sobre la concentración de colesterol transportado en lipoproteínas de baja densidad (LDL) (mg/dL) en suero. **A.** Concentración de colesterol transportado en lipoproteínas de baja densidad (LDL) en suero de los cuatro grupos de animales pertenecientes a los cuatro tratamientos dietarios en los que no se aplicó tunicamicina. **B.** Concentración de colesterol transportado en lipoproteínas de baja densidad (LDL) en suero de los cuatro grupos de animales pertenecientes a los cuatro tratamientos dietarios en los que si se aplicó tunicamicina 8 h previas a la eutanasia para inducir estrés del RE. n=5 por cada grupo experimental. Diferentes letras representan diferencia significativa (a>b>c). P<0.05.

[C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

Análisis de resultados de los grupos de animales que no fueron tratados con tunicamicina

En la **Figura 22A** se muestra la concentración de colesterol transportado en lipoproteínas de baja densidad (LDL) en suero de los grupos en los que no se administró tunicamicina. Se aprecia que el grupo (AG) presenta una concentración de colesterol LDL estadísticamente mayor respecto a los grupos suplementados con resveratrol (CR) y (AGR), sin embargo no presenta diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo (C). A su vez, el grupo (C), no presenta diferencia estadísticamente significativa respecto a los grupos (CR) y (AGR), mismos que tampoco presentan diferencia estadísticamente significativa entre sí.

Para éste parámetro no se ha establecido un rango normal de valores para esta cepa, aunque se sabe que la proporción de colesterol transportado en HDL es de aproximadamente del 80% del valor de la concentración de colesterol total, mientras que el valor de colesterol transportado en las lipoproteínas LDL es aproximadamente el 20% del valor del colesterol total (The Jackson Laboratory, 2007) (Ahn et al., 2008), por lo que de acuerdo a ésta estimación, se podría sugerir que los grupos (C), (CR) y (AGR) se encuentran dentro del rango normal de valores, y el grupo (AG) presenta un valor mayor al que se consideraría como el rango normal.

En ésta figura se muestra una disminución de los valores de la concentración de colesterol transportado en lipoproteína de baja densidad (LDL) en los grupos suplementados con resveratrol (CR) y (AGR) respecto a los grupos (C) y (AG), encontrando que únicamente es estadísticamente significativa entre el grupo (AGR) respecto al grupo (AG).

El efecto del resveratrol sobre la disminución en la concentración del colesterol transportado en las lipoproteínas LDL es uno de los efectos benéficos metabólicos importantes que confiere el resveratrol, debido a que los niveles elevados de colesterol de en las lipoproteína LDL se asocian al desarrollo de aterosclerosis, por lo que éste efecto del resveratrol le confiere la propiedad de “cardioprotector”.

En la literatura se ha reportado que en un modelo obesidad inducido a partir de una dieta alta en grasa suplementada con resveratrol a una dosis de 400 mg/kg pc/día, no muestra diferencia estadísticamente significativa en la concentración de colesterol LDL. Los resultados obtenidos en éste estudio presentan una tendencia diferente con el resultado reportado por Lagouge et al. 2006, ya que los resultados obtenidos indican una reducción en el colesterol LDL que es estadísticamente significativa cuando se comparan los grupo (AGR) respecto al grupo (AG).

En éste estudio se muestra el efecto benéfico del resveratrol sobre la reducción estadísticamente significativa en el valor de colesterol LDL en suero del grupo de animales alimentados con una dieta alta en grasa suplementada con resveratrol. Sin embargo, éste efecto no se aprecia en la suplementación de resveratrol en una dieta control.

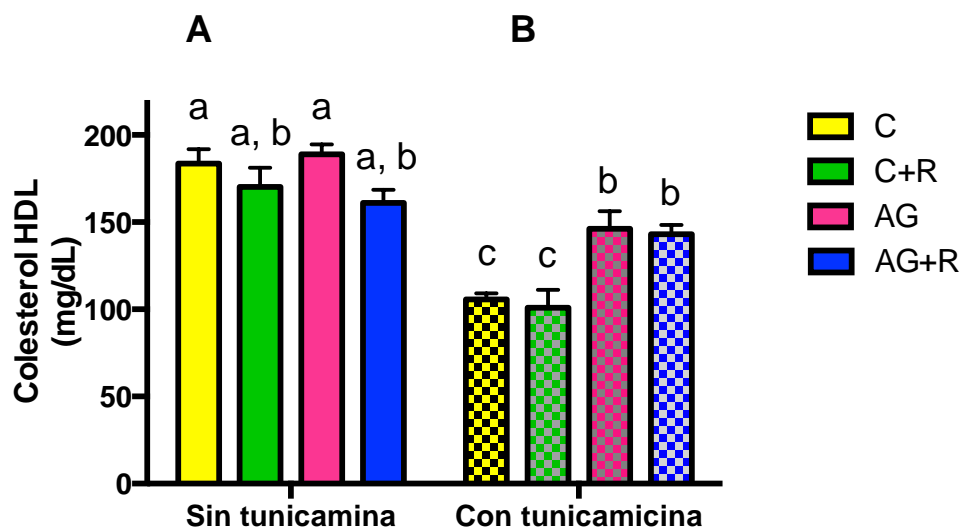
Análisis de resultados para grupos tratados con tunicamicina

En la **Figura 22B**, se muestra la concentración de colesterol LDL en suero de los grupos de animales que fueron tratados con tunicamicina, en donde se aprecia que el grupo con mayor concentración de colesterol LDL es el grupo (AG+T), seguido del grupo (AGR+T), (CR+T) y (C+T). Ninguno de los grupos experimentales muestra diferencia estadísticamente significativa entre sí.

Al comparar los valores de la concentración de colesterol LDL de los grupos sin la administración de tunicamicina (**Figura 22 A**) respecto a los valores de los grupos administrados con tunicamicina (**Figura 22 B**), se observa que el grupo (C+T) presentó una disminución estadísticamente significativa en la concentración de colesterol LDL respecto al grupo (C); así mismo, se observa que el grupo (AG+T) presentó una disminución estadísticamente significativa en la concentración de colesterol LDL respecto al grupo (AG). A diferencia de los grupos de animales alimentados con las dietas suplementadas con resveratrol, en donde el grupo (CR+T) que no presentó diferencia estadísticamente significativa en la concentración de colesterol LDL respecto a los grupos (CR); así como el grupo y (AGR+T) no presentó diferencia estadísticamente significativa en la concentración del colesterol LDL respecto al grupo (AGR).

Por lo tanto, de acuerdo a los resultados obtenidos en éste estudio respecto a la concentración de colesterol LDL, se puede argumentar un efecto benéfico del resveratrol sobre la homeostasis del metabolismo de colesterol a pesar de la inducción del estrés del RE.

7.4.2.2 COLESTEROL HDL



Valor de P			
	Dieta	Tunicam.	Dieta x Tunicam.
HDL	<0.0001	0.0002	0.0126

Figura 23. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del RE por tunicamicina sobre la concentración de colesterol transportado por lipoproteínas de alta densidad (HDL) (mg/dL) en suero. **A.** Concentración de colesterol transportado por lipoproteínas de alta densidad (HDL) de los los cuatro tratamientos dietarios en los que no se administró tunicamicina. **B.** Concentración de colesterol transportado por lipoproteínas de alta densidad (HDL) en suero de los cuatro grupos de animales pertenecientes a los cuatro tratamientos dietarios a los que se administró tunicamicina 8 h previas a la eutanasia para inducir estrés de RE. n=5 por cada grupo experimental. Diferentes letras representan diferencia significativa (a>b>c). P<0.05.

[C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

Análisis de resultados para grupos de animales que no fueron tratados con tunicamicina

En la **Figura 23A** se muestra la concentración de colesterol transportado por lipoproteínas de alta densidad (HDL) en suero de los grupos de animales en los que no se administró tunicamicina. Se muestra que el grupo con mayor concentración de colesterol HDL es el grupo (AG), seguido del grupo (C), (CR) y finalmente el grupo (AGR), entre los cuales no presentan diferencia estadísticamente significativa.

El colesterol HDL no es aterogénico, ya que las lipoproteínas de alta densidad transportan el colesterol del tejido endotelial hacia nuevamente al hígado donde puede ser eliminado del organismo, por lo que se considera que reduce el riesgo cardiovascular (Caquet, 2008). Por lo que se puede mostrar que la variación en la concentración de colesterol total se debe a la disminución estadísticamente significativa que presentan los grupos suplementados con resveratrol, (CR) y (AGR), respecto a los grupos no suplementados con resveratrol, (C) y (AG) en los valores de colesterol LDL y no en la concentración del colesterol HDL, lo cual demuestra que el resveratrol reduce los valores de la concentración del colesterol aterogénico (LDL) pero no los del colesterol no aterogénico (HDL).

Análisis de resultados para los grupos de animales tratados con tunicamicina

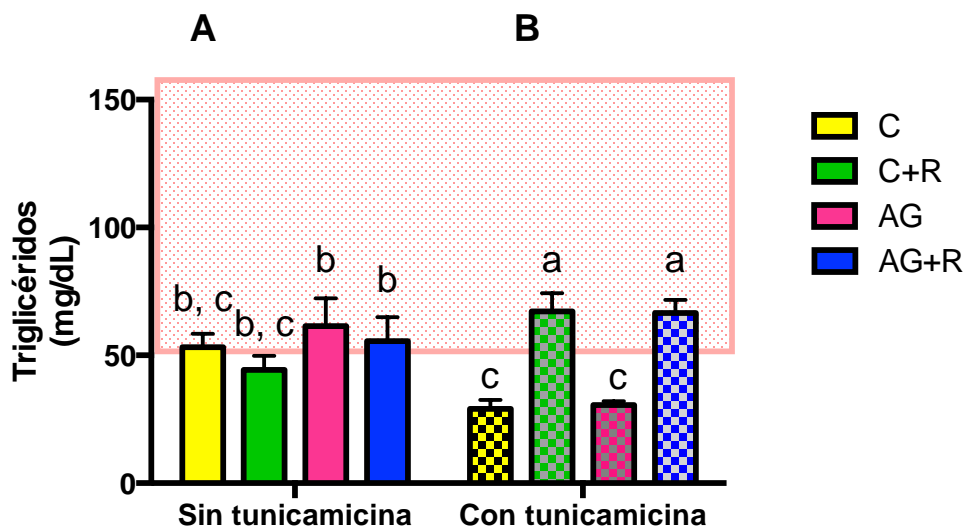
En la **Figura 23B**, se muestra la concentración del colesterol HDL en suero de los grupos de ratones en los que se administró tunicamicina. Se observa que el grupo (AG+T) presenta un incremento estadísticamente significativo de los valores de colesterol HDL respecto a los grupos (C+T) y (CR+T), más no presenta diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo (AGR+T); a su vez, el grupo (AGR+T) también presenta un incremento estadísticamente significativo respecto a los grupos (C+T) y (CR+T); mientras que los grupos (C+T) y (CR+T) no presentan diferencia estadísticamente significativa entre sí.

Al comparar los grupos tratados con tunicamicina (**Figura 23B**) respecto a los grupos no tratados con tunicamicina (**Figura 23A**), se observa que los grupos

(C+T), (CR+T) y (AG+T) presentan una disminución estadísticamente significativa respecto a los grupos (C), (CR) y (AG) en la concentración de colesterol HDL; mientras que el grupo (AGR+T) no presenta una disminución estadísticamente significativa respecto al grupo (AGR).

Los resultados obtenidos en éste estudio, demuestran que la suplementación de resveratrol en una dieta alta en grasa mantiene el valor de la concentración de colesterol HDL en valores normales sin presentar diferencia estadísticamente significativa a pesar de la inducción de estrés de RE por tunicamicina. Sin embargo, éste efecto no se aprecia en la suplementación de resveratrol en una dieta control.

7.4.3 TRIGLICÉRIDOS



Valor de P			
	Dieta	Tunicam.	Dieta x Tunicam.
Triglicér.	0.0215	0.2734	0.0005

Figura 24. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del RE por tunicamicina sobre la concentración de triglicéridos (mg/dL) en suero. **A.** Concentración de triglicéridos en suero de los cuatro grupos de animales pertenecientes a los cuatro tratamientos dietarios que no fueron tratados con tunicamicina. **B.** Concentración de triglicéridos en suero de los cuatro grupos de animales pertenecientes a los cuatro tratamientos dietarios a los cuales se les aplicó tunicamicina 8 h previas a la eutanasia para inducir estrés del RE. n=5 por cada grupo experimental. Diferentes letras representan diferencia significativa (a>b>c). P<0.05.

[C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

Análisis de resultados de los grupos experimentales que no fueron tratados con tunicamicina

En la **Figura 24A** se muestra la concentración de triglicéridos en suero de los grupos en los que no fueron tratados con tunicamicina. Se observa que el grupo con mayor concentración de triglicéridos es el grupo de animales alimentado con la dieta alta en grasa (AG), seguido por los grupos (AGR), (C), y (CR), entre los

cuales no se presenta diferencia estadísticamente significativa. Los grupos (C), (AG) y (AGR) se encuentran dentro de los valores del rango establecido como normal para esta cepa, 53-159.29 mg/dL (Mazzaccara et al., 2008); mientras que el grupo (CR) presentó valores ligeramente menores a los establecidos en el rango normal.

Se observa que los grupos suplementados con resveratrol, (CR) y (AGR), muestran una tendencia a presentar valores ligeramente menores a los que se obtuvieron de los grupos sin suplementación de resveratrol, (C) y (AG) (**Figura 24A**), aunque esta tendencia no presenta una diferencia estadísticamente significativa en ninguno de los casos. Así mismo, se observa que el grupo (CR) presenta un valor de concentración menor al rango normal establecido, ya que se ha reportado que la suplementación de resveratrol en individuos sanos podría llegar a alterar su respuesta metabólica, y puede llegar a disminuir las concentraciones de glucosa y triglicéridos incluso por debajo del rango normal (Novelle et al., 2015).

Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado en la literatura, en donde, al utilizar un modelo de obesidad con roedores por medio de una dieta alta en grasa suplementada con resveratrol en una dosis de 22.4 mg/kg pc/día (Baur et al., 2006) ó de 400 mg/kg pc/día (Lagouge et al., 2006), no muestran una disminución estadísticamente significativa en la concentración de triglicéridos.

Los resultados mostrados en este estudio, demuestran que la suplementación de resveratrol en una dieta alta en grasa, así como en una dieta control, no presentan diferencia estadísticamente significativa por un efecto benéfico del resveratrol sobre la concentración de triglicéridos en suero.

Análisis de resultados para grupos tratados con tunicamicina

En la **Figura 24B** se muestra la concentración de triglicéridos en suero de los grupos de animales a los que les fue administrada la tunicamicina. Se observa que los grupos (CR+T) y (AGR+T) presentaron valores dentro del rango normal establecido; mientras que los grupos (C+T) y (AG+T) presentaron valores inferiores al rango normal establecido. Así mismo, se muestra que el grupo (CR+T)

presentó diferencia estadísticamente significativa en la concentración de triglicéridos en suero respecto a los grupos (C+T) y (AG+T), y no presentó diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo (AGR+T); a su vez, se observa que el grupo (AGR+T) también presentó diferencia estadísticamente significativa respecto a los grupos (C+T) y (AG+T).

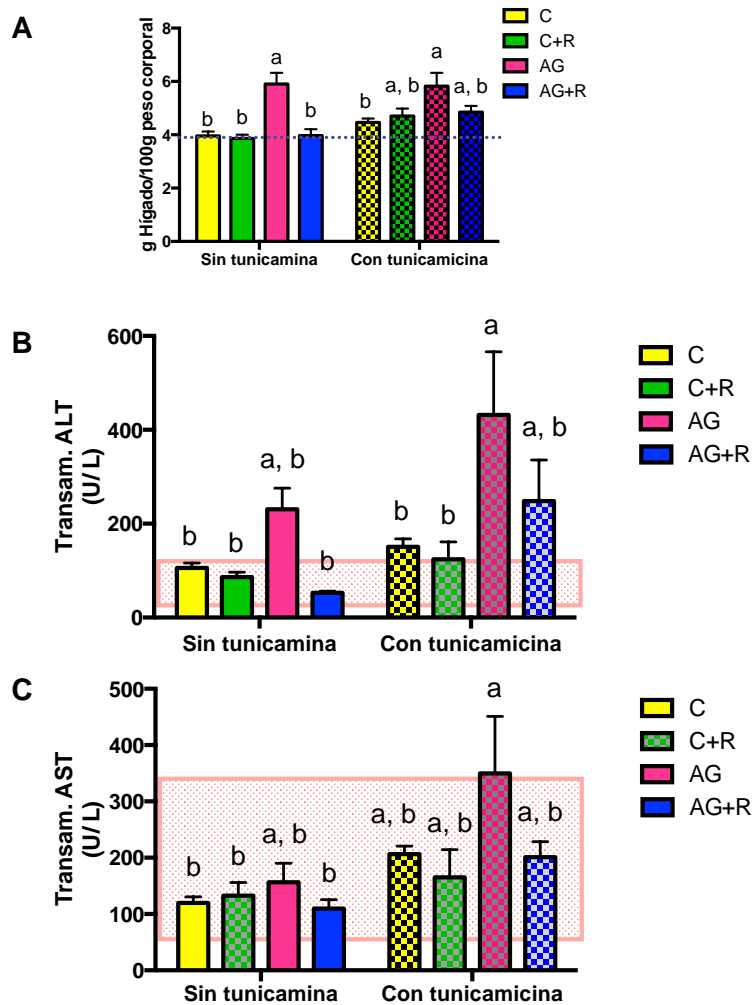
Al comparar la concentración de triglicéridos en suero de los grupos de animales que fueron tratados sin tunicamicina (**Figura 24A**) respecto a los valores de los grupos tratados con tunicamicina (**Figura 24B**), se observa que los grupos (AG+T), presentó una disminución estadísticamente significativa respecto al grupo (AG) en la concentración de triglicéridos; mientras que el grupo (C+T) no mostró diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo (C); y finalmente los grupos (CR+T) y (AGR+T) mostraron un incremento en los valores de triglicéridos en suero que fue estadísticamente significativo respecto a los grupos (CR) y (AGR).

Se observa que los grupos de ratones que fueron alimentados con las dietas suplementadas con resveratrol, (CR+T) y (AGR+T), presentan un incremento en la concentración de triglicéridos, y éstos valores se ubican dentro del rango normal establecido a diferencia de los grupos (C+T) y (AG+T). Esto sugiere que el resveratrol trata de mantener la homeostasis lipídica aún a pesar de la inducción del estrés del RE, al mantener la concentración de triglicéridos dentro del rango normal tanto en el grupo (CR+T) como en el grupo (AGR+T).

Los resultados mostrados en este estudio, sugieren que el resveratrol provoca un efecto benéfico sobre la concentración de triglicéridos en suero al mantenerla en los valores normales al ser suplementado en una dieta alta en grasa, así como en una dieta control; a diferencia de los grupos no suplementados con resveratrol que presentan una concentración menor de triglicéridos al rango normal establecido.

7.4.4 PERFIL HEPÁTICO

A continuación se muestran las pruebas de función hepática evaluadas en suero para cada uno de los grupos experimentales: la concentración de alanina aminotransferasa (ALT) y la concentración de aspartato aminotransferasa (AST), que fueron evaluadas para observar si el resveratrol presentaba como efecto secundario hepatotoxicidad. Así mismo se muestra un gráfico con la composición en peso del hígado (g hígado/100g peso corporal) para los ocho grupos experimentales utilizados (**Figura 25**).



Valor de P			
	Dieta	Tunicam.	Dieta x Tunicam.
Hígado	<0.0001	0.0147	NS
ALT	0.0035	0.0097	NS
AST	0.0929	0.0046	0.3693

Figura 25. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del RE por tunicamicina sobre el perfil hepático en los ocho grupos experimentales propuestos: composición corporal de hígado (g/100g peso corporal) y transaminasas ALT y AST. **A.** Gráfico de composición corporal de hígado. **B.** Gráfico de concentración de alanina aminotransferas (ALT). **C.** Gráfico de concentración de aspartato aminotransferas (AST). n=5 por cada grupo experimental. Diferentes letras representan diferencia significativa (a>b>c). P<0.05. [C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

Análisis de resultados para todos los grupos de respecto a la composición corporal del hígado

En la **Figura 25 A** se muestra el gráfico de composición corporal del hígado de cada uno de los grupos experimentales. En éste gráfico se observa que al comparar los grupos que no fueron tratados con tunicamicina, el grupo (AG) mostró la mayor composición corporal del hígado al momento de la eutanasia y presentó diferencia estadísticamente significativa respecto a los grupos ©, (CR) y (AGR), que no mostraron diferencia estadísticamente significativa entre ellos. Mientras que en los grupos tratados con tunicamicina, el grupo (AG+T) mostró la mayor composición corporal de hígado y presentó diferencia estadísticamente significativa respecto al grupo (C+T), más no presentó diferencia estadísticamente significativa respecto a los grupos (CR+T) y (AGR+T); a vez, los grupos (C+T), (CR+T) y (AGR+T) no mostraron diferencia estadísticamente significativa entre sí.

Al comparar la composición corporal del hígado entre los grupos de animales tratados con tunicamicina respecto a los grupos que no recibieron tunicamicina (**Figura 25 A**), se muestra que ninguno de los grupos de animales a los cuales se les administró tunicamicina (C+T, CR+T, AG+T, AGR+T) mostró un incremento estadísticamente significativo en la composición corporal del hígado respecto a los grupos sin tunicamicina (C, CR, AG, AGR).

Es bien sabido que la obesidad induce esteatosis hepática e inflamación crónica en hígado, que consiste en la acumulación anormal de lípidos dentro de los hepatocitos debido a un proceso anormal de síntesis y eliminación de triglicéridos, lo que implica a su vez la asociación de la esteatosis hepática sobre otras alteraciones al ser el hígado el principal órgano encargado del metabolismo lipídico (Maher, 2011). Se ha demostrado experimentalmente que en los ratones C57BL/6, que la obesidad inducida por una dieta alta en grasa provoca el desarrollo de esteatosis hepática e inflamación crónica debido a un desbalance entre la lipogénesis y la lipólisis (Peng et al., 2012) (Maher, 2011).

La esteatosis hepática y la inflamación del hígado resultan en un incremento en el tamaño y por tanto en el peso del hígado. De acuerdo a ello, como se observa en la **Figura 25 A**, los grupo (AG) y (AG+T) describen un comportamiento que

sugiere el desarrollo de esteatosis hepática como consecuencia del consumo de una dieta obesogénica.

En ésta misma figura, se observa que el grupo (AGR) presenta un valor de composición corporal del hígado menor estadísticamente significativo respecto al grupo (AG). lo que sugiere que la suplementación con resveratrol evita el desarrollo de esteatosis hepática a pesar del consumo de una dieta alta en grasa.

Otros estudios han reportado la tendencia mostrada en éste estudio sobre la composición corporal del hígado en un modelo murino de inducción de la obesidad por medio de una alimentación alta en grasa suplementada con resveratrol (0.025%) (Ahn et al., 2008), en donde demostró que el resveratrol inhibió el desarrollo de esteatosis hepática dado que mostró una composición corporal de hígado menor estadísticamente significativa y una menor acumulación de lípidos totales y triglicéridos en hígado estadísticamente significativa. Así mismo, se ha reportado que en un modelo murino de inducción a obesidad por medio de una dieta alta en grasa, la suplementación de una dosis de 30 mg/kg pc/día de resveratrol reduce el desarrollo de esteatosis hepática (Kang et al., 2012).

Así mismo, se muestra que el grupo (CR) no presenta diferencia significativa respecto a los grupo (C) en la composición corporal del hígado, se sugiere que el consumo de la dieta control no induce el desarrollo de esteatosis hepática, y por lo tanto, al no presentar una alteración metabólica, el resveratrol no induce cambios en la composición corporal del hígado (Novelle et al., 2015).

Por otro lado, se ha demostrado que la inducción farmacológica con tunicamicina del estrés del RE también induce el desarrollo de esteatosis hepática en ratones C57BL/6 (Lee et al., 2012). Sin embargo, se muestra que el comportamiento del grupo (AGR+T) sugiere una tendencia a presentar una composición corporal del hígado menor respecto al grupo (AG+T), con lo que sugiere que el resveratrol podría tener algún efecto benéfico en la inhibición del desarrollo de esteatosis hepática, sin embargo, ésta diferencia no es estadísticamente significativa.

Así mismo, se muestra que el grupo (CR+T) respecto al grupo (C+T) no hay diferencia estadísticamente significativa.

Los resultados mostrados en éste estudio sugieren que la suplementación con resveratrol en una dieta control no genera ningún efecto benéfico sobre la composición corporal del hígado y posiblemente el desarrollo de esteatosis hepática ante la inducción del estrés del RE. Sin embargo, en la suplementación de resveratrol en una dieta alta en grasa, sugiere una tendencia hacia una composición corporal del hígado menor que podría representar que induce la inhibición del desarrollo de esteatosis hepática ante la inducción farmacológica del estrés del RE, aunque ésta tendencia no es estadísticamente significativa.

Análisis de resultados para los grupos de ratones tratados con tunicamicina respecto a los valores de las transaminasas AST y ALT en suero.

En la **Figura 25 B** se muestran los valores de la concentración de las transaminasas ALT en suero, en donde se observa que el grupo (AG+T) presentó el valor más elevado, seguido por los grupos (AGR+T), (C+T) y (CR+T). Los grupos (C+T), (AG+T) y (AGR+T) se encontraron por arriba del rango normal establecido (20-129 U/L) (Charles River Laboratories International) (Fernandez et al., 2010), y ninguno de los grupos presentó diferencia estadísticamente significativa.

Al comparar los grupos que fueron tratados con tunicamicina respecto a los grupos que no recibieron el tratamiento con tunicamicina, se observa que ninguno de los grupos presenta una diferencia estadísticamente significativa respecto de los valores de las transaminasas ALT en suero. Se observa una tendencia a incrementar en todos los grupos, lo que provoca que los grupos (C+T) y (AGR+T) tengan valores mayores a los establecidos en el rango normal a diferencia de los grupos (C) y (AGR). Ésta tendencia probablemente se deba a que la inducción del estrés del RE por la administración de la tunicamicina provoca el desarrollo de esteatosis hepática, lo que probablemente se relacione con el incremento en la concentración de transaminasas ALT en éstos grupos.

Se observa que los grupos suplementados con resveratrol, (CR+T) y (AGR+T), no muestran diferencia estadísticamente significativa de los valores de las transaminasa ATL en suero respecto a los grupos no suplementados con resveratrol, (C+T) y (AGR), sin embargo se observa una tendencia de ambos

grupos a presentar valores menores, incluso sitúan el grupo (CR+T) dentro de los valores normales, a diferencia del grupo (C+T), lo que muestra un posible efecto del resveratrol sobre el daño hepático provocado por la tunicamicina, sin embargo, no es estadísticamente significativo.

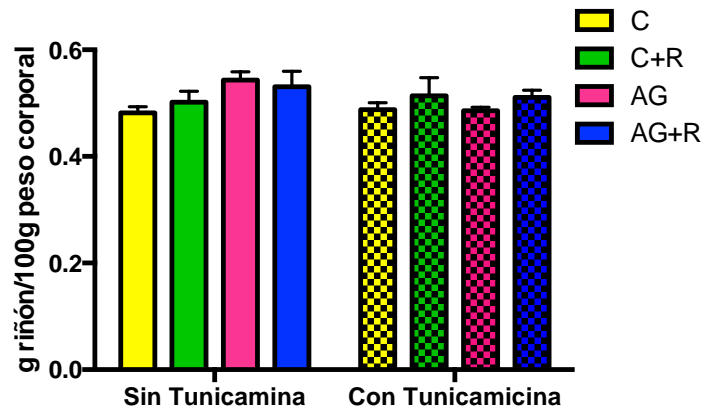
Por otro lado, en la **Figura 25 B** se muestra la concentración de los valores en suero de las transaminasas AST, en donde se observa que el grupo (AG+T) presentó el valor mayor y fue seguido por los grupos (AGR+T), (C+T) y (CR+T). Los grupos (C+T), (CR+T) y (AGR+T) se encontraron dentro del rango normal (46-342 U/L) (Charles River Laboratories International) (Fernandez et al., 2010), y el grupo (AG+T) presentó valores mayores al rango normal. Ninguno de los grupos presentó diferencia estadísticamente significativa.

Al comparar los valores de las transaminasas AST en suero de los grupos con tunicamicina (C+T, CR+T, AG+T, AGR+T) respecto a los grupos sin tunicamicina (C, CR, AG, AGR), se observa que todos los grupos presentan una tendencia hacia un incremento en los valores de concentración de éstas enzimas en suero, y se observa que el grupo (AG) presentó valores dentro del rango normal, mientras que el grupo (AG+T) presentó valores mayores a los normales. Sin embargo, ninguno de los grupos mostró un incremento estadísticamente significativo

Por otro lado, se muestra que los grupos (CR+T) y (AGR+T) presentan una tendencia a presentar valores menores de la concentración de las transaminasas AST en suero respecto los grupos (C+T) y (AG+T) sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa. Por lo que no se muestra un efecto significativo de la suplementación de resveratrol sobre el daño hepático y muscular ante la inducción del estrés del RE.

7.4.5 PERFIL RENAL

A continuación se muestran las pruebas de perfil renal evaluadas en suero para cada uno de los grupos experimentales evaluados: la concentración de albumina en suero (mg/dL) y creatinina (mg/dL). Así mismo se muestra un gráfico que muestra la composición en peso del riñón (g riñón/100g peso corporal) para los ocho grupos experimentales utilizados (**Figura 26**).

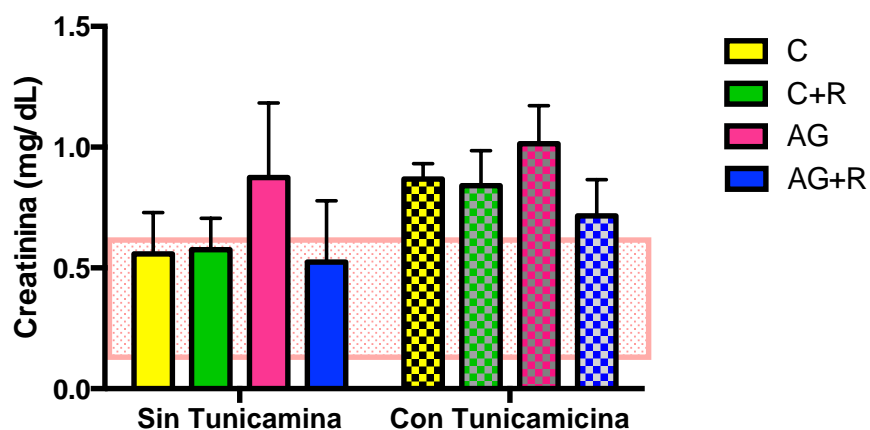


Valor de P			
	Dieta	Tunicam.	Dieta x Tunicam.
Riñón	NS	NS	NS

Figura 26. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del RE por tunicamicina sobre la composición corporal de riñón (g/100g peso corporal)

[C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

En la **Figura 26** se presentan los resultados obtenidos de la composición corporal del riñón en los todos los grupos experimentales propuestos. En este gráfico se muestra que no existe alguna tendencia ni diferencia significativa entre los grupos en cuanto a la composición corporal del riñón, tanto en lo grupos administrados con tunicamicina como en los grupos no administrados con la misma, esto indica que no hay diferencias en la composición corporal del riñón por la acumulación de lípidos en tejido renal, ni por la inducción del RE con tunicamicina, ni por el consumo de las dietas altas en grasa o suplementadas con resveratrol.



Valor de P			
	Dieta	Tunicam.	Dieta x Tunicam.
Creatinina	NS	NS	NS

Figura 27. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del RE por tunicamicina sobre el perfil renal en los ocho grupos experimentales propuestos: concentración de creatinina en suero (mg/dL). n=5 para cada grupo experimental.

[C= Control, C+R=Control + resveratrol, AG= Alta en grasa, AG+R= Alta en grasa + resveratrol]

La creatinina es un subproducto químico de la creatina. La creatina es una sustancia producida por el organismo para proporcionar energía principalmente a nivel muscular (Taal et al., 2011). La creatinina es eliminada por los riñones, si la función renal es anormal, los niveles de creatinina se ven incrementados en sangre, ya que indica que no se está eliminando correctamente a través de la orina (Taal et al., 2011). El ácido úrico, la urea y la creatinina son productos del metabolismo de las proteínas en las células, y en la enfermedad renal crónica las concentraciones aumentan en proporción a la reducción de nefronas funcionales, por ello constituyen un medio importante de evaluar el grado de enfermedad renal (Taal et al., 2011).

Análisis de resultados para los grupos de ratones que no fueron tratados con tunicamicina

En la **Figura 27** se muestran los valores de concentración de creatinina en suero. Se observa que el grupo (AG) presentó valores mayores al rango normal establecido (0.2 a 0.56 mg/dL) (Charles River Laboratories International) (Fernandez et al., 2010) y mostró la mayor concentración de creatinina; seguido de los grupos (C), (CR), y (AGR), los cuales se encontraron dentro del rango normal establecido. Sin embargo, ninguno de los grupos presentó diferencia estadísticamente significativa.

Esta tendencia sugiere que el grupo (AG) presentó enfermedad renal, que como se menciona en la introducción, es una patología común asociada al establecimiento de la obesidad y el síndrome metabólico (Snyder et al., 2014). Es por ello, que mostró valores mayores a los establecidos en el rango normal de creatinina en suero; a diferencia de los grupos (C), (CR) y (AGR) que aparentemente no sugieren haber presentado alteraciones en la función renal a consecuencia de las dietas que fueron consumidas.

Por otro lado, respecto al efecto de la suplementación con resveratrol el grupo (AGR) muestra una tendencia a disminuir el valor de la creatinina en suero respecto al grupo (AG) a pesar de no ser significativa; a diferencia del grupo (CR) que no muestra ninguna tendencia respecto al grupo (C) y tampoco muestra presentar significancia estadística.

Por lo que la suplementación con resveratrol en una dieta alta en grasa, sugiere una tendencia renoprotectora sobre la concentración de creatinina, sin embargo no mostró un efecto estadísticamente significativo.

Análisis de resultados para los grupos de animales tratados con tunicamicina

En la **Figura 27** se muestran los valores de la concentración de creatinina en suero. Se observa que el grupo (AG+T) mostró la mayor concentración de

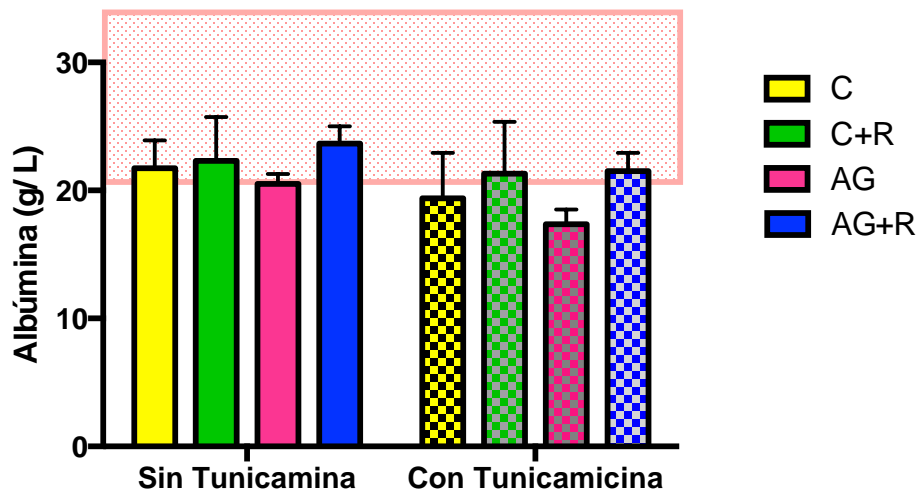
creatinina; seguido de los grupos (C+T), (CR+T), y (AGR+T). Todos los grupos presentaron valores mayores al rango normal establecido (0.2 a 0.56 mg/dL) (Charles River Laboratories International) (Fernandez et al., 2010).

Al comparar los valores de la concentración de creatinina en suero de los grupos de animales tratados con tunicamicina (C+T, CR+T, AG+T y AGR+T) respecto a los grupos de ratones que no fueron tratados con tunicamicina (C, CR, AG y AGR), se observa una tendencia hacia valores mayores de concentración de creatinina en suero en todos los grupos donde se administró tunicamicina. Incluso se muestra que todos los grupos tratados con tunicamicina presentaron valores mayores al rango normal, a diferencia de los grupos no tratados con ella, en donde sólo el grupo (AG) presentó un valor mayor al rango establecido. Sin embargo, estas diferencias entre los valores de los grupos con y sin tunicamicina no mostraron diferencia estadísticamente significativa.

Como se mencionó en la introducción, en un estudio realizado por nuestro grupo de trabajo (Tovar-Palacio et al., 2014) se demostró que la inducción del estrés del RE por tunicamicina induce el desarrollo de lipogénesis renal y con ello provoca daño renal. Este daño renal inducido por la tunicamicina provoca la elevación de la concentración de creatinina en suero en todos los grupos (C+T, CR+T, AG+T, AGR+T).

Respecto a la suplementación con resveratrol, se observa que el grupo (AGR+T) muestra una tendencia hacia valores menores de creatinina respecto al grupo (AG+T); sin embargo, no reduce la concentración de creatinina hacia el rango normal y no muestra diferencia significativa respecto al grupo (AG). Por otro lado, el grupo (CR+T) no muestra ninguna tendencia en los valores de creatinina en suero respecto al grupo (C) y tampoco muestra una diferencia estadísticamente significativa.

Por lo que la suplementación con resveratrol en una dieta alta en grasa, sugiere un efecto renoprotector sobre la concentración de creatinina ante la inducción del estrés de RE, sin embargo no mostró un efecto estadísticamente significativo.



Valor de P			
	Dieta	Tunicam.	Dieta x Tunicam.
Albúmina	NS	NS	NS

Figura 28. Efecto modulador del resveratrol y de la inducción farmacológica del estrés del RE por tunicamicina sobre el perfil renal en los ocho grupos experimentales propuestos: concentración de albúmina en suero (mg/dL). n=5 para cada grupo experimental.

La albúmina es una proteína producida por el hígado que se encuentra circulante en suero. La hipoalbuminemia es un déficit de albúmina en la sangre, y una de las consecuencias principales de la disfunción renal (Taal et al., 2011), ya que la mayoría de los individuos que padecen nefropatías presentan proteinuria debido a la falla en la filtración renal, y la principal proteína excretada en éste tipo de pacientes es la albúmina (Calabia, 2003).

Análisis de resultados para los grupos de animales que no fueron tratados con tunicamicina

En la **Figura 28** se puede observar que los grupos (C), (CR) y (AGR) presentaron un valor similar de concentración de albúmina y se mantuvieron dentro del rango normal de valores (22 a 42 g/L) (Mazzaccara et al., 2008), excepto el por grupo (AG), que presentó un valor menor al rango normal de valores de albúmina

mostrando hipoalbuminemia ligera. Ningún grupo mostró diferencia estadísticamente significativa.

Los resultados presentados en esta figura (**Figura 28**) muestran congruencia respecto a los resultados observados en la concentración de creatinina sérica para éstos mismos grupos, ya que en los grupos (C), (CR) y (AGR), presentan concentraciones de creatinina normales, que sugieren que estos grupos no presentan un daño renal aparente; mientras que en el grupo (AG) presenta hipoalbuminemia y elevación de la concentración de creatinina, lo que sugiere en ambos criterios un daño renal aparente.

Al comparar las concentraciones de albúmina y creatinina de los grupos suplementados con resveratrol, se puede observar que el grupo (AGR), en ambas concentraciones, muestra un comportamiento que sugiere que éste grupo no presenta daño renal, respecto al grupo (AG), que aparentemente presenta daño renal de acuerdo a los criterios de ambos parámetros. Por otro lado, el grupo (CR) muestra un comportamiento que sugiere que éste grupo no presenta daño renal en ambas concentraciones, y no muestra ninguna tendencia o efecto respecto al grupo (C).

Por lo que la suplementación con resveratrol en una dieta alta en grasa, sugiere un efecto renoprotector sobre la concentración de albúmina, sin embargo no mostró ser estadísticamente significativo.

Análisis de resultados para los grupos de animales que fueron administrados con tunicamicina

En la **Figura 28** se puede observar que el grupo (CR+T) presentó un valor similar al grupo (AGR+T) en la concentración de albúmina sérica, y ambos se mantuvieron dentro del rango normal de valores (22-42 g/L) (Mazzaccara et al., 2008); mientras que, los grupos (C+T) y (AG+T), presentaron hipoalbuminemia ligera. Ningún grupo mostró diferencia estadísticamente significativa.

Al comparar los valores de concentración de albúmina sérica de los grupos de animales administrados con tunicamicina respecto a los grupos de animales que no fueron tratados con ella, se puede observar que los grupos (C+T) y (AG+T), mostraron una tendencia hacia valores menores de concentración de albumina respecto a los grupos (C) y (AG); mientras que los grupos (CR+T) y (AGR+T) no mostraron una tendencia hacia valores menores de concentración de albumina respecto a los grupos (CR) y (AGR).

Como se mencionó en la introducción y en el apartado anterior, en un estudio dirigido por nuestro grupo de trabajo (Tovar-Palacio et al., 2014), se demostró que la inducción del estrés del RE por tunicamicina promueve el desarrollo de lipogénesis renal y con ello estimula el daño renal. Éste daño renal inducido por la tunicamicina provoca la hipoalbuminemia en suero en todos los grupos (C+T) y (AG+T); sin embargo, los grupos (CR+T) y (AGR+T) presentaron un comportamiento similar al de los grupos no tratados con tunicamicina, y no muestran ésta tendencia hacia la disminución de los valores de albumina, a pesar de que en ninguno de los grupos se presenta una diferencia estadísticamente significativa.

Por lo que la suplementación con resveratrol en ratones alimentados con una dieta control, así como con una dieta alta en grasa, sugiere un efecto renoprotector sobre la concentración de albúmina en suero; sin embargo no mostró un efecto estadísticamente significativo.

8.0 CONCLUSIONES

- El resveratrol suplementado a una dosis de 200 mg/kg pc/d redujo significativamente el incremento de peso corporal en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta control y una dieta alta en grasa respecto a los grupos no suplementados con resveratrol.
- El resveratrol suplementado en una dosis de 200 mg/kg pc/d d en ratones C57BL/6 no indujo ningún efecto en la prueba de tolerancia a la glucosa

intraperitoneal, tanto en los animales alimentados con una dieta control como con una dieta alta en grasa, respecto a los animales no suplementados con resveratrol.

- El resveratrol suplementado en una dosis de 200 mg/kg pc/d d en ratones C57BL/6 no indujo cambios ni en el valor del coeficiente respiratorio (RER) ni en la proporción de sustratos oxidados respecto a los grupos no suplementados con resveratrol, tanto en los animales alimentados con una dieta control como con una dieta alta en grasa, respecto a los animales no suplementados con resveratrol; sin embargo, incrementó de forma estadísticamente significativa el volumen de oxígeno consumido en ambas dietas suplementadas con resveratrol respecto a los no suplementados con resveratrol.
- El resveratrol suplementado en una dosis de 200 mg/kg pc/d presentó una tendencia a reducir la concentración de glucosa en suero en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta control y una dieta alta en grasa, sin embargo no presentó diferencia estadísticamente significativa; así mismo, mantuvo la concentración de glucosa dentro del rango normal ante la inducción farmacológica de estrés de retículo endoplásmico y no presentó diferencia estadísticamente significativa respecto a los grupos suplementados con resveratrol sin tunicamicina.
- El resveratrol suplementado en una dosis de 200 mg/kg pc/d redujo la concentración de colesterol total y LDL en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa de forma estadísticamente significativa respecto al grupo no suplementado con resveratrol; así mismo, mantuvo la concentración de colesterol total y LDL dentro del rango normal ante la inducción farmacológica de estrés de retículo endoplásmico en las dietas suplementadas con resveratrol, tanto control como alta en grasa, sin presentar diferencia estadísticamente significativa respecto a los grupos suplementados con resveratrol sin Tunicamicina.
- El resveratrol suplementado en una dosis de 200 mg/kg pc/d no presentó diferencia estadísticamente significativa en la concentración de colesterol HDL en ratones C57BL/6 suplementados alimentados con una dieta control

y una dieta alta en grasa; y mantuvo la concentración de colesterol HDL en valores normales ante la inducción del estrés de retículo endoplásmico, sin presentar diferencia estadísticamente significativa respecto a los grupos suplementados con resveratrol sin tunicamicina en ambas dietas suplementadas.

- El resveratrol suplementado en una dosis de 200 mg/kg pc/d no redujo la concentración de triglicéridos de forma estadísticamente significativa en ratones C57BL/6 suplementados alimentados con una dieta control y una dieta alta en grasa; así mismo, mantuvo la concentración de triglicéridos en el rango normal en ambas dietas suplementadas a diferencia de las no suplementadas ante la inducción farmacológica de estrés de retículo endoplásmico, y ambos grupos presentaron un incremento estadísticamente significativo respecto a los grupos suplementados con resveratrol sin tunicamicina.
- El resveratrol suplementado en una dosis de 200 mg/kg pc/d presentó una tendencia a mejorar el perfil hepático (composición corporal de hígado, transaminasas ALT y AST) y no presentó hepatotoxicidad en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta control y una dieta alta en grasa, a pesar de no mostrar diferencia estadísticamente significativa; y mantuvo los valores de dichos parámetros en valores dentro del rango normal (AST) o cercanos al rango normal (ALT) ante la inducción farmacológica del estrés del retículo endoplásmico sin presentar diferencia estadísticamente significativa respecto a los grupos sin tunicamicina.
- El resveratrol suplementado en una dosis de 200 mg/kg pc/d mostró una tendencia a disminuir la concentración de creatinina en suero y aumentar la concentración de albúmina en suero hasta el rango normal de valores en ratones C57BL/6 alimentados con una dieta alta en grasa aunque no presentó diferencia estadísticamente significativa; y mantuvo la concentración de dichos parámetros en valores normales ante la inducción farmacológica de estrés de retículo endoplásmico en ambas dietas suplementadas con resveratrol aunque ningún grupo presentó diferencia estadísticamente significativa.

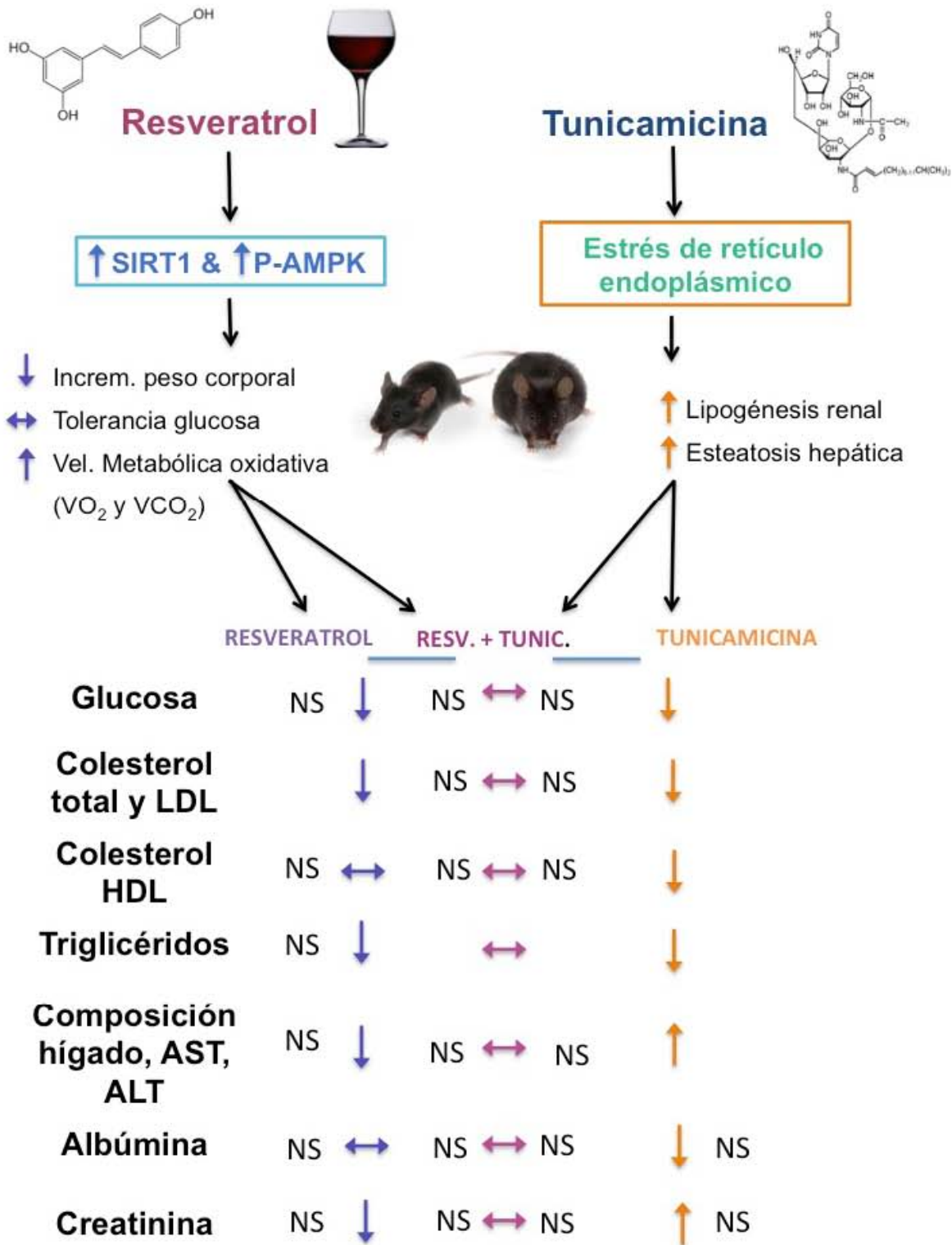


Figura 29. Esquema representativo de conclusiones generales del proyecto.

↑ Incremento; ↓ Diminución; ↔ Sin cambios; NS= Diferencia no significativa

9.0 PERSPECTIVAS

- Realizar un análisis morfohistológico para poder evaluar las estructuras generales de las células del riñón, identificar componentes celulares que contienen hidratos de carbono, fibras de colágeno, su estado de inflamación y acumulación de grasas neutras con la finalidad de evaluar el efecto del resveratrol y de la inducción al estrés del RE a nivel histológico en tejido renal.
- Determinar el efecto del resveratrol sobre la expresión relativa en tejido renal del RNAm de los genes implicados en la vía de SIRT1/AMPK y las proteínas implicadas en la respuesta a proteínas no plegadas activada por la inducción farmacológica del estrés del RE.
- Determinar el efecto del resveratrol sobre la expresión relativa en tejido renal de las proteínas implicadas en la vía de SIRT1/AMPK y las proteínas implicadas en la respuesta a proteínas no plegadas activada por la inducción farmacológica del estrés de retículo endoplásmico.

10.0 REFERENCIAS

- 1) AHN, J., CHO, I., KIM, S., KWON, D. & HA, T. 2008. Dietary resveratrol alters lipid metabolism-related gene expression of mice on an atherogenic diet. *J Hepatol*, 49, 1019-28.
- 2) ALBERDI, G., RODRIGUEZ, V. M., MACARULLA, M. T., MIRANDA, J., CHURRUCA, I. & PORTILLO, M. P. 2013. Hepatic lipid metabolic pathways modified by resveratrol in rats fed an obesogenic diet. *Nutrition*, 29, 562-7.
- 3) ANDRADE, J. M., PARAISO, A. F., DE OLIVEIRA, M. V., MARTINS, A. M., NETO, J. F., GUIMARAES, A. L., DE PAULA, A. M., QURESHI, M. & SANTOS, S. H. 2014. Resveratrol attenuates hepatic steatosis in high-fat fed mice by decreasing lipogenesis and inflammation. *Nutrition*, 30, 915-9.
- 4) ASSOCIATION, A. D. 2009. Standards of Medical Care in Diabetes—2009. *Diabetes Care*, 32, S13-S61.
- 5) BAGUL, P. K., MIDDELA, H., MATAPALLY, S., PADIYA, R., BASTIA, T., MADHUSUDANA, K., REDDY, B. R., CHAKRAVARTY, S. & BANERJEE, S. K. 2012. Attenuation of insulin resistance, metabolic syndrome and hepatic oxidative stress by resveratrol in fructose-fed rats. *Pharmacol Res*, 66, 260-8.
- 6) BANDOW, K., KUSUYAMA, J., KAKIMOTO, K., OHNISHI, T. & MATSUGUCHI, T. 2015. AMP-activated protein kinase (AMPK) activity negatively regulates chondrogenic differentiation. *Bone*, 74, 125-33.
- 7) BARGER, J. L., KAYO, T., VANN, J. M., ARIAS, E. B., WANG, J., HACKER, T. A., WANG, Y., RAEDERSTORFF, D., MORROW, J. D., LEEUWENBURGH, C., ALLISON, D. B., SAUPE, K. W., CARTEE, G. D., WEINDRUCH, R. & PROLLA, T. A. 2008. A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retards aging parameters in mice. *PLoS One*, 3, e2264.

- 8) BASTIEN, M., POIRIER, P., LEMIEUX, I. & DESPRES, J. P. 2014. Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis*, 56, 369-81.
- 9) BAUR, J. A., PEARSON, K. J., PRICE, N. L., JAMIESON, H. A., LERIN, C., KALRA, A., PRABHU, V. V., ALLARD, J. S., LOPEZ-LLUCH, G., LEWIS, K., PISTELL, P. J., POOSALA, S., BECKER, K. G., BOSS, O., GWINN, D., WANG, M., RAMASWAMY, S., FISHBEIN, K. W., SPENCER, R. G., LAKATTA, E. G., LE COUTEUR, D., SHAW, R. J., NAVAS, P., PUIGSERVER, P., INGRAM, D. K., DE CABO, R. & SINCLAIR, D. A. 2006. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*, 444, 337-42.
- 10) BAYS, H. E., TOTH, P. P., KRIS-ETHERTON, P. M., ABATE, N., ARONNE, L. J., BROWN, W. V., GONZALEZ-CAMPOY, J. M., JONES, S. R., KUMAR, R., LA FORGE, R. & SAMUEL, V. T. 2013. Obesity, adiposity, and dyslipidemia: a consensus statement from the National Lipid Association. *J Clin Lipidol*, 7, 304-83.
- 11) BHATT, J. K., THOMAS, S. & NANJAN, M. J. 2012. Resveratrol supplementation improves glycemic control in type 2 diabetes mellitus. *Nutr Res*, 32, 537-41.
- 12) BRASNYO, P., MOLNAR, G. A., MOHAS, M., MARKO, L., LACZY, B., CSEH, J., MIKOLAS, E., SZIJARTO, I. A., MEREI, A., HALMAI, R., MESZAROS, L. G., SUMEGI, B. & WITTMANN, I. 2011. Resveratrol improves insulin sensitivity, reduces oxidative stress and activates the Akt pathway in type 2 diabetic patients. *Br J Nutr*, 106, 383-9.
- 13) BRAVO, R., PARRA, V., GATICA, D., RODRIGUEZ, A. E., TORREALBA, N., PAREDES, F., WANG, Z. V., ZORZANO, A., HILL, J. A., JAIMOVICH, E., QUEST, A. F. & LAVANDERO, S. 2013. Endoplasmic reticulum and the unfolded protein response: dynamics and metabolic integration. *Int Rev Cell Mol Biol*, 301, 215-90.
- 14) BROWN, M. S. & GOLDSTEIN, J. L. 1997. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. *Cell*, 89, 331-40.

- 15)BURGESS, T. A., ROBICH, M. P., CHU, L. M., BIANCHI, C. & SELLKE, F. W. 2011. Improving glucose metabolism with resveratrol in a swine model of metabolic syndrome through alteration of signaling pathways in the liver and skeletal muscle. *Arch Surg*, 146, 556-64.
- 16)CALABIA, E. R. 2003. Medida de la función renal. Evaluación del cociente microalbuminuria/creatinina. Valor de la tira reactiva y del examen del sedimento urinario. Indicaciones para solicitar ecografía renal. *Kidney Int*, 63, 1468-1474.
- 17)CAQUET, R. 2008. Cholestérol des HDL et des LDL. *In: CAQUET, R. (ed.) Guide infirmier des examens de laboratoire*. Paris: Elsevier Masson.
- 18)CARMONA, L., GAVILANES M., MAYA, V., PLATA, C. 2010. . *Compendio de Bioquímica: Proteínas, membranas y metabolismo*. , Distrito Federal, México.
- 19)CHEN, S., LI, J., ZHANG, Z., LI, W., SUN, Y., ZHANG, Q., FENG, X. & ZHU, W. 2012. Effects of resveratrol on the amelioration of insulin resistance in KKAy mice. *Can J Physiol Pharmacol*, 90, 237-42.
- 20)CHOI, Y. J., SUH, H. R., YOON, Y., LEE, K. J., KIM, D. G., KIM, S. & LEE, B. H. 2014. Protective effect of resveratrol derivatives on high-fat diet induced fatty liver by activating AMP-activated protein kinase. *Arch Pharm Res*, 37, 1169-76.
- 21)CHUNG, J. H., MANGANIELLO, V. & DYCK, J. R. 2012. Resveratrol as a calorie restriction mimetic: therapeutic implications. *Trends Cell Biol*, 22, 546-54.
- 22)CIGNARELLI, M. & LAMACCHIA, O. 2007. Obesity and kidney disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 17, 757-62.
- 23)COLGAN, S. M., HASHIMI, A. A. & AUSTIN, R. C. 2011. Endoplasmic reticulum stress and lipid dysregulation. *Expert Rev Mol Med*, 13, e4.
- 24)CUNARD, R. & SHARMA, K. 2011. The endoplasmic reticulum stress response and diabetic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol*, 300, F1054-61.
- 25)DAEMEN, S., KUTMON, M. & EVELO, C. T. 2013. A pathway approach to investigate the function and regulation of SREBPs. *Genes Nutr*, 8, 289-300.

- 26) DECLEVES, A. E. & SHARMA, K. 2015. Obesity and kidney disease: differential effects of obesity on adipose tissue and kidney inflammation and fibrosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 24, 28-36.
- 27) DOLINSKY, V. W., RUEDA-CLAUSEN, C. F., MORTON, J. S., DAVIDGE, S. T. & DYCK, J. R. 2011. Continued postnatal administration of resveratrol prevents diet-induced metabolic syndrome in rat offspring born growth restricted. *Diabetes*, 60, 2274-84.
- 28) DOMINGUEZ, J., WU, P., PACKER, C. S., TEMM, C. & KELLY, K. J. 2007. Lipotoxic and inflammatory phenotypes in rats with uncontrolled metabolic syndrome and nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol*, 293, F670-9.
- 29) EVEN, P. C., MOKHTARIAN, A. & PELE, A. 1994. Practical aspects of indirect calorimetry in laboratory animals. *Neurosci Biobehav Rev*, 18, 435-47.
- 30) FEDERATION, W. O. 2014. *Obesity data portal* [Online]. Available: <http://www.worldobesity.org/aboutobesity/resources/obesity-data-portal/resources/charts/> [Accessed 18 January 2015].
- 31) FERNANDEZ, I., PENA, A., DEL TESO, N., PEREZ, V. & RODRIGUEZ-CUESTA, J. 2010. Clinical biochemistry parameters in C57BL/6J mice after blood collection from the submandibular vein and retroorbital plexus. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 49, 202-6.
- 32) FERNÁNDEZ-MAR, M. I., MATEOS, R., GARCÍA-PARRILLA, M. C., PUERTAS, B. & CANTOS-VILLAR, E. 2012. Bioactive compounds in wine: Resveratrol, hydroxytyrosol and melatonin: A review. *Food Chemistry*, 130, 797-813.
- 33) FERRANNINI, E. 1988. The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism*, 37, 287-301.
- 34) GAMBINI, J., LOPEZ-GRUESO, R., OLASO-GONZALEZ, G., INGLES, M., ABDELAZID, K., EL ALAMI, M., BONET-COSTA, V., BORRAS, C. & VINA, J. 2013. [Resveratrol: distribution, properties and perspectives]. *Rev Esp Geriatr Gerontol*, 48, 79-88.
- 35) GAO, X., LIU, X., XU, J., XUE, C., XUE, Y. & WANG, Y. 2014. Dietary trimethylamine N-oxide exacerbates impaired glucose tolerance in mice fed a high fat diet. *J Biosci Bioeng*, 118, 476-81.

- 36) HALL, J. E. & GUYTON, A. C. 2011. *Guyton and Hall textbook of medical physiology*, Philadelphia, Pa., Saunders/Elsevier.
- 37) HARDIE, D. G. 2014. AMPK--sensing energy while talking to other signaling pathways. *Cell Metab*, 20, 939-52.
- 38) HOTAMISLIGIL, G. S. 2010. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell*, 140, 900-17.
- 39) HOWELLS, L. M., BERRY, D. P., ELLIOTT, P. J., JACOBSON, E. W., HOFFMANN, E., HEGARTY, B., BROWN, K., STEWARD, W. P. & GESCHER, A. J. 2011. Phase I randomized, double-blind pilot study of micronized resveratrol (SRT501) in patients with hepatic metastases-- safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics. *Cancer Prev Res (Phila)*, 4, 1419-25.
- 40) HOWITZ, K. T., BITTERMAN, K. J., COHEN, H. Y., LAMMING, D. W., LAVU, S., WOOD, J. G., ZIPKIN, R. E., CHUNG, P., KISIELEWSKI, A., ZHANG, L. L., SCHERER, B. & SINCLAIR, D. A. 2003. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*, 425, 191-6.
- 41) INOUE, H. & NAKATA, R. 2015. Resveratrol targets in inflammation. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*.
- 42) JEQUIER, E. & FELBER, J. P. 1987. Indirect calorimetry. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*, 1, 911-35.
- 43) KANG, W., HONG, H. J., GUAN, J., KIM, D. G., YANG, E. J., KOH, G., PARK, D., HAN, C. H., LEE, Y. J. & LEE, D. H. 2012. Resveratrol improves insulin signaling in a tissue-specific manner under insulin-resistant conditions only: in vitro and in vivo experiments in rodents. *Metabolism*, 61, 424-33.
- 44) KEANE, W. F. 2000. The role of lipids in renal disease: future challenges. *Kidney Int Suppl*, 75, S27-31.
- 45) KEANE, W. F., O'DONNELL, M. P., KASISKE, B. L. & KIM, Y. 1993. Oxidative modification of low-density lipoproteins by mesangial cells. *J Am Soc Nephrol*, 4, 187-94.

- 46) KIM, S., JIN, Y., CHOI, Y. & PARK, T. 2011. Resveratrol exerts anti-obesity effects via mechanisms involving down-regulation of adipogenic and inflammatory processes in mice. *Biochem Pharmacol*, 81, 1343-51.
- 47) KIM, T., DAVIS, J., ZHANG, A. J., HE, X. & MATHEWS, S. T. 2009. Curcumin activates AMPK and suppresses gluconeogenic gene expression in hepatoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 388, 377-82.
- 48) LAGOUGE, M., ARGMANN, C., GERHART-HINES, Z., MEZIANE, H., LERIN, C., DAUSSIN, F., MESSADEQ, N., MILNE, J., LAMBERT, P., ELLIOTT, P., GENY, B., LAAKSO, M., PUIGSERVER, P. & AUWERX, J. 2006. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell*, 127, 1109-22.
- 49) LAM, Y. Y., PETERSON, C. M. & RAVUSSIN, E. 2013. Resveratrol vs. calorie restriction: data from rodents to humans. *Exp Gerontol*, 48, 1018-24.
- 50) LEE, J. S., ZHENG, Z., MENDEZ, R., HA, S. W., XIE, Y. & ZHANG, K. 2012. Pharmacologic ER stress induces non-alcoholic steatohepatitis in an animal model. *Toxicol Lett*, 211, 29-38.
- 51) LHOTAK, S., SOOD, S., BRIMBLE, E., CARLISLE, R. E., COLGAN, S. M., MAZZETTI, A., DICKHOUT, J. G., INGRAM, A. J. & AUSTIN, R. C. 2012. ER stress contributes to renal proximal tubule injury by increasing SREBP-2-mediated lipid accumulation and apoptotic cell death. *Am J Physiol Renal Physiol*, 303, F266-78.
- 52) LI, Y., XU, S., GILES, A., NAKAMURA, K., LEE, J. W., HOU, X., DONMEZ, G., LI, J., LUO, Z., WALSH, K., GUARENTE, L. & ZANG, M. 2011. Hepatic overexpression of SIRT1 in mice attenuates endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the liver. *FASEB J*, 25, 1664-79.
- 53) LIN, P. Y., ROMSOS, D. R., VANDER TUIG, J. G. & LEVEILLE, G. A. 1979. Maintenance energy requirements, energy retention and heat production of young obese (ob/ob) and lean mice fed a high-fat or a high-carbohydrate diet. *J Nutr*, 109, 1143-53.
- 54) LOBSTEIN, T. 2015. Prevalence and costs of obesity. *Medicine*, 43, 77-79.
- 55) LOVREN, F., TEOH, H. & VERMA, S. 2015. Obesity and atherosclerosis: mechanistic insights. *Can J Cardiol*, 31, 177-83.

- 56)MAGYAR, K., HALMOSI, R., PALFI, A., FEHER, G., CZOPF, L., FULOP, A., BATTYANY, I., SUMEGI, B., TOTH, K. & SZABADOS, E. 2012. Cardioprotection by resveratrol: A human clinical trial in patients with stable coronary artery disease. *Clin Hemorheol Microcirc*, 50, 179-87.
- 57)MAHER, J. J. 2011. New insights from rodent models of fatty liver disease. *Antioxid Redox Signal*, 15, 535-50.
- 58)MALHI, H. & KAUFMAN, R. J. 2011. Endoplasmic reticulum stress in liver disease. *J Hepatol*, 54, 795-809.
- 59)MARIANI, A., POMARICI, E. & BOATTO, V. 2012. The international wine trade: Recent trends and critical issues. *Wine Economics and Policy*, 1, 24-40.
- 60)MAZZACCARA, C., LABRUNA, G., CITO, G., SCARFO, M., DE FELICE, M., PASTORE, L. & SACCHETTI, L. 2008. Age-Related Reference Intervals of the Main Biochemical and Hematological Parameters in C57BL/6J, 129SV/EV and C3H/HeJ Mouse Strains. *PLoS One*, 3, e3772.
- 61)MENDEZ-DEL VILLAR, M., GONZALEZ-ORTIZ, M., MARTINEZ-ABUNDIS, E., PEREZ-RUBIO, K. G. & LIZARRAGA-VALDEZ, R. 2014. Effect of resveratrol administration on metabolic syndrome, insulin sensitivity, and insulin secretion. *Metab Syndr Relat Disord*, 12, 497-501.
- 62)MILLER, R. A., HARRISON, D. E., ASTLE, C. M., BAUR, J. A., BOYD, A. R., DE CABO, R., FERNANDEZ, E., FLURKEY, K., JAVORS, M. A., NELSON, J. F., ORIHUELA, C. J., PLETCHER, S., SHARP, Z. D., SINCLAIR, D., STARNES, J. W., WILKINSON, J. E., NADON, N. L. & STRONG, R. 2011. Rapamycin, but not resveratrol or simvastatin, extends life span of genetically heterogeneous mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 66, 191-201.
- 63)MORALES RUIZ, E. & PRAGA TERENCE, M. 2008. Relación entre obesidad y desarrollo de insuficiencia renal. *Hipertensión*, 25, 61-69.
- 64)MORELLI, V. & DAVIS, C. 2013. The potential role of sports psychology in the obesity epidemic. *Prim Care*, 40, 507-23.
- 65)NAIR, S., XU, C., SHEN, G., HEBBAR, V., GOPALAKRISHNAN, A., HU, R., JAIN, M. R., LIEW, C., CHAN, J. Y. & KONG, A. N. 2007. Toxicogenomics

- of endoplasmic reticulum stress inducer tunicamycin in the small intestine and liver of Nrf2 knockout and C57BL/6J mice. *Toxicol Lett*, 168, 21-39.
- 66) NOVELLE, M. G., WAHL, D., DIEGUEZ, C., BERNIER, M. & DE CABO, R. 2015. Resveratrol supplementation: Where are we now and where should we go? *Ageing Res Rev*, 21C, 1-15.
- 67) OMS. 2015. *Obesidad y sobrepeso* [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/> [Accessed 12 January 2015].
- 68) OZCAN, L., ERGIN, A. S., LU, A., CHUNG, J., SARKAR, S., NIE, D., MYERS, M. G., JR. & OZCAN, U. 2009. Endoplasmic reticulum stress plays a central role in development of leptin resistance. *Cell Metab*, 9, 35-51.
- 69) OZCAN, U., CAO, Q., YILMAZ, E., LEE, A. H., IWAKOSHI, N. N., OZDELEN, E., TUNCMAN, G., GORGUN, C., GLIMCHER, L. H. & HOTAMISLIGIL, G. S. 2004. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*, 306, 457-61.
- 70) PALSAMY, P. & SUBRAMANIAN, S. 2011. Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2-Keap1 signaling. *Biochim Biophys Acta*, 1812, 719-31.
- 71) PENG, Y., RIDEOUT, D., RAKITA, S., LEE, J. & MURR, M. 2012. Diet-induced obesity associated with steatosis, oxidative stress, and inflammation in liver. *Surg Obes Relat Dis*, 8, 73-81.
- 72) PETROVSKI, G., GURUSAMY, N. & DAS, D. K. 2011. Resveratrol in cardiovascular health and disease. *Ann N Y Acad Sci*, 1215, 22-33.
- 73) POULSEN, M. M., VESTERGAARD, P. F., CLASEN, B. F., RADKO, Y., CHRISTENSEN, L. P., STODKILDE-JORGENSEN, H., MOLLER, N., JESSEN, N., PEDERSEN, S. B. & JORGENSEN, J. O. 2013. High-dose resveratrol supplementation in obese men: an investigator-initiated, randomized, placebo-controlled clinical trial of substrate metabolism, insulin sensitivity, and body composition. *Diabetes*, 62, 1186-95.
- 74) PRICE, N. L., GOMES, A. P., LING, A. J., DUARTE, F. V., MARTIN-MONTALVO, A., NORTH, B. J., AGARWAL, B., YE, L., RAMADORI, G., TEODORO, J. S., HUBBARD, B. P., VARELA, A. T., DAVIS, J. G.,

- VARAMINI, B., HAFNER, A., MOADDEL, R., ROLO, A. P., COPPARI, R., PALMEIRA, C. M., DE CABO, R., BAUR, J. A. & SINCLAIR, D. A. 2012. SIRT1 is required for AMPK activation and the beneficial effects of resveratrol on mitochondrial function. *Cell Metab*, 15, 675-90.
- 75) PÚBLICA, I. N. D. S. 2012. ENCUESTA NACIONAL DE SALUD Cuernavaca, Mor. México.
- 76) RAYALAM, S., YANG, J. Y., AMBATI, S., DELLA-FERA, M. A. & BAILE, C. A. 2008. Resveratrol induces apoptosis and inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *Phytother Res*, 22, 1367-71.
- 77) REEVES, P. G., NIELSEN, F. H. & FAHEY, G. C., JR. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*, 123, 1939-51.
- 78) REISIN, E. & JACK, A. V. 2009. Obesity and hypertension: mechanisms, cardio-renal consequences, and therapeutic approaches. *Med Clin North Am*, 93, 733-51.
- 79) RITZ, E. & KOLEGANOVA, N. 2009. Obesity and chronic kidney disease. *Semin Nephrol*, 29, 504-11.
- 80) ROBB, E. L., WINKELMOLEN, L., VISANJI, N., BROTCHE, J. & STUART, J. A. 2008. Dietary resveratrol administration increases MnSOD expression and activity in mouse brain. *Biochem Biophys Res Commun*, 372, 254-9.
- 81) ROZMAN, J., RATHKOLB, B., NESCHEN, S., FUCHS, H., GAILUS-DURNER, V., KLINGENSPOR, M., WOLF, E. & HRABE DE ANGELIS, M. 2015. Glucose tolerance tests for systematic screening of glucose homeostasis in mice. *Curr Protoc Mouse Biol*, 5, 65-84.
- 82) SALUD., G. F. S. D. 2010. ACUERDO NACIONAL PARA LA SALUD ALIMENTARIA. Estrategia contra el sobrepeso y la obesidad. . México.
- 83) SAMUEL, S. M., THIRUNAVUKKARASU, M., PENUMATHSA, S. V., PAUL, D. & MAULIK, N. 2008. Akt/FOXO3a/SIRT1-mediated cardioprotection by n-tyrosol against ischemic stress in rat in vivo model of myocardial infarction: switching gears toward survival and longevity. *J Agric Food Chem*, 56, 9692-8.

- 84)SCHRODER, M. & KAUFMAN, R. J. 2005. ER stress and the unfolded protein response. *Mutat Res*, 569, 29-63.
- 85)SHAFI, T. & CORESH, J. 2010. Chapter 1 - Chronic Kidney Disease: Definition, Epidemiology, Cost, and Outcomes. *In: SAYEGH, J. H. H. (ed.) Chronic Kidney Disease, Dialysis, and Transplantation (Third edition)*. Philadelphia: W.B. Saunders.
- 86)SIN, T. K., YUNG, B. Y. & SIU, P. M. 2015. Modulation of SIRT1-Foxo1 signaling axis by resveratrol: implications in skeletal muscle aging and insulin resistance. *Cell Physiol Biochem*, 35, 541-52.
- 87)SNYDER, S. & JOHN, J. S. 2014. Workup for Proteinuria. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 41, 719-735.
- 88)SNYDER, S., TURNER, G. A. & TURNER, A. 2014. Obesity-related kidney disease. *Prim Care*, 41, 875-93.
- 89)SOETIKNO, V., SARI, F. R., SUKUMARAN, V., LAKSHMANAN, A. P., HARIMA, M., SUZUKI, K., KAWACHI, H. & WATANABE, K. 2013. Curcumin decreases renal triglyceride accumulation through AMPK-SREBP signaling pathway in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *J Nutr Biochem*, 24, 796-802.
- 90)SONENBERG, N. & HINNEBUSCH, A. G. 2009. Regulation of translation initiation in eukaryotes: mechanisms and biological targets. *Cell*, 136, 731-45.
- 91)STRONG, R., MILLER, R. A., ASTLE, C. M., BAUR, J. A., DE CABO, R., FERNANDEZ, E., GUO, W., JAVORS, M., KIRKLAND, J. L., NELSON, J. F., SINCLAIR, D. A., TETER, B., WILLIAMS, D., ZAVERI, N., NADON, N. L. & HARRISON, D. E. 2013. Evaluation of resveratrol, green tea extract, curcumin, oxaloacetic acid, and medium-chain triglyceride oil on life span of genetically heterogeneous mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 68, 6-16.
- 92)SUN, L., HALAIHEL, N., ZHANG, W., ROGERS, T. & LEVI, M. 2002. Role of sterol regulatory element-binding protein 1 in regulation of renal lipid metabolism and glomerulosclerosis in diabetes mellitus. *J Biol Chem*, 277, 18919-27.

- 93) TAAL, M. W., CHERTOW, G. M., MARSDEN, P. A., SKORECKI, K., YU, A. S. L. & BRENNER, B. M. 2011. *Brenner and Rector's The Kidney E-Book*, Elsevier Health Sciences.
- 94) TOME-CARNEIRO, J., GONZALVEZ, M., LARROSA, M., YANEZ-GASCON, M. J., GARCIA-ALMAGRO, F. J., RUIZ-ROS, J. A., GARCIA-CONESA, M. T., TOMAS-BARBERAN, F. A. & ESPIN, J. C. 2012. One-year consumption of a grape nutraceutical containing resveratrol improves the inflammatory and fibrinolytic status of patients in primary prevention of cardiovascular disease. *Am J Cardiol*, 110, 356-63.
- 95) TOVAR-PALACIO, C., TORRE-VILLALVAZO, I., ALEMÁN, G., FIGUEROA-JUÁREZ, E., TORRES, N., TOVAR, A. & CORREA-ROTTER, R. 2014. Unfolded protein response on renal lipogenesis in C57BL/6 mice (1029.2). *The FASEB Journal*, 28.
- 96) TYROVOLAS, S., KOYANAGI, A., GARIN, N., OLAYA, B., AYUSO-MATEOS, J. L., MIRET, M., CHATTERJI, S., TOBIASZ-ADAMCZYK, B., KOSKINEN, S., LEONARDI, M. & HARO, J. M. 2015. Diabetes mellitus and its association with central obesity and disability among older adults: A global perspective. *Exp Gerontol*, 64, 70-7.
- 97) VELLA, R. K., PULLEN, C., COULSON, F. R. & FENNING, A. S. 2015. Resveratrol Prevents Cardiovascular Complications in the SHR/STZ Rat by Reductions in Oxidative Stress and Inflammation. *Biomed Res Int*, 2015, 918123.
- 98) WANG, C., BLOUGH, E., ARVAPALLI, R., DAI, X., TRIEST, W. E., LEIDY, J. W., MASANNAT, Y. & WU, M. 2015a. Acetaminophen attenuates glomerulosclerosis in obese Zucker rats via reactive oxygen species/p38MAPK signaling pathways. *Free Radical Biology and Medicine*, 81, 47-57.
- 99) WANG, G. L., FU, Y. C., XU, W. C., FENG, Y. Q., FANG, S. R. & ZHOU, X. H. 2009. Resveratrol inhibits the expression of SREBP1 in cell model of steatosis via Sirt1-FOXO1 signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun*, 380, 644-9.

- 100) WANG, H., KOURI, G. & WOLLHEIM, C. B. 2005. ER stress and SREBP-1 activation are implicated in beta-cell glucolipototoxicity. *J Cell Sci*, 118, 3905-15.
- 101) WANG, S., LIANG, X., YANG, Q., FU, X., ROGERS, C. J., ZHU, M., RODGERS, B. D., JIANG, Q., DODSON, M. V. & DU, M. 2015b. Resveratrol induces brown-like adipocyte formation in white fat through activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) alpha1. *Int J Obes (Lond)*.
- 102) WICKMAN, C. & KRAMER, H. 2013. Obesity and kidney disease: potential mechanisms. *Semin Nephrol*, 33, 14-22.
- 103) WINZELL, M. S. & AHREN, B. 2004. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes*, 53 Suppl 3, S215-9.
- 104) WOOD, J. G., ROGINA, B., LAVU, S., HOWITZ, K., HELFAND, S. L., TATAR, M. & SINCLAIR, D. 2004. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature*, 430, 686-9.
- 105) XIE, H. C., HAN, H. P., CHEN, Z. & HE, J. P. 2014. A study on the effect of resveratrol on lipid metabolism in hyperlipidemic mice. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 11, 209-12.
- 106) XU, Q. & SI, L. Y. 2012. Resveratrol role in cardiovascular and metabolic health and potential mechanisms of action. *Nutr Res*, 32, 648-58.
- 107) ZHU, W., QIN, W., ZHANG, K., ROTTINGHAUS, G. E., CHEN, Y. C., KLIETHERMES, B. & SAUTER, E. R. 2012. Trans-resveratrol alters mammary promoter hypermethylation in women at increased risk for breast cancer. *Nutr Cancer*, 64, 393-400.