



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**DESARROLLO DE UN MODELO MURINO
DE SÍNDROME METABÓLICO INDUCIDO
CON UNA DIETA HIPERCALÓRICA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A:

MARÍA JOSÉ CARRILLO SERRANO

DIRECTOR DE TESIS:

M en C. AGUSTÍN CARMONA CASTRO

2014



Ciudad Universitaria, D. F.



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.

Datos del Alumno:

María José Carrillo Serrano

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

307066392

Datos del Tutor

M. en C. Agustín Carmona Castro

Datos del sinodal 1

Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez

Datos del sinodal 2

M. en C. Citlalli Fuentes Granados

Datos del sinodal 3

M. en C. Cinthia Rocío Juárez Tapia

Datos del sinodal 4

M. en C. Enrique Moreno Sáenz

Datos del trabajo escrito

Desarrollo de un modelo murino de síndrome metabólico inducido con una dieta hipercalórica.

2016. 58 pag.

Índice

I.	Resumen.....	1
II.	Antecedentes.....	2
III.	Introducción.....	3
1.	BIOLOGIA DEL RATON DE LOS VOLCANES (<i>Neotomodon alstoni</i>).....	3
1.1	Hábitos alimenticios naturales.....	3
2.	SÍNDROME METABÓLICO.....	3
2.1	Principales componentes del SM.....	7
2.1.1.	Obesidad abdominal.....	7
2.1.2	Resistencia a la Insulina/hiperinsulinemia.....	8
2.1.3	Dislipidemia.....	9
2.1.4	Deterioro de la tolerancia a la glucosa/diabetes mellitus tipo 2.....	10
2.1.5	Hipertensión.....	11
3.	MODELOS ANIMALES DE SÍNDROME METABÓLICO.....	12
IV.	Objetivos.....	18
V.	Hipótesis.....	19
VI.	Material y Métodos.....	20
VII.	Resultados.....	25
VIII.	Discusión.....	37
IX.	Conclusiones.....	46
X.	Literatura citada.....	47

I. Resumen

Este trabajo de tesis tiene la finalidad de desarrollar un modelo murino de síndrome metabólico inducido con una dieta hipercalórica. Se analizaron los efectos de una dieta hipercalórica y otra isocalórica sobre el desarrollo de algunas alteraciones patológicas observadas en el síndrome metabólico humano (SM). Actualmente, se sabe que esta condición patológica tiene una incidencia creciente en la población de nuestro país, su patogenia se caracteriza por el desarrollo de diversas alteraciones bioquímicas que conducen a la manifestación clínica de obesidad y de un grupo de trastornos orgánicos asociados entre los que se incluye el desarrollo de resistencia a la Insulina (RI), la presencia de hiperinsulinemia, el deterioro de la tolerancia a la glucosa, la exhibición de dislipidemia y la presencia de hipertensión. La mayor parte de los estudios sobre la etiología de estas alteraciones coinciden en señalar que éstas son consecuencia de una compleja interacción entre factores genéticos y ambientales. De entre estos últimos factores, particularmente destaca el consumo de dietas hipercalóricas altas en grasas. Para dilucidar las diferentes patologías asociadas al consumo de este tipo de dietas y los mecanismos involucrados que conducen al desarrollo del SM es esencial la investigación en modelos animales que exhiban alteraciones patológicas similares a las observadas en los humanos con esta enfermedad. Una de los principales modelos utilizados con esta finalidad son los roedores, los cuales a través del consumo crónico de dietas con diversos niveles de grasas u otros nutrientes, fácilmente pueden desarrollar múltiples patologías metabólicas.

En estudios previos con el ratón *Neotomodon alstoni*, un roedor endémico del Eje Neovolcánico Transversal de México, se ha indicado que algunos ratones de esta especie cuando son alimentados *ad libitum* con una dieta convencional (isocalórica) pueden exhibir el desarrollo de obesidad y otras patologías asociadas al SM; esta condición, ha sugerido la posibilidad de que este roedor pueda ser un modelo adecuado para el estudio de esta enfermedad metabólica.

En este trabajo, nosotros identificamos las principales patologías asociadas al SM mediante el tratamiento durante 5 meses con una dieta hipercalórica rica en grasa (dieta convencional enriquecida con 20% de manteca de cerdo). Se utilizaron ratones recién destetados (un mes de edad), los cuales fueron obtenidos de una colonia exocriada en el Bioterio de la Facultad de Ciencias, UNAM, bajo condiciones ambientales controladas. Los animales fueron divididos en cuatro grupos; dos grupos (uno de machos y otro de hembras) fueron alimentados con una dieta isocalórica para roedores de laboratorio y otros dos grupos (uno de macho y otro de hembras) con la dieta hipercalórica. Los resultados mostraron que a diferencia de los ratones alimentados con la dieta isocalórica, los ratones de los grupos que recibieron dieta hipercalórica a pesar de exhibir un bajo consumo de alimento desarrollaron obesidad. No obstante, sólo 41.6% de ratones machos y 50% de hembras que fueron alimentados con esta dieta mostraron esta alteración, aunque ambos sexos presentaron una mayor incidencia de obesidad severa y una notoria ganancia de peso corporal post tratamiento con la dieta hipercalórica. Por otra parte, las pruebas de tolerancia a la glucosa y tolerancia a la insulina mostraron que a diferencia de los ratones de los grupos tratados con dieta isocalórica, los ratones alimentados con dieta hipercalórica exhibieron intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina. Con relación a otros estudios, se estableció que el deterioro de estas patologías es más severo que el exhibido por los ratones alimentados con dieta isocalórica. Adicionalmente, pudo establecerse que los ratones que desarrollaron obesidad después del tratamiento con la dieta hipercalórica mostraron mayores niveles sanguíneos de triglicéridos y colesterol total que los ratones alimentados con la dieta isocalórica. Aunque los valores de la presión diastólica y sistólica fueron más altos en los ratones alimentados con la dieta hipercalórica, finalmente no se observaron diferencias significativas con respecto a los estimados en los ratones que recibieron dieta isocalórica. Estos resultados permiten concluir que a diferencia de una dieta isocalórica, la dieta hipercalórica puede inducir en este modelo murino las siguientes patologías: desarrollo de obesidad severa en un periodo de tiempo más corto y un menor consumo de alimento, pero una mayor ingesta calórica debido al alto contenido energético de la dieta, un deterioro más severo de la tolerancia a la glucosa y de la resistencia a la insulina, más altos niveles de triglicéridos sanguíneos y de colesterol total, un mayor incremento de la presión diastólica y sistólica, pero no significativo. Este modelo biológico puede ser de gran interés para dilucidar en un futuro el papel de otros factores en el desarrollo del SM y los mecanismos involucrados en el origen de sus patologías asociadas.

II. ANTECEDENTES

El SM está conformado por un grupo de alteraciones que constituyen factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, cáncer y esteatosis hepática no alcohólica (1-3). El principal objetivo de este proyecto es desarrollar un modelo animal que presente algunas de las alteraciones patológicas observadas en el SM humano, con la finalidad de dilucidar los mecanismos y factores biológicos involucrados en su desarrollo, y en un futuro encontrar nuevas alternativas para su tratamiento.

Habitualmente, en el área biomédica se utilizan diversas especies animales para el desarrollo de modelos experimentales (4-7), uno de estos modelos utilizados son los roedores; en los cuales es posible inducir ya sea por manipulación genética, dietas altas en azúcares refinados (fructosa o sacarosa), en grasa y dietas lipogénicas el desarrollo de procesos patológicos similares a los observados en las enfermedades humanas, estos animales son conocidos como modelos “humanizados” (8-14, 41). Desde hace más de 20 años, en el Laboratorio de Biología Animal Experimental de la Facultad de Ciencias de la UNAM se ha estudiado la Biología de un ratón endémico de México, *Neotomodon alstoni*. Los primeros estudios realizados por Carmona (15,16) indicaron que cuando este roedor es criado en cautiverio y se alimenta con una dieta isocalórica convencional para roedores exhibe una predisposición natural al desarrollo de varios desordenes metabólicos; entre los que se incluye obesidad, generación de lipomas (depósito regional de tejido adiposo), esteatosis hepática, hipertriglicéridemia, hiperfagia, hiperleptinemia, hiperglucemia e hiperinsulinemia postprandial. Este tipo de alteraciones forma parte de las patologías observadas en el SM humano, por lo tanto, se ha planteado la posibilidad de que el *Neotomodon* pueda convertirse en un modelo útil para el estudio de esta enfermedad (17). Dado que no hay un modelo único, ideal y al mismo tiempo general para el estudio del SM, y existen muy pocas cepas de animales de laboratorio estandarizadas que permitan estudiar aspectos específicos de sus alteraciones, el desarrollo de un nuevo modelo y su estudio biológico podría ser importante en la comprensión del SM humano.

III. INTRODUCCION

1. BIOLOGIA DEL RATON DE LOS VOLCANES (*Neotomodon alstoni*)

El ratón de los volcanes (*Neotomodon alstoni*) es una especie endémica de nuestro país que pertenece al orden Rodentia y a la familia Cricetidae. El hábitat de este roedor se restringe al Eje Neovolcánico Transversal, en las altas montañas y por encima de los 2500 metros sobre el nivel del mar. Tanto en condiciones naturales como en el cautiverio este roedor se reproduce todo el año, con picos reproductivos máximos en primavera-verano (18, 19). Es una especie poliéstrica continua, que exhibe ciclos estrales con una duración promedio de 4.5 días, y cuyo periodo de gestación es de 27 días (19). Luis *et. al.*, (20) señalan que el macho de este roedor presenta cuidados paternos, lo cual ha sugerido que se trata de una especie monogámica.

1.1 Hábitos alimenticios naturales

Alvarez y Mayo-Aceves (21) analizaron el contenido estomacal de ratones de esta especie de diferentes regiones del Valle de México y establecieron que se trata de una especie omnívora, cuya dieta depende de variaciones ecológicas y estacionales, de tal manera que la alimentación de este ratón en época de secas (noviembre-abril) principalmente está constituida de vegetales, mientras que en temporada de lluvias (mayo-octubre) consiste de insectos. Este estudio es el primer trabajo sobre los hábitos alimenticios en vida silvestre de este roedor; sin embargo, hace falta más investigación sobre este aspecto para dilucidar fehacientemente los requerimientos nutricionales de esta especie en cada una de las diferentes etapas de su vida.

2. SÍNDROME METABÓLICO

En nuestro país la prevalencia del síndrome metabólico en adultos según los datos señalados por la Federación Internacional de Diabetes (IDF por sus siglas en inglés) es del 49.8% (22). El síndrome metabólico es una patología reconocida hace más de 80 años en la literatura médica aunque, con el paso del tiempo ha recibido distintas denominaciones. Como se trata de un síndrome no es considerada una enfermedad única, sino una asociación de alteraciones que pueden aparecer de forma simultánea o secuencial en un mismo individuo, y cuya etiología es compleja, ya que probablemente son causadas por la interacción de múltiples factores genéticos y ambientales (alimentación abundante y alta en calorías, estilo de vida sedentario, obesidad, envejecimiento). La primera descripción de la asociación de diversas alteraciones clínicas con este síndrome, tales como diabetes mellitus tipo 2, la hipertensión arterial y la dislipidemia datan de los años veinte del siglo pasado. Sin embargo, Reaven en el año de 1988 fue el primero en proponer que estas alteraciones ocurrían simultáneamente en un mismo individuo en la forma de un síndrome que denominó “X”, sugiriendo que la resistencia a la insulina (RI) era el mecanismo patofisiológico involucrado en su desarrollo, pues la mayoría de los pacientes con este síndrome exhibían como una de sus alteraciones principales esta característica. Los componentes propuestos por Reaven (23) para el diagnóstico del síndrome aparecen en la tabla 1.

Tabla 1. Componentes del síndrome metabólico propuestos por Reaven en 1988

Resistencia a la captación de glucosa medida por insulina
Intolerancia a la glucosa
Hiperinsulinemia
Aumento de triglicéridos y de colesterol-LDL
Disminución del colesterol-HDL
Hipertensión arterial

*Lipoproteína de baja densidad (colesterol LDL), Lipoproteína de alta densidad (colesterol HDL)

El síndrome X posteriormente recibió otras denominaciones, y con los años se han agregado nuevas alteraciones para su diagnóstico. Kaplan, en 1989 (24), lo denominó “cuarteto mortal”. Posteriormente, ha recibido nombres tales como síndrome X plus, síndrome plurimetabólico, síndrome de insulinoresistencia, entre

otros (25). En 1999, la Organización Mundial de la Salud (OMS) propuso que el síndrome se denominara síndrome metabólico, y adicionó a los criterios de diagnóstico del síndrome metabólico la presencia de intolerancia a la glucosa (o diabetes) y/o de resistencia a la insulina (RI), además de 2 o más de las alteraciones que se presentan en la tabla 2 (26).

Tabla 2 Componentes relacionados con la intolerancia a la glucosa y/o la RI en el síndrome metabólico, según la Organización Mundial de la Salud

Presión arterial elevada (> 140/90 mmHg)
Triglicéridos sanguíneos elevados (> 150 mg/dl)
Colesterol- HDL bajo (< 36 mg/dl en varones y < 40 mg/dl en mujeres)
Obesidad central (relación cintura-cadera > 90cm para varones y > 85cm para mujeres)
y/o Índice de masa corporal > 30 Kg/m ²
Microalbuminuria (excreción > 20 µg/min o relación albúmina: creatinina en orina > 30 mg/g)

En caso de tolerancia normal a la glucosa, el paciente debe presentar dos de las alteraciones que aparecen en la tabla anterior en conjunto con RI.

Además de las alteraciones señaladas por la OMS, otros componentes del síndrome metabólico se han relacionado también con la RI. Entre ellos, la hiperuricemia, anormalidades renales (nefropatía), la disfunción endotelial, el aumento del fibrinógeno y del inhibidor del activador del plasminógeno de tipo 1 (PAI-1), el aumento de lipoproteínas de baja densidad (LDL), pequeñas y densas, hiperleptinemia, enfermedad de ovarios poliquísticos, etc. (27-30). Por lo tanto, se puede decir que el síndrome metabólico es considerado una patología integrada por una constelación de alteraciones lipídicas y no lipídicas. En el desarrollo de este síndrome también son importantes diversos factores genéticos y ambientales asociados al estilo de vida; especialmente la sobrealimentación y la falta de actividad física. De hecho, la obesidad (particularmente la abdominal) y el sedentarismo favorecen el desarrollo de RI, pero algunos individuos pueden tener predisposición genética a su desarrollo (31).

La importancia médica de este síndrome radica fundamentalmente en que se asocia a una mayor prevalencia de enfermedad cardiovascular y coronaria.

Además, el incremento de los desencadenantes del síndrome metabólico, obesidad, RI y dislipidemia, es la causa principal del incremento epidemiológico actual de la diabetes mellitus tipo 2.

En el 2001, el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos, durante el III Panel de Tratamiento del Adulto del Programa Nacional de Educación en Colesterol, presentó una nueva versión de los criterios para diagnóstico del síndrome metabólico (32). A diferencia de los criterios propuestos por la OMS, esos criterios indican que no es necesario demostrar directamente la presencia de RI. Bajo estos nuevos criterios el diagnóstico del síndrome metabólico puede hacerse por la presencia de tres o más de las siguientes alteraciones: obesidad abdominal, triglicéridos altos, colesterol-HDL bajo, hipertensión e hiperglucemia en ayunas, tabla 3.

Tabla 3 Alteraciones para la identificación clínica del síndrome metabólico, propuesta por el III Panel de Tratamiento del Adulto del Programa Nacional de Educación en Colesterol.

Alteraciones	Definición
Obesidad abdominal	Circunferencia de la cintura > 102 cm en varones y > 88 cm en mujeres
Triglicéridos altos	= 150 mg/dl
Colesterol-HDL bajo	< 40 mg/dl en varones y < 50 mg/dl en mujeres
Hipertensión	PAS= 130, PAD = 85 mmHg
Hiperglucemia en ayunas	= 110 mg/dl

HDL-C: Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad: PAD: presión arterial diastólica
 PAS: presión arterial sistólica.

Por otro lado de acuerdo a los criterios del 2005 propuestos por la Federación internacional de Diabetes (IDF), entre los trastornos normalmente observados en el síndrome metabólico se incluyen: obesidad abdominal, más otras dos de las siguientes alteraciones clínicas: dislipidemia (hipertrigliceridemia y niveles reducidos de colesterol HDL), hipertensión y/o hiperglucemia moderada en ayuno. Actualmente, el diagnóstico del síndrome metabólico se realiza con base en los

criterios propuestos en el año 2009 por el consenso de varias organizaciones (33), las cuales acordaron mantener los criterios sugeridos por la ATP III-2001, pero el diagnóstico del síndrome metabólico se establece con al menos 3 de 5 alteraciones, y considerando niveles de hiperglucemia en ayunas de 100 mg/dl, debiendo definirse en los diferentes países el punto de corte de la circunferencia de cintura, dependiendo de las características particulares de cada población. En diversos estudios experimentales o de investigación con animales de laboratorio también se han considerado como criterios adicionales de diagnóstico para este síndrome la presencia de hiperinsulinemia, de RI y el desarrollo de intolerancia a la glucosa, así como la distribución anormal de tejido adiposo, el aumento de parámetros aterogénicos (apo B, partículas pequeñas de LDL), la presencia de esteatosis hepática no alcohólica que es la acumulación de vacuolas de grasa en el citoplasma de los hepatocitos y se caracteriza por presentar unas lesiones hepáticas similares a las producidas por el alcohol en sujetos que no consumen cantidades tóxicas de éste y el desarrollo de microalbuminuria (34-36). Principalmente por su papel en la etiología de la obesidad y la RI, la alteración funcional de hormonas proinflamatorias (interleucina-6, factor de necrosis tumoral-alfa) y de diversas adipocitocinas (por ejemplo: resistina, adiponectina y leptina), además de la manifestación de resistencia a la leptina también se consideran factores etiológicos del síndrome metabólico (37, 38).

2.1 Principales componentes del SM

2.1.1. Obesidad abdominal

El sobrepeso y la obesidad constituyen un riesgo importante para el desarrollo del síndrome metabólico, no sólo porque la presencia de éste comúnmente se asocia con un grado de peso excesivo, sino también porque la obesidad incrementa la probabilidad de desarrollar otras patologías o factores de riesgo que indirectamente facilitan su presencia (39). La grasa abdominal es un tejido heterogéneo que se compone de varios compartimientos que incluyen la

grasa subcutánea, intraperitoneal (visceral) y retroperitoneal. En los animales algunos indicadores indirectos para valorar el grado de obesidad son el índice Lee, la adiposidad visceral y el contenido de grasa en el epidídimo; sin embargo, en el humano el índice de circunferencia de la cintura probablemente sea el marcador más útil y exacto para determinar obesidad central, ya que se correlaciona con la grasa abdominal total determinada por tomografía computarizada.

Aunque muchos estudios han demostrado la asociación entre obesidad (central o visceral) y el síndrome metabólico una de las principales consecuencias fisiopatológicas de la obesidad abdominal es la expansión del tejido adiposo y la disfunción de los adipocitos, lo cual se ha asociado con alteraciones en la secreción de adipocitocinas, las cuales contribuyen al desarrollo de RI y SM (40-43).

De manera especulativa también se ha propuesto como principal causa del síndrome el incremento de la movilización de los ácidos grasos libres viscerales hacia el hígado, y el subsiguiente aumento de la formación de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) en este tejido (44).

2.1.2 Resistencia a la Insulina / hiperinsulinemia

La insulina tiene un destacado rol en la regulación metabólica. Se le define como una hormona anabólica (promueve el depósito de sustratos energéticos y la síntesis de proteínas) y anticatabólica (frena la movilización de sustratos). El aumento de secreción luego de una comida, induce una vasodilatación (por su efecto de síntesis de óxido nítrico al estimular la óxido nítrico sintasa endotelial) que facilita la distribución de sustratos hacia los tejidos. Si bien sus efectos son más evidentes en la regulación de la homeostasis de la glucosa, tiene un papel fundamental en la metabolización de aminoácidos, ácidos, grasos, cetoácidos y lipoproteínas. Sus efectos fisiológicos in vivo deben considerarse en el contexto de su relación con las hormonas llamadas catabólicas (glucagón, catecolaminas, glucocorticoides y hormona de crecimiento). La insulina se sintetiza como una preprohormona en las células- β de los islotes de Langerhans en el páncreas. La secuencia líder de la preprohormona es eliminada en la cisterna del retículo

endoplasmático y la hormona es empaquetada en vesículas secretorias en el Golgi, es plegada en su estructura nativa, y fijada en su conformación por la formación de 2 uniones disulfuro. Una actividad de proteasa específica rompe la molécula, que se disocia como péptido C, dejando el péptido amino terminal B unido por un puente disulfuro al péptido carboxiterminal A (45).

La secreción de insulina por las células- β es regulada principalmente por los niveles de glucosa. Un incremento en el ingreso de glucosa a las células- β del páncreas conduce a un concomitante incremento en el metabolismo. El incremento en el metabolismo lleva a una elevación del ratio ATP/ADP. Esto a su vez lleva a la inhibición de un canal de potasio sensible al ATP (canal K-ATP). El resultado neto es la despolarización de la célula llevando a un influjo de Ca^{2+} y a la secreción de insulina (45).

Una alteración que frecuentemente se ha pensado como la causa del síndrome metabólico es la resistencia a la Insulina (RI), comúnmente acompañada de hiperinsulinemia (45). Actualmente, continúa siendo un enigma cuál de estas dos alteraciones conlleva a la una o a la otra debido a su estrecha asociación. La RI se caracteriza por la insensibilidad de las células y de los tejidos periféricos (el músculo esquelético, tejido adiposo y/o el hígado) a la acción de la insulina y la reducción de la captación de glucosa en respuesta a la ausencia de acción de esta hormona (39, 44, 47). Muchos componentes de la vía de señalización de la insulina se han vinculado con la alteración de la acción de insulina en el síndrome metabólico; sin embargo, hasta este momento no se ha comprobado su participación (con excepción de unas mutaciones genéticas poco comunes). Recientemente, en los humanos y en modelos de animales se ha demostrado que algunas alteraciones endógenas, el ambiente, y específicamente la nutrición y el ejercicio pueden ser capaces de alterar la sensibilidad a la insulina. La patogenia de esta alteración es sumamente compleja, el papel del deterioro de la sensibilidad a la insulina a nivel celular y en tejidos específicos no se ha dilucidado del todo en el contexto del síndrome metabólico; sin embargo, para el caso de la diabetes mellitus tipo 2 existen bases sólidas del papel de la RI en su desarrollo.

2.1.3 Dislipidemia

Es la presencia de anomalías en la concentración de grasas en sangre (Colesterol, triglicéridos, colesterol HDL y LDL), muchas anomalías metabólicas pueden conducir al desarrollo de dislipidemia (45). Sin embargo, comúnmente sólo dos alteraciones estrechamente asociadas entre sí son incluidas en los criterios de diagnóstico del síndrome metabólico: la hipertrigliceridemia y la reducción del colesterol de alta densidad (HDL-C). En nuestro país, la hipertrigliceridemia en humanos se establece cuando el nivel de triglicéridos después de un ayuno de 8 horas es >150 mg/dL; mientras que el HDL-C se considera bajo cuando su concentración es <60 mg/dL. Los triglicéridos elevados y las concentraciones bajas de HDL están relacionados de forma independiente con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular. El colesterol total >200 mg/dL y colesterol de baja densidad (LDL-C) >100 mg/dL también se consideran factores de riesgo significativos para enfermedades cardiovasculares, pero generalmente no son incluidos en los criterios de diagnóstico del síndrome metabólico. Además, el hallazgo de un aumento > 35 mg/dL de colesterol de muy baja densidad (VLDL-C), en la asociación con el incremento de LDL pequeñas y densas, y del inhibidor del activador del plasminógeno-tipo 1 (PAI-1) se ha asociado con un mayor índice aterogénico y una alta predisposición al desarrollo de enfermedad coronaria (46).

Los valores de referencia señalados en el párrafo anterior, corresponden a los de un individuo mexicano adulto del sexo masculino, los cuales pueden ser diferentes a los de una mujer adulta mexicana. En el caso de las especies animales utilizadas como modelos experimentales de laboratorio, los límites de referencia de éstos y otros parámetros sanguíneos evaluados en el síndrome metabólico varían dependiendo de la especie, la raza, la cepa, la edad, el sexo, el peso, su condición genética y tipo de dieta (48).

Los triglicéridos son grasas que se encuentran en determinados alimentos y también se producen en el hígado. Los triglicéridos circulan en la sangre mediante unas lipoproteínas que se producen en el intestino y en el hígado y se transportan a los tejidos donde se utilizan como una reserva de energía para cubrir las

necesidades metabólicas de los músculos y el cerebro. Las primeras, se encargan de transportar los triglicéridos de los alimentos que son absorbidos, y las segundas transportan los triglicéridos que sintetiza el hígado (49).

Los triglicéridos elevados y las concentraciones bajas de HDL están relacionados de forma independiente con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular. Además, se considera que los factores genéticos y ambientales son los responsables de las bajas concentraciones de colesterol-HDL y del aumento de triglicéridos (49).

2.1.4 Deterioro de la tolerancia a la glucosa/diabetes mellitus tipo 2

La diabetes mellitus se define como un grupo de alteraciones metabólicas de etiología múltiple, caracterizadas por hiperglucemia crónica resultantes de un defecto en la secreción de insulina, en la acción de la insulina o en ambas (23, 24).

Las fases más tempranas del desarrollo de la diabetes Tipo 2 incluyen todas las alteraciones observadas en el síndrome metabólico (23, 24). La patogenia de la diabetes se ha examinado en animales y humanos, y se ha establecido que incluye una serie de fases progresivas. La obesidad y la RI están presentes en las fases más tempranas. La dislipidemia es común, aunque no se encuentra siempre presente, y la hipertensión a veces se observa, pero no es consistente (39-49). De acuerdo a la American Diabetes Association, el diagnóstico positivo de diabetes Tipo 2 (anteriormente llamada diabetes insulino no dependiente) debe realizarse con base en los siguientes criterios: 1) un nivel de glucosa sanguínea en ayunas para en el humano adulto ≥ 126 mg/dL (independientemente del sexo); 2) glucemia al azar > 200 mg/dL; y 3) prueba de tolerancia a la glucosa (glucemia postprandial ≥ 200 mg/dL después de 120 minutos de una carga oral de glucosa). Los mismos criterios de diagnóstico de la glucemia en ayuno y de la tolerancia a la glucosa han sido adoptados para el caso de los animales, tanto de compañía como experimentales; sin embargo, es necesario aclarar que estos perfiles sanguíneos también pueden variar dependiendo de la especie, la cepa, el sexo y otras condiciones antes señaladas; por lo que el diagnóstico de la diabetes mellitus tipo

2, sobre todo en roedores de laboratorio, se corroborara mediante otros hallazgos clínicos, la presencia de RI, poliuria, polidipsia y polifagia.

La glucosa medida en ayunas con un valor ≥ 110 mg/dL por lo general es un indicador de RI, y a menudo está acompañada por otros componentes del SM. Además, un porcentaje de las personas con glucemia basal alterada desarrollará diabetes tipo 2 con el tiempo (51-53). Aunque, el panel ATP III no considera adecuada la determinación rutinaria de la RI y el estado pro-inflamatorio o protrombótico para el diagnóstico del SM, éstos generalmente son aceptados como características presentes en este síndrome. Por otra parte, ensayos clínicos demuestran que el incremento de tres de los componentes característicos del SM, tales como dislipidemia aterogénica, hipertensión y estado protrombótico, incrementan el riesgo de enfermedad cardiovascular (49-54).

2.1.5 Hipertensión

La presión arterial es la fuerza que la sangre ejerce contra las paredes de las arterias, la cual es lo suficientemente alta, como para llegar a causar problemas de salud, tales como enfermedades cardiovasculares. Según criterios de la ATP III para el diagnóstico del SM, una presión arterial mayor a 130/85 mm de Hg es considerada hipertensión. La razón por la que la hipertensión arterial está incluida entre los criterios diagnósticos del SM, es debido a que la reducción de la presión sanguínea por debajo de 130/85 reduce la probabilidad de un evento cardiovascular en pacientes diabéticos o con otros factores de riesgo cardiovascular (52,53, 55,56).

Entre los rasgos característicos del síndrome metabólico, la hipertensión probablemente sea la alteración que se asocia de forma más consistente con esta patología (48). No obstante, se ha encontrado que el 91% de las personas con hipertensión pueden tener otras alteraciones típicas del síndrome metabólico. En los humanos un individuo adulto es considerado hipertenso cuando su presión arterial sistólica es de 130 mmHg y posee una presión arterial diastólica de 85 mmHg según el III Panel de Tratamiento del Adulto del Programa Nacional de Educación en Colesterol; sin embargo, algunos grupos dedicados al estudio de

diabetes han sugerido criterios de presión arterial más elevados de 160/90 mmHg. En el caso de los animales estos criterios también varían dependiendo de las condiciones intrínsecas ya mencionadas.

La hipertensión es considerada el preámbulo al desarrollo de enfermedad coronaria en muchas poblaciones, particularmente en aquéllas con un predominio alto de obesidad y diabetes tipo 2. La enfermedad cardiovascular se vincula al síndrome metabólico a través de un eslabón que se establece entre la hipertensión y la RI (47), incluso se ha supuesto la participación de otros mecanismos intermediarios, sin embargo esto no se ha demostrado. Asimismo la asociación de la hipertensión con otras alteraciones observadas en el síndrome metabólico también son inciertas.

1. MODELOS ANIMALES DE SÍNDROME METABÓLICO

Los modelos animales representan una herramienta útil en el estudio de diversas enfermedades tanto humanas como animales. Particularmente, se utilizan para probar nuevas hipótesis, dilucidar los mecanismos patofisiológicos de alguna enfermedad, o bien, para desarrollar nuevas medidas terapéuticas. Desafortunadamente debido a la complejidad de muchas de estas patologías no existe un modelo animal que sea capaz de reunir o reproducir plenamente todas las alteraciones clínicas que suelen caracterizarlas. Esta situación desde hace algunas décadas determinó que una gran diversidad de especies (originalmente silvestres), que exhibían predisposición al desarrollo de alguna enfermedad de interés médico, fueran criadas en condiciones de laboratorio para ser utilizadas como modelos animales de investigación. Aunque algunas de estas especies posteriormente prevalecieron como animales de laboratorio, otras por diversas situaciones dejaron de emplearse o fueron sustituidas por el uso de modelos alternativos (cultivos celulares, animales con sistema nervioso más simple, modelos informáticos, simuladores, etc.). Sin embargo, a diferencia de estos últimos, los animales están integrados por un sistema biológico complejo, muchas veces necesario para ciertos estudios. Una ventaja adicional de los modelos animales es la posibilidad de poder

controlar y estandarizar en ellos diversas variables que modifican la respuesta experimental; por ejemplo, factores genéticos, ambientales y microbiológicos. Además, conforme a las regulaciones legales de nuestro país hoy podemos realizar en las especies animales procedimientos que aún no son factibles llevarlos a cabo en los humanos. Actualmente, los modelos animales son catalogados según su origen en cinco tipos: 1) espontáneos o mutantes; 2) los derivados por modificaciones genéticas, entre los que se incluyen los animales transgénicos, los knockout, knockin y clonados; 3) los inducidos quirúrgicamente; 4) los inducidos químicamente y 5) los inducidos por medio de la dieta (5-14, 57-61). Conjuntamente con los roedores, otros mamíferos son utilizados para estudiar el síndrome metabólico, entre ellos algunas especies domésticas y silvestres que son mantenidas en condiciones de laboratorio (6, 17, 60). La selección del modelo más adecuado depende del objetivo de estudio; sin embargo, es necesario considerar algunas variables de importancia experimental, tales como la especie, la cepa, el tipo de dieta, la alteración genética, el tratamiento químico o el procedimiento quirúrgico inductor.

Algunas características de los principales modelos animales de síndrome metabólico inducido a través de la dieta, así como de aquellos que desarrollan diabetes tipo 2 y obesidad se resumen en la tablas 4 y 5, respectivamente.

Tabla 4. Principales modelos animales de síndrome metabólico inducido por dieta

TIPO DE DIETA	CEPA	FENOTIPO	COMENTARIOS
De ingredientes purificados, 45-60 kcal/ % de grasa con varias fuentes de lípidos	C57BL/6	Obesidad/ hiperglucemia	Las diferencias en el peso corporal entre los grupos con dieta alta en grasa y dieta baja en grasa aparecen a la 1ra semana del consumo de dieta. La hiperglucemia produce alrededor las 4 semanas
De ingredientes purificados, 30-60 kcal/% de grasa con	Ratas Sprague Dawley y Wistar	Obesidad	Las diferencias en el peso corporal entre las ratas con dieta que induce resistencia a

varias fuentes de lípidos			obesidad y dieta inductora de obesidad (DIO) son aparentes entre 2-10 semanas con el consumo de las dietas. El tipo de grasas puede impactar la ganancia de peso
Convencional adicionada con grasa y un aporte de 48 kcal/% de grasa	Rata ZDF	Obesidad/ Diabetes	Los machos desarrollan diabetes con dieta convencional, pero la enfermedad es más severa con dietas altas en grasa. Las hembras requieren una dieta con al menos 48 kcal/% de grasa para desarrollar diabetes.
De ingredientes purificados, con 10 o 58 kcal/% de grasa y con varias fuentes de lípidos y colesterol.	Ratón A/J	Resistente a la obesidad	No se vuelve obeso a pesar de la ingesta calórica similar al ratón C57BL/6
De ingredientes purificados, con 10 o 58 kcal/% de grasa y con varias fuentes de lípidos y colesterol.	Ratón AKR	Obesidad/ RI (RI)	Se vuelve obeso con dietas altas en grasa. Son más tolerantes a la glucosa pero presentan mayor RI, comparados con los ratones C57BL/6.
De ingredientes purificados, con 32 kcal/% de grasa	Rata Sprague Dawley	Obesidad/ Hipertensión	La hipertensión y la obesidad se desarrollan después de 10 semanas con la dieta alta en grasa.
De ingredientes purificados, con 8% de NaCl	Rata Dahl SS	Hipertensión	La hipertensión se desarrolla después de 2-4 semanas con el consumo de la dieta.
De ingredientes purificados, con 60% de fructosa	Ratas Sprague Dawley y Wistar	Hipertensión	La hipertensión se desarrolla después de 6-8 semanas con el consumo de la dieta.
De ingredientes purificados, con 60-70 kcal/% de sucrosa	Ratas Sprague Dawley y Wistar	RI/ Hipertrigliceridemia	Tanto la RI como la hipertrigliceridemia se desarrollan después de 2 semanas con el consumo de la dieta

De ingredientes purificados, alta en grasas saturadas, 1% de colesterol y 0.25% de ácido cólico.	Ratón C57BL/6	Ateroesclerosis/ Hipercolesterolemia	La hipercolesterolemia y ateroesclerosis moderada se desarrollan después de 14-18 semanas con el consumo de la dieta
De ingredientes purificados con 0.1-1.25% de colesterol	Ratón knockout-receptor LDL, Ratón knockout-apolipoproteína E	Ateroesclerosis/ Hipercolesterolemia	La hipercolesterolemia y la ateroesclerosis se desarrollan después de 12 semanas con el consumo de la dieta
De ingredientes purificados alta en grasa saturada y 0.05-1% de colesterol	Hámster Sirio	Ateroesclerosis/ Hipercolesterolemia	La hipercolesterolemia y la ateroesclerosis se desarrollan después de 6 semanas con el consumo de la dieta
De ingredientes purificados alta en grasa saturada y 0.3% de colesterol	Cobayo cepa Hartley	Ateroesclerosis/ Hipercolesterolemia	La hipercolesterolemia y la ateroesclerosis se desarrollan después de 6 semanas con el consumo de la dieta

(12).

Tabla 5. Comparación de los humanos con los modelos animales que desarrollan diabetes tipo 2 y obesidad

Cepas de ratones con fenotipo diabético							
Fenotipos	Humanos	B6.V- <i>Lep^{ob}/J</i> B6.BKS (D)- <i>Lepr^{db}/J</i>	BKS.Cg- <i>Dock7^m +/+</i> <i>+ Lepr^{db}/J</i>	C57BL/6J DIO	NONcNZO10/ LtJ	Tallyho/JngJ	KK.Cg-A ^y /J
Inducido o espontáneo	Espontáneo	Espontáneo	Espontáneo	Inducido por la dieta	Inducido por la dieta	Inducido por la dieta	Espontáneo
Genética	Poligénico	Poligénico	Poligénico	Poligénico	Poligénico	Poligénico	Poligénico
Edad de inicio	Adulto (progresivo)	Joven	Joven	Adulto	Adulto	Adulto	Adulto
Sexo	M, H	M, H	M, H	M	M	M	M, H
Hiperinsulinemia	Moderado	Severo	Moderado (transitoria)	Suave	Moderado	Sí	Severo
Intolerancia a la glucosa	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí

Hiperglucemia	Sí	Moderada (transitoria)	Severa	Leve/ Moderada	Moderada/ Severa	Sí	Sí
Atrofia de los islotes de Langerhans	Variable	No (sólo hiperplasia)	Sí	No	Variable	Sí (comienzo tardío)	Hipertrofia
Problemas para cicatrizar heridas	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Desconocido	Desconocido
Nefropatía	Sí	No	Sí (leve)	No	Sí (leve)	Desconocido	Sí

Cepas de ratones con fenotipo obeso

Fenotipos	Humanos	B6.V- <i>Lep^{ob}/ J</i> B6.BKS (D)- <i>Lepr^{db}/J</i>	BKS.Cg- <i>Dock7^{m +/}</i> + <i>Lepr^{db}/ J</i>	C57BL/6J DIO	NONcNZO1 0/LtJ	Tallyho/Jn gl	KK.Cg-A y/J
Inducido o espontáneo	Espontánea	Espontánea	Espontánea	Inducida por la dieta	Inducida por la dieta	Espontánea	Espontánea
Genética	Poligénica	Monogénica	Monogénica	Poligénica	Poligénico	Poligénica	Monogénica
Edad de inicio	Variable	Jovén	Jovén	Adulto	Adulto	Juvenil	Adulto
Sexo	M, H	M, H	M, H	M	M, H	M, H	M, H
Grado	Moderada	Severa	Severa	Severa	Moderada	Moderada	Moderada
Hipertrigliceridemia	Sí	Sí	Sí	Leve	Sí (machos únicamente)	Sí	Sí
Eje leptina / Receptor de la leptina	Normal	Afectado	Afectado	Normal	Normal	Normal	Normal
Hiperfagia	No	Si	Sí	Leve	No	No	Si
Hipercortocismo	No	Sí	Sí	No	No	Desconocido	No
Defectos de termorregulación	No	Si	Si	Desconocido	No	No	Desconocido
Esteatosis Hepática	Variable	Severa	Severa	Desconocida	Moderada	Moderada	Moderada

Otros Modelos con fenotipo obeso y/o diabético

Fenotipos	Rata Zucker (ZDF)	Minipig	Rata SHR	Rata Kolestky SHROB	Rata Goto Kakizaki	Rata OLETF
Inducido o espontáneo		Inducido con dieta	Espontáneo	Espontáneo	Espontáneo	Espontáneo
Genética	Monogénico	Poligénico		Monogénico		

Obesidad	Sólo H (a las 3-5 semanas de edad)	Sí	Adultos	Sí	No	Sí
Diabetes	Sólo M				Temprana	Sí
Hiperfagia	Sí	Sí		Sí		Sí
Hiperinsulinemia	Sí , después de 12-14 semanas de edad	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Intolerancia a la glucosa	Sí	Desconocido	Sí	Sí	Sí	Sí
Hiperglucemia	Entre las 13-15 semanas de vida	No	Sí	Sí	Sí, moderada	Sí
Dislipidemia	Sí		Sí	Sí		Sí
Hipertensión	Sí		Sí	Sí		Sí

H= Hembra; M= Macho. Tomado de 4-14, 30, 40-42.

IV. OBJETIVOS

a) General

1) Desarrollar un modelo animal de síndrome metabólico inducido con una dieta hipercalórica que presente algunas de las alteraciones patológicas observadas en el síndrome metabólico humano.

b) Particulares

1) Elaborar y suministrar durante un periodo de 5 meses una dieta hipercalórica para inducir obesidad y otras alteraciones características del síndrome metabólico en ratones machos y hembras (*Neotomodon alstoni*) exocriados en el Bioterio de la Facultad de Ciencias, UNAM.

2) Cuantificar durante 5 meses a partir de su destete el peso y la ganancia de peso corporal de los ratones *Neotomodon alstoni* alimentados con una dieta hipercalórica para establecer la edad a la cual desarrollan obesidad.

3) Determinar en los ratones obesos *Neotomodon alstoni* (> 60 g de peso corporal) alimentados con una dieta hipercalórica algunos parámetros indicativos del síndrome metabólico (consumo de alimento, ingesta calórica, contenido de grasa

corporal, glucemia basal, tolerancia a la glucosa, tolerancia a la insulina, triglicéridos sanguíneos, colesterol total y presión arterial).

V. HIPÓTESIS

- Ha: El consumo crónico de una dieta hipercalórica en el ratón *Neotomodon alstoni* induce el desarrollo de alteraciones características del síndrome metabólico humano.
- Ha: Los ratones *Neotomodon alstoni* alimentados con una dieta hipercalórica desarrollan obesidad a una menor edad que los ratones de la misma especie alimentados con una dieta convencional (isocalórica) para roedores.
- Ha: Los ratones *Neotomodon alstoni* alimentados con una dieta hipercalórica desarrollan alteraciones características del síndrome metabólico humano más severas que los ratones de la misma especie alimentados con una dieta convencional (isocalórica) para roedores.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño Experimental

-Animales.

48 ratones *Neotomodon alstoni* de 30 días de edad.

4 grupos experimentales, cada uno con 12 machos y 12 hembras.

5 meses de experimento.

-Alojamiento.

Temperatura 18°-23° C

Humedad 50 -60 %

Fotoperiodo 12:12 h

-Alimentación.

G1. (n=12 M) y G2. (n=12 H) 100g semanales de dieta hipercalórica (dieta convencional + 20% de manteca)

G3. (n=12 M) y G4. (n=12 H) 100g semanales de dieta isocalórica (Nutricubos Purina para roedores pequeños)

-El consumo promedio de alimento fue cuantificado mensualmente en cada grupo.

-La ingesta calórica promedio fue determinada mensualmente en cada grupo= consumo de alimento promedio mensual (g) X valor energético de la dieta (Kcal/g).

-Evaluación del peso corporal durante 5 meses:

para establecer la edad a la que inicia el desarrollo de obesidad mensualmente se cuantificó el promedio de peso corporal y la ganancia promedio de peso.

-Prevalencia y grado de obesidad en los animales: a los 5 meses del estudio en cada uno de los grupos experimentales fueron seleccionados los ratones obesos con un peso corporal >60 g.

Grado de obesidad. Se consideraron tres tipos: Leve (peso corporal= 60 g), moderado (peso corporal=61-65 g), severo (peso corporal > 66 g).

Contenido de grasa corporal: fue cuantificado a los 2.5 y 5 meses mediante un método indirecto. **Índice de obesidad Lee** = $\sqrt[3]{\frac{\text{peso corporal}}{\text{longitud naso anal}}}$ X 10⁴ =UR

Evaluación de parámetros bioquímicos

-Tolerancia a la glucosa

Ayuno durante 4 hrs.

Anestesia: inhalación de isofluorano (a dosis efecto)

Las muestras sanguíneas fueron obtenidas del seno venoso orbital usando tubos capilares con heparina.

Se cuantificó la concentración de glucosa basal (tiempo 0) y glucemia postprandial cada 30 min durante 2 horas.

-Tolerancia a la insulina

Determinación del peso corporal

Anestesia: Clorhidrato de Ketamina= 0.02 ml/50 g de peso corporal, vía I.M.

Clorhidrato de Xilacina= 0.02-0.04 ml/50 g de peso corporal, vía I.M.

Se cuantificó la concentración de glucosa basal (tiempo 0) en una muestra sanguínea obtenida del seno venoso orbital utilizando tubos capilares con heparina.

Posteriormente, se determinó la glucemia post administración de insulina (Humulin Regular R, insulina de acción rápida 100 UI/ml, dosis por animal 0.75 UI/kg de peso corporal, vía intraperitoneal) cada 5 minutos durante 20 minutos mediante el método glucosa oxidasa y tiras reactivas para glucómetro Accutrend GCT (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim Alemania).

-Concentración sanguínea de triglicéridos (TG) y colesterol total (COT)

Ayuno durante 4 hrs.

Las muestras sanguíneas fueron obtenidas del seno venoso orbital usando tubos capilares con heparina.

Los TG y el COT fueron cuantificados en un aparato Accutrend GCT y a través de tiras reactivas.

Análisis estadístico.

Todos los parámetros cuantificados fueron expresados como el promedio ± desviación estándar.

Las diferencias estadísticas fueron evaluadas mediante pruebas t de Student con un valor de significancia de p≤0.05.

Este estudio se realizó con 48 ratones F2 de la especie *Neotomodon alstoni* recién destetados (de 30 días de edad) que fueron obtenidos de una colonia exogámica criada en el Bioterio de la Facultad de Ciencias, UNAM. Estos animales fueron separados individualmente y divididos por sexo en 4 grupos experimentales conformados por 12 ratones (Tabla 6).

b) Alojamiento

En el Bioterio los ratones fueron mantenidos en un ciclo de luz/ oscuridad de 12:12 h (la luz fue encendida de 0600 a 1800), a una temperatura de 18-23°C, y a 50 -60 % de humedad relativa.

c) Alimentación

Un grupo de machos y otro de hembras, cada uno conformado por 12 ratones, fueron alimentados *ad libitum* con 100g de dieta hipercalórica (dieta convencional Nutricubos Purina para roedores pequeños adicionada con 20% de manteca de cerdo) cada semana durante 5 meses. El análisis químico proximal de esta dieta y su valor energético se indican en la Tabla 7. A otros dos grupos (uno de machos y otro de hembras) también integrados por 12 ratones se les proporcionó de la misma manera y durante un periodo de tiempo similar 100g de una dieta isocalórica, 7.0 Kcal/g (Nutricubos Purina para roedores pequeños, ver Tabla 7).

d) Consumo de alimento

En todos los grupos, cada 7 días se cuantificó el remanente de alimento dejado en el comedero para determinar el consumo promedio de alimento mensual a lo largo de 5 meses en cada grupo.

Tabla 6. Grupos experimentales con dieta hipercalorica e isocalorica

Grupo	Sexo (numero)	Tratamiento
G1. Dieta hipercalórica	Macho (12)	100g semanales de dieta convencional (Nutricubos Purina para roedores pequeños) adicionada con 20% de manteca.
G2. Dieta hipercalórica	Hembra (12)	
G3. Dieta isocalórica	Macho (12)	100g semanales de dieta convencional (Nutricubos Purina para roedores pequeños)
G4. Dieta isocalórica	Hembra (12)	

Tabla 7. Análisis químico proximal de las dietas hipercalórica e isocalórica*

Elemento	Dieta Hipercalórica		Dieta isocalórica	
	%		%	
Humedad	3.90	Máx.	5.89	Máx.
Grasa	22.95	Mín.	5.85	Mín.
Proteína	16.93	Mín.	20.59	Mín.
E.N.L	43.63	P. Dif.	53.26	P. Dif.
Fibra	5.44	Máx.	6.46	Máx.
Cenizas	7.15	Máx.	7.96	Máx.
Valor energético (Kcal/kg) (Kcal/gr)	4448.8 4.4	Valor energético (Kcal/kg) (Kcal/gr)	3451.3 3.4	

*Realizado por el Departamento de Nutrición y Bromatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM. E.N.L. Extracto Libre de Nitrógeno.

e) Ingesta calórica.

La ingesta calórica promedio en cada grupo se estimó mensualmente durante 5 meses mediante la siguiente fórmula:

Consumo promedio de alimento mensual (g) X valor energético de la dieta (Kcal/g).

f) Evaluación del peso corporal

1) Edad de inicio de la obesidad

Para establecer la edad a la que los ratones desarrollan obesidad, antes de iniciar el tratamiento con su dieta específica (dieta hipercalórica o dieta isocalórica) al momento del destete se determinó el peso inicial por individuo y posteriormente el peso promedio inicial grupal. A partir del tratamiento con su dieta respectiva, los ratones de cada grupo fueron pesados semanalmente de manera individual y después se cuantificó mensualmente el promedio de peso corporal en cada grupo durante 5 meses. El peso promedio final se estableció 5 meses después del consumo de las dietas respectivas y la ganancia promedio de peso fue estimada mediante la siguiente fórmula:

Ganancia de peso (g) = Aumento de peso al término del tratamiento con la dieta (g) – Peso inicial (g)

El peso corporal de los ratones fue determinado utilizando una balanza digital modelo LG501-A.

2) Prevalencia y grado de desarrollo de la obesidad

A los 5 meses de este estudio fueron seleccionados los ratones que exhibieron obesidad para estimar en cada grupo la prevalencia estadística de esta patología (% de incidencia). Se consideraron obesos aquellos ratones que alcanzaron un peso corporal superior a los 60 g, y como delgados los que mostraron un peso inferior a éste en el mismo lapso de tiempo. Conforme a su grado de desarrollo la obesidad fue clasificada en tres tipos: 1) leve, si el peso corporal del animal era igual a 60 g; 2) moderada, cuando el peso se encontraba en un rango de 61 a 65.9 g y 3) severa,

si el peso era mayor a 66 g, los grados de obesidad se asignaron según nuestros criterios.

3) Contenido de grasa corporal

La estimación del contenido de grasa corporal fue determinada en los ratones que presentaron fenotipo obeso y delgado a los 2.5 y 5 meses de tratamiento con la dieta respectiva. Esto mediante un método no invasivo (sin extracción de las almohadillas tejido adiposo), expresando el contenido de tejido adiposo corporal total en términos del Índice de obesidad Lee, el cual fue establecido mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de obesidad Lee} = \sqrt[3]{\text{peso corporal} / \text{longitud naso anal}} \times 10^4$$

En esta fórmula el peso corporal es indicado en gramos y la longitud naso anal en milímetros, mientras que el índice obesidad Lee estimado es expresado en unidades relativas (UR).

g) Evaluación de parámetros bioquímicos

Los parámetros bioquímicos fueron determinados 5 meses después del tratamiento con la dieta respectiva (hipercalórica o isocalórica).

1) Pruebas de tolerancia a la glucosa

Antes de realizar las pruebas de tolerancia a la glucosa los animales fueron sometidos a un periodo de ayuno iniciando a las 7 am, este ayuno tuvo duración de 4 hrs. Posteriormente, se anestesiaron con isoflurano dentro de una cámara de inducción de anestesia (a dosis efecto) para obtener muestras sanguíneas del seno venoso orbital (aprox. 40 µl) en tubos capilares con heparina. Se cuantificó la concentración basal de glucosa (tiempo 0) y la glucemia postprandial cada 30 minutos durante 2 horas después de la administración intraperitoneal de 2.5 g/kg de peso corporal de una solución glucosada (25 g/50ml). La concentración de glucosa en ambos casos se determinó por duplicado en una gota de sangre total y a través del método glucosa oxidasa con tiras reactivas para glucómetro Accutrend GCT (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim Alemania).

2) Tolerancia a la insulina

Para las pruebas de tolerancia a la insulina los animales no fueron sometidos a un período de ayuno previo. Los animales fueron pesados y anestesiados con Clorhidrato de Xilacina (concentración madre 20 mg/ml) a una dosis de 0.02-0.04 ml/50 g de peso corporal y Clorhidrato de Ketamina (concentración madre de 1000 mg/10ml) a una dosis de 0.02 ml/50 g peso corporal, ambos fármacos fueron administrados intramuscularmente. Se obtuvieron muestras sanguíneas del seno venoso orbital utilizando tubos capilares con heparina para cuantificar la concentración basal de glucosa (tiempo 0) y la glucemia post administración de insulina (Humulin Regular R, insulina de acción rápida 100 UI/ml, dosis por animal 0.75 UI/kg de peso corporal, vía intraperitoneal) cada 5 minutos durante 20 minutos mediante el método glucosa oxidasa con tiras reactivas para glucómetro Accutrend GCT (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim Alemania).

3) Concentración sanguínea de triglicéridos (TG) y colesterol total (COT)

Antes de la cuantificación de estos parámetros bioquímicos los ratones fueron sometidos a un periodo de ayuno de 4 hrs. Después de anestesiarse a los animales con isoflurano, se obtuvieron muestras sanguíneas del seno venoso orbital en tubos capilares con heparina para determinar estos parámetros por duplicado a través del método de tiras reactivas para TG y COT, mediante el uso de un aparato Accutrend GCT (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim Alemania).

Todos los procedimientos experimentales en los animales fueron realizados bajo los principios éticos sugeridos por la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999), especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (62).

h) Presión arterial

Las presiones diastólica y sistólica fueron determinadas por duplicado mediante un método no invasivo después de 5 meses de tratamiento con su dieta respectiva (hipercalórica o isocalórica). Antes de cuantificarlas, los ratones estuvieron expuestos al calor mediante una almohadilla térmica durante 1 hora, posteriormente se colocaron en cepo térmico de contención individual para colocarles en la cola una pinza de oclusión del flujo sanguíneo con un transductor de amplificación de la presión arterial. Ambas presiones fueron establecidas utilizando un medidor de presión arterial LE 5002, Marca Pb Panlab.

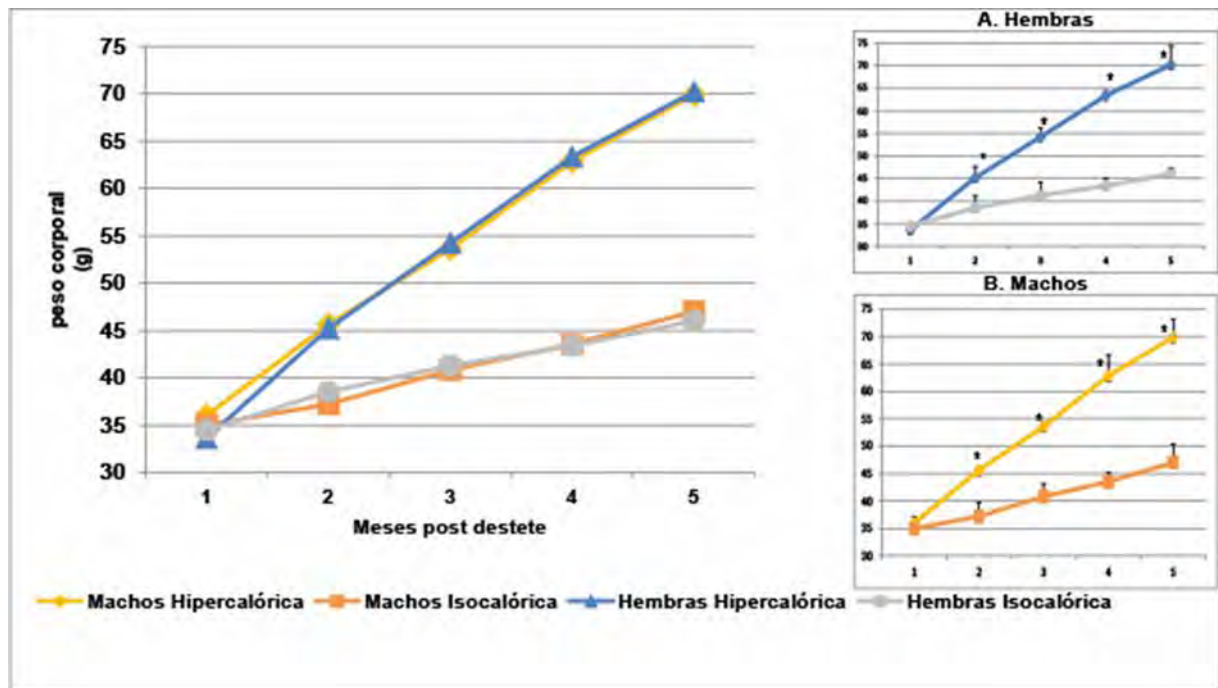
i) Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de la cuantificación de todos los parámetros fueron expresados como el promedio \pm la desviación estándar. Las diferencias estadísticas entre los grupos, fueron calculadas mediante pruebas de t de Student no pareadas con un valor de significancia de $p \leq 0.05$, utilizando el programa *OriginPro 8, 2011*.

VII. RESULTADOS

a) Edad de inicio de la obesidad

Mientras que los ratones alimentados con dieta isocalórica permanecieron delgados y no exhibieron obesidad, los ratones de ambos sexos alimentados con dieta hipercalórica desde los 2 meses de tratamiento comenzaron a exhibir una diferencia significativa ($p < 0.05$) en su peso corporal, lo cual permitió distinguirlos de los grupos con dieta isocalórica, Gráfica 1. Esta tendencia en el aumento de peso corporal de los ratones con dieta hipercalórica se incrementó progresivamente hasta los 5 meses post tratamiento, periodo durante el cual tanto los machos como las hembras alimentadas con este tipo de dieta de manera homogénea mostraron un incremento altamente significativo de su peso corporal ($p < 0.05$) con respecto a los animales tratados con la dieta isocalórica que se mantuvieron delgados, Gráfica 1.



Gráfica 1. Muestra la comparación de las curvas de peso de los ratones de ambos sexos estimadas durante 5 meses en los ratones alimentados con su dieta específica. En los grupos tratados con dieta hipercalórica se incluyen sólo los animales que mostraron obesidad (Machos n= 5, Hembras n= 6), mientras que en los grupos con dieta isocalórica se incluyen todos los animales (Machos n= 12, Hembras n= 12). En las gráficas A y B los puntos en cada grafico representan el valor promedio \pm la desviación estándar. * indica diferencias significativas con respecto al otro grupo ($p < 0.05$).

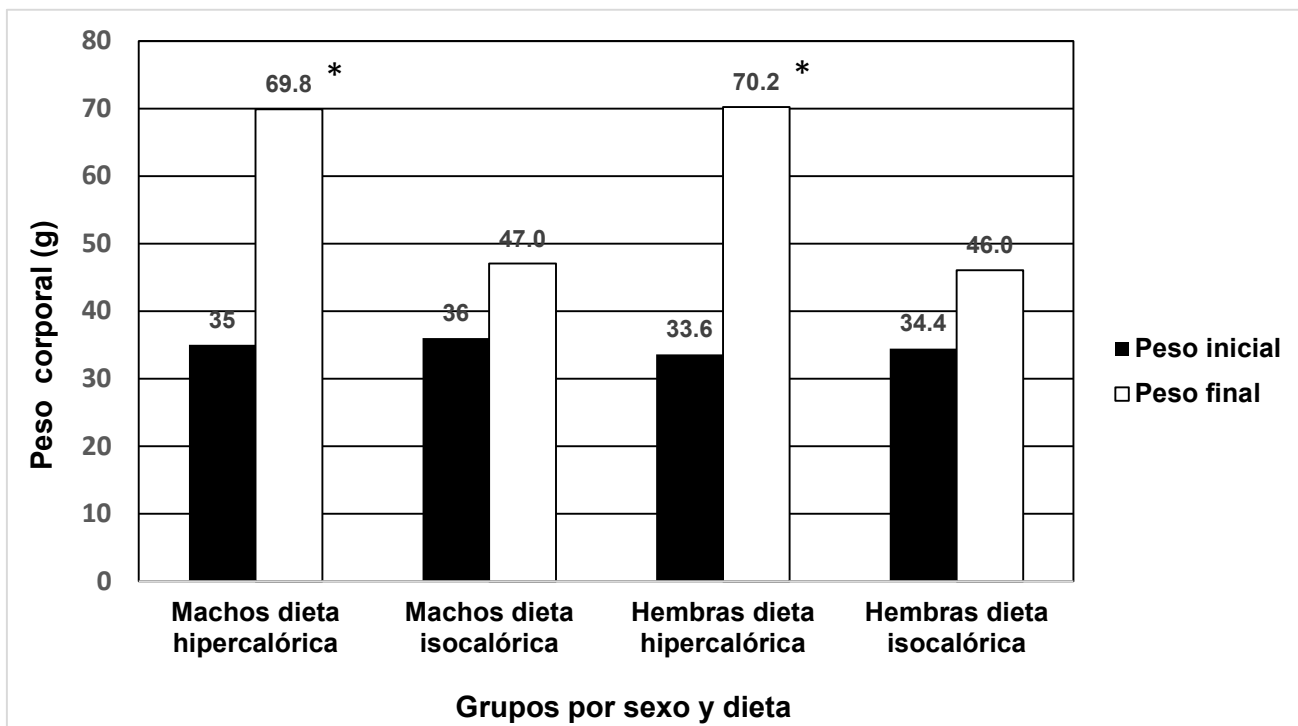
b) Ganancia de peso corporal

En la tabla 8, se detalla el peso inicial promedio, el peso final promedio, la ganancia de peso corporal promedio y la ganancia porcentual de peso de los ratones de los cuatro grupos tratados con las dietas hipercalórica o isocalórica. Al comparar el peso de estos ratones de los distintos grupos, antes de iniciar el tratamiento con la dieta específica, no se encontraron diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$). Sin embargo después de 5 meses de tratamiento con sus respectivas dietas el peso corporal promedio final y la ganancia de peso promedio fueron significativamente mayores ($p < 0.05$) en los grupos que recibieron dieta hipercalórica en comparación con los grupos alimentados con dieta isocalórica.

En los ratones machos que consumieron dieta hipercalórica el peso corporal desde el destete hasta los 5 meses de este periodo se incrementó 33.89 g, mientras que el grupo de las hembras con el consumo del mismo tipo de dieta, el peso corporal aumento 36.61 g. A diferencia de estos animales, el peso corporal de los ratones tratados con dieta isocalórica de ambos sexos sólo aumento aproximadamente 12.0 g durante el mismo lapso de tiempo (gráfica 2).

Después de 5 meses de tratamiento tanto los machos como las hembras alimentados con dieta hipercalórica exhibieron un peso corporal final promedio significativamente superior al de los ratones alimentados con dieta isocalórica ($p < 0.05$). Durante este periodo, el peso corporal final promedio de los machos alimentados con dieta hipercalórica fue 22.86 g más alto que el de los ratones con dieta isocalórica del mismo sexo, mientras que el de las hembras con dieta hipercalórica aumento 24.18 g más con respecto al de las hembras que recibieron alimento isocalórico (gráfica 2).

Por otra parte, después de 5 meses de tratamiento la ganancia de peso corporal promedio fue significativamente más alta ($p < 0.05$) que la mostrada por los ratones que recibieron dieta isocalórica y por lo tanto, la ganancia porcentual de peso corporal prácticamente se duplicó en los ratones alimentados con la dieta hipercalórica con respecto a la observada en los ratones tratados con dieta isocalórica.



Grafica 2.- Se muestran las diferencias de peso después de 5 meses de tratamiento.

Peso inicial: se refiere al peso en gramos al momento del destete antes de iniciar el tratamiento con la dieta específica (dieta hipercalórica o dieta isocalórica).

Peso final: peso en gramos 5 meses después del consumo de las dietas respectivas.

* indica diferencias significativas con respecto al peso inicial ($p < 0.05$).

Tabla 8. Peso inicial, peso final y ganancia de peso corporal de los ratones después de 5 meses de tratamiento con las dietas hipercalórica o isocalórica.

Sexo Tratamiento	Peso Inicial* (g)		Peso final* (g)		Ganancia de peso (g)*		Ganancia porcentual de peso (%)
Machos (n=5) Dieta hipercalórica	\bar{X} 36.0	DE 1.07**	\bar{X} 69.89	DE 3.2**	\bar{X} 33.89	DE 4.3**	48.49**
Machos (n=12) Dieta isocalórica	35.00	1.06	47.03	3.3	12.03	4.3	25.57
Prueba t entre ambos grupos	(t=1.76; p=0.09)		(t=13.11; p=0.00)		(t=9.55; p=0.00)		
Hembras (n=6) Dieta hipercalórica	33.60	0.9**	70.21	4.09**	36.61	5.01**	52.14**
Hembras (n=12) Dieta isocalórica	34.45	0.4	48.03	1.3	11.58	0.99	25.15
Prueba t entre ambos grupos	(t=0.01; p=-2.82)		(t=17.54; p=0.00)		(t=17.15; p=0.00)		

En los grupos tratados con dieta hipercalórica se incluyen sólo los animales que mostraron obesidad, mientras que en los grupos con dieta isocalórica todos los animales.

Peso inicial: se refiere al peso en gramos al momento del destete antes de iniciar el tratamiento con la dieta específica (dieta hipercalórica o dieta isocalórica).

Peso final: peso en gramos 5 meses después del consumo de las dietas respectivas.

Ganancia de peso: se refiere al aumento de peso en gramos durante el periodo comprendido entre el inicio de tratamiento con la dieta específica a partir del destete y al término del tratamiento a los 5 meses. ** Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al grupo con dieta isocalórica.

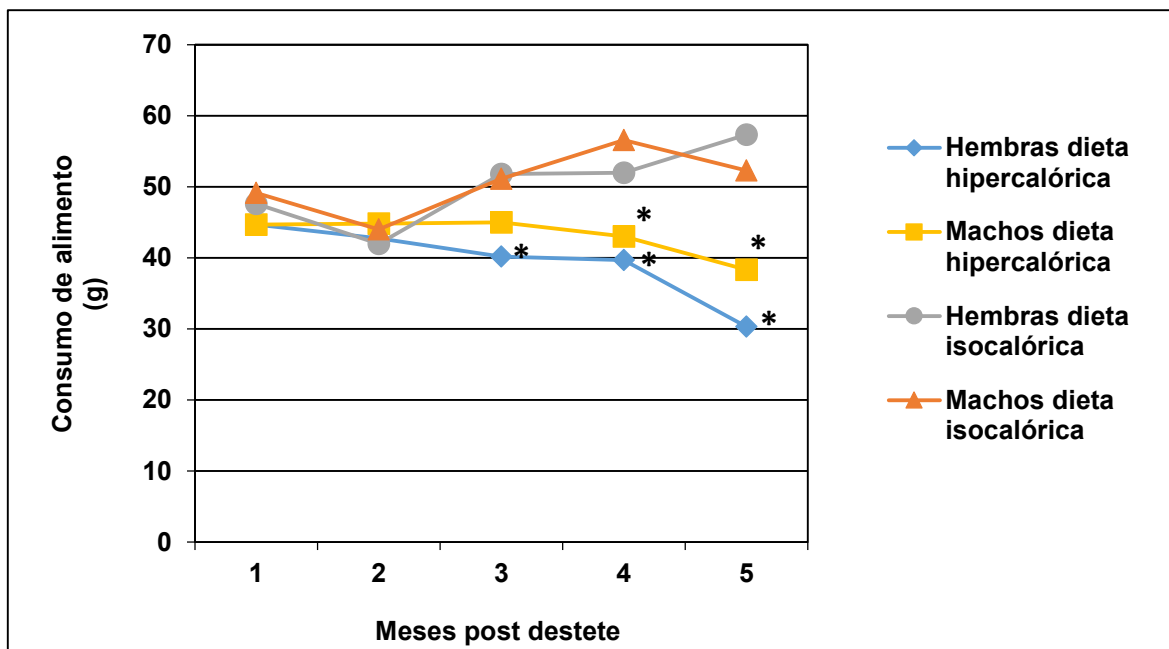
DE: desviación estándar.

c) Prevalencia y grado de desarrollo de la obesidad

Después de 5 meses de tratamiento con la dieta hipercalórica, la incidencia de obesidad en el grupo de machos fue de 41.6% (n=5); 60% de ellos presentaron obesidad severa (n=3) y 40% obesidad leve (n=2), En el caso de las hembras con el mismo régimen de dieta, la incidencia de obesidad fue del 50% (n=6), de las cuales 50% exhibieron obesidad severa (n=3), 16.6% obesidad moderada (n=1) y 33.3% obesidad leve (n=2). Mientras que ninguno de los ratones alimentados con dieta isocalórica desarrollo obesidad después de 5 meses de tratamiento con esta dieta.

d) Consumo de alimento e ingesta calórica

En cuanto al consumo de alimento, en la gráfica 3 se puede advertir que el consumo promedio de alimento en los ratones alimentados con dieta hipercalórica fue significativamente inferior ($p < 0.05$) al de los ratones con dieta isocalórica, sin embargo con relación a estos animales, durante los 5 meses de este estudio la ingesta calórica promedio en los ratones de ambos sexos tratados con dieta hipercalórica (tabla 9) fue significativamente superior ($p < 0.05$).



Gráfica 3. Comparación del consumo de alimento de los ratones de ambos sexos alimentados con las dietas hipercalórica o isocalórica. En los grupos tratados con dieta hipercalórica se incluyen sólo los animales que mostraron obesidad (Machos $n = 5$, Hembras $n = 6$), mientras que en los grupos con dieta isocalórica todos los animales (Machos $n = 12$, Hembras $n = 12$). Los puntos indican el consumo promedio mensual de alimento para cada grupo. * Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al grupo con dieta isocalórica.

Tabla 9. Ingesta calórica durante los 5 meses de estudio en los ratones alimentados con las dietas hipercalórica e isocalórica.

Meses	*	*	*	*	*
Sexo y Tratamiento	1	2	3	4	5
Machos (n=5) Dieta hipercalórica	303.3±24.9**	313.8±33.8**	268.3±96.7**	301±32.5**	268.3±54.7**
Hembras (n=6) Dieta hipercalórica	293.1±60.31**	334.8±71.7**	228.6±65.2**	272.41±48.1**	220±43**
Machos (n=12) Dieta isocalórica	149.9±26	203.2±27.7	200±28.8	227.2±36.2	214.3±34.6
Hembras (n=12) Dieta isocalórica	164±30.6	192.7±10	189±4.1	177.12±13.7	172±45.3

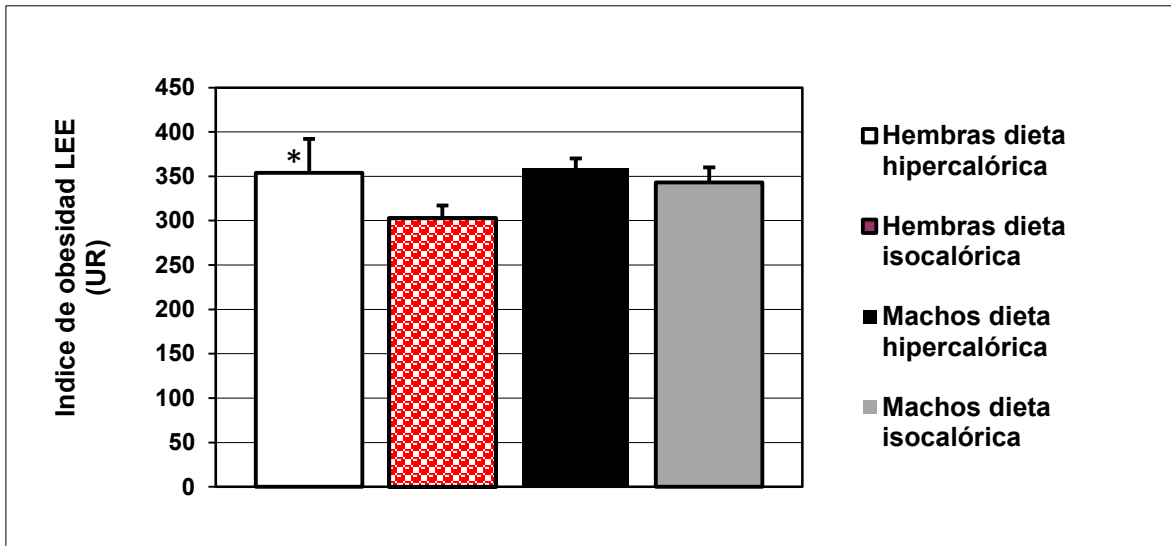
En los grupos tratados con dieta hipercalórica se incluyen sólo los animales que mostraron obesidad, mientras que en los grupos con dieta isocalórica todos los animales.

*Los valores indican la ingesta calórica promedio mensual (Kcal/g de dieta) ± la desviación estándar.

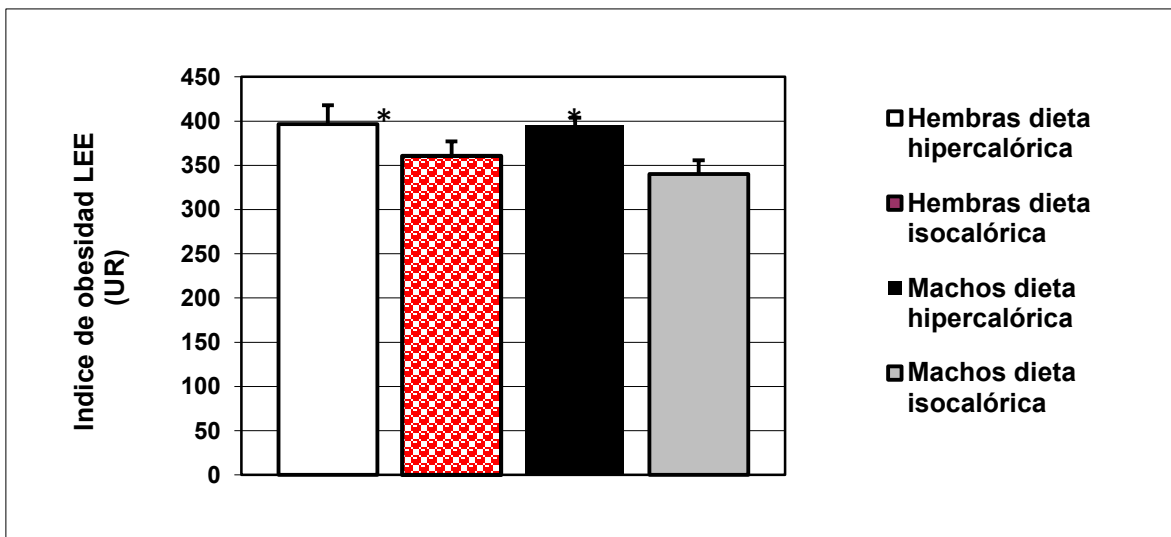
** Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al grupo con dieta isocalórica.

e) Contenido de grasa corporal

En la gráfica 4 se observa que a los 2.5 meses de tratamiento sólo las hembras alimentadas con la dieta hipercalórica presentaron un aumento significativo del índice de obesidad Lee con respecto a los ratones de su mismo sexo que consumieron la dieta isocalórica ($p < 0.05$). Mientras que después de 5 meses de tratamiento tanto los machos como las hembras alimentados con dieta hipercalórica exhibieron un índice de obesidad Lee significativamente más alto ($p < 0.05$) que el presentado por los ratones que fueron alimentados con dieta isocalórica (gráfica 5).



Gráfica 4. Comparación del índice de obesidad Lee de ratones de ambos sexos (2.5 meses) que recibieron la dieta hipercalórica e isocalórica, respectivamente. En los grupos tratados con dieta hipercalórica se incluyen sólo los animales que mostraron obesidad (Machos n= 5, Hembras n= 6), mientras que en los grupos con dieta isocalórica todos los animales tratados (Machos n= 12, Hembras n= 12). UR= unidades relativas.* Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al grupo con dieta isocalórica.



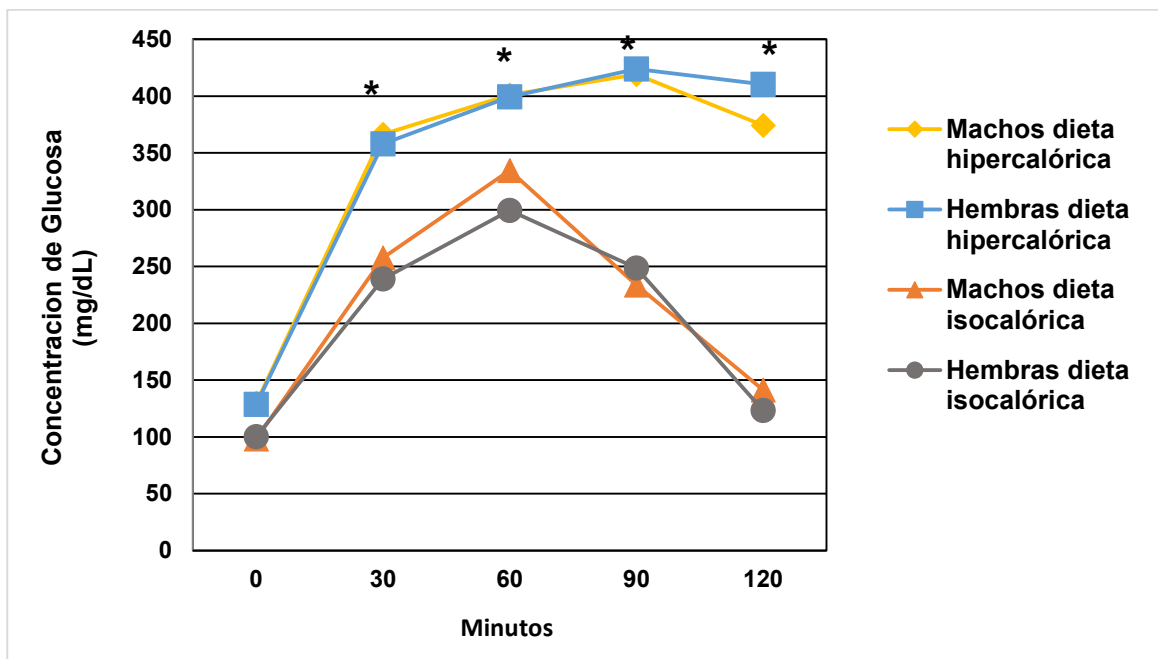
Gráfica 5. Comparación del índice de obesidad Lee de los ratones de ambos sexos (5 meses) que recibieron la dieta hipercalórica e isocalórica respectivamente. En los grupos tratados con dieta hipercalórica se incluyen sólo los animales que mostraron obesidad (Machos n= 5, Hembras n= 6), mientras que en los grupos con dieta isocalórica todos los animales tratados (Machos n= 12, Hembras n= 12). UR= unidades relativas.* Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al grupo con dieta isocalórica.

f) Pruebas de tolerancia a la glucosa.

Las pruebas de tolerancia a la glucosa fueron llevadas a cabo después de los 5 meses de consumo de las dietas. Los resultados de las pruebas se muestran en la gráfica 6. Los niveles sanguíneos de glucosa basal no mostraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los ratones alimentados con dieta hipercalórica y los tratados con la dieta isocalórica. Sin embargo, después de la administración de glucosa los ratones del grupo alimentado con la dieta hipercalórica tuvieron valores de glucosa sanguínea más altos que los animales tratados con dieta isocalórica.

Los machos del grupo alimentado con dieta hipercalórica mostraron un claro deterioro de su tolerancia a la glucosa ya que exhibieron a lo largo de los 120 minutos un aumento significativo de sus niveles de glucosa sanguínea ($p < 0.05$), presentando el promedio más alto a los 90 min ($423 \text{ mg/dl} \pm 11$, ($p < 0.05$)), gráfica 6. Las hembras alimentadas con la misma dieta presentaron a los 120 minutos de las pruebas una hiperglucemia más alta que los machos, pero al igual que estos, durante toda la prueba mostraron niveles de glucemia significativamente más altos ($p < 0.05$) que los observados en los ratones tratados con la dieta isocalórica, gráfica 6.

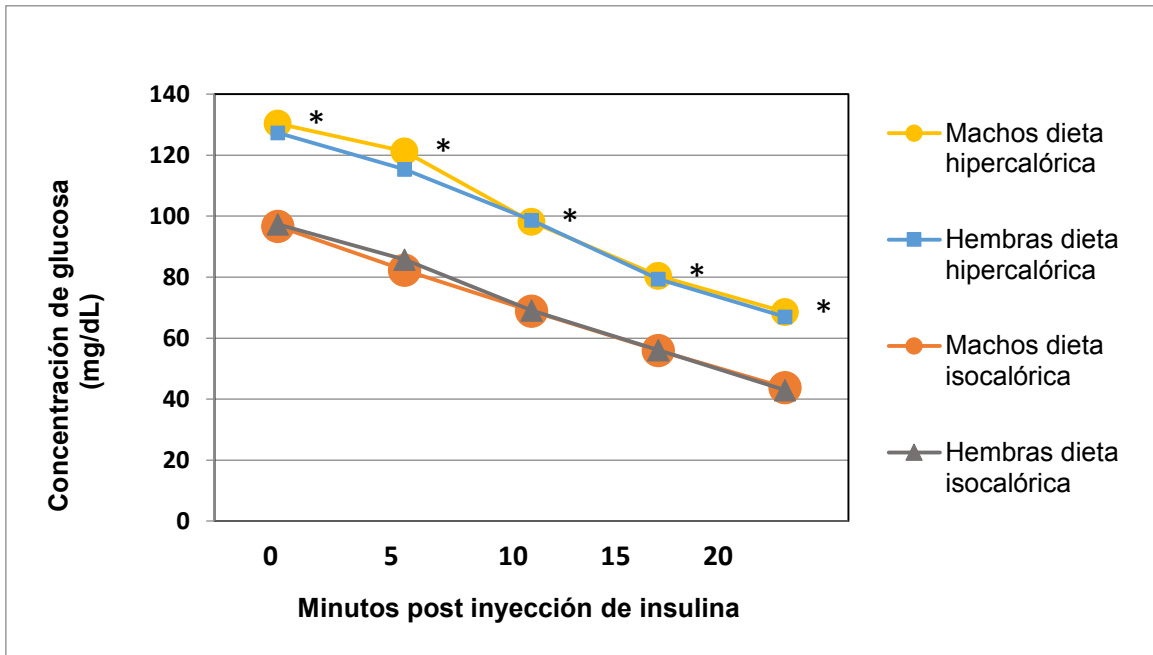
En el caso de los machos alimentados con dieta isocalórica únicamente se observó un ligero incremento de su glucemia de los 30 a los 90 minutos de la prueba de la tolerancia a la glucosa, sin embargo no mostraron un deterioro de su tolerancia, pues al finalizar los 120 minutos mostraron los mismos niveles basales de glucosa sanguínea que al inicio de la prueba, grafica 6. Las hembras tratadas con dieta isocalórica sólo mostraron un incremento ligero de su glucemia, y al igual que los machos alimentados con el mismo régimen de dieta a los 120 minutos de la prueba no exhibieron un deterioro de la tolerancia a la glucosa ya que su nivel de glucemia postprandial fue muy similar al que presentaron en condiciones basales, gráfica 6.



Gráfica 6. Comparación de las curvas de tolerancia a la glucosa de ratones de ambos sexos tratados con las dietas hipercalórica o isocalórica, respectivamente. En los grupos tratados con dieta hipercalórica se incluyen sólo los animales que mostraron obesidad (Machos n= 5, Hembras n= 6), mientras que en los grupos con dieta isocalórica todos los animales tratados (Machos n= 12, Hembras n= 12). Los puntos indican el valor promedio del nivel de glucemia en cada tiempo. * Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al grupo con dieta isocalórica.

g) Tolerancia a la insulina

Se determinó el efecto de la sensibilidad a la insulina después de 5 meses de tratamiento con una dieta hipercalórica o isocalórica. Como puede observarse en la Gráfica 7, después de la administración exógena de insulina los ratones de los grupos alimentados con la dieta hipercalórica de manera consistente a todo lo largo de la prueba de tolerancia a la insulina presentaron valores de glucosa sanguínea significativamente más altos ($p < 0.05$) que los exhibidos por los ratones de los grupos tratados con la dieta isocalórica. Estos hallazgos sugieren que a diferencia de los ratones alimentados con dieta isocalórica, los ratones tratados con la dieta hipercalórica después de 5 meses desarrollaron resistencia sistémica a la acción de la insulina (gráfica 7).



Gráfica 7. Prueba de tolerancia a la insulina. Niveles de glucosa sanguínea en ratones alimentados por 5 meses con las dietas isocalórica (machos n=12 y hembras n=12 /grupo) e hipercalórica (se incluyen sólo los animales que mostraron obesidad, machos n=5, hembras n=6/ grupo). * Indica diferencias significativas (p< 0.05) con respecto al grupo con dieta isocalórica.

h) Concentración sanguínea de triglicéridos (TG) y colesterol total (COT)

En las tablas 10 y 11 se indican los niveles sanguíneos de TG y COT estimados en los ratones alimentados con la dieta hipercalórica o isocalórica. Como puede observarse en las tablas 10 y 11, a los 2.5 y 5 meses de tratamiento los ratones alimentados con la dieta hipercalórica mostraron niveles sanguíneos de TG y COT en las tablas 5 y 6 también se advierte que los ratones tratados con la dieta hipercalórica exhibieron un aumento significativo de los niveles de COT después de 5 meses (p>0.05) con respecto a los animales alimentados con dieta isocalórica.

Tabla 10. Niveles de colesterol total (COT) y triglicéridos (TG) de los ratones alimentados con la dieta hipercalórica e isocalórica a los 2.5 meses, respectivamente.

Sexo Tratamiento	Peso corporal (g)	COT (mg/dL)	TG (mg/dL)
**Machos (n=5) Dieta hipercalórica	53.60	83.9* ± 5.0	568.9*± 4.6
**Hembras (n=6) Dieta hipercalórica	54.24	91.9* ± 3.5	501.8*± 6.6
Machos (n=12) Dieta isocalórica	40.81	69.7 ± 7.0	139.4 ± 4.3
Hembras (n=12) Dieta isocalórica	41.26	58 ± 3.4	144.3 ± 4.0

*Los valores representan el promedio ± DS (p<0.05)

**Representan los animales que mostraron obesidad después de 5 meses de tratamiento con la dieta hipercalórica.

Tabla 11. Niveles de colesterol total (COT) y triglicéridos (TG) de los ratones alimentados con la dieta hipercalórica e isocalórica a los 5 meses, respectivamente.

Sexo Tratamiento	Peso corporal (g)	COT (mg/dL)	TG (mg/dL)
**Machos (n=5) Dieta hipercalórica	69.89	208.67*± 7.3	469.75* ± 6.4
**Hembras (n=6) Dieta hipercalórica	70.21	204.25* ± 6.4	450.33*± 6.8
Machos (n=12) Dieta isocalórica	47.03	81.03 ± 4.4	131.625 ± 3.9
Hembras (n=12) Dieta isocalórica	46.03	93.87 ± 4.2	119.25 ± 5.2

* Los valores representan el promedio ± DS (p<0.05).

**Representan los animales que mostraron obesidad después de 5 meses de tratamiento con la dieta hipercalórica

i) Presión Arterial

La presión diastólica y sistólica fue cuantificada a los 5 meses del tratamiento con las dietas respectivas (hipercalórica o isocalórica). En la tabla 12, puede advertirse que los niveles de presión diastólica y sistólica en los ratones tratados con la dieta hipercalórica fueron más altos que los mostrados por los ratones alimentados con dieta isocalórica. A pesar de estos resultados, los niveles de presión diastólica no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos (p>0.05). Sin embargo, los ratones tratados con la dieta hipercalórica si exhibieron valores de presión sistólica

significativamente más altos ($p < 0.05$) que los estimados en los animales alimentados con dieta isocalórica, tabla 12.

Tabla 12. Valores de Presión Arterial observados a los 5 meses en los ratones alimentados con dieta hipercalórica e isocalórica.

Dieta	Sexo	Peso corporal (g)	Presión Diastólica** (mm/Hg)	Presión Sistólica** (mm/Hg)
Hipercalórica	♂ (n=5)	69.89	70.32 ± 47.13	134.91 ± 36.64*
	♀ (n=6)	70.21	68.85 ± 63.35	174 ± 59.03*
Isocalórica	♂ (n=12)	47.03	59.12 ± 31.17	97.62 ± 25.16
	♀ (n=12)	46.03	49.58 ± 48.24	130.17 ± 35.08

En los grupos tratados con dieta hipercalórica se incluyen sólo los animales que mostraron obesidad, mientras que en los grupos con dieta isocalórica todos los animales.

*Indica diferencias significativas ($p < 0.05$) con respecto al mismo sexo pero alimentado con diferente dieta.

**Los valores son expresados como promedio ± DS.

VIII. DISCUSIÓN

En este estudio, desarrollamos un modelo murino de síndrome metabólico inducido con una dieta hipercalórica. Así mismo, se compararon los efectos que causan una dieta hipercalórica y otra isocalórica sobre el desarrollo de diversas alteraciones características del síndrome metabólico en ratones *Neotomodon alstoni* de ambos sexos.

Los resultados observados permiten establecer que en esta especie es posible inducir mediante una dieta hipercalórica (dieta convencional adicionada con 20% de manteca) el desarrollo temprano de un grupo de patologías similares a las observadas en el síndrome metabólico humano. Aunque en este estudio el tratamiento durante 5 meses con una dieta isocalórica no generó en estos roedores el desarrollo de obesidad o la presencia de otras patologías metabólicas asociadas, en estudios anteriores se ha reportado que 60% de los machos y 50% de las hembras de esta especie pueden exhibir después de 6 a 7 meses el desarrollo de obesidad cuando son alimentados en condiciones de laboratorio con una dieta convencional (63). Asimismo, se ha encontrado que los ratones que exhiben obesidad también pueden desarrollar hipertrigliceridemia, esteatosis hepática,

resistencia a la insulina (RI), intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, hiperleptinemia e hiperfagia (16, 17).

En el presente estudio a semejanza de estos animales, los ratones de los grupos alimentados con dieta hipercalórica a partir del segundo mes y hasta el final de su tratamiento (5 meses) exhibieron un incremento consistente de su peso corporal ($p < 0.05$) y un notorio desarrollo de obesidad. No obstante esta tendencia, sólo algunos ratones alimentados con esta dieta exhibieron esta condición, ya que al término del estudio la incidencia de obesidad en los ratones machos alimentados con la dieta hipercalórica fue sólo de 41.6% ($n=5$), en tanto que las hembras con el mismo régimen de dieta tuvieron una incidencia de obesidad del 50% ($n=6$).

Uno de los argumentos que podría explicar por qué en este estudio el tratamiento con estas dietas no fue capaz de inducir en el 100% de los animales el desarrollo de obesidad, probablemente se asocia con las evidencias que muestran cómo en los roedores -al igual que los humanos- existe heterogeneidad en la susceptibilidad para desarrollar obesidad; debido a ello, algunos animales exhiben fenotipo obeso mientras que otros son resistentes y mantienen un peso normal a pesar de consumir abundantes calorías (64, 65.) Los mecanismos que explican las diferencias en la respuesta a la dieta aún no son claros pero se cree que en los roedores resistentes a la obesidad existen diferencias en la predisposición genética a esta patología y en la capacidad reguladora de los sistemas neurotransmisores y neuromoduladores (66). También es posible que pudieran estar involucrados otros factores, por ejemplo, la reducción de algunas proteínas orexigénicas tales como el neuropeptido Y, la falta de expresión de proteínas adipogénicas, una mayor tasa de β -oxidación (67) o la utilización más eficiente de los nutrientes, etc. (65).

Debido a que en el presente estudio todos los ratones de los grupos alimentados con la dieta isocalórica no desarrollaron ninguna patología asociada a su tratamiento, no fue posible comparar directamente los efectos inducidos por esta dieta con los producidos mediante del tratamiento con la dieta hipercalórica. Sin embargo, investigaciones preliminares en este roedor permiten comparar los efectos específicos inducidos por ambas dietas en estos roedores. En este contexto, Báez, *et al.* (68) determinaron la ganancia de peso corporal, a partir del destete, en

ratones alimentados con una dieta convencional (isocalórica) durante 6 meses, ellos encontraron que los ratones que desarrollarían en un futuro obesidad podían ser distinguidos a partir de la décima semana (2.5 meses). Sin embargo, sólo observaron diferencias significativas en el peso corporal de estos ratones a los 6 meses post destete. Comparando las evidencias de Baez *et al.* (68) con los hallazgos del presente estudio, es posible concluir que a diferencia de la dieta isocalórica, el tratamiento con la dieta hipercalórica ocasionó en los ratones el desarrollo de obesidad a una edad más temprana (2 meses post destete), pues a partir del segundo mes de tratamiento con esta dieta los ratones exhibieron un notorio aumento de su peso ($p < 0.05$) con respecto a los ratones alimentados con la dieta isocalórica (gráfica 1), los cuales a pesar de haber mostrado un mayor consumo de alimento se mantuvieron delgados durante todo el estudio. Además, después de 5 meses de tratamiento con la dieta hipercalórica, tanto el peso corporal como la ganancia de peso se incrementaron significativamente ($p < 0.05$), y el desarrollo de obesidad fue más evidente, dado que la ganancia de peso corporal en estos animales prácticamente se duplicó con respecto a la exhibida por ratones alimentados con la dieta isocalórica (Tabla 3). Por otra parte, después de 5 meses de tratamiento con la dieta hipercalórica, los ratones mostraron una mayor tendencia al desarrollo de obesidad severa, mientras que ninguno de los animales tratados con dieta isocalórica se observó esta patología. En cuanto al consumo de alimento, en la gráfica 2 puede apreciarse que los dos primeros meses de tratamiento constituyeron un periodo de adaptación a ambas dietas. Sin embargo, a partir de los 2 meses y hasta el término de éste (5 meses), los ratones alimentados con la dieta hipercalórica exhibieron un menor consumo de alimento que los ratones alimentados con la dieta isocalórica ($p < 0.05$). A pesar de esta condición, el alto contenido energético de la dieta hipercalórica parece haber facilitado que algunos ratones susceptibles a esta dieta desarrollaran obesidad. Después de 5 meses de tratamiento, pudo observarse que la dieta hipercalórica también originó un decremento de la tasa metabólica, pues como respuesta a la reducción de su gasto energético, éstos ratones a diferencia de los animales tratados con dieta isocalórica presentaron un aumento significativo de su índice de obesidad Lee, esto significa

que los ratones alimentados con la dieta hipercalórica al mismo tiempo exhibieron un incremento de los depósitos corporales de tejido adiposo, gráficas 3 y 4. Carmona (16) y Luna, *et al.*, (69) han señalado que los ratones obesos alimentados con la dieta isocalórica también exhiben un incremento de los depósitos de tejido adiposo subcutáneo y visceral, los machos específicamente presentan diferencias contrastantes en el tamaño de las almohadillas de grasa epididimal, mientras que en las hembras se ha observado un incremento exacerbado del contenido de tejido adiposo en las regiones interescapulares e inguinales (16, 68). Carmona (16) ha señalado que los ratones que desarrollan obesidad severa con una dieta isocalórica también presentan una tendencia a la presencia de hiperfagia. Se piensa que esta patología y la hiperleptinemia observada en estos ratones, posiblemente son causadas por la predisposición que muestran estos ratones al desarrollo de resistencia a la leptina (Rlep). Varios estudios en torno a este aspecto, señalan que tanto en los animales como en los humanos obesos el establecimiento de un estado persistente de Rlep puede originar prácticamente todos desórdenes patológicos asociados al síndrome metabólico (70-73)

Estudios recientes en el ratón *Neotomodon* indican que los niveles plasmáticos totales de grelina (otra proteína gástrica que participa en las vías de regulación de la saciedad) y de su receptor hipotalámico (GHS-R) también se encuentran elevados en los animales que desarrollaron obesidad con una dieta isocalórica (68). Luna *et al.* (69). Por otra parte recientemente se ha determinado que el tejido hipotalámico de las hembras obesas alimentadas con dieta isocalórica presenta un decremento de otras moléculas involucradas en la vía de señalización neuroendocrina que suprime la ingesta de alimento y el gasto energético, particularmente, de la presencia de proopiomelanocortina (POMC) y del factor de transcripción citoplásmico STAT3p (transductor de señal y activador de la transcripción 3); mientras que en los machos obesos se ha observado una presencia reducida de la isoforma larga del receptor hipotalámico de la leptina (LepRb), este último hallazgo ha corroborado de manera contundente la hipótesis de Carmona sobre la existencia de Rlep en estos ratones, pues es conocido que la deficiente

expresión de este receptor constituye uno de los principales factores que conduce al desarrollo de esta patología.

Por otra parte, antes de llevar a cabo las pruebas de tolerancia a la glucosa, los niveles basales de glucosa sanguínea de los ratones alimentados con la dieta hipercalórica fueron muy similares a los observados en los ratones alimentados con la dieta isocalórica, gráfica 5. A pesar de la normoglucemia basal observada con ambas dietas, después de la administración intraperitoneal de glucosa únicamente los ratones alimentados con la dieta hipercalórica exhibieron un estado de hiperglucemia persistente durante su fase postprandial a causa del desarrollo de intolerancia a la glucosa, gráfica 5.

En comparación con la intolerancia observada por Carmona en ratones alimentados con una dieta isocalórica (16), el deterioro de la tolerancia a la glucosa exhibido por los ratones alimentados con la dieta hipercalórica fue mucho más severo. En relación al efecto del consumo de dietas hipercalóricas sobre la tolerancia a la glucosa Lavau *et al.* (74) han señalado que estas dietas decrecen la capacidad intracelular para utilizar glucosa, lo cual se traduce en un deterioro de la respuesta metabólica de la glucosa a la insulina. Kim *et al.* (75) reportaron que las dietas hipercalóricas altas en grasa provocan un decremento del glucotransportador GLUT2 y de la concentración del RNAm de la glucocinasa en las células pancreáticas β , se ha propuesto que durante esta condición puede ocurrir una reducción de la tasa de ingreso de glucosa en estas células, y esto a su vez podría originar un decremento de la secreción de insulina y no hiperinsulinemia. Capito *et al.* (76) han demostrado que en los ratones alimentados con dietas hipercalóricas altas en grasas, la oxidación de la glucosa en las células pancreáticas es más lenta, por lo que se piensa que la secreción de insulina también podría ser más lenta. En otros estudios se ha encontrado que las dietas hipercalóricas altas en grasas disminuyen el consumo de glucosa en los tejidos periféricos, particularmente en el músculo y el tejido adiposo; se ha propuesto que ello puede deberse a que los ácidos grasos saturados de estas dietas originan una reducción de la afinidad de la insulina hacia los tejidos periféricos, predisponiendo a los animales al desarrollo de RI e intolerancia a la glucosa (77-80)

Estas evidencias son consistentes con los hallazgos observados en el presente estudio, ya que los ratones alimentados con la dieta hipercalórica exhibieron un menor decremento de su glucemia después de la administración de insulina, ello debido al desarrollo de RI, gráfica 6. Con relación a este aspecto, Carmona (16) ha señalado que en los ratones alimentados con una dieta isocalórica la RI y la intolerancia a la glucosa son originadas por el establecimiento de un estado de Rlep. En varios estudios se ha señalado que la presencia de esta patología puede inhibir algunos procesos intracelulares de la vía de señalización de la insulina. En animales y humanos obesos se ha observado que esta condición también puede contribuir al desarrollo de un estado de RI (73, 81, 82)

Por otra parte, en el presente estudio también pudo establecerse que los ratones alimentados con la dieta hipercalórica, a diferencia de los que recibieron dieta isocalórica, tempranamente (2.5 meses) y a lo largo de todo su tratamiento mostraron un estado de hipertrigliceridemia, tablas 10 y 11. Al final de su tratamiento, los niveles de TG de los ratones alimentados con la dieta hipercalórica fueron cuatro veces más altos que los de los animales que recibieron la dieta isocalórica, Tabla 11. En cuanto al COT, en las tablas 10 y 11 puede observarse que similarmente tanto a los 2.5 y 5 meses de tratamiento los ratones alimentados con la dieta hipercalórica exhibieron un incremento significativo de su colesterolemia, y prácticamente al final de su tratamiento con la dieta hipercalórica los niveles de COT se duplicaron con respecto a los observados en los animales alimentados con la dieta isocalórica. Es importante señalar que tanto la hipertrigliceridemia como la hipercolesterolemia evidenciadas a los 5 meses de tratamiento con la dieta hipercalórica fueron más severas que las reportadas por Carmona en ratones obesos alimentados con una dieta isocalórica (16). Estos hallazgos sugieren que el tratamiento con la dieta hipercalórica fue capaz de inducir en los animales que desarrollaron obesidad la manifestación temprana de hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, dos alteraciones metabólicas que comúnmente se han asociado con la presencia de dislipidemia en otros modelos animales. Con relación a la etiología de esta patología, es conocido que en condiciones fisiológicas normales la insulina ejerce un efecto antilipolítico sobre el

tejido adiposo (83), además es conocido que ésta también estimula la lipólisis de lipoproteínas de muy baja densidad ricas en TG (VLDL-TG) mediante la activación de la lipoproteína lipasa plasmática (LPLP). En varios estudios se ha establecido que la presencia de RI conduce a la pérdida de la acción antilipolítica de la insulina sobre las células adiposas, y que esta situación además de decrecer la actividad de la LPLP puede conllevar a un aumento de la hidrólisis de los TG almacenados en el tejido adiposo. De tal manera que es posible observar un mayor flujo de ácidos grasos libres (AGL) de los adipocitos hacia el hígado, una mayor síntesis hepática de VLDL-TG y el desarrollo de esteatosis hepática. Se ha establecido que bajo este ambiente celular, ocurre también una reducción del contenido de esteres de colesterol en las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y un mayor incremento de los niveles de COT. Se sabe que este estado de dislipidemia pueden conllevar a cambios estructurales en la membrana celular, al bloqueo de la unión de la insulina a su receptor y a la inhibición de los mecanismos de fosforilación a nivel post receptor; alteraciones que han sido asociadas con el desarrollo de RI (84-90).

Finalmente, en la tabla 12 puede observarse que a pesar de que los ratones alimentados con la dieta hipercalórica exhibieron niveles de presión diastólica y sistólica más elevados que los animales alimentados con la dieta isocalórica, no se encontraron diferencias significativas entre estos grupos ($p>0.05$). Aunque la asociación entre la obesidad y la hipertensión arterial es un hecho frecuente, los mecanismos patogénicos de esta asociación no son claros. Se ha señalado que los humanos obesos y diversos modelos animales con esta patología presentan hiperactividad del Sistema Nervioso Simpático (SNS) a nivel renal y vascular, se piensa que esto puede originar vasoconstricción periférica y un aumento de la reabsorción renal de sodio. En el aumento de la actividad del SNS intervienen: la hiperleptinemia que actúa a nivel del núcleo dorsomedial y ventromedial del hipotálamo, el incremento de AGL dentro del sistema venoso portal provenientes de la lipólisis de los depósitos de grasa visceral. Sustancias como la grelina y las adiponectinas, que participan en la modulación de la presión arterial y del sistema cardiovascular también cumplen sus efectos a través del SNS, hecho corroborado por las bajas concentraciones de dichas sustancias en los pacientes obesos

hipertensos. Por su parte la hiperinsulinemia, presente en obesos con RI, también estimula a nivel central el SNS aumentando la termogénesis, la reabsorción de sodio a nivel renal y la vasoconstricción periférica a nivel vascular, provocando alteración de la natriuresis (concentración de sodio presente en la orina), aumento de secreción de renina y como consecuencia del filtrado glomerular y flujo plasmático renal.

Aunque en los ratones obesos alimentados con una dieta alta en grasas la Rlep no permite que esta hormona logre disminuir el apetito, el peso corporal o aumentar la actividad simpática del tejido adiposo pardo. La leptina preserva su capacidad para inducir la activación simpática renal y aumentar la presión arterial (91). Se ha señalado que la preservación de la respuesta simpática renal a la leptina en presencia de hiperleptinemia podría explicar los efectos adversos de la leptina sobre la presión arterial en la obesidad, a pesar de la resistencia a las acciones metabólicas de la leptina. Se sabe que el riñón juega un papel importante en el control de la función cardiovascular y la presión arterial. Los efectos renales de un mayor flujo simpático renal incluyen el aumento de la reabsorción de sodio en los túbulos renales, lo que conduce a la retención renal de sodio; disminución del flujo sanguíneo renal y la tasa de filtración glomerular; vasoconstricción renal; y el aumento de la liberación de renina, que conduce a la producción de angiotensina II (92). Se conoce que estas alteraciones promueven aumentos de la presión arterial. Aunque el efecto de la leptina sobre la función renal no fue evaluado en el presente estudio, se ha reportado que la leptina produce aumentos comparables en la presión arterial en ratones obesos frente a delgados. El papel fundamental del sistema nervioso simpático en la respuesta de la presión arterial a la leptina se ha demostrado (93). El papel central de los nervios renales en la hipertensión inducida por la obesidad también se ha demostrado (94). Por otra parte, se ha postulado que la RI y la hiperinsulinemia observadas durante la obesidad también podrían explicar la asociación de la obesidad con la hipertensión. Se sabe que la insulina reduce la excreción renal de sodio y a través de ello puede expandir el volumen extracelular y la volemia, aumentando el gasto cardíaco y la resistencia periférica, que son los principales componentes reguladores de la presión arterial. Además, la

hiperinsulinemia aumenta el tono simpático y altera los iones intracelulares (retención de Na^+ y Ca^{2+} y la alcalosis), lo que aumenta la reactividad vascular y la proliferación celular. Todo lo anterior favorece la hipertensión, sin embargo hay argumentos que refutan el papel de la hiperinsulinemia en el desarrollo de la hipertensión.

En resumen, la dieta hipercalórica a diferencia de la dieta isocalórica después de un periodo de 5 meses promovió en los ratones las siguientes alteraciones:

1. Desarrollo de obesidad severa en un periodo de tiempo más corto.
2. Menor consumo de alimento, pero una mayor ingesta calórica debido al alto contenido energético de la dieta.
3. Deterioro más severo de la tolerancia a la glucosa y de la resistencia a la insulina.
4. Un desarrollo más severo de hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia
5. Un incremento no significativo de la presión diastólica y sistólica.

Como pudo observarse, este modelo constituye una valiosa herramienta para que en un futuro puedan llevarse a cabo algunos estudios que permitan en un corto plazo establecer la vinculación de las dietas hipercalóricas altas en grasas con el desarrollo de otros procesos patológicos asociados al SM.

IX CONCLUSIONES

- Con base en los resultados de este estudio se puede concluir que el consumo crónico de una dieta hipercalórica promovió el desarrollo de alteraciones características del síndrome metabólico humano en los ratones *Neotomodon alstoni*.
- Los ratones *Neotomodon alstoni* alimentados con una dieta hipercalórica desarrollaron obesidad a una edad más temprana que los ratones de la misma especie alimentados con una dieta isocalórica.
- Los ratones *Neotomodon alstoni* alimentados con una dieta hipercalórica si desarrollaron alteraciones del síndrome metabólico más severas que los ratones de la misma especie alimentados con una dieta isocalórica.

X. BIBLIOGRAFIA

- 1) Eckel, R. H., Grundy, S. M. and Zimmet, P. Z. (2005). The metabolic syndrome. *Lancet*, 365 (9468): 1415-1428.
- 2) Hansen, B. C. (1999). The metabolic syndrome X. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 912 (1): 1-24.
- 3) Muredach, P., Reilly, M. B., Daniel, J. and Rader, M. D. (2003). The metabolic syndrome. More than the sum of its parts?. *Circulation*, 108 (13):1546-1551.
- 4) Polotsky, V. Y. (2007). Mouse model of the metabolic syndrome: the quest continues. *J. Appl. Physiol.* 102: 2088–2089.
- 5) Panchal, K. S. and Brown, L. (2011). Rodent Models for Metabolic Syndrome Research. *J. Biomed. Biotechnol.* 2011: 1-14.
- 6) Noda, K., Melhorn, M. I., Zandi, S., Frimmel, S., Tayyari, F., Hisatomi, T., Almulki, L., Pronczuk, A., Hayes, K. C. and Hafezi-Moghadam, A. (2010). An animal model of spontaneous metabolic syndrome: Nile grass rat. *The FASEB Journal.* 24: 2443-2453.
- 7) Kennedy, J. A., Ellacott, L. J. K., King, L. V. and Hasty, H. A. (2010). Mouse models of the metabolic syndrome. *Disease Models & Mechanisms.* 3: 156-166.
- 8) Ayala I., Cámara P., Fernández, P. J., Flores I., Cascales, A. I., Gutiérrez, P. C., Valdés, M., Castells, M. T., García, P. B. (2008). Modelos animales experimentales de enfermedad de hígado graso y síndrome metabólico. *An. Vet. (Murcia)* 24: 5-16.
- 9) Panchal, S. K. and Brown, L. (2011). Rodent Models for Metabolic Syndrome Research. *Journal of Biomed. and Biotechnol.* 2011: 1-14.
- 10) Alexandre de Artiñano, A. and Castro M. M. (2009). Experimental rat models to study the metabolic syndrome. *British Journal of Nutrition* 102: 1246–1253.
- 11) Bertram, E. C. and Mark A Hanson, M. A. (2001). Animal models and programming of the metabolic syndrome. *British Medical Bulletin.* 60: 103–121
- 12) Gajda, M. A., Pellizzon, M. A., Ricci, R. M. and Ulman, A. E. (2007). Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rodent Models. *Animal Labnews.* March.
- 13) Lee, L., Alloosh, M., Saxena, R., Van Alstine, W., Watkins, A. B., Klaunig, J. E., Sturek, M. and Chalasani, N. (2009). Nutritional model of steatohepatitis and metabolic syndrome in the Ossabaw miniature swine. *Hepatology.* 50 (1): 56-67.
- 14) JAX® Mice, Clinical & Research Service. Catalog. June 2014-May 2015.

- 15) Carmona C. A. (1994). Morfología macroscópica e histológica de los lipomas espontáneos en el ratón de los volcanes *Neotomodon a. alstoni*), silvestre y nacido en el laboratorio. Tesis Profesional. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM. México.
- 16) Carmona, C. A. (2006). Obesidad, esteatosis hepática y parámetros sanguíneos en el ratón de los volcanes *Neotomodon alstoni alstoni*) mantenido en cautiverio. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias, UNAM. México
- 17) Diego, M. J. (1999). Características histopatológicas del hígado y cuantificación sérica de triglicéridos en el ratón de los volcanes (*Neotomodon a. alstoni*) con lipomas. Tesis profesional. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, UNAM.
- 18) Chávez, T. C. (1990). Diversidad y comportamiento poblacional de una comunidad de roedores de la Sierra del Ajusco. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- 19) Olivera, L. J. (1984). Reproducción de *Neotomodon a. alstoni* (Rodentia: Cricetidae) en condiciones de laboratorio. Tesis de Maestría. U.A.M. Iztapalapa, México).
- 20) Luis, J., A. Carmona, J. Delgado, F. Cervantes, R. Cárdenas. 2000. Parental Behavior of the Volcano Mouse, *Neotomodon alstoni* (Rodentia Muridae), in Captivity. Journal of Mammalogy. 81 (2): 600-605.)
- 21) Alvarez, T. y Mayo-Aceves, E. (1993). Contribución al conocimiento de los hábitos alimenticios del ratón de los volcanes, *Neotomodon alstoni*, (Merriam, 1918). Acta Zool. Mex. (59): 1-51
- 22) Rojas, R., Aguilar, S. C. A., Jimenez, C. A., Shamah, L. T., Rauda, J., Ávila, B. L., Villalpando, S. y Lazcano, P. E. (2010). Metabolic syndrome in Mexican adults. Results from the National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Pública Mex.* 52 suppl. 1: S11-S18.
- 23) Reaven, G. (1988). Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 37: 1595-607.
- 24) Kaplan, N. M. (1989). The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch. Intern. Med.* 149: 1514-20.

- 25) Zavaroni, I., Bonora, E., Pagliara, M., Dall'Aglio, E., Luchetti, L., Buonanno, G., Bonati, A. P., Bergonzani, M., Gnudi, L., Passeri, M. and Reaven, G. (1989). Risk factors for coronary artery disease in healthy persons with hypersulinemia and normal glucose tolerance. *N. Engl. J. Med.* 320: 702-6.
- 26) WHO consultation: Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. WHO/NCD/NCS/99.2; 31-3.
- 27) Facchini, F., Chen, Y-DI., Hollenbeck, C. B., Reaven, G. M. (1991). Relationship between resistance to insulin-mediated glucose uptake, urinary uric acid clearance, and plasma uric acid concentration. *JAMA.* 266: 3008-11.
- 28) Reaven, G. M., Chen, Y-DI., Jeppesen, J., Maheux, P., Krauss, R.M. (1993). Insulin resistance and hyperinsulinemia in individuals with small, dense, low density lipoprotein particles. *J. Clin. Invest.* 92: 141-6.
- 29) Yudkin, J. S. (1999). Abnormalities of coagulation and fibrinolysis in insulin resistance. *Diabetes Care.* 22 Suppl. 3: C25-30.
- 30) Sarafidis, P. A., Nilsson, P. M. (2006). The metabolic syndrome: a glance at its history. *J. Hypertens.* 24: 621-6.
- 31) Groop, L. and Orho-Melander, M. (2001). The dysmetabolic syndrome. *J. Intern. Med.* 250:105-20.
- 32) Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on the detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment panel III). Executive summary. NIH Publication 01. (2001). *JAMA.* 285: 2486-97.
- 33) Fernando Carrasco N.F., Galgani, F. J. E. y Reyes J. M. (2013). Síndrome de RI. Estudio y manejo. *Rev. Med. Clin. Condes.* 24(5) 827-837.
- 34) Alberti, K. G. M. M., Zimmet, P. and Shaw, J. (2006). Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet. Med.* 23: 469-480.
- 35) Cefalu, W.T. (2006). Animal models of type 2 diabetes: clinical presentation and pathophysiological relevance to the human condition. *ILAR Journal* 47:186-198.
- 36) Haas, J. T. and Biddinger, S. B. (2009). Dissecting the role of insulin resistance in the metabolic syndrome. *Curr. Opin. Lipidol.* 20: 206-210.
- 37) Castañeda, L. O. (2002). Adipocitoquinas. *Rev. Endocrinol. y Nut.* 10 (3): 147-150.

- 38) Vendrell, J., Broch, M., Vilarrasa, N., Molina, A., Gómez, J. M., Gutiérrez, C., Simón, I., Soler, J. and Richart, C. (2004). Resistin, Adiponectin, Ghrelin, Leptin, and Proinflammatory Cytokines: Relationships in Obesity. *Obesity Research*. 12: 962-971.
- 39) Palou, A., Serra, F., Bonet, M. L. y Picó, C. Obesity: molecular bases of a multifactorial problem. (2000). *Europ. J. Nutr.* 39 (4): 127-144.
(34)
- 40) Rabe, K., Lehrke, M., Parhofer, K. G. and Broedl, U. C. (2008). Adipokines and insulin resistance. *Mol. Med.* 14: 741-51.
- 41) Deng, Y., Scherer, P. E. (2010). Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1212: E1-E19.
- 42) Hertzler, A. V., Thompson, B. R. and Wiczer, Bernlohr D. A. (2008). Lipid metabolism in adipose tissue (Chapter 10). In: Vance, D. E. and Vance, J. E. editors. : *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. Elsevier.
- 43) Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L. and Ferrante, A. W. Jr. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 112: 1796-808.
- 44) Roden, M., Price, T. B., Perseghin, G., Falk, Petersen, K., Rothman, D. L., Cline, G. W. y Shulman, G. I. (1996). Mechanisms of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. *J. Clin. Invest.* 97: 2859-2865.
- 45) Brunzell, J. D. y Hokanson, J. E. (1999). Dyslipidemia of central obesity and insulin resistance. *Diabetes Care.*, 22 (suppl. 3): C10–C13.
- 46) Isomaa B., Almgren P., Tuomi T., Forsen B., Lahti K., Nissen M., Taskinen M. R., Groop L. 2001. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care.* 24:683-9.
- 47) Ferrannini, E., Buzzigoli, G., Bonadonna, R., Giorico, M. A., Oleggini, M., Graziadei, L., Pedrinelli, R., Brandi, L. y Bevilacqua, S. (1987). Insulin resistance in essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* 317(6): 350-357. (38)
- 48) Koletsky, R. J., Friedman, J. E. and Ernsberger, P. (2001). The obese spontaneously hypertensive rat (SHROB, Koletsky rat): A model of metabolic syndrome X, In: *Animal models of diabetes a primer*, edited by Anders A. F. Sima and Eleazar Shafir, Harwood academic publishers, Australia, p. 143-158

- 49)Antonio, G.C., Luis, E. S. M. y Sandra, E. A. (2011). Relación triglicéridos/colesterol-HDL elevada y RI. *Cir. Cir.* 79: 126-131)
- 50) Reaven, G. M., Lithell, H. y Landsberg, L. (1996). Hypertension and associated metabolic abnormalities: the role of insulin resistance and the sympathoadrenal system. *N. Engl. J. Med.*, 334 (6): 374-381.
- 51)Grundy, S.M., Brewer, H.B. Jr., Cleeman, J.I., Smith, S.C. Jr., C.; L, National Heart L, and Blood Institute; et al. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. (2004). *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24: e13-e8.
- 52)Serrano, R. M., Caro, J. F., Carraro, R. A., GFJ, eds. (2005). The Metabolic Syndrome at the Beginning of the XXI Century. A Genetic and Molecular Approach., Elsevier.
- 53)Grundy, S. M. (2008). Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 28:629-36.
- 54)Grundy, S. M., Cleeman, J. I., Daniels, S. R., Donato, K. A., Eckel, R. H., Franklin, B. A., et al. (2005). Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation.* 112: 2735-52.
- 55)Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. (2002). *Circulation.* 106: 3143-421.
- 56)Alberti, K. G., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. (2009) *Circulation.* 120: 1640-5.
- 57)Lutz, A. T. and Woods, C. S. (2012). Overview of Animal Models of Obesity. *Curr. Protoc. Pharmacol.* 58: 5.61.1-5.61.18.
- 58)Carmona, C. A. (2010). Modelos animales y experimentales de la obesidad. En: Obesidad, un enfoque multidisciplinario. Coordinador: José Antonio Morales González. *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.* Capítulo 26, pp. 367-400.
- 59)Angelova, P. and Boyadjiev, N. (2013). A review on the models of obesity and metabolic syndrome in rats. *Trakia J. Sci.*, 1: 5-12.

- 60) Collier, G. R., De Silva, A., Sanigorki, A., Walder, K., Yamamoto, A. y Zimmet, P. (1977a). Development of obesity and insulin resistance in the Israeli sand rat (*Psammomys obesus*). Does leptin play a role? *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 827: 50-63.
- 61) Anders, A.F. Sima and Eleazar, S. (2005) Animal models of diabetes a primer, Editorial Harwood Academic Published. 364 pp.)
- 62) SAGARPA (2001) Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
- 63) Carmona, A. V., Fuentes, G. C., Carmona, C. A., Aguilar, G. I., Cárdenas, V. R., Miranda, A. M. Obesity alters circadian behavior and metabolism in sex dependent manner in the volcano mouse *Neotomodon alstoni*. *Physiol Behav* 012;105(3):727–33.
- 64) Tulipano, G., Vergini, A. V., Soldi, D., Muller, E. E. and Cochi, D. (2004). Characterization of the resistance to the anorectic and endocrine effects of leptin in obesity-prone and obesity-resistant fed a high-fat diet. *J. Endocrinol.* 183:289-98) (Archer, Z. A., Rayner, D. V., Rozman, J., Klingspor, M., and Marcer, J. G. (2003). Normal distribution of body weight gain in male Sprague-Dawley rats fed high fat diet. *Exp Anim.* 52:99-107.)
- 65) Archer, Z. A., Rayner, D. V., Rozman, J., Klingspor, M., and Marcer, J. G. (2003). Normal distribution of body weight gain in male Sprague-Dawley rats fed high fat diet. *Exp. Anim.* 52:99-107
- 66) Otukonyong, E. E., Dube, M. G., Torto, R., Kalra, P. S. and Kalra, S. P. (2005). High-fat diet-induced ultradian leptin and insulin hypersecretion are absent in obesity-resistant rats. *Obes Res.* 13: 991-9
- 67) Jang, I., Hwang, D., Lee, J., Chae, K., Kim, Y., Kang, T, et (2003). Physiological difference between dietary obesity-susceptible and obesity-resistant Sprague Dawley rats in response to moderate high fat diet. *Exp Anim.* 52: 99-107
- 68) Báez, R. A., Luna, M. D., Carmona, C. A., Cárdenas, V. R., Díaz, M. M., Carmona, A. V., Fuentes, G. C., Miranda, A. Manuel. (2014). Hypothalamic expression of anorexigenic and orexigenic hormone receptors in obese females *Neotomodon alstoni*: Effect of fasting. *Nutritional Neuroscience* 17 (1): 31-36
- 69) Luna, M. D., Pérez, M. M., Carmona, C. A., Díaz, M. M., Miranda, A. M. (2015). *Neotomodon alstoni* mice present sex differences between lean and obese in daily hypothalamic leptin signalling. *Nutritional Neuroscience* (en prensa)

- 70)Koopmans, S. J., Frolich, M., Gribnau, E. H., Westendorp, R. G. y DeFronzo, R. A. (1998). Effect of hyperinsulinemia on plasma leptin concentrations and food intake in rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 274: E998-E1001. Ç
- 71)Bray, A. G. (1977). The Zuker-fatty rat: a review. *Federation Proc.*, 36: 148-153
- 72)Saladin, R., De Vos, P., Guerre-Millo, M., Leturque, A., Girard, J., Staels, B. and Auwerx, J. (1995). Transient increase in obese gene expression after food intake or insulin administration. *Nature*, 377: 527-529.
- 73) Bjorbaek C., Elmquist, J. K., Frantz, J. D., Shoelson, S. E. y Flier, J. S. (1998). Identification of SOCS-3 as a potential mediator of central leptin resistance. *Mol. Cell*, 1: 619-625).
- 74)Lavau M, Fried SK, Susini C, Freychet P. Mechanism of insulin resistance in adipocytes of rats fed a high-fat diet. *J Lipid Res* 1979; 20: 8–16
- 75)Kim Y, Iwashita S, Tamura T, Tokuyama K, Suzuki M. Effect of high-fat diet on the gene expression of pancreatic GLUT2 and glucokinase in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 208: 1092–1098
- 76)Capito, K., Hansen, S. E., Hedekov, C. J., Islin, H. y Thams, P. (1992). Fat-induced changes in mouse pancreatic islet insulin secretion, insulin biosynthesis and glucose metabolism. *Acta Diabetol.* 28: 193–198
- 77)Kraegen EW, James DE, Bruleigh KM, Chisholm DJ. In vivo insulin resistance in individual peripheral tissues of the high fat fed rat: assessment by euglycaemic clamp plus deoxyglucose administration. *Diabetologia* 1986; 29: 192–198
- 78)Van Amelsvoort JM, Van der Beek A, Stam JJ. Effects of the type of dietary fatty acid on the insulin receptor function in rats epididymal fat cells. *Ann Nutr Metab* 1986; 30: 273–280.
- 79)Matsuo, T., Iwashita, S., Komuro, M., y Suzuki, M. (1999). Effectsof high-fat diet intake on glucose uptake in central and peripheral tissues of non-obese rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol* (Tokyo). 45:667-73).
- 80)Huang, B. W., Chiang, M. T., Yao, H. T. and Chiang, W. (2004). The effect of high-fat and high-fructose diets on glucose tolerance and plasma lipid and leptin levels in rats. *Diabetes, Obesity and Metabolism.* (6): 120-126.
- 81)Cohen, B., Novick, D. y Rubinstein, M. (1996). Modulation of insulin activities by leptin. *Science*, 274 (5290): 1185-1190

- 82) Flier, J. S. (1998). Clinical review 94: What's in a name? In search of leptin's physiologic role. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83: 1407-1413).
- 83) Jensen, M. D., Caruso, M., Heiling, V. y Miles, J. M. (1991). Insulin regulation of lipolysis in nondiabetic and IDDM subjects. *Diabetes.* 38 (12): 1595-1601
- 84) Kissebah, A. H., Alfari, S., Adams, P. W. y Wynn, V. (1976). Role of insulin resistance in adipose tissue and liver in the pathogenesis of endogenous hypertriglyceridemia in man. *Diabetologia*, 12: 563.
- 85) Fukuda, N., Azain, M. y Ontko, J. A. (1982). Altered hepatic metabolism of free fatty acids underlying hypersecretion of very low density lipoproteins in the genetically obese Zucker rat. *J. Biol. Chem.*, 257: 14066-14073.
- 86) Chang, S., Graham, B., Yakubu, F., Lin, D., Peters, J. C., y Hill, J. O. (1990). Metabolic differences between obesity-prone and obesity-resistant rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 259: R1103-R1110.
- 87) Chen, Y. D., Coulston, A. M., Zhou, M. Y., Hollenbeck, C. B. y Reaven, G. M. (1995). Why do low-fat high-carbohydrate diets accentuate postprandial lipemia in patients with NIDDM?. *Diabetes Care*, 18 (1): 10-16.
- 88) Steiner, G., Morita, S. y Vranic, M. (1980). Resistance to insulin, but not to glucagon in lean human hypertriglyceridemics. *Diabetes*, 29 (11): 919-905.
- 89) McKane, W. R., Stevens, A. B., Woods, R., Andrews, W. J., Henry, R.W. y Bell, P. M. (1990). The assessment of hepatic and peripheral insulin sensitivity in hypertriglyceridemia. *Metabolism*, 39 (12): 1240-1245.
- 90) Aarsland, A., Chinkes, D. y Wolfe, R. R. (1996). Contributions of *de novo* synthesis of fatty acids to total VLDL-triglyceride secretion during prolonged hyperglycemia/hyperinsulinemia in normal man. *J. Clin. Invest.* 98 (9): 2008-2017.
- 91) Rahmouni, K., Morgan, A. D., Morgan, M. G., Mark, L. A. y Haynes, G. M. (2005). Role of Selective Leptin Resistance in Diet-Induced Obesity Hypertension. *Diabetes.* 54: 2012-2018).
- 92) DiBona, G. F. (2004). The sympathetic nervous system and hypertension: recent developments. *Hypertension.* 43: 147-150
- 93) Carlyle, M., Jones, O. B., Kuo, J. J. y Hall, J. E. (2002). Chronic cardiovascular and renal actions of leptin: role of adrenergic activity. *Hypertension.* 39: 496-501
- 94) Kassab, S., Kato, T., Wilkins, F. C., Chen, R., y Hall, J. E. (1995). Granger JP: Renal denervation attenuates the sodium retention and hypertension associated with obesity. *Hypertension.* 25: 893-897