



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Veracruz

“EFECTO DEL CONSUMO DE ACEITE ESTERCÚLICO Y ACEITE DE ALGA SOBRE EL TEJIDO ADIPOSO Y TEJIDO HEPÁTICO DE RATAS WISTAR CON SÍNDROME METABÓLICO”

TESIS

Que para obtener el grado de:

Maestra en Ciencias en Ingeniería Bioquímica

Presenta:

Q.C. Karla Lizzeth Morales Cano

ASESORES:

Dra. Rosa María Oliart Ros

Dra. María Guadalupe Sánchez Otero

Dr. Francisco Abelardo Cen Pacheco

REVISORES:

Dr. Víctor José Robles Olvera

Dr. Gerardo Valerio Alfaro

H. VERACRUZ, VER. MÉXICO.

Junio 2018

Tú fuiste la mayor luz que ilumino mi vida, quien me educo con amor y cariño pero también con firmeza, la parte más humana que hay en mi es gracias a ti, Dios te ha llamado, y dueles en el alma, pero tengo la certeza que desde el cielo cada logro como siempre es tuyo, te amo con toda mi alma, mami Aida.

AGRADECIMIENTOS

Tu eres mi guía mi fortaleza, siempre he dicho que cuando la RAZÓN no encuentra explicación, es ahí donde inicia la FE, y yo creo en ti y sé que todo lo que hago es gracias a ti; **DIOS**.

Ustedes han sido mi luz, quienes siempre me han acompañado, a pesar de las adversidades no me han dejado sola, este trabajo y este logro es para y gracias a ustedes, por siempre creer en que lo que me propongo lo puedo conseguir, los amo **Felisa Cano Suarez y Carlos Morales Elvira**.

Tu eres siempre mi cabeza favorita, este objetivo ha sido inspirado por ti, quiero que sepas que mientras te forjes una meta no abra obstáculo que no puedas superar, por tu amor y locuras gracias **hermano**.

A mi familia, cada uno de ustedes tienen una personalidad única, que le da su toque especial a mi vida, de cada uno de ustedes aprendo demasiado, por sus charlas y su apoyo muchas gracias.

A mis asesores, guías profesionales y académicos y de vida **Dra. Rosa María Oliart Ros**; es usted una mujer integra, inteligente, paciente y exitosa, muchas gracias por todo lo que usted y yo sabemos me ha apoyado, por sus consejos y compartir sus experiencias, por su confianza muchas gracias;

Dra. María Guadalupe Sánchez Otero, a quien considero una gran mujer y madre, inteligente y fuerte, pero también muy maternal, muchas gracias por su apoyo y su consejo, por llamarme la atención en el momento preciso, sus palabras fueron las más acertadas en cada charla y aun cuando usted no lo supiera, siempre me hacían falta, muchas gracias y espero haber podido ganar su confianza;

Dr. Francisco Abelardo Cen Pacheco, usted sabe el cariño y el respeto que le tengo por darme su confianza y regañarme tantas veces gracias, por las charlas y consejos, y por su amistad le agradezco siempre, considero que usted es una gran persona, es inteligente un poco desesperado pero constante. Gracias a los tres por todo, son los mejores asesores que pude tener.

Al **Consejo Nacional De Ciencia Y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo económico recibido durante mis estudios de maestría, haciendo posible la realización de este trabajo.

A **UNIDA ITVER**, por la oportunidades que me brindaron, y por recibirme con las mejores posibilidades a un gran postgrado de calidad como lo es la Maestría En Ciencias En Ingeniería Bioquímica.

A mis amigos **Mibs, Karlita, Luchi, Diego**, por todos los momentos pocos o muchos que compartimos, son personas únicas y maravillosas, gracias por todo su cariño y confianza, los considero mi familia pequeña, muchas gracias chicos por todo.

De ustedes aprendí demasiado, son personalidades tan diferentes pero muy valiosas, por permitirme compartir y acercarme a ustedes muchas gracias, amigos y compañeros del **laboratorio de bioquímica** (Grachi, Ale, Pao, Abril, Jonha, Brau, Sis, Cris) son la onda.

A **mis compañeros de generación** muchas gracias por compartir conmigo poquito o mucho de lo que son, mucho éxito en cada pasito que den, y gracias por las asesorías cuando fue necesario.

A ti, por tu amor y paciencia, por apoyarme y decirme que todo estaría bien cuando más difícil eran las cosas, por estar a mi lado cuando lo necesite y por compartir tu vida conmigo, por tomar decisiones pensando en ambos y por acompañarme en cada ocurrencia, mi *Anam cara*, **Lázaro Castillo**.

Mi luz hermosa, la máxima expresión de amor y de valentía, gracias por llegar en el momento preciso, eres desde ya el brillo de mis ojos, hare todo lo posible por que tu humanidad resplandezca siempre y seas tan feliz y exitoso, vienes a enseñarme como es que se aprende, te voy a construir un castillo de bambú, lo que nunca tuve yo quiero que lo tengas tú.

RESUMEN

Morales Cano, Karla Lizzeth. M. en C. en Ingeniería Bioquímica. Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Veracruz. Junio del 2018. Efecto del consumo de aceite estercúlico y aceite de alga sobre el tejido adiposo y tejido hepático de ratas wistar con síndrome metabólico. Asesores: Dra. Rosa María Oliart Ros, Dra. María Guadalupe Sánchez Otero y Dr. Francisco Abelardo Cen Pacheco.

El síndrome metabólico (SMet) es un conjunto de factores fisiológicos, bioquímicos y clínicos interconectados que conllevan a un mayor riesgo de desarrollar DM tipo II y enfermedad cardiovascular. Es considerado un problema de salud pública a nivel mundial. La $\Delta 9$ -desaturasa es una enzima central del metabolismo de los lípidos. Cambios en su actividad se asocian con el desarrollo de enfermedades: se han observado incrementos en la obesidad, diabetes, cáncer, y su inhibición ha mejorado los perfiles metabólicos en modelos animales. Por lo tanto, se ha convertido en un blanco terapéutico para el tratamiento del SMet. El aceite estercúlico (SO) contiene una alta concentración de ácido estercúlico, que es inhibidor de la actividad de la $\Delta 9$ -desaturasa, lo que sugiere su utilidad en el tratamiento del SMet. Por otra parte, se ha demostrado el efecto benéfico de la ingesta de ácidos grasos polinsaturados omega 3 (AGPI $\omega 3$) en los diferentes padecimientos asociados con el SMet.

El propósito de este trabajo fue evaluar el efecto de la administración simultánea de SO y aceite de alga rico en AGPI $\omega 3$ (Aa) sobre los parámetros bioquímicos y las características histológicas del tejido adiposo y hepático en un modelo murino de SMet inducido por sacarosa. Los aceites se administraron por vía intragástrica durante ocho semanas: mezcla maíz-canola como testigo, SO con mezcla maíz-canola, aceite de alga, y SO con aceite de alga.

Tanto la inhibición de la $\Delta 9$ -desaturasa (SO) como la ingesta de AGPI $\omega 3$ (Aa), por separado, tuvieron efectos benéficos en el perfil lipídico, hepático y renal, así como en las características histológicas del tejido adiposo y hepático en ratas con síndrome metabólico inducido por sacarosa. La ingesta de los AGPI $\omega 3$ aunada a la inhibición de la $\Delta 9$ -desaturasa potenció el efecto benéfico de los aceites en la disminución de niveles circulantes de triglicéridos y en la disminución de la hipertrofia de los adipocitos.

ABSTRACT

Morales Cano, Karla Lizzeth. M. en C. en Ingeniería Bioquímica. Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Veracruz. Junio del 2018. Effects of sterculic and algal oil consumption on the adipose and hepatic tissue in a metabolic syndrome rat model. Advisors: Dra. Rosa María Oliart Ros, Dra. María Guadalupe Sánchez Otero and Dr. Francisco Abelardo Cen Pacheco.

The metabolic syndrome is a genetically complex disorder that underlie a wide range of metabolic disorders including visceral adiposity, dysglycemia, hypertension, dyslipidemia, hyperinsulinemia, insulin resistance, amongst others. These are considered as risk factors for the development of diabetes and cardiovascular diseases which are major causes of morbidity and mortality in the world. The $\Delta 9$ -desaturase is a central lipogenic enzyme that plays a significant role in regulating the fatty acid composition of tissues. Changes in its expression, activity and substrate/product ratios are associated with various diseases. It has been observed that its activity is increased in obesity and metabolic syndrome, diabetes, atherosclerosis, cancer and viral infection, and it has been reported that the genetic deletion or pharmacologic inhibition of the enzyme improves most of the aspects of the metabolic syndrome in rodent models. In consequence, the $\Delta 9$ -desaturase is considered as a potential target for metabolic syndrome treatment. Sterculic acid, a cyclopropene fatty acid contained in the seeds' oil of trees that belong to the order Malvales, inhibits the activity of $\Delta 9$ -desaturase in vivo and in vitro. On the other side, the beneficial effects of $\omega 3$ -PUFA on metabolic syndrome have been greatly demonstrated in recent years. The purpose of this work was to analyze the effect of the simultaneous administration of sterculic oil and a $\omega 3$ -PUFA rich algal oil, on the serum biochemical parameters and the histological characteristics of adipose and hepatic tissues, in a metabolic syndrome rat model. The following oils were administered for eight weeks: a corn-canola oil mixture as control group, sterculic oil and corn-canola oil mixture, algal oil, and sterculic oil and algal oil. The desaturation index confirmed the inhibition of $\Delta 9$ -desaturase activity by sterculic oil, and the presence of a high activity of the enzyme in the rats with the induced metabolic syndrome. Inhibition of $\Delta 9$ -desaturase activity by sterculic oil, as well as the algal oil administration, resulted in improvements in lipidic, hepatic and renal profiles, as well as on the histological characteristics of adipose and hepatic tissues. Algal oil administration increased the beneficial effects found with sterculic oil administration on serum tryglycerides and adipocytes hypertrophy.

Contenido

1. INTRODUCCIÓN.....	13
2. ANTECEDENTES.....	14
2.1 SÍNDROME METABÓLICO.....	14
2.2.1. Resistencia a la insulina	16
2.2.2 La obesidad en relación a la prevalencia de resistencia a la insulina	18
2.2.3 Resistencia a la insulina en el tejido adiposo	19
2.2.4 Vínculo inflamación-obesidad	19
2.2.4.1 Marcadores de inflamación en SMet.....	20
2.2.4.2 Citocinas pro- inflamatorias y tejido adiposo	20
2.2.5 Infiltración de macrófagos al tejido adiposo	22
2.2.6 Adiponectina	23
2.2.8 Factor de necrosis tumoral alfa	24
2.2.9 Interleucina 6.....	24
2.2.10 Proteína C reactiva	24
2.3 METABOLISMO EN TEJIDO ADIPOSO.....	24
2.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	25
2.4.1 Dislipidemia	25
2.4.2 Ateroesclerosis	26
2.4.3 Microalbuminuria.....	26
2.4.4 Diabetes mellitus tipo II	26
2.4.5 Hipertensión arterial	27
2.4.6 Estado protrombotico	27
2.4.7 Estado proinflamatorio	27
2.4.8 Hígado graso no alcohólico.....	27
2.5 ESTRATEGIA TERAPÉUTICA	28
2.5.1 Modificación de la dieta en pacientes con SMet.....	29
2.6 ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS.....	31
2.6.1 Regulación del metabolismo en el tejido adiposo	32
2.7 <i>Sterculia apetala</i>.....	33
2.7.1 Acido estercúlico.....	35
2.7.2 Estearoil CoA desaturasa (SCD o $\Delta 9$ desaturasa).....	35
2.8 ESTUDIOS PREVIOS DEL EFECTO DEL ACEITE ESTERCÚLICO EN SÍNDROME METABÓLICO.....	37

2.9 ACEITE DE ALGA	38
2.10 ESTUDIOS PREVIOS DEL EFECTO DEL ACEITE DE ALGA EN SÍNDROME METABÓLICO.....	38
2.11 MODELOS INDUCIDOS EXPERIMENTALMENTE	39
2.11.1 Modelo inducido con sacarosa	39
3. OBJETIVOS	42
Objetivo general.....	42
Objetivos específicos	42
4. METODOLOGÍA.....	43
4.1 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.....	43
4.2 MODELO INDUCIDO EXPERIMENTALMENTE	43
4.3 ADMINISTRACIÓN DE LA DIETA EXPERIMENTAL	45
4.3.1 Aceites administrados	45
4.4 EXTRACCIÓN DE ACEITE ESTERCÚLICO	47
4.5 DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS.....	48
4.6 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE ALTERACIÓN METABÓLICA.....	48
4.6.1 Peso	48
4.6.2 Determinaciones séricas	48
4.6.2.1 Determinación de glucosa plasmática	49
4.6.2.2 Determinación de Colesterol.....	49
4.6.2.3 Determinación de Triglicéridos.....	50
4.6.2.4 Determinación de ácido úrico	51
4.6.2.5 Determinación de creatinina.....	51
4.6.2.6 Determinación de urea	51
4.6.2.7 Determinación de albúmina	52
4.7 ANÁLISIS EN ÓRGANOS.....	52
4.7.1 Obtención de membranas celulares del tejido adiposo y hepático.....	52
4.7.3 Análisis histológico	54
4.7.4 Análisis estadístico.....	56
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	57
5.1 Obtención del modelo de síndrome metabólico.....	57
5.2 Administración de los aceites por vía intragástrica.....	58
5.2 Análisis histológico de tejido adiposo y tejido hepático.....	59

5.3 Determinaciones de metabolitos séricos después de la administración de los aceites.	65
6. CONCLUSIONES	72
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

Índice de tablas

TABLA 2.1 Criterios definidos para el diagnóstico del síndrome metabólico.	13
TABLA 2.2 Clasificación y funciones de las citocinas	19
TABLA 2.3 Tratamiento de los componentes individuales del SMet	27
TABLA 2.4 Taxonomía de <i>Sterculia apetala</i> .	32
TABLA 4.1 Composición de ácidos grasos de los aceites administrados a los grupos experimentales.	44
TABLA 4.2 Protocolos de deshidratación, aclaramiento e impregnación de tejido hepático y tejido adiposo.	53
TABLA 5.1 Índice de desaturación promedio del tejido adiposo abdominal y hepático	58
TABLA 5.2 Peso promedio del tejido adiposo epididimal, abdominal y hepático de las ratas	59
TABLA 5.3 Resumen de resultados	70

Índice de figuras

FIGURA 2.1 Mecanismo molecular de resistencia a la insulina.	16
FIGURA 2.2 Proceso de inflamación en el tejido adiposo.	20
FIGURA 2.3. Infiltración de macrófagos en tejido adiposo.	21
FIGURA 2.4 Biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados.	30
FIGURA 2.5 Fruto, hojas y semillas de <i>Sterculia apetala</i> .	32
FIGURA 2.6 s) Estructura del ácido estercúlico y b) ácido malválico	33
FIGURA 2.7 Función de la en el metabolismo lipídico.	34
FIGURA 4.1 Metodología para la obtención de un modelo de síndrome metabólico, inducido con sacarosa al 30% en agua para beber.	42
FIGURA 4.2 Evaluación del estado metabólico después de la inducción del SMet	42
FIGURA 4.3 Metodología para evaluar el efecto de las dietas experimentales sobre murinos con SMet	43
FIGURA 4.4 Extracción del aceite de la semilla de <i>Sterculia apetala</i> .	55
FIGURA 5.1 Niveles séricos de triglicéridos, colesterol y glucosa, y peso corporal.	56
FIGURA 5.2 Peso corporal promedio de las ratas de los grupos experimentales,	57
FIGURA 5.3 Circunferencia abdominal promedio de las ratas de los grupos experimentales	60
FIGURA 5.5 Volumen promedio de los adipocitos del tejido adiposo abdominal	60
FIGURA 5.6 Cortes histológicos del tejido hepático de los grupos experimentales	61
FIGURA 5.7 Volumen promedio de los hepatocitos de los grupos experimentales	62
FIGURA 5.8 Porcentaje de esteatosis hepática de los grupos experimentales,	62
FIGURA 5.9 Niveles séricos promedio de triglicéridos de los grupos	63
FIGURA 5.10 Niveles séricos promedio de colesterol de los grupos experimentales	64
FIGURA 5.11 Niveles séricos promedio de creatinina de los grupos	65
FIGURA 5.12 Niveles séricos promedio de urea de los grupos experimentales	66
FIGURA 5.13 Niveles séricos promedio de ácido úrico de los grupos experimentales	67
FIGURA 5.14 Niveles séricos promedio de albúmina de los grupos experimentales	68
FIGURA 5.15 Niveles séricos promedio de fosfatasa alcalina de los grupos experimentales	69

1. INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico (SMet) se define como el conjunto de alteraciones simultáneas relacionadas con el riesgo cardiovascular, tales como obesidad, hipertensión arterial, hiperglucemia, nivel reducido de c-HDL e hipertrigliceridemia.

La obesidad es una de las manifestaciones del SMet que se define como el exceso de acumulación de grasa en el cuerpo, es considerada una enfermedad crónica, multifactorial, resultado de la interacción entre carga genética y ambiente. Se caracteriza por la acumulación excesiva de tejido adiposo (TA) en el cual, en personas sanas, se secretan altas concentraciones de adipoquinas y hormonas anti-inflamatorias, tales como la adiponectina y la IL-10. Por el contrario, en sujetos obesos el TA muestra un perfil más proinflamatorio con elevada secreción de adipoquinas, tales como IL-6, IL-1 β , proteína quimio atrayente de monocitos 1 (MCP-1, por sus siglas en inglés), y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α por sus siglas en inglés). Este desequilibrio entre la secreción de adipoquinas pro vs anti-inflamatorias es una característica de la inflamación asociada a la obesidad, caracterizada por la infiltración de macrófagos en el TA, promoviendo la inflamación sistémica.

La Δ 9-desaturasa es una enzima clave del metabolismo lipídico, ya que cataliza la introducción del doble enlace entre los carbonos 9 y 10 de los ácidos grasos, por lo que es responsable de la síntesis de los ácidos grasos monoinsaturados, principalmente del ácido oleico (C18:1) y palmítico (C16:1), que son componentes mayoritarios de los lípidos en el tejido adiposo. La elevación de la actividad de la enzima Δ 9-desaturasa se ha asociado con el desarrollo de la obesidad y el SMet en los seres humanos y animales de experimentación, mientras que ratones transgénicos que carecen de ella están protegidos de desarrollar obesidad inducida por la resistencia a la insulina (RI). El aceite estercúlico (SO) contiene cantidades importantes de ácido estercúlico (55%, aprox), que es un inhibidor natural de la Δ 9-desaturasa. En años recientes, se ha sugerido a la inhibición de esta enzima como un blanco terapéutico para el tratamiento de la obesidad y/o SMet.

El propósito de este trabajo fue evaluar el efecto de la administración de aceite estercúlico sobre el tejido adiposo en ratas Wistar con síndrome metabólico. Para ello, se evaluó el efecto de la administración de aceite estercúlico sobre los parámetros del síndrome metabólico y sobre las características histológicas y la composición lipídica del tejido adiposo.

2. ANTECEDENTES

2.1 SÍNDROME METABÓLICO

Desde que se inició la transición epidemiológica y a partir de los primeros hallazgos sobre los estudios de población de Framingham, ha sido de sumo interés estudiar y determinar los factores de riesgo de diversas enfermedades, principalmente las de origen cardiovascular. Desde un principio se evidenció la existencia de múltiples factores de riesgo que podían coexistir en individuos con enfermedades cardiovasculares (Cupples *et al.*, 1987).

En 1761 se publicó «*De Sedibus et Causis Morborum per Anatomen Indagatis*», en el cual se describen las bases anatómicas de muchas enfermedades, escrito donde Giovanni Battista Morgani identificó la asociación entre obesidad intra-abdominal, metabolismo anormal y aterosclerosis extensiva (Meisinger *et al.*, 2006).

Por otro lado, en 1923 Kylin describió la presencia de hipertensión, hiperglicemia y gota, dando lugar a la primera correlación de dichos factores en relación al síndrome metabólico (SMET). En 1947, Vague informó que la obesidad se asocia con ciertas anomalías metabólicas. En 1963, Reaven *et al.* describieron en pacientes no diabéticos con infarto de miocardio previo, mayores glicemias basales, tolerancia a la glucosa alterada e hipertrigliceridemia comparados con controles (Reaven *et al.*, 1963). Así mismo, se ha demostrado que un defecto común en estas anomalías es la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia compensatoria (Olefsky *et al.*, 1974).

En 1988, Gerard Reaven introdujo el concepto de síndrome X, en el cual diversos factores de riesgo como dislipidemia, hipertensión e hiperglicemia coexisten, reconociéndolo como factor de riesgo múltiple para la enfermedad cardiovascular. Posteriormente, Reaven y otros postularon que la resistencia de insulina es la base del síndrome X (por tanto el síndrome también se ha denominado como síndrome de resistencia de insulina) (Reaven *et al.*, 1988).

En 1998 la OMS (Organización Mundial de la Salud) asignó el término “síndrome metabólico” como entidad diagnóstica con criterios definidos Alberti *et al.*, 1998). El ATP III (Programa Nacional de Educación sobre Colesterol) en el 2001 usó dicho término en su informe, lo que la convirtió en la definición más utilizada (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)).

El síndrome metabólico se define como el conjunto simultáneo de alteraciones relacionadas con el riesgo cardiovascular, tales como obesidad, hipertensión arterial, hiperglucemia, nivel reducido de c-HDL e hipertrigliceridemia. La presencia de tres o más de estos componentes confirma el diagnóstico de SMet, y asocia el número de estos directamente con la gravedad del daño y el riesgo de mortalidad cardiovascular (Ho *et al.*, 2008). El SMet aumenta en 1,5 más veces en hombres y 2 veces en mujeres el riesgo de desarrollar un infarto coronario y cerebral (McNeill *et al.*, 2005). Se considera un estado patogénico intermedio en el que se incrementa la mortalidad

por enfermedades cardiovasculares (ECV), y es la causa número uno de defunción en México (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2012) y en el mundo (World Health Organization, 2012). El SMet se asocia con otras comorbilidades incluyendo la enfermedad de hígado graso no alcohólico, el estado pro-trombótico, estado pro-inflamatorio, y trastornos de la reproducción. Desde la primera definición oficial del síndrome metabólico por parte de la OMS, se han propuesto una serie de definiciones alternativas (World Health Organization, 1999). Así mismo, se han propuesto diferentes criterios de evaluación por la FID (Federación Internacional de Diabetes) tales como el que, adicional a la obesidad central, los pacientes presenten al menos dos de los siguientes cuatro factores: aumento de los triglicéridos (TG), reducción del colesterol HDL, aumento de la presión arterial o aumento del nivel de glucosa en ayunas, estos criterios son instrumentos de diagnóstico universalmente aceptado para abordar las necesidades clínicas y de investigación y evitan la necesidad de mediciones que sólo pueden estar disponibles en entornos de investigación. El uso de dichos factores para el diagnóstico de SMet establecidos por la FID hacen posible estimar la prevalencia del síndrome metabólico y hacer comparaciones entre las naciones (Tabla 2.1).

TABLA 2.1 Criterios definidos para el diagnóstico del síndrome metabólico.

Medida Clínica	OMS (1999)	PNEC (2001) ATP III	FID (2005)
RI	Disminución de la sensibilidad a insulina	-----	-----
	Radio de la cintura a la cadera:	Radio de la cintura a la cadera:	
Peso Corporal	CC>0.90 (H) CC>0.85 (M) IMC> 30 kg/m ²	CC≥102 cm (H) CC≥88 cm (M)	Incremento CC (depende de la población)
Lípidos	TG≥150 mg/Dl HDL-c <35 mg/Dl (H) HDL-c <39 mg/Dl (M)	TG≥150 mg/Dl HDL-c <40 mg/Dl (H) HDL-c <50 mg/Dl (M)	TG≥150 mg/Dl HDL-c <40 mg/Dl (H) HDL-c <50 mg/Dl (M)
Presión arterial	≥140/90 mm Hg	≥130/85 mm Hg	≥130 mm Hg (S) ≥85 mm Hg (D)
Glucosa	≥100mg/Dl	≥110 mg/Dl	≥100mg/Dl

IGT: Intolerancia a la glucosa; IFG: Alteración de glucosa en ayunas; DM2: Diabetes Mellitus tipo 2; WC: Circunferencia de la cintura; IMC: Índice de masa corporal; HDL-c: Colesterol HDL.

2.2 FISIOPATOLOGÍA DEL SÍNDROME METABÓLICO

El propósito principal de definir el SMet es identificar un agrupamiento de características que se asocian con un mayor riesgo de enfermedad cardiovascular. De forma complementaria, el término síndrome implica una etiología

causal específica para este padecimiento por ejemplo, la adiposidad abdominal y resistencia a la insulina parecen estar en el centro de la fisiopatología y sus componentes individuales.

Por tanto, continuación se describe cómo la adiposidad abdominal y la resistencia a la insulina pueden contribuir a la fisiopatología del síndrome.

2.2.1. Resistencia a la insulina

La insulina es una molécula pleiotrópica que tiene efectos sobre la absorción de aminoácidos, síntesis de proteínas, proteólisis, lipólisis de triglicéridos del tejido adiposo, la secreción de triglicéridos, captación de glucosa en el músculo y el tejido adiposo, la síntesis de glucógeno muscular y hepático, y la producción de glucosa endógena. Los individuos se definen generalmente como sensibles a la insulina o resistencia a la insulina por su respuesta a una glucosa oral, intra venosa o estímulo de insulina (Pacini, 2006). La RI es un fenómeno fisiopatológico caracterizado por la alteración acción biológica de la insulina en los diferentes tejidos, lo que eventualmente provoca una hiperinsulinemia compensatoria. Cuando el organismo no puede mantener esta respuesta de hiperinsulinemia, se desarrolla la Diabetes *mellitus* (DMII). Pero en el caso contrario, si la hiperinsulinemia se sostiene, se desarrollan una serie de alteraciones, principalmente de tipo metabólico, que aumentan el riesgo de sufrir ECV. La mayor parte de la población con SMet tienen evidencia de RI, pero su relación en los diferentes criterios existentes no está unificada, en algunos es directa, en otros indirecta y en otros no es obligatoria. La medición de insulina en ayunas, es el método más usado para demostrar resistencia a la insulina, y se correlaciona con la captación de glucosa corporal total, pero puede alterarse por la variabilidad individual en la secreción de insulina. Otras medidas son índices derivados de la insulina en ayunas y la glucosa, como la evaluación del modelo homeostático (HOMA, del inglés *Homeostatic Model AssesSMetent*), el Índice cuantitativo de control de sensibilidad a la insulina (QUICHI, del inglés *Quantitative Insulin Sensitivity Check Index*) y el Índice de Sensibilidad a la Insulina (ISI, del inglés *Insulin Sensitivity Index*). Se utilizan otros indicadores indirectos de RI como la glicemia basal y la glicemia post-carga de glucosa (Katz *et al.*, 2000).

Las características que incluye el fenotipo sensible a la insulina son un peso corporal normal¹⁶ sin obesidad abdominal o visceral^{17, 18}, favorecido por ser personas moderadamente activas, y el consumo de una dieta baja en grasas saturadas (Bravata *et al.*, 2004; Despres, 1993; Carey *et al.*, 1996; Mayer-Davis *et al.*, 1998). Los individuos resistentes a la insulina demuestran alteración del metabolismo de la glucosa o con una respuesta anormal a niveles elevados de glucosa en ayunas y la hiperglucemia, reducciones de acción de la insulina después de la administración intravenosa, reducciones en la supresión de la producción de glucosa endógena. En general, las características de este fenotipo incluyen a personas con sobrepeso u obesidad (St Onge *et al.*, 2004), sedentarias, consumidores de dieta alta en grasas totales o saturadas (Vassby *et al.*, 2001), con baja sensibilidad a la insulina; además, la capacidad del páncreas para secretar insulina en respuesta a una cantidad de glucosa refleja la resistencia a la insulina a nivel de las células beta.

Bergman propuso, una medida cuantitativa que describe la relación entre células beta y la sensibilidad a la insulina (Bergman, 1989) definida como índice de disposición (Bergman *et al.*, 2002). En individuos con metabolismo normal los cambios en la sensibilidad a la insulina están acompañados de alteraciones compensatorias en la respuesta de las células beta a la glucosa. En la práctica, el índice de disposición se define como el producto del índice de sensibilidad a la insulina y la función de células beta tal como se mide por la respuesta aguda de insulina a la glucosa.

La insulina es una proteína que se une a su receptor en la parte externa de la membrana celular y lo activa. La porción citoplasmática (interna) del receptor de la insulina activado recluta a una proteína adaptadora llamada IRS (Insulin Receptor Substrate, por sus siglas en inglés). Cuando la insulina se une a su receptor, éste cambia su configuración, se autofosforila y también fosforila al IRS. Este proceso se lleva a cabo de manera exclusiva en una tirosina. Inmediatamente el IRS fosforilado activa varias funciones tales como el aumento de la síntesis de glucógeno (vía activación de la glucógeno sintetasa), el aumento del transporte de glucosa al interior celular (vía translocación de la proteína transportadora GLUT4 a la membrana celular), la disminución de la lipólisis en el tejido adiposo periférico (vía inactivación de la lipasa sensible a las hormonas (HSL, hormone sensitive lipase por sus siglas en inglés), entre otras (Frigolet *et al.*, 2008; Saltiel, 2001; Matheny y Adamo, 2009).

En el caso de que el receptor de la insulina y el IRS no se fosforilen en la tirosina, sino de manera atípica en un aminoácido serina, se produce la inactivación del receptor con el consecuente bloqueo de la cascada de señales enzimáticas. El resultado es resistencia a la acción de la insulina. El receptor de la insulina también está sometido a otros controles como la ubiquinación. La resistencia a la insulina es un fenómeno complejo en el que se involucran diversas moléculas y cascadas dentro de la célula (FIGURA 2.1).

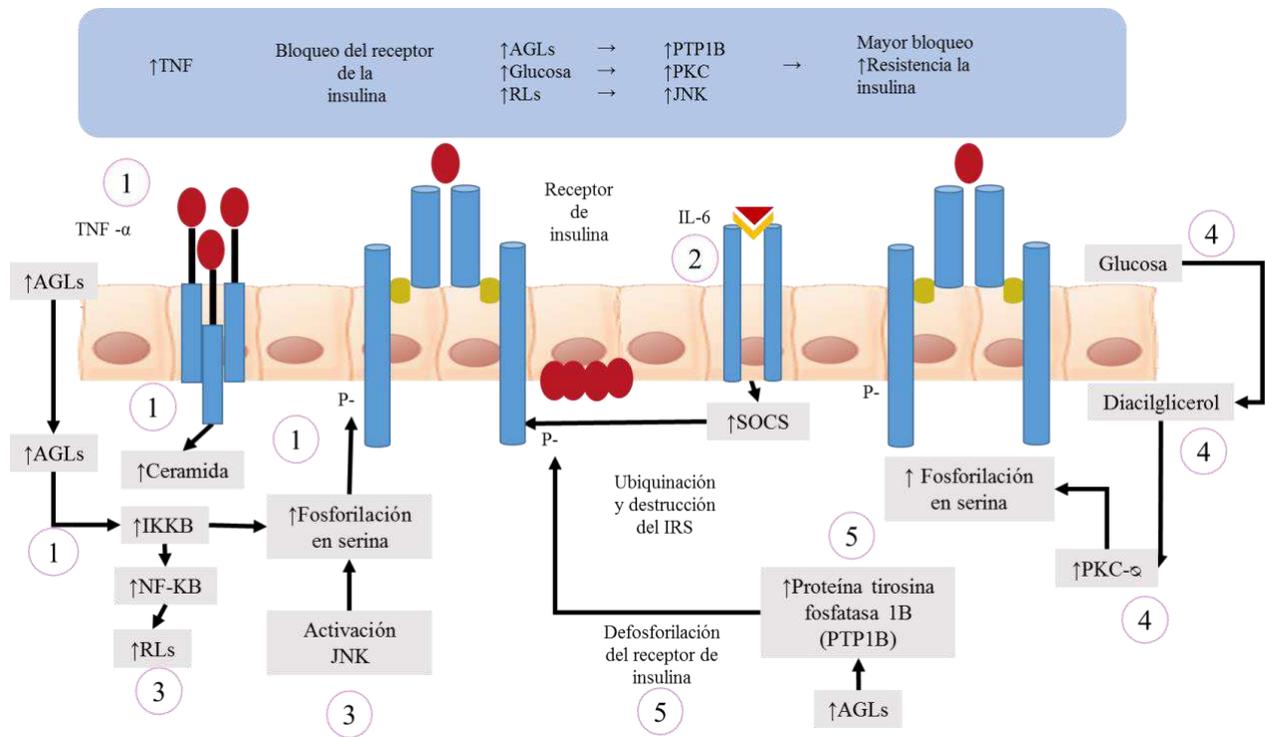


FIGURA 2.1 Mecanismo molecular de resistencia a la insulina.

2.2.2 La obesidad en relación a la prevalencia de resistencia a la insulina.

La relación de la obesidad con la RI dificulta la valoración del aporte de cada uno de estos fenómenos con el SMet. Desde el punto de vista epidemiológico, la creciente epidemia de obesidad se ha conectado con el aumento en las ECV y el SMet (Carr *et al.*, 2004).

La obesidad se puede definir como un aumento en el porcentaje de grasa corporal total, por encima de un valor estándar, que refleja a nivel celular un aumento en el número y/o tamaño de los adipocitos. Esta situación es por lo general producto de un desequilibrio entre las calorías que se ingieren y las que se gastan, se involucran una serie de mecanismos biológicos (genéticos, hormonales, inmunológicos, etc.), psicológicos y sociales, que la hacen un fenómeno complejo. Existe evidencia que asocia la obesidad central o superior al riesgo cardiovascular y metabólico, por su alta relación con grasa perivisceral. La grasa intra-abdominal o visceral es un factor de riesgo independiente de RI, intolerancia a la glucosa, dislipidemia e hipertensión, todos criterios del SMET (Weickert *et al.*, 2006). El aumento mundial de la prevalencia de la obesidad en las últimas décadas es probablemente una de las causas de la creciente incidencia de la resistencia a la insulina (Ginsberg, 2000), las enfermedades cardiovasculares y la DM II (Lancet *et al.*, 2008). Hoy en día la obesidad es considerado un problema de salud pública y si bien no todas las personas con sobrepeso u obesas son metabólicamente poco saludables, la mayoría son resistentes a la insulina (Stefan *et al.*, 2008; Eckel *et al.*, 2005). En particular, la combinación de la obesidad, la inactividad física y el consumo de una dieta aterogénica conduce a la resistencia a la insulina (Grundy *et al.*,

2005). En este estado de resistencia a la insulina, la normo-glucemia se mantiene inicialmente por un aumento modesto de células beta y/o un aumento de la capacidad secretora de insulina (Weir y Bonner-Weir, 2007).

Actualmente la obesidad se considera un proceso pro-inflamatorio debido a que se asocia con incremento de marcadores de inflamación, como la proteína C reactiva y la interleucina 6 (IL-6), factores pro-inflamatorios regulados y producidos por el tejido adiposo, que actúa como un órgano secretor y endocrino de gran complejidad. El patrón de secreción de las adipoquinas cambia con la obesidad disminuyendo las que ofrecen efectos protectores, como la adiponectina, y aumentando aquellas con acciones pro-inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral α (TNF α), la resistina y la IL6, que favorecen el desarrollo del proceso aterosclerótico, que determinan disfunción endotelial que puede ser el vínculo entre obesidad y síndrome metabólico.

2.2.3 Resistencia a la insulina en el tejido adiposo

El tejido adiposo es el depósito de energía primaria en el cuerpo y un importante órgano endocrino que juega un papel en la homeostasis de la energía, la alimentación, la sensibilidad a la insulina, y la inflamación. Existen diferencias en la funcionalidad del tejido adiposo de acuerdo a la diferenciación de los adipocitos que componen los diferentes depósitos de grasa en el cuerpo. Las poblaciones de adipocitos diferenciados se generan a partir de una serie de procesos durante y después del desarrollo, que incluyen la producción de adipocitos a partir de diferentes capas de células germinales, la formación de poblaciones de pre-adipocitos distintas de progenitores mesenquimales de origen mesodérmico, y la producción de los adipocitos a partir de células troncales hematopoyéticas de médula ósea (Bays *et al.*, 2008).

El exceso de tejido adiposo está vinculado a la diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares (hipertensión y aterosclerosis), pulmonares, trastornos hepáticos y renales y ciertas formas de cáncer. Los aumentos en el tejido adiposo visceral (IVA) son especialmente los relacionados con estas enfermedades que, en el almacenamiento de grasa en el tejido adiposo subcutáneo (SAT) está vinculado a un menor riesgo de estas condiciones (Guh *et al.*, 2009).

2.2.4 Vínculo inflamación-obesidad

Ya se ha establecido que la obesidad se considera un proceso pro-inflamatorio debido a que se asocia con incremento de moléculas pro-inflamatorias reguladas y producidos por el tejido adiposo. Los niveles de secreción de adipoquinas cambia con la obesidad disminuyendo las que ofrecen efectos protectores (adiponectina) y aumentan aquellas con acciones pro-inflamatorias (TNF α , la resistina y la IL6), favoreciendo el desarrollo del proceso aterosclerótico, los cuales determinan la disfunción endotelial que puede ser el vínculo entre obesidad y síndrome metabólico (Wajchenberg *et al.* 2002).

La inflamación constituye una respuesta fisiológica del organismo que tiene como fin el restablecimiento de la homeostasis, en general se considera que dicha respuesta es beneficiosa ya que proporciona protección controlada

contra las infecciones. Sin embargo, en la obesidad se genera frecuentemente un grado de inflamación, denominada inflamación crónica de baja intensidad a la que no se le ha encontrado un efecto positivo (Esposito y Giugliano, 2006). Se considera que las patologías que cursan con inflamación crónica de baja intensidad, y que no se producen como consecuencia de infecciones o daños tisulares, podrían deberse a eventos relacionados con el ambiente y las condiciones de vida, tales como una dieta con alto contenido calórico, el sedentarismo, la exposición a determinados compuestos tóxicos y el envejecimiento (Hotamisligil, 2005). Esta respuesta aparentemente induce respuesta inflamatoria secundaria que incluye aumento en la síntesis de reactantes de fase aguda por el hígado, como proteína C reactiva (CRP) y fibrinógeno que viajan al sitio de la lesión arterial e incrementan la respuesta inflamatoria la elevación de los niveles de CRP pueden predecir la ocurrencia de eventos tales como el desarrollo de enfermedad cardiovascular coronaria y de diabetes mellitus tipo 2 (Acosta, 2012). Por otra parte, los marcadores de inflamación sistémica son factores de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo 2 y sus complicaciones macrovasculares. El tejido adiposo, el hígado, el músculo y el páncreas son en sí mismos sitios de la inflamación en presencia de la obesidad. Una infiltración de macrófagos y otras células inmunes se observa en estos tejidos asociadas a un cambio de la población de células de un antiinflamatorio a un perfil pro-inflamatoria (Medzhitov, 2008).

2.2.4.1 Marcadores de inflamación en SMet

En pacientes obesos y con DM II se encuentran niveles elevados en el recuento de leucocitos y los niveles plasmáticos de los factores de coagulación (fibrinógeno e inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1)), proteína C-reativa (CRP) y la proteína amiloide sérica A (Aas), citocinas pro-inflamatorias (TNF α), interleucina (IL-1) e (IL-6)), y quimiocinas; estos niveles son reducidos cuando los pacientes tiene un estilo de vida más intensa que tiene como consecuencia la pérdida de peso (Badillo y Flake, 2006). Estos marcadores pro-inflamatorias también se correlacionaron positivamente con la resistencia a la insulina y las características del síndrome metabólico, en la mayoría de los casos, independientemente del grado de la obesidad (Pickup *et al*, 1997; Belalcazar *et al*, 2013).

2.2.4.2 Citocinas pro- inflamatorias y tejido adiposo

Las citocinas son los principales reguladores del metabolismo del tejido adiposo, son un grupo de proteínas y glucoproteínas producidas por diversas células y que actúan fundamentalmente como reguladores de las respuestas inmunitaria e inflamatoria. Cada citosina tiene múltiple participación en la hematopoyesis, inmunidad, enfermedades infecciosas, oncogénesis, homeostasia, reparación tisular y desarrollo y proliferación celular (Phillips y Perry, 2013).

Las citosinas se han subdividido en grupos de acuerdo a las funciones comunes que desempeñan, tal como se muestra en la Tabla 2.2 (Diaconu, 2010).

TABLA 2.2 Clasificación y funciones de las citocinas

Citocinas	Función
INF- γ ,	Inmunorreguladoras
IL-1, IL-6, TNF α , IFN	Proinflamatorias
TGF- β , IL-10, IL-11, IFN β	Antiinflamatorias
Factor estimulador de colonias	Crecimiento y diferenciación

Las citocinas de interés por la relación con el tejido adiposo son las pro-inflamatorias, las cuales son mediadoras de la inmunidad natural y que son secretadas por fagocitos mononucleares, tales como el Interferón tipo 1 (IFN-1), el Factor de necrosis tumoral α (TNF), la Interleucina-1 (IL-1), Interleucina-6 (IL-6), y las Quimiocinas.

Estas proteínas se originan en el tejido adiposo a partir de adipocitos, pre-adipocitos, y otros tipos de células. Estudios de expresión de RNAm indican que los adipocitos pueden sintetizar tanto el factor de necrosis tumoral y varias interleucinas, en particular IL-1b e IL-6. Otros productos de adipocitos con acciones inmunológicas incluyen los productos del sistema del complemento y factor estimulante de colonias de macrófagos. Las concentraciones circulantes de TNF- α e IL-6 se elevan ligeramente de la obesidad. La mayoría de los estudios sugieren un aumento de TNF- α la expresión del RNAm o la secreción *in vitro* en tejido adiposo de sujetos obesos. Los factores que regulan la liberación de citocinas en el tejido adiposo incluyen estímulos inflamatorios, tales como lipopolisacárido, así como el tamaño de las células de grasa *per se* y catecolaminas (Robb, 2007).

La importancia del sistema inmune en el balance de energía de todo el cuerpo proporciona una base para la relación estrecha entre citocinas y el tejido adiposo. El TNF- α es un potente regulador autocrino y paracrino en tejido adiposo. Otras citocinas, en particular la leptina, tienen acciones menores en el tejido adiposo. Estas citocinas actúan como hormonas, informando el estado del tejido adiposo a través del cuerpo (FIGURA 2.2).

Los ácidos grasos de las membranas celulares tienen papeles destacados en la regulación de la respuesta inflamatoria y en la señalización celular. El cambio del perfil lipídico de los adipocitos en las personas obesas podría generar lípidos mediadores de la inflamación, haciendo a los adipocitos más vulnerables y propensos a la respuesta inflamatoria.

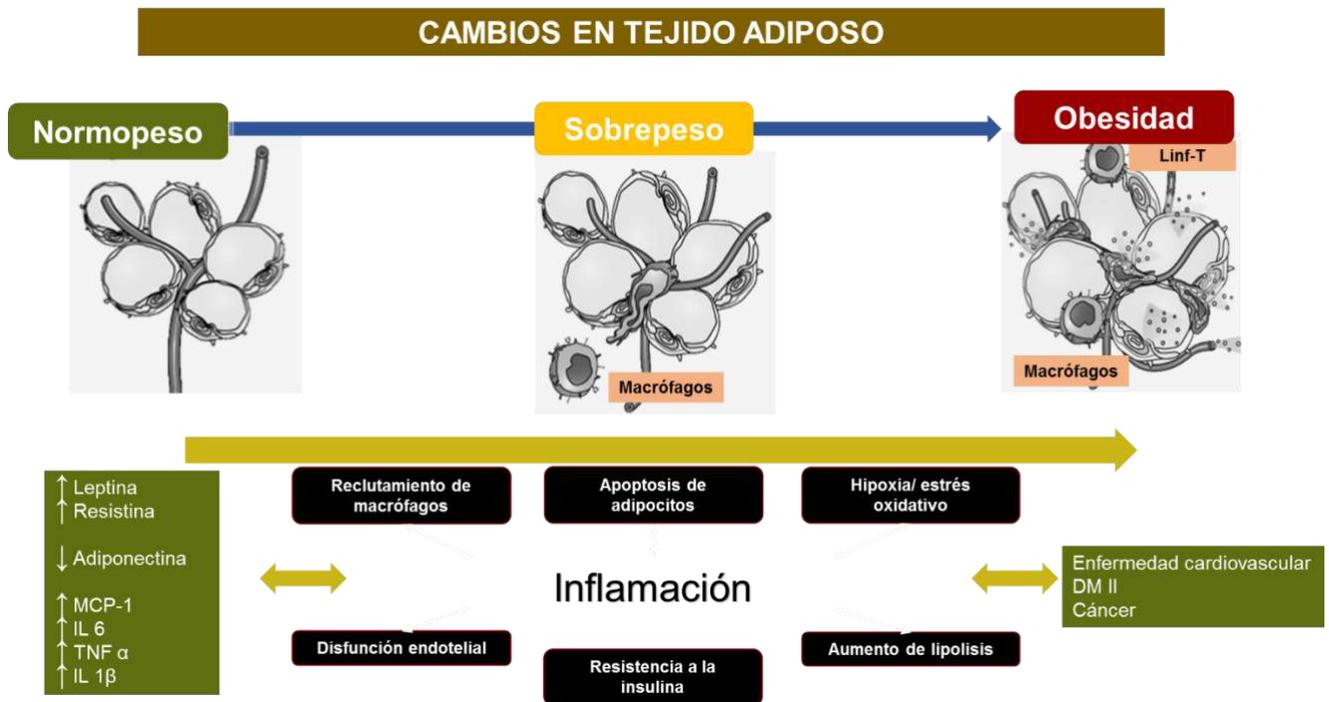


FIGURA 2.2 Proceso de inflamación en el tejido adiposo.

2.2.5 Infiltración de macrófagos al tejido adiposo

El TA está constituido en un 50% por adipocitos y el resto por constituyentes vasculares, fibroblastos, células endoteliales, preadipocitos y macrófagos (MFGs) (Acosta, 2016). Los MFGs constituyen entre 5 y 10% del total de las células presentes en el TA, pero la ganancia de peso inducida por la dieta genera una significativa infiltración de MFGs que contribuye con más del 60% de las células halladas en dicho tejido. Xu *et al* y Weisberg *et al*, informaron que el TA en ratones obesos está caracterizado por la infiltración de MFGs, y que estos son una importante fuente de factores de inflamación, así mismo plantearon la posibilidad de que la fuente celular de los cambios inflamatorios que se dan en el TA pudieran ser, además del adipocito, las células reticuloendoteliales o los preadipocitos (Arkan, 2005).

Cuando existe obesidad, debido al exceso de grasa, y en particular el acúmulo a nivel visceral, el TA segrega cantidades mucho más elevadas de adipocinas, con lo que se crea un “ambiente inflamatorio”, con incremento en especial en las concentraciones del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-a), interleucina 6 (IL-6), resistina, inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), leptina (Lp), fibrinógeno y componentes del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA)⁵⁴. Algunas de estas adipocinas, sobre todo la Lp, activan a las células endoteliales y a la acumulación de MFGs en el TA, los cuales liberan moléculas proinflamatorias, entre ellas el TNF-a, lo que hace perpetuar el estado de inflamación descrito en la obesidad (Brestoff, y Artis, 2015) (FIGURA 2.3).

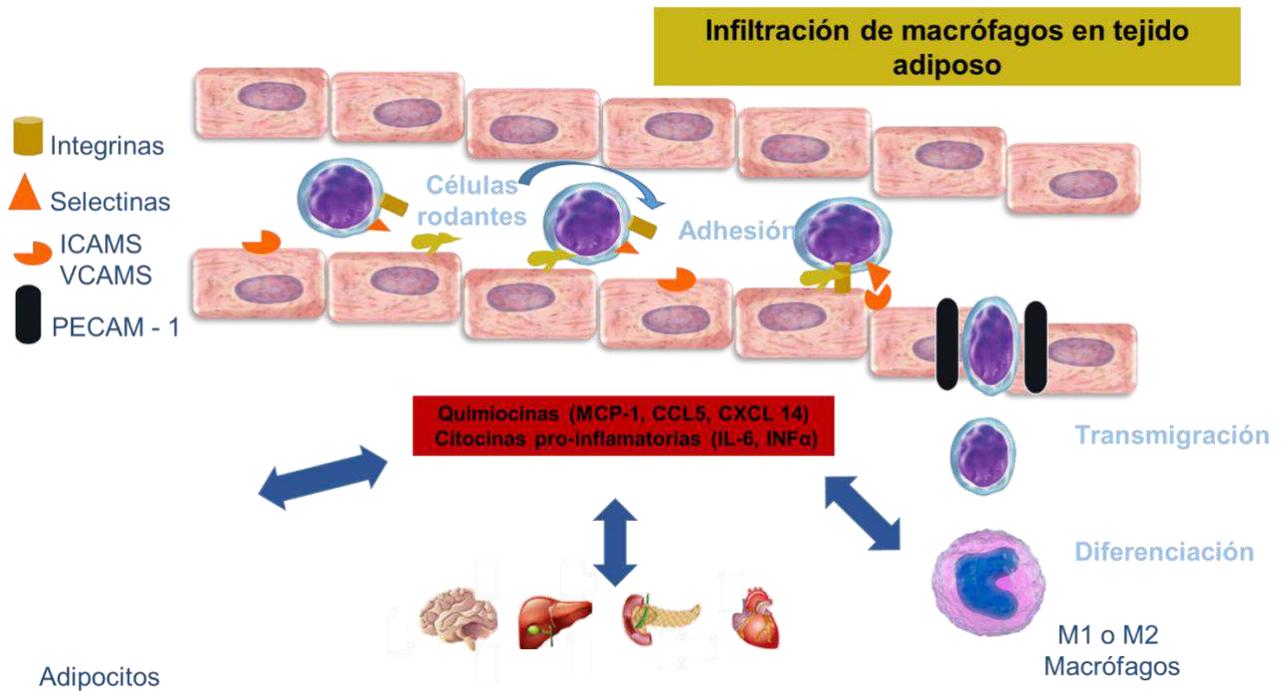


FIGURA 2.3. Infiltración de macrófagos en tejido adiposo.

2.2.6 Adiponectina

La adiponectina es la proteína con un peso molecular de aproximadamente 30 kDa, constituida por 247 aminoácidos, con propiedades antiinflamatorias. Es sintetizada específicamente por el tejido adiposo, y constituye el 0,01% de las proteínas plasmáticas totales (Maeda *et al*, 1996). La adiponectina actúa sobre distintos órganos y tiene y regula la sensibilidad de la insulina, se le ha atribuido un papel relevante en la prevención del SMET, así como acciones antiaterogénicas y antiinflamatorias. Se han encontrado alteraciones en las concentraciones de adiponectina asociadas a distintas patologías tales como la obesidad, DM II, hipertensión, SMet, y enfermedad coronaria. Los niveles de adiponectina correlacionan inversamente con el grado de adiposidad, en este sentido se han encontrado aumentos de hasta 42% en las concentraciones de esta hormona tras una reducción del IMC en un 21% (Recasens, 2004).

2.2.7 Leptina

La leptina es una hormona de 146 aa, codificada por el gen OB, del cromosoma 7, es sintetizada y segregada por el adipocito y en menor medida por los miocardiocitos, hepatocitos y las células endoteliales (Mayorga *et al*, 2006). Los andrógenos, los ácidos grasos de cadena larga y las catecolaminas inhiben la síntesis de leptina, al contrario de los estrógenos, glucocorticoides e insulina, que son reguladores positivos de la misma. Es la hormona más

importante en la fisiopatología de la obesidad, aunque en la mayoría de los casos la obesidad humana responde en mayor proporción al modelo leptina-resistencia y no a alteraciones de la leptina. La leptina aumenta en la obesidad, DM II, la hipertensión y síndrome metabólico, es por ello que se ha sugerido a la leptina como un biomarcador para la obesidad, la RI y el SMet (Terán-García y Bouchard, 2007).

2.2.8 Factor de necrosis tumoral alfa

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) es una citocina inductora de la respuesta inflamatoria y es producida por monocitos, linfocitos, células endoteliales, y por macrófagos infiltrados en el tejido adiposo. Se ha comprobado su relación con las alteraciones lipídicas dentro de SMet ya que estimula la síntesis de TG y de VLDL. Posee múltiples funciones tales como acción proinflamatoria, proaterogénica, y como un factor que favorece la aparición de RI y dislipidemia al alterar la función adipocitaria y su poder de expansión, por ello es considerado marcador proinflamatorio por excelencia en la obesidad, RI y de SMet (Whang *et al*, 2005).

2.2.9 Interleucina 6

La interleucina 6 (IL-6) es una citocina intermediaria en procesos inflamatorios y de estrés, producida por diferentes tipos celulares, entre ellos los adipocitos. La producción de esta molécula presenta una asociación positiva con respecto a la concentración de TG, VLDL, y ácidos grasos postprandiales, pues tanto la IL-6 como el factor de necrosis tumoral alfa reducen la expresión de la LPL (Tilg y Moschen, 2006).

2.2.10 Proteína C reactiva

La proteína C reactiva (pCr) es secretada por los hepatocitos en respuesta a la IL-6, TNF- α y leptina, es inhibida por la adiponectina, los niveles séricos se asocian directamente a parámetros antropométricos tales como el IMC, de igual forma se ha relacionado con el nivel de adiposidad, el perfil lipídico aterogénica y con otros factores de riesgo cardiovascular, entre los que se encuentran la resistencia a la insulina y los valores de tensión arterial sistólica.

2.3 METABOLISMO EN TEJIDO ADIPOSO

El conocimiento de los procesos de síntesis y degradación de lípidos es de gran interés en la nutrición y en la clínica. El metabolismo de los triglicéridos y su relación con la obesidad, así como el metabolismo del colesterol y su relación con la aterosclerosis, son dos aspectos de preocupación social que pueden, en buena medida, controlarse nutricionalmente.

2.3.1 Resistencia a la insulina en el hígado

El hígado juega un papel importante en el metabolismo de, el exceso de FFA deterioran la acción de la insulina hepática. Este incluye aumentos en la producción hepática de glucosa, la síntesis de citoquinas proinflamatorias, y

los grandes cambios en el metabolismo de las lipoproteínas. En condiciones fisiológicas normales, la insulina aumenta la expresión génica de una serie de enzimas centrales para biosíntesis de triglicéridos, reduce la producción y la secreción de VLDL, triglicéridos y apolipoproteína (APO) B, un efecto atribuible en gran medida a la reducción de la lipólisis del tejido adiposo. Otro efecto intrahepático de la insulina es mejorar la degradación de APO B. En el hígado de los pacientes resistentes a la insulina, los niveles de FFA se encuentran elevados, la síntesis y el almacenamiento de triglicéridos se incrementan, y el exceso de triglicéridos se secreta como VLDL. En su mayor parte, la dislipidemia asociada con la resistencia a la insulina es una consecuencia directa del incremento de la secreción de VLDL en el hígado. La hipertrigliceridemia está típicamente asociada con la reducción de C-HDL. Esto en parte se refiere a la transferencia de ésteres de colesterol desde el núcleo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos a C-HDL, un proceso catalizado por la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP) (Torres, 2006).

La esteatosis hepática se relaciona no sólo con resistencia a la insulina, sino también a la excesiva deposición de los ácidos grasos hepáticos en forma de triglicéridos en el hígado así como con una lesión más avanzada e inflamatoria, la esteatohepatitis no alcohólica (NASH). Se ha enfatizado el papel de la resistencia a la insulina, el estrés oxidativo, la peroxidación de lípidos, y citoquinas en el desarrollo de NASH (Cornier *et al*, 2008).

2.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

2.4.1 Dislipidemia

El evento fundamental la resistencia a la insulina en tejido adiposo lo constituye un aumento en la liberación de ácidos grasos libres a la circulación sanguínea, los cuales estimulan la síntesis y secreción de triglicéridos y lipoproteínas de muy baja intensidad (VLDL) por el hígado, éstas inducen el intercambio de sus triglicéridos por ésteres de colesterol tanto de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) como de las de baja densidad (LDL). Todo ello trae como consecuencia una disminución de los niveles de HDL que junto con la disminución de HDL, son factores de riesgo independientes para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Myers *et al*, 2002; Kahn, 2000).

La elevación de los ácidos grasos por alteraciones metabólicas en el adipocito es el punto central en el desarrollo de dislipidemias. Estas alteraciones corresponden a los transportadores de ácidos grasos de membrana y citoplasma, así como también a la alteración en la ruta normal de la lipólisis (Murray, 2000).

Los ácidos grasos que están presentes en el plasma como producto de la lipólisis de triglicéridos almacenados en el tejido adiposo, son la fuente principal de energía cuando los niveles de glucosa e insulina se encuentran en estado basal o de ayuno, al aumentar la concentración de la insulina en un estado postprandial, se suprime la liberación de ácidos grasos no esterificados a la circulación por una inhibición de la lipólisis, a través de la activación de la enzima HSL, además de que esta hormona promueve la reesterificación de los ácidos grasos en triglicéridos para el almacenamiento en el tejido adiposo. Sin embargo, en personas con resistencia a la insulina se ha observado

resistencia simultánea a la supresión de la lipólisis y por ende, a la inhibición de la liberación de los ácidos grasos, que causa la elevación de estos ácidos en la circulación (Coppack et al, 1992).

2.4.2 Ateroesclerosis

La ateroesclerosis es un proceso inmunológico inflamatorio crónico que lesiona las paredes vasculares arteriales, en el cual, las células involucradas desempeñan un papel fundamental para la expresión de los principales mediadores (citocinas) de la acción proaterogénica y de la inducción de mecanismos antiaterogénicos de control. En este fenómeno, el desbalance entre las citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias es el principal determinante de la formación y fenotipo de la placa de ateroma (Iqbal *et al*, 2008).

La ingesta de ácido grasos *trans* (AGT) ha sido asociada con factores de riesgo aterogénicos, tales como los niveles elevados de colesterol en plasma y los niveles de triglicéridos y marcadores plasmáticos de inflamación y disfunción endotelial⁸⁰. Se ha sugerido que los AGT pueden contribuir a la enfermedad cardiovascular mediante la alteración del metabolismo de los lípidos y la composición de fosfolípidos de las membranas celulares, lo que resulta en la alteración de permeabilidad de la membrana celular, la producción de ecosanoides e eicosanoides y la expresión génica (López – García *et al*, 2005; Mozaffarian *et al*, 2004; Niu *et al*, 2005).

2.4.3 Microalbuminuria

La Microalbuminuria (MA) se define como la presencia de albumina en la orina con valores mayores a 30mg/día. La MA se considera no solo un indicador de complicaciones diabéticas, sino un factor de riesgo independiente para desarrollar enfermedades cardiovasculares. La MA predice el desarrollo de eventos cardiovasculares isquémicos relacionados con la ateroesclerosis (Viberti *et al*, 2000).

2.4.4 Diabetes mellitus tipo II

La aparición de diabetes, suelen ser precedida a la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia durante periodos largos de tiempo. La mayoría de los pacientes con diabetes mellitus tipo II tiene obesidad visceral, y aproximadamente un 82% presenta resistencia a la insulina. Al momento de diagnóstico de diabetes, se estima que el 50% de los pacientes tienen algún indicio de enfermedad micro o macro vascular y en general presentan un elevado riesgo cardiovascular, con mayor morbimortalidad cardiovascular que en personas no diabéticas, por lo que se estima que el 70% fallece por ECV. Haffner (2000), demostró que una persona diabética que no ha presentado infarto de miocardio tiene el mismo riesgo de presentar un evento cardiovascular que personas no diabéticas que ya han tenido un infarto. Esto ha llevado a que el ATP III así como la FID, considere a los individuos con diabetes con riesgo cardiovascular máximo. Entre los mecanismos que incrementan la ateroesclerosis de la persona que padece diabetes, se han propuesto disfunción endotelial, dislipidemia, hipercoagulabilidad, fibrinólisis defectuosa, hiperagregabilidad plaquetaria, estrés oxidativo, neuropatía autonómica y efectos tóxicos de la hiperglicemia (Grundy, 2008).

2.4.5 Hipertensión arterial

La hipertensión arterial (HA) es un importante factor de riesgo para las principales complicaciones cardiovasculares como la cardiopatía isquémica y los accidentes cerebrovasculares. La frecuente asociación entre HA y DM II ha sido descrita por Grundy *et al.* (2004), pero la interrelación con la obesidad u otras situaciones de riesgo, como las alteraciones del metabolismo de la glucosa hacen pensar que la base de esta asociación epidemiológica podría responder a vínculos fisiopatológicos comunes. La resistencia a la insulina, la inflamación o la disfunción endotelial son algunos de los posibles mecanismos. El SMet es una asociación de factores de riesgos cardiovascular que engloba todas estas situaciones y, además, la HA desempeña un papel clave en el manejo clínico de los pacientes con SMet (Reaven, 1993).

Además de los factores de riesgo para desarrollar síndrome metabólico existen comorbilidades asociadas a este, las cuales se describen a continuación.

2.4.6 Estado protrombotico

La obesidad está acompañada por anomalías en la coagulación y la fibrinólisis. Adicional al papel activo en la manifestación característica de la resistencia a la insulina, se han identificado varias sustancias producidas por el adipocito tales como PAI-1, el cual es el más importante regulador de la fibrinólisis, el cual está elevado en los pacientes con SMet; Por lo tanto, la función plaquetaria se encuentra alterada, con un incremento de la agregación plaquetaria y en la generación de trombina (Stepanova, 2010).

2.4.7 Estado proinflamatorio

Es un trastorno caracterizado por un nivel elevado en la proteína C reactiva y de diversas proteínas bioactivas tales como el TNF α , la IL-1 y la IL-6, que contribuyen al mantenimiento de estados crónicos de inflamación sistémica y vascular local.

2.4.8 Hígado graso no alcohólico

El hígado graso es una de las enfermedades de mayor incidencia en la población dado que una de cada dos personas la padecen, se define como el depósito de grasa (triglicéridos) en el hígado que excede el 5 % de su peso (Asociación Americana del Estudio de Enfermedades del Hígado). En la práctica se lo valora como el porcentaje de hepatocitos cargados de grasa que se observan al microscopio en una biopsia sin tomar en cuenta el tamaño de las gotas lipídicas (más del 5% de hepatocitos con depósitos de grasa es criterio diagnóstico de hígado graso). El hígado graso está siendo reconocido como factor de alta relevancia en el desarrollo de enfermedad cardiovascular y/o diabetes. Se tiene el falso concepto de que el hígado graso solo involucra alteraciones a nivel hepático, pero esto no es del todo verdad, pues si bien es cierto que el hígado graso puede complicarse con cirrosis, este hecho representa un

porcentaje mínimo que solo ocurre en un 5% de casos, por el contrario las complicaciones cardiovasculares o metabólicas derivadas del hígado graso varían entre el 50, 80 o 100% según diferentes autores (Smorlesi *et al.* 2012).

La causa más importante de hígado graso es el exceso en la ingesta de calorías o y/o la falta de actividad física que llevan a obesidad intra-abdominal, cuando estos factores son la etiología, el padecimiento se denomina enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA) o NAFL (Non alcoholic Fatty Liver Disease por sus siglas en inglés) Así, el hígado graso se puede dividir en dos categorías de acuerdo a su asociación con el consumo de alcohol: que al evolucionar a diferentes fases patológicas se ha catalogue a este estado como:

- Enfermedad de hígado graso alcohólico (AFLD, Alcoholic Fatty Liver Disease).
- Enfermedad de hígado graso NO alcohólico (NAFLD).

Se estima que de cada cinco pacientes diagnosticados con hígado graso, el padecimiento en cuatro de ellos está relacionado con una dieta hipercalórica y obesidad intra-abdominal y solo uno con ingesta de alcohol (Cousin *et al.*, 1992).

El NAFLD puede evolucionar desde la simple acumulación de triglicéridos en los hepatocitos (esteatosis macrovesicular simple) al desarrollo de la esteatohepatitis no alcohólica (NASH por sus siglas en inglés- Non-Alcoholic Steato Hepatitis) que puede estar acompañada de fibrosis; hasta su evolución cirrosis (Brunt *et al.*, 2010).

2.5 ESTRATEGIA TERAPÉUTICA

El tratamiento del síndrome metabólico se inicia abordando las afecciones subyacentes, es decir, el médico debe controlar las variables asociadas a la diabetes, hiperinsulinemia, colesterol alto o presión arterial alta; este tratamiento puede ser farmacológico y/o con modificaciones del estilo de vida del paciente, tales como tener una alimentación adecuada, dejar de fumar y consumir menos alcohol (Mendler *et al.*, 2005).

En el tratamiento de los componentes individuales del SMet, se pretende reducir el riesgo o prevenir del riesgo de ECV y DM II tal como se indica en la Tabla 2.3. Sin embargo, la concentración de esfuerzos terapéuticos en el tratamiento del exceso de adiposidad y resistencia a la insulina asociada con la enfermedad, puede proporcionar el mayor éxito general en la consecución de estos objetivos. Además, ciertas opciones terapéuticas pueden afectar a más de un componente del síndrome reduciendo la patología que se desencadena. La estrategia que se plantea es la modificación del estilo de vida (Brunt, 2001).

TABLA 2.3 Tratamiento de los componentes individuales del SMET

OBJETIVO TERAPÉUTICO	METAS Y RECOMENDACIONES
Obesidad abdominal	5- 10% pérdida de peso o mantenimiento. Modificación del estilo de vida con dieta y actividad física. Terapia farmacológica para pérdida de peso. Cirugía bariátrica
Resistencia a la insulina / hiperglucemia	Prevención o retraso de la progresión a la DM II. Modificación del estilo de vida y pérdida de peso como se describió anteriormente. Farmacoterapia Tratamiento de la diabetes Control glucémico adecuado
Dislipidemia metabólica	Objetivo principal: Disminución de LDL-c Objetivo secundario: < TG 200 mg/dL, HDL-c >30 mg/dL Objetivo terciario: HDL-c > 40 mg/dL en hombres y > 50 mg/dL en mujeres.
Presión arterial elevada	Presión <140/90 mm Hg (<130/80 mm Hg en DM II).
Estado protrombotico	Considerar la dosis baja de aspirina para los pacientes de alto riesgo.
Estado proinflamatorio	No hay objetivos específicos; Tratar todos los factores de riesgo anteriores

2.5.1 Modificación de la dieta en pacientes con SMet

La estrategia no medicamentosa de tratamiento de SMet es la modificación en la dieta ya que está bien establecido que la pérdida de peso es beneficiosa para el tratamiento de todos los componentes del mismo, incluyendo excesiva adiposidad, dislipidemia, hipertensión, resistencia a la insulina e hiperglucemia (. Bellentani, 1997; Van Gaal *et al*, 1997; Pasanis *et al*, 2001).

La pérdida de peso no necesita ser drástica, ya que el reducir tan sólo 5-10% del peso corporal puede reducir significativamente los triglicéridos y aumentar el HDL-C y la presión arterial. Aunque la distribución de macronutrientes de las calorías eliminadas es de menor importancia, está visto que el tipo de macronutrientes consumidos habitualmente puede influir en la salud del individuo con SMet (Wing *et al*, 1997; Whelton *et al*, 1998).

Con respecto a los carbohidratos, se recomienda una ingesta de 45-65% de la ingesta calórica total. Esta recomendación es apropiada para la mayoría de las poblaciones debido a que no se ha demostrado que el consumo total de carbohidratos esté asociado con el desarrollo de la DM II o el SMet. Se ha reportado que la ingesta de carbohidratos está positivamente asociada con colesterol total, LDL-C y triglicéridos y negativamente asociado con HDL-C (McKeown *et al*, 2004; Ma *et al*, 2006).

El índice glucémico ha recibido considerable atención en términos de clasificar qué carbohidratos son “buenos” o “malos” para el riesgo de enfermedad. Los alimentos de bajo índice glicémico (es decir, los que se procesan mínimamente) mejoran los componentes del SMet incluyendo hiperlipidemia e hiperglucemia, mientras que un índice glucémico más alto se ha asociado positivamente con la resistencia a la insulina y la prevalencia del síndrome (Ford *et al*, 2004; Gardner *et al*, 2007).

Los datos relativos a la ingesta de proteínas adecuadas para los pacientes con el SMet son escasos. Con la excepción de los pacientes con nefropatía, una ingesta de proteínas dentro de las recomendaciones para la población en general es aceptable: una ingesta de proteínas de 10-35% de la ingesta calórica total es recomendado por la OIM.

Aunque una proporción considerable de la población ha reducido el consumo de grasa en la dieta, se ha observado un marcado aumento de la obesidad y de la SMet en el mismo período de tiempo. Al igual que los carbohidratos, el tipo de grasas que se consumen y no la cantidad total, tiene un mayor efecto sobre los componentes de la enfermedad (Borkman *et al*, 1991).

No se ha probado ningún efecto del aumento de la ingesta de grasas (20 a 40% de la ingesta calórica) sobre la sensibilidad a la insulina aunque se han reportado resultados contradictorios (Bisschop *et al*, 2005; Cornier *et al*, 2005).

Curiosamente, se ha demostrado que las mujeres obesas resistentes a la insulina perdieron más peso en una dieta de 16 semanas de alto contenido de grasa (40%), baja en carbohidratos (40%), mientras que las mujeres obesas sensibles a la insulina perdieron más peso en grasa (20%), dieta alta en carbohidratos (60%) (Maron *et al*, 1991).

Por lo tanto, el grado de resistencia a la insulina puede determinar qué composición de macronutrientes es más apropiada para promover la pérdida de peso. La evidencia apunta hacia el tipo de grasa que se consume que tiene un efecto sobre la sensibilidad a la insulina (Heine, 1993; Uusitupa *et al*, 1994).

En este sentido, la ingesta de grasa saturada está positivamente asociada con los niveles de insulina en ayunas la sustitución de grasas insaturadas por las grasas saturadas en la dieta no tiene efecto sobre la sensibilidad a la insulina (Schwab, 1993).

En virtud de la asociación observada entre la ingesta de grasas saturadas y los niveles de insulina, se recomienda una reducción en el consumo de grasas saturadas de 7% aproximadamente del total la ingesta calórica por día y un aumento de los ácidos grasos insaturados, específicamente linoleico (5-10% de la ingesta calórica). Estas directrices también son aplicables en el caso de las enfermedades cardiovasculares, debido a que se ha demostrado que el colesterol sérico y el riesgo general de ECV se ve modificado de acuerdo al tipo de grasa en la dieta, es decir, es beneficiosa una reducción en la grasa saturada y un aumento en la grasa insaturada, más que la reducción de la ingesta total de grasas (Krummel, 2001).

2.6 ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS

Los ácidos grasos son compuestos orgánicos que juegan un papel fundamental en la alimentación humana, el desarrollo de algunas enfermedades puede verse acelerada o prevenida dependiendo del perfil de ácidos grasos en la dieta. Los ácidos grasos insaturados poseen en su estructura al menos un doble enlace, y se denominan poliinsaturados (AGPI) si contienen dos o más de estos enlaces. De acuerdo al metabolismo en los mamíferos, los ácidos grasos se clasifican en dos grandes grupos, los esenciales y los no esenciales. Los esenciales son que no pueden ser sintetizados a partir de otros precursores carbonados en los sistemas celulares y por ello deben ser ingeridos en la dieta, al estar ausente el mecanismo enzimático que introduce las dobles ligaduras en las posiciones anteriores al carbono 9 contando a partir del grupo metileno terminal (Karst, 2008).

Los ácidos grasos saturados (AGS) de cadena larga no esenciales como el palmítico (16:0) y el esteárico (18:0) pueden ser tomados de la propia dieta o sintetizados a partir de carbohidratos y son precursores de los ácidos grasos monoinsaturados mayoritarios en las células tales como el ácido palmitoleico (16:1 ω -7) y el ácido oleico (18:1 ω -9). Cuando ambos ácidos grasos saturados se desaturan, se introduce un doble enlace en el carbono 9, por lo que la desaturasa que cataliza este proceso se conoce como Δ 9-desaturasa. Mediante procesos de elongación y desaturación (Δ 9, Δ 6, Δ 5 y Δ 4) es posible llevar a cabo varios procesos de síntesis. Debido a que las células de mamíferos no tienen las desaturasas capaces de introducir un doble enlace en los átomos de carbono 12 de los ácidos grasos (Δ 12-desaturasa) y 15 (Δ 15-desaturasa), éstas, no sintetizan el ácido linoleico (18:2 ω -6) ni el ácido α -linolénico (18:3 ω -3), respectivamente, por lo tanto a estos ácidos se les denomina como esenciales. Así, los AGPI esenciales se encuentran agrupados en dos tipos de familias: la omega-3 (n-3) y la omega-6 (n-6) dependiendo de la posición de la primera doble ligadura (Karsten, 1969).

El ácido linoleico (AL) es el precursor de los AGPI ω -6, y sus metabolitos más importantes son el ácido eicosatrienoico (20:3) y el ácido araquidónico (AA; 20:4). Por su parte, el ácido α -linolénico (ALN) es el precursor de la familia de los AGPI ω -3 y sus metabolitos son el ácido eicosapentaenoico (EPA; 20:5) y docosahexanoico (DHA; 22:6) (FIGURA 2.4).

2.6.1 Regulación del metabolismo en el tejido adiposo

El aporte de ácidos grasos libres a los tejidos como consecuencia de la hidrólisis de triglicéridos está regulado por dos lipasas: la Lipoproteína lipasa y la Lipasa sensible a hormonas. La lipoproteína lipasa de la superficie de los capilares hidroliza los triglicéridos de los quilomicrones y de las VLDL, produciendo glicerol y ácidos grasos libres que pueden ser reensamblados en nuevos triglicéridos en las células adiposas.

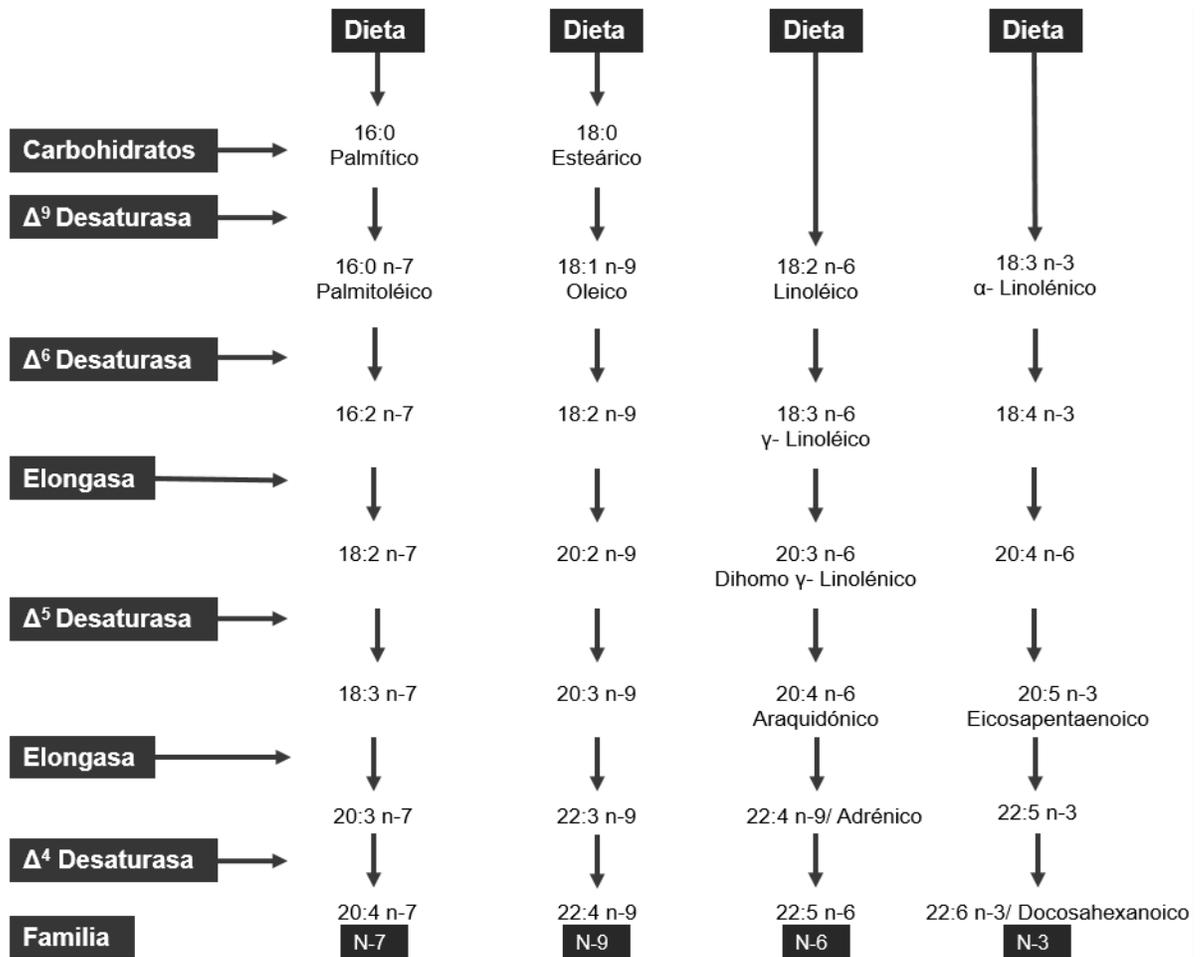


FIGURA 2.4 Biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados.

La lipasa sensible a hormonas del tejido adiposo cataliza el desdoblamiento de los triglicéridos almacenados en glicerol y ácidos grasos, que pueden pasar posteriormente a la circulación, la activación de esta enzima se produce por diversas moléculas que actúan como señales que conducen a un aumento de AMPc tales como las catecolaminas, la hormona del crecimiento, la serotonina y el glucagón.

La inactivación de esta enzima mediante una proteína-quinasa dependiente de AMPc., por ello la adrenalina, noradrenalina, glucagón, la hormona adenocorticotrópica (ACTH) y la hormona estimulante tiroidea (TSH) producen lipólisis, ya que son capaces de estimular la adenilato ciclasa de las células adiposas mediante la activación de sus receptores. Los niveles elevados de AMPc, se consideran un mensajero en la regulación de la lipólisis en las células adiposas, Los glucocorticoides también incrementan la lipólisis, pero por una vía independiente del AMPc.

Otras hormonas, por el contrario, inhiben la lipólisis ejemplos de ello son la insulina, la prostaglandina E y el ácido nicotínico que disminuyen la actividad de la lipasa sensible a hormonas, posiblemente inhibiendo la formación de AMPc, por acción sobre la adenilato ciclasa.

La insulina también inhibe la lipólisis por otras vías:

- ✓ Estimula la lipasa fosfatasa; que inactiva la lipasa sensible a hormonas.
- ✓ Estimula la fosfodiesterasa; encargada de pasar el AMPc a 5'amp, produciendo una disminución en la concentración de AMPc.

2.7 *Sterculia apetala*

Sterculia apetala es un árbol de gran tamaño, de la familia *Malvaceae* (Tabla 2.4), oriundo de América Central y norte de Sudamérica, de tronco recto ramificado a gran altura y que se encuentra ampliamente distribuido desde México hasta Venezuela, Colombia e inclusive en las Antillas (Mujumdar, 2000).

Es un árbol exigente en cuanto a suelos, sus raíces son profundas y tiene vida larga. El tronco es recto y desarrolla a menudo, sobre todo cuando es de gran tamaño, unos contrafuertes que le sirven del apoyo y soporte necesarios por su corpulencia, ya que llega a medir de 25 hasta unos 50 m. Las hojas son acorazonadas y cuando son jóvenes presentan la cara inferior tomentosa. Las flores son moradas y poco vistosas. El fruto (FIGURA 2.5) está compuesto de 4 o 5 folículos péndulos, dehiscente con 2 a 4 semillas aladas de color marrón. Los nombres de la planta más comunes en México son: Árbol del Bellote, Bellota (Tab.); Castaña, Castaño, Bellota (Chis.); Pepetaca, Petaca (Oax.); Tepetaca (centro de Ver., norte de Oax.) (Tumbelaka, 1994).



FIGURA 2.5 Fruto, hojas y semillas de *Sterculia apetala*. Fuente: INECOL

Dentro de sus principales usos se encuentra la medicina herbolaria, donde las hojas son utilizadas como laxantes, diuréticos y repelente de insectos. En México se encuentra en la vertiente del Golfo, desde el sur de la Sierra de Naolinco en el centro de Veracruz y norte de Oaxaca, hasta el norte de Tabasco y Chiapas y en la vertiente del Pacífico en Chiapas. Las semillas son comestibles: tostadas tienen sabor a cacahuete, molidas se usan para preparar una bebida refrescante. Tienen un alto contenido de almidón y grasas. Las semillas contienen ácidos grasos ciclopropanoicos, que derivan el aceite estercúlico (SO) y malvático (Tumbelaka, 1994).

TABLA 2.4 Taxonomía de *Sterculia apétala*.

Nombre científico	<i>Sterculia apétala</i>
Reino	<i>Plantae</i>
Subreino	<i>Tracheobionta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Dilleniidae</i>
Orden	<i>Malvales</i>
Familia	<i>Malvaceae</i>
Genero	<i>Sterculia</i>
Especie	<i>Apetala</i>

Los aceites extraídos de las plantas del orden Malvales, contienen naturalmente ácidos grasos ciclopropanoicos (CPFA), los cuales forman un anillo ciclopropano en el centro de su cadena de 18 carbonos llamado ácido

estercúlico [ácido 8-(2-octil-1-ciclopropenilo) octanóico] y el de 19 carbonos llamado ácido malválico [ácido 7-(2-octil-1-ciclopropenilo) ambas estructuras se muestran en la FIGURA 2.6 (Bao, 2003).

2.7.1 Acido estercúlico

Los ácidos grasos ciclopropenoicos (CPFAs por sus siglas en inglés, Cyclopropenoid Fatty Acids) son ácidos grasos insaturados que poseen un anillo ciclopropeno muy reactivo¹²⁶. Estos ácidos se encuentran abundantemente en las semillas de plantas del orden de las Malvales (*Malvacea* y *Sterculiaceae*), en donde el esterculato y el malvalato representan el 57.4% y el 14.5% del total de los ácidos grasos, respectivamente; sin embargo, también están presentes en el aceite de algodón (~1% del total de lípidos con ~65% y ~35% para ácido malválico y estercúlico respectivamente) (Arnaud *et al*, 2006; Zoeller, 1984; Ralaimanarivo, 1982).

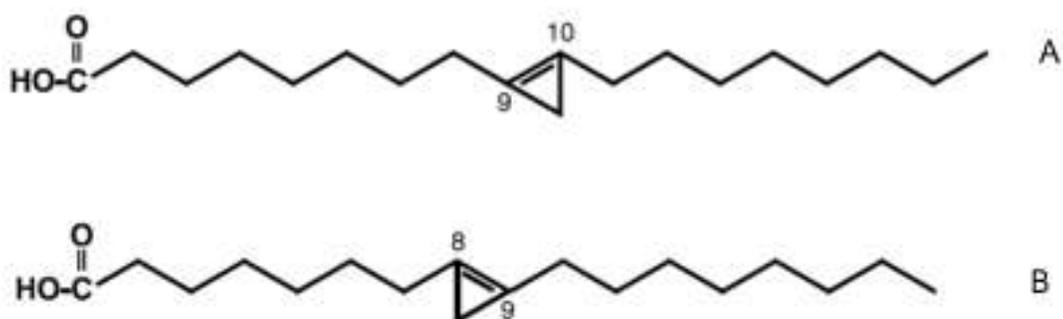


FIGURA 2.6 A) Estructura del ácido estercúlico y b) ácido malválico

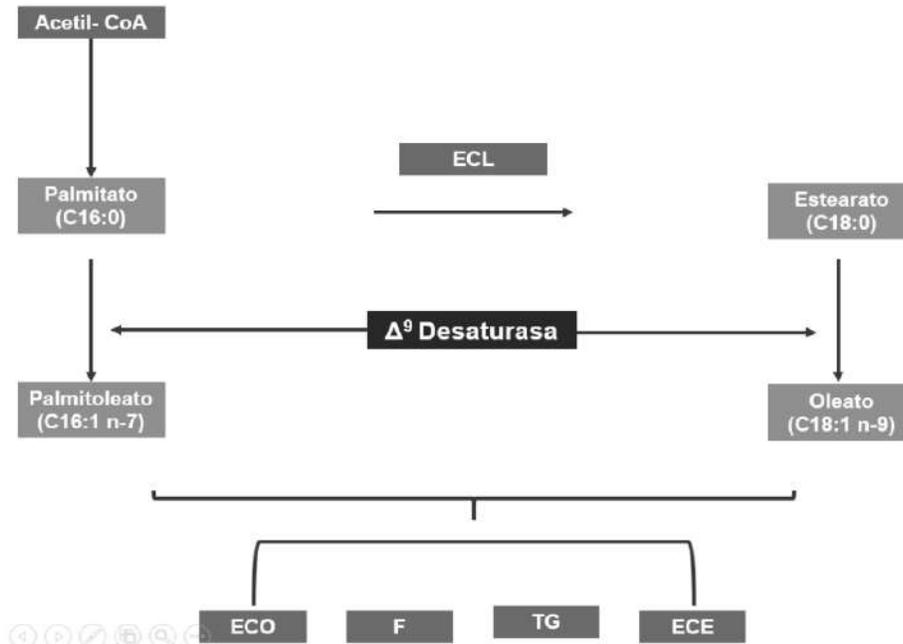
Fuente: (Gómez et al., 2013)

En zonas tropicales es común que dichas semillas sean tostadas y consumidas por humanos, no obstante, esto ha generado preocupación en los investigadores debido a los efectos adversos que producen los CPFAs. Se ha establecido que la ingestión de los CPFAs causa diversos desórdenes metabólicos en diferentes animales como: disminución en la producción de huevos en gallinas pérdida de color en la yema de huevo, retardo en el crecimiento de mamíferos, alteración en el metabolismo de lípidos efectos co-carcinogénicos y antimicóticos (Schmid, 1998; Lee *et al*, 2005)

2.7.2 Estearoil CoA desaturasa (SCD o $\Delta 9$ desaturasa)

La estearoil CoA es una enzima que interviene en la síntesis de ácidos grasos monoinsaturados, regulando el paso de los ácidos palmítico (16:0) y esteárico (18:0) a palmitoleico (16:1) y oleico (18:1), respectivamente. La desaturación de *Cis* tiene lugar en los átomos de carbono 9 y 10. La actividad de la SCD está reflejada no solamente en la composición de los triglicéridos, sino también en la de los fosfolípidos de las membranas celulares (Ntambi, 2004).

La esteroil desaturasa es un importante punto de control metabólico en la regulación del peso corporal, la SCD es la enzima limitante de la velocidad en la biosíntesis de ácidos grasos monoinsaturados, los cuales, son los ácidos grasos más abundantes encontrados en triglicéridos, esteres de colesterol, esteres de cera y fosfolípidos (FIGURA 2.7).



ECL: Elongasa de cadena larga; Δ⁹ desaturasa: esteroil-CoA desaturasa; ECO: esteres de colesterol; TG: triglicéridos; ECE: esteres de cera; F: fosfolípidos.

FIGURA 2.7 Función de la en el metabolismo lipídico.
Fuente: (Ntambi et al., 2004).

La asociación de la obesidad con RI y de la pérdida de peso con la mejora de la señalización de la insulina es debida a que el exceso de lípidos, en particular lípidos que se depositan en tipos celulares sensible a la insulina que no sean adipocitos, pueden inhibir la señalización de la insulina. Se observó que los ratones con una mutación dirigida en el gen SCD 1 muestran una mejoría en la tolerancia a la glucosa en comparación con los ratones silvestres y así mismo en ratones Gko (knock out global), genéticamente modificados que carecen de la expresión de dicha enzima en todos los tejidos, así como el aumento en la señalización de la insulina en tejido del hígado, tejido adiposo, y el musculo; así mismo se observó un aumento en la activación de la glucógeno sintasa, la glucógeno fosforilasa, el contenido de GLUT 4, y del receptor de insulina; de la termogénesis, la β-oxidación, y la sensibilidad de insulina en el musculo esquelético y en otros tejidos. Por lo tanto, se ha sugerido que la Δ⁹ desaturasa podría ser un blanco terapéutico en el tratamiento de la obesidad y la diabetes (Unger, 2002; Natmbi *et al*, 2002).

2.8 ESTUDIOS PREVIOS DEL EFECTO DEL ACEITE ESTERCÚLICO EN SÍNDROME METABÓLICO

Ortinou y colaboradores en el 2012 evaluaron la inhibición de la enzima esteroil-CoA desaturasa-1 (SCD1) en los ratones ob/ob deficientes en leptina. Se usó al aceite estercúlico como inhibidor natural de la SCD1, en un modelo con ratones a los que se les administró una dieta AIN – 93G que contenía 0.5 % de aceite estercúlico durante 9 semanas. El aceite estercúlico no alteró significativamente el peso corporal ni la ingesta calórica (Ortinou *et al*, 2012; Stamatikos *et al*, 2013).

Ortinou y colaboradores en el 2013 realizaron un estudio para determinar los efectos en las dietas con la suplementación de aceite estercúlico, y observando el desarrollo de la obesidad y la resistencia a la insulina en las ratas obesas Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) y ratas delgadas como otro control las ratas Lean Long-Evans Tokushima (LETO). Las ratas recibieron una dieta AIN – 93G (control) o una dieta AIN – 93G con 0,5 % de aceite estercúlico durante 10 semanas. El aceite estercúlico no alteró significativamente el peso ni la composición corporal. En contraste, se observó una reducción de la actividad de la enzima SCD1 la cual fue asociada con la reducción en las concentraciones de la glucosa en sangre, al igual que la grasa intraabdominal, el tamaño de los adipocitos y un aumento en la expresión del gen de la glucosa GLUT1 en la grasa intraabdominal., entre otros. El estudio mostró valores de un fenotipo metabólico mejorado con la administración del aceite estercúlico.

Herrera Meza y colaboradores en el 2013 evaluaron el efecto de la grasa de la leche anhidra (AMF) natural enriquecida con ácido linoléico conjugado (CLA) y ácido vaccénico (AV) en ratas espontáneamente hipertensas, usando aceite estercúlico para evitar la conversión del CLA al AV. La dieta se les administró durante 7 semanas. Al administrar el aceite estercúlico algunos parámetros tales como reducción de insulina y aumento de la adiponectina tuvieron una mejoría discreta, y se redujo significativamente el peso corporal y la adiposidad, así como la presión arterial, el nivel de triglicéridos y la adiponectina.

Reyes Saldaña 2015 evaluación el efecto de la administración del aceite estercúlico, obtenido de semillas de *Sterculia apetala*, sobre los parámetros característicos del síndrome metabólico en ratas Zucker obesas. El aceite estercúlico se administró a ratas Zucker obesas y delgadas durante seis semanas, logrando revertir, de manera discreta, algunos de los parámetros del síndrome metabólico en las ratas Zucker obesas, tales como niveles séricos de triacilglicéridos, peso del tejido adiposo epididimal, y la severidad de esteatosis hepática; a nivel genético observaron la disminución de la expresión del gen de leptina y del factor de transcripción PPAR γ , por lo que los efectos observados podrían explicarse a través del mejoramiento de la resistencia a la leptina presente en las ratas Zucker obesas.

2.9 ACEITE DE ALGA

Las dietas de alta energía con un aumento de grasas saturadas y carbohidratos refinados aumentan el desarrollo de la obesidad intraabdominal y los factores de riesgo metabólicos como tolerancia alterada a la glucosa, resistencia a la insulina, aumento de la presión arterial sistólica, dislipidemia, disfunción endotelial y complicaciones cardiovasculares. Un patrón dietético saludable que incluya la ingesta de vegetales, frutas y fibra de grano entero como parte de la restricción energética previene la obesidad, promueve la pérdida de peso en pacientes obesos y revierten los factores de riesgo metabólicos. Además de la actividad física, el control de la obesidad incluye una alimentación saludable con un consumo de alimentos bajo en grasas dietéticas totales, especialmente grasas saturadas y trans, y baja en carbohidratos refinados, pero alta en proteínas y fibra, como una intervención de estilo de vida a largo plazo (Arum *et al*, 2015).

Las microalgas se han considerado como parte de una dieta saludable, ya que contienen ácidos grasos omega-3 (ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA)), proteínas, aminoácidos, pigmentos, vitaminas y minerales. Las microalgas también sirven como un depósito de compuestos biológicamente activos, que presentan estructuras y funciones únicas. Ingredientes potencialmente activos que incluyen β -caroteno, astaxantina, luteína, ficobiliproteínas y fibra insoluble, han sido reportados por sus efectos antioxidantes, cardioprotectores, hepatoprotectores, antiinflamatorios y antihiperlipidémicos (Chao-Wei *et al*, 2016).

2.10 ESTUDIOS PREVIOS DEL EFECTO DEL ACEITE DE ALGA EN SÍNDROME METABÓLICO

Arum y colaboradores en el 2015 investigaron las respuestas a una mezcla de algas verdes de *Scenedesmus dimorphus* y *Schroederiella apiculata* (SC) que contiene proteína (46.1% de algas secas), fibra insoluble (19.6% de algas secas), minerales (3.7% de algas secas) y omega-3 ácidos grasos (2.8% de algas secas) como una intervención dietética en un modelo de síndrome metabólico alto en grasas y alto contenido en carbohidratos en cuatro grupos de ratas Wistar machos. Dos grupos fueron alimentados con una dieta de almidón de maíz que contenía 68% de carbohidratos como polisacáridos, mientras que los otros dos grupos recibieron una dieta alta en carbohidratos simples (fructosa y sacarosa en alimentos, 25% de fructosa en agua potable, 68% en total) y 24% de grasas saturadas y grasas trans de sebo de carne. Las ratas con alto contenido de carbohidratos y alto contenido de grasa mostraron obesidad visceral con hipertensión, resistencia a la insulina, remodelación cardiovascular y enfermedad hepática grasa no alcohólica. La suplementación con SC (5% de los alimentos) redujo la masa total de grasa corporal y abdominal, aumento de la masa magra e hipertensión atenuada, intolerancia a la glucosa y la insulina, disfunción endotelial, infiltración de células inflamatorias en el corazón y el hígado, fibrosis, rigidez cardíaca aumentada y no alcohólico enfermedad del hígado graso en las ratas con alto contenido de carbohidratos y alto contenido de grasas. Este estudio sugiere que la fibra o proteína insoluble en SC ayuda a revertir el síndrome metabólico inducido por la dieta.

Magnusson y colaboradores en el 2015, investigaron las respuestas a dos algas verdes tropicales, *Ulva ohnoi* (UO) y *Derbesia tenuissima* (DT), en un modelo de rata con síndrome metabólico. Las ratas macho Wistar (330-340 g) se alimentaron con una dieta rica en almidón de maíz o una dieta alta en carbohidratos y alta en grasas con 25% de fructosa en agua potable, durante 16 semanas. Las ratas alimentadas con dietas altas en carbohidratos y altas en grasas mostraron los signos del síndrome metabólico que conduce a la obesidad abdominal, la remodelación cardiovascular y la enfermedad del hígado graso no alcohólico. La comida se complementó con un 5% de UO o DT seco solo durante las últimas 8 semanas. UO redujo la masa total de grasa corporal total en un 24%, la presión arterial sistólica en 29 mmHg y mejoró la utilización de glucosa y la sensibilidad a la insulina. Por el contrario, DT no modificó la masa grasa total del cuerpo, pero disminuyó los triglicéridos en plasma en un 38% y el colesterol total en un 17%. UO contenía 18.1% de fibra soluble como parte de 40.9% de fibra total, y aumentaba el magnesio, mientras que DT contenía 23.4% de fibra total, esencialmente como fibra insoluble. La UO fue más efectiva en la reducción del síndrome metabólico que DT, posiblemente debido a la mayor ingesta de fibra soluble y magnesio.

Shang *et al*; en el 2017 utilizaron ratones C57BL / 6 J alimentados con dieta alta en grasas como modelo animal, dietas de diversas proporciones de DHA / EPA (2: 1, 1: 1 y 1: 2) con una relación n-6 / n-3 de 4: 1 que prepararon usando aceites de pescado y algas enriquecidas en DHA y/o aceites de semillas de girasol y EPA en pequeña medida, en lugar de la dieta rica en grasas. Los resultados mostraron que la suplementación con una relación DHA/EPA más baja parece ser más efectiva para aliviar el daño hepático inducido por dieta alta en grasas en ratones, y una relación DHA/EPA de factores de riesgo inflamatorios mitigados 1: 2. Estos efectos de los ácidos grasos poliinsaturados n-3 (PUFA) sobre el metabolismo lipídico pueden estar relacionados con la regulación positiva de Fra1 y la actividad atenuada de c-Jun y c-Fos, reduciendo finalmente la gravedad del trastorno del metabolismo lipídico y el daño hepático en algunos casos.

2.11 MODELOS INDUCIDOS EXPERIMENTALMENTE

Los modelos obtenidos experimentalmente se han generado a través de estímulos nutricionales, como aumentos en la ingesta de carbohidratos y grasa. Se ha asociado a la ingesta de dietas ricas en grasa, particularmente de grasas o ácidos grasos de la familia n-6, con el desarrollo de resistencia a la insulina, elevaciones en las concentraciones circulantes de triglicéridos, hiperinsulinemia e hipertensión (Storlein *et al*, 1987; Kaufman *et al*, 1994).

2.11.1 Modelo inducido con sacarosa

Un modelo animal de resistencia a la insulina asociada con hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e hipertensión que ha sido ampliamente utilizado es el generado por la administración de fructosa o sacarosa en ratas. La sacarosa o fructosa ha sido administrada con la dieta en proporciones que van del 32 al 66%, o adicionada al agua de beber al 30% (Bezerra *et al*, 2000; Hafidi *et al*, 2001).

En estas ratas se han reportado alteraciones metabólicas similares a las encontradas en pacientes con el síndrome de resistencia a la insulina, con hipertensión, dislipidemia, la hiperinsulinemia, el aumento en la visceral, la resistencia a la acción de la insulina, y han sido modificadas por las mismas manipulaciones que las llevadas a cabo en humanos, por ejemplo; la disminución de la presión y las concentraciones plasmáticas de insulina y TG.

Debido a las similitudes encontradas en ratas alimentadas con fructosa o sacarosa y en pacientes con RI, este modelo animal ha sido considerado como representativo del SMet y se ha utilizado para el estudio de su naturaleza. En diversos estudios se ha descrito que en este modelo las ratas presentan además de tolerancia a la glucosa una disminución de la síntesis de glucógeno hepático, pérdida de la capacidad de insulina para suprimir la producción hepática de glucosa, una disminución en la absorción de glucosa inducida por insulina, sobreproducción de VLDL-TG, disfunción endotelial en aorta y arteria mesentérica, así como aumentos en la liperoxidación y en la permeabilidad de las membranas celulares alteración en la composición de ácidos grasos de las membranas de eritrocitos y del plasma, y una disminución en la fosforilación del receptor de insulina, del IRS-1, y de su asociación con la PI-3-kinasa y con el SHP2 en hígado y músculo (Tobey *et al*, 1982)

Aunque no se conocen aun los mecanismos por los cuales la alimentación con fructuosa o sacarosa produce las alteraciones metabólicas mencionadas anteriormente, se ha sugerido que la hipertrigliceridemia inducida por esta alimentación es resultado de la sobreproducción de VLDL-TG, ya que la fructuosa es utilizada en mayor grado para la síntesis de ácidos grasos y TG que la glucosa, y la actividad de las principales enzimas lipogénicas reguladas por insulina (acetil coenzima A carboxilasa y enzima málica) se encuentra elevada después de la ingesta de dietas ricas en sacarosa (Seboková, 1997).

Por otro lado, las elevaciones en la presión arterial, tanto en ratas normales como en ratas espontáneamente hipertensas, producidas por la alimentación con sacarosa o fructuosa parecen estar íntimamente relacionada con la presencia e hiperinsulinemia. Las elevaciones en la presión arterial solo se observan cuando hay también aumentos en los niveles circulantes de insulina. La administración de ciertos compuestos, como la somatostatina, que reducen los niveles de insulina, proviene la elevación en la presión arterial provocada por la sacarosa. Por otro lado, el ejercicio, que incrementa la sensibilidad a la insulina y reduce la hiperinsulinemia inducida por sacarosa, también atenúa el incremento en la presión arterial observado en ratas alimentadas con la misma.

Además, debido a que la ingesta de sacarosa estimula al sistema nervioso simpático, se ha también sugerido que el incremento de la presión arterial que este provoca es por efectos mediados por sistema nervioso simpático en diferentes tejidos, como en vasos sanguíneos, corazón y riñones.

El desarrollo de la RI en este modelo se ha asociado con la disminución en la capacidad de la insulina de suprimir la producción hepática y la absorción periférica de glucosa, así con alteraciones en la actividad de enzimas que controlan el metabolismo de carbohidratos, a través posiblemente de la disminución en los niveles de fosforilación del receptor de insulina, del IRS-1 y de su asociación con la PI-3-kinasa y con el SHP2 en el hígado y músculo,

reduciendo así la actividad de enzimas clave en síntesis de glucógeno, glucogenólisis y gluconeogénesis, y el transporte del acarreador de glucosa de membrana, GLUT-4, como lo reportado en el 2000 por Bezerra y colaboradores. Dichos cambios se asocian con alteraciones en el metabolismo de ácidos grasos, los cuales provocan cambios en la composición de los fosfolípidos de membrana y por tanto cambian la viscosidad y la actividad de las proteínas asociadas a ellas.

Por otro lado, hoy en día, México ocupa los primeros lugares en obesidad y diabetes mellitus tipo 2, los cuales forman parte de lo que se conoce como Síndrome Metabólico (SMet). Para prevenirlo y tratarlo, se han utilizado estrategias terapéuticas farmacológicas y no farmacológicas; entre estas últimas se encuentra la administración de determinados ácidos grasos como parte de la dieta o en suplementos, entre los que se encuentran los ácidos grasos esenciales ω -3, ω -6, el ácido oleico, linoleico conjugado (CLA), entre otros.

La obesidad y sus complicaciones metabólicas se asocian con una mayor expresión / actividad de esteroil-CoA desaturasa-1 (SCD1), un importante regulador del metabolismo de los lípidos. La reducción o ablación de esta enzima se asocia con un perfil metabólico mejorado y ha ganado atención como un objetivo para el desarrollo farmacéutico.

El aceite de estercúlico (SO) es un inhibidor conocido de SCD1 y puede proporcionar un acercamiento natural para tratar obesidad o resistencia de insulina. Las semillas de *Sterculia apetala* pertenecientes al grupo de las Malváceas contienen en su aceite importantes cantidades de dos ácidos ciclopropenoicos: el ácido malválico (1.3%) y el ácido estercúlico (56.3%), que son potentes inhibidores de la enzima Δ 9-desaturasa. Existen reportes del efecto benéfico que tiene la inhibición de la actividad Δ 9-desaturasa en la diabetes, la resistencia a la insulina y la dislipidemia.

El propósito de este estudio fue evaluar los efectos del consumo de aceite estercúlico y aceite de alga sobre el tejido adiposo y tejido hepático de ratas wistar con síndrome metabólico

Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la administración simultánea del aceite estercúlico y el aceite de alga, los parámetros característicos del síndrome metabólico, determinar el efecto de la administración sobre las características histológicas del tejido adiposo y tejido hepático, así como evaluar la composición de lípidos de membrana en ambos tejidos.

3. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de la administración simultánea de aceite estercúlico (SO) y aceite de alga rico en AGPI ω 3 (Aa) sobre los parámetros bioquímicos y las características histológicas del tejido adiposo y hepático en un modelo murino de síndrome metabólico inducido por sacarosa.

Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la administración simultánea de aceite estercúlico y aceite de alga sobre los parámetros del síndrome metabólico.
- Determinar el efecto de la administración simultánea aceite estercúlico y aceite de alga sobre las características histológicas del tejido adiposo y tejido hepático.

4. METODOLOGÍA

Materiales y Métodos

4.1 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron 30 ratas Wistar machos de 21 días de edad, adquiridas de la empresa DNA MEX, que fueron mantenidos y alimentados *ad libitum*, bajo condiciones estériles y libres de patógenos en el bioterio del Instituto de Investigaciones Psicológicas (IIP) de la Universidad Veracruzana. Todos los experimentos fueron realizados bajo las leyes y normas mexicanas para el trato y protección de animales de laboratorio.

4.2 MODELO INDUCIDO EXPERIMENTALMENTE

Para la obtención de un modelo inducido en el laboratorio se utilizaron 30 ratas Wistar macho recién destetadas (21 días de edad), las cuales fueron distribuidas en 5 grupos: 6 ratas al grupo testigo sano; y 24 ratas al grupo experimental.

Ambos grupos recibieron una dieta de mantenimiento constituida por proteína cruda al 23%, grasa cruda 3%, fibra cruda 6.0%, y minerales 2.5% (Nutricubos S. de C. V.); al grupo experimental se administró sacarosa al 30% en el agua de beber, y el grupo testigo solo agua purificada; todo lo anterior *ad libitum* (FIGURA 4.1). Los murinos fueron mantenidos en un ciclo luz/oscuridad de 12/12h, a 25°C, durante 18 semanas. Al finalizar la inducción, se evaluaron niveles séricos de glucosa, colesterol y triglicéridos, así como el peso de cada una de las ratas para comprobar el desarrollo del SMet (FIGURA 4.2).

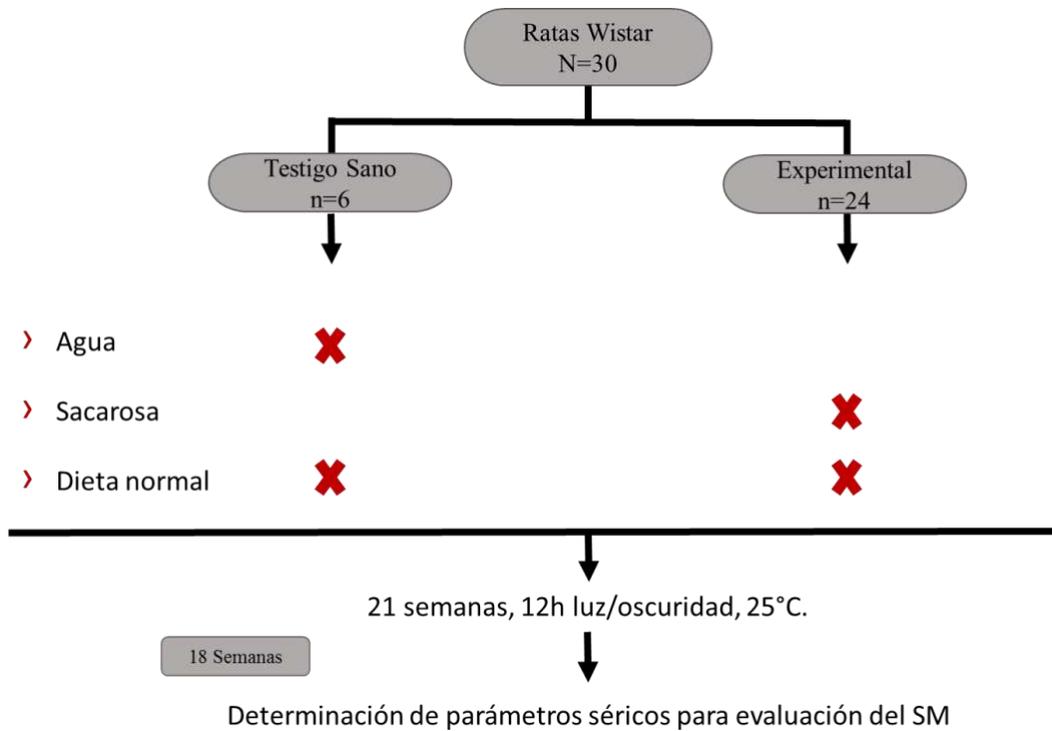


FIGURA 4.1 Metodología para la obtención de un modelo de síndrome metabólico, inducido con sacarosa al 30% en agua para beber.



FIGURA 4.2 Evaluación del estado metabólico después de la inducción del SMet. Sujeción del individuo preparando el área peritoneal del cuadrante inferior derecho (a), administración intraperitoneal de xilazina y ketamina (b), individuo preparado para el procedimiento (c), corte de cola y obtención de sangre (d), análisis rápido en Accu Chek® (e), análisis colorimétrico para evaluar el estado metabólico (f).

4.3 ADMINISTRACIÓN DE LA DIETA EXPERIMENTAL

Una vez inducido el síndrome metabólico, el grupo alimentado con sacarosa fue dividido en cuatro grupos, cada uno con una n igual a seis ratas, que fueron alimentados con la dieta de mantenimiento, la sacarosa al 30% en el agua de beber, y un bolo de aceite por vía intragástrica del 3.5 % de la grasa de la dieta. Los grupos fueron: grupo testigo con SMET (TSMet) que recibió aceite de maíz y canola relación 1:1 (0.38 g de mezcla/rata/día); grupo con síndrome metabólico que recibió aceite estercúlico (SmSo) (aceite estercúlico 1.15 % (0.126 g/rata/día, y mezcla maíz canola 2.3 % (0.258 g/rata/día); grupo síndrome metabólico que recibió aceite de alga (SmAa) (aceite de alga marca *life'sDHA*, presentación liofilizado, 3.5 % (0.38 g/rata/día); y grupo síndrome metabólico que recibió aceite estercúlico y Aa (SmSoAa) (aceite estercúlico 1.15 % (0.126 g/rata/día, y aceite de alga 2.3 % (0.258 g/rata/día). La administración de los aceites fue por vía intragástrica mediante canulación, durante 8 semanas. El grupo testigo sano recibió la dieta de mantenimiento, agua sin sacarosa para beber, y aceite de maíz y canola relación 1:1 (0.38 g de mezcla/rata/día) (FIGURA 4.3). Posteriormente se realizó el sacrificio de cada individuo, se recolectó sangre y órganos de interés para su posterior análisis, dichas pruebas se describen a continuación.

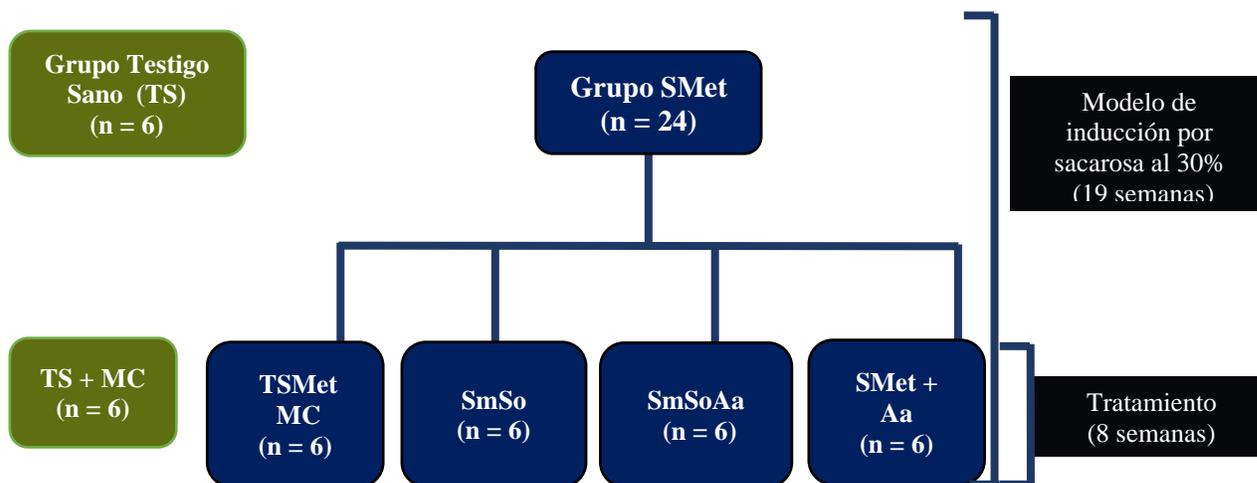


FIGURA 4.3 Metodología para evaluar el efecto de las dietas experimentales sobre murinos con SM.

4.3.1 Aceites administrados

Los aceites administrados a los grupos experimentales fueron: mezcla de aceite de maíz-canola 1:1 (marca mazola en el primer caso y marca canoil en el siguiente), aceite estercúlico extraído como se detalla en la siguiente sección,

y aceite de alga proveniente de un preparado comercial *Life's DHA™* S10-P200 de Grupo Harmony, que contiene entre 30 y 40 % de aceite de alga, 30-40 % de sólidos de jarabe de glucosa, 20-25 % de almidón de maíz y 5-10 % de manitol. En la Tabla 4.1 se muestra la composición de ácidos grasos de los aceites utilizados.

Tabla 4.1 Composición de ácidos grasos de los aceites administrados a los grupos experimentales.

Ácidos grasos	Maíz-Canola %	Aceite estercúlico %	Aceite de alga %
Ácido mirístico (C14:0)	nd	Nd	5.06
Ácido palmítico (16:0)	5.76	21.80	20.64
Ácido esteárico (C18:0)	1.40	17	1.11
Ácido araquidónico (C20:0)	0.010	Nd	Nd
Ácido palmitoleico (C16:1)	0.013	12.99	Nd
Ácido oleico (C18:1)	56.19	18.70	16.92
(C18:1) isómero	nd	16.61	Nd
Ácido ecosanoico (C20:1)	0.033	Nd	Nd
Ácido linoleico (C18:2)	33.71	8.94	Nd
Ácido linolénico (C18:3)	2.85	Nd	Nd
Ácido eicosapentanoico-EPA (20:5)	nd	Nd	12.18
Ácido docosahexaenoico-DHA (22:6)	nd	Nd	44.10
Ácido malválico	nd	5.25	Nd
Ácido estercúlico	nd	29.32	Nd
Dihidroestercúlico	nd	9.49	Nd
Total ciclopropenoicos	nd	44.06	Nd

4.4 EXTRACCIÓN DE ACEITE ESTERCÚLICO

Las semillas de *Sterculia apetala* fueron recolectadas en la carretera San Andrés-La Redonda-Río Tuxtla, Veracruz. La identificación taxonómica y la ubicación de los árboles fueron proporcionadas por la Estación de Biología Tropical “Los Tuxtlas” del Instituto de Biología de la UNAM.

Las semillas se limpiaron, se les retiró la cáscara y la testa, y se trituroó la pulpa en un mortero. La masa obtenida se mezcló con hexano durante cinco días para extraer el aceite. El hexano se evaporó completamente en un rotaevaporador (Buchi R-100), y el aceite obtenido se almacenó a -10 °C para su posterior análisis (FIGURA 4.4). La determinación de ácidos grasos del aceite se realizó de acuerdo a la técnica de Christie (1982).

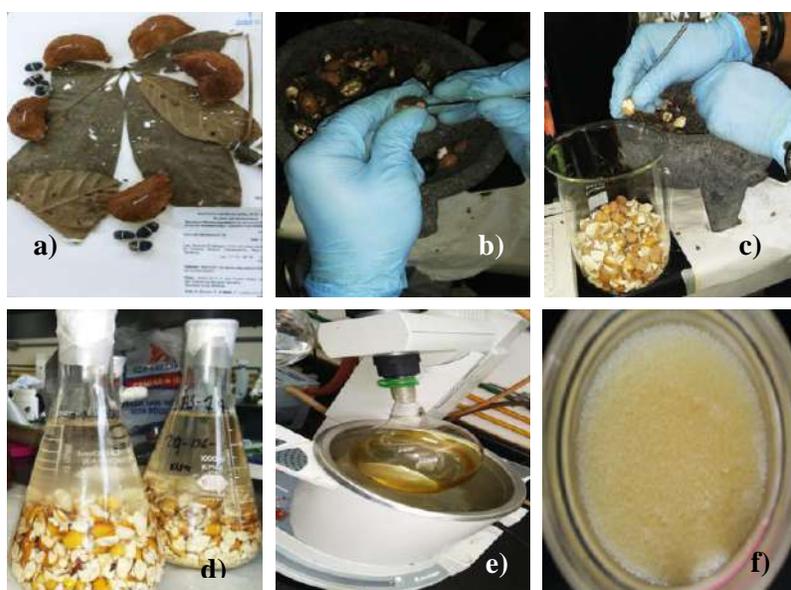


FIGURA 4.4 Extracción del aceite de la semilla de *Sterculia apetala*. Identificación taxonómica (a), obtención de la semilla sin testa (b), trituroación de la misma en mortero (c), maceración en frío con *n*-hexano (d), eliminación de solvente y agua por medio de concentración a vapor (e), extracto crudo del aceite estercúlico (d).

4.5 DETERMINACIÓN DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS.

Metilación

La metilación de las muestras se realizó conforme a la metodología de Christie (1982). Para ello, 3 mg de aceite estercúlico, de aceite de alga y de aceite maíz-canola se mezclaron con 2 mL de hexano en un tubo de vidrio. Posteriormente se adicionaron 40 mL de metil acetato y 80 mL de metóxido de sodio a cada muestra, se mezcló y se incubó a 50 °C por 15 min.

Después de la metilación, se adicionaron 2 mL de agua a cada muestra y se mezcló y centrifugó a 3200 rpm durante 5 min a temperatura ambiente. Finalmente, el sobrenadante se transfirió a un vial para cromatografía de gases.

Cromatografía de gases

Los ésteres metilados de los ácidos grasos (FAME) se analizaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). Para ello se utilizó un cromatógrafo Agilent Technologies, modelo 6890N y un espectrómetro de masas marca Agilent Technologies modelo 5975 inert XL. Los espectros de masas se obtuvieron mediante ionización por impacto electrónico a 70 eV. La identificación de los picos de cada ácido graso se realizó por comparación de los espectros que se obtienen de la biblioteca HP Chemstation- NIST 05 Mass Spectral Research Program Version 2.0d y se confirman con sus respectivos estándares. Los FAME fueron eluidos utilizando una columna capilar DB-5 (60 m x 0.25 mm x 0.25 µm). La temperatura de la columna se estableció de la siguiente manera: la temperatura inicial fue de 40 °C durante 5 min, posteriormente se incrementó hasta 210 °C a una velocidad de 30 °C/min, luego se aumentó a 213 °C a una velocidad de 1 °C /min. Finalmente, se alcanzó la temperatura de 225 °C a una velocidad de 20 °C /min y así se mantuvo por 40 min.

4.6 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE ALTERACIÓN METABÓLICA.

A continuación se detallan los parámetros evaluados en las ratas y las técnicas por las cuales se llevó a cabo dicho proceso.

4.6.1 Peso

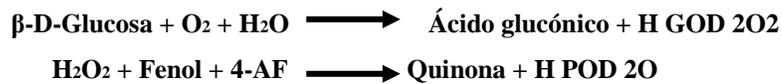
Una vez por semana los animales se pesaron en una báscula marca OHAUS Mod. GT 2100, inmovilizándolos en un cilindro para evitar interferencias en la lectura del peso.

4.6.2 Determinaciones séricas

En esta sección se detallan las determinaciones séricas de perfil lipídico, renal y hepático.

4.6.2.1 Determinación de glucosa plasmática.

La determinación de la glucosa se llevó a cabo con Glucosa LQ (SPINREACT), por la catálisis de la oxidación de glucosa a ácido glucónico por la enzima glucosa oxidasa (GOD). El peróxido de hidrógeno (H₂O₂) producido se detectó indirectamente por fenol y aceptor cromogénico de oxígeno, 4-aminofenazona (4-AF) catalizado por peroxidasa (POD) (Kaplan, 1984).



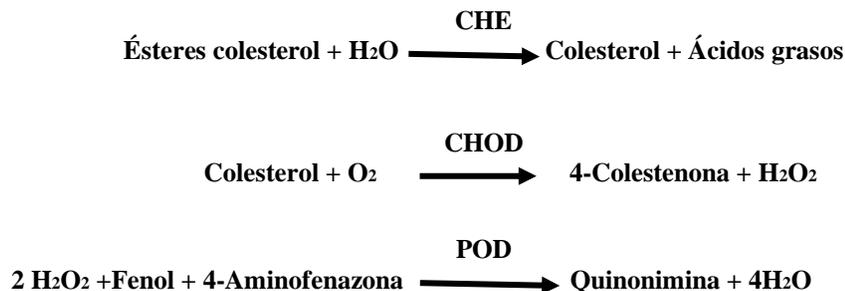
La intensidad del color es proporcional a la concentración de glucosa en la muestra.

Para llevar a cabo las pruebas, se descongelaron las muestras, se tomó 10µL de suero o patrón y 1mL de reactivo previamente atemperado a 25°C, y se incubaron a 25°C por 20 min. La lectura de la absorbancia se realizó en un espectrofotómetro a 505nm. Se utilizó la siguiente fórmula para calcular la concentración (SPINREACT 2017).

$$\frac{(\text{A}) \text{ Muestra} - (\text{A}) \text{ Blanco}}{(\text{A}) \text{ Patrón} - (\text{A}) \text{ Blanco}} \times \text{Concentración de patrón} = \text{mg/dL}$$

4.6.2.2 Determinación de Colesterol

La determinación de colesterol se realizó con el reactivo Colesterol LQ (SPINREACT), el principio de la prueba se basa en la reacción llevada a cabo por la enzima colesterol esterasa (CHE) con los ésteres de colesterol, liberando colesterol y ácidos grasos, seguidos de la reacción de la enzima colesterol oxidasa (CHOD) con el colesterol, liberando 4-colestenona más H₂O₂, que reacciona con peroxidasa dando quinonimina, que es un compuesto color rosado (Meiattini, *et al.*, 1978).

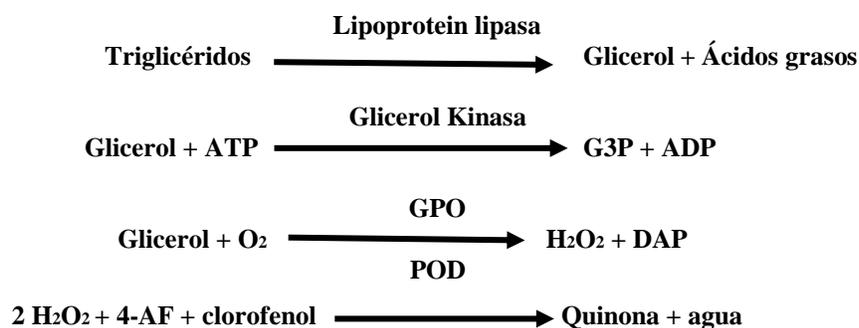


Las muestras de suero y reactivos fueron atemperados antes de su uso y se utilizaron colocando 10 µL de suero o patrón y 1 mL de reactivo, se mezclaron e incubaron a 25 °C por 10 min, la lectura de la absorbancia se realizó en un espectrofotómetro a 505 nm. Se utilizó la siguiente fórmula para calcular la concentración (SPINREACT 2017):

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times \text{Concentración de patrón} = \text{mg/dL}$$

4.6.2.3 Determinación de Triglicéridos

La determinación de triglicéridos se realizó con el reactivo Triglicéridos LQ (SPINREACT). El principio químico del método es la liberación del glicerol proveniente de los triglicéridos por la enzima lipoproteinlipasa (LPL), después el glicerol es fosforilado por el glicerol quinasa (GK) y ATP, para producir glicerol- 3 – fosfato (G3P) mas ADP. El G3P y O₂ es convertido a H₂O₂ mas hidroxiacetona (DAP) por el glicerol fosfato deshidrogenasa (GOP). La última reacción se lleva a cabo entre H₂O₂, 4-aminofenazona y p-clorofenol catalizado por peroxidasa resultando en un compuesto color rosa (quinona) y agua (Bucolo y David, 1973; Fossati y Prencipe, 1982).

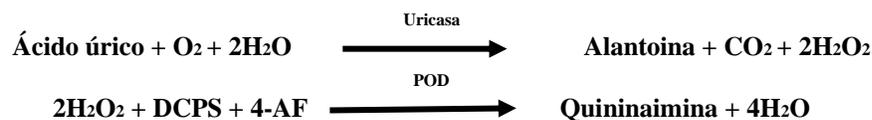


Las muestras de suero y reactivos fueron atemperados antes de su uso y se utilizaron colocando 10 µL de suero o patrón y 1 mL de reactivo, se mezclaron e incubaron a 25 °C por 10 min, la lectura de la absorbancia se realizó en un espectrofotómetro a 505 nm. Se utilizó la siguiente fórmula para calcular la concentración (SPINREACT 2017):

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times \text{Concentración de patrón} = \text{mg/dL}$$

4.6.2.4 Determinación de ácido úrico

La determinación se realizó con los reactivos Ácido úrico LQ (R1 y R2 SPINREACT). El principio del método se basa en la oxidación del ácido úrico por la enzima uricasa a alantoina y peróxido de hidrógeno, que se reduce en presencia de 4-aminofenazona y 2-4 diclofenol sulfonato (DCPS), resultando en un compuesto rosáceo (quininaimina) (Fossati y Prencipe, 2010).



En primer lugar se descongelaron las muestras y se atemperaron junto con los reactivos, los cuales se mezclaron en partes iguales para formar una nueva solución, se tomaron 25 µL de muestra o patrón y se colocaron en un tubo, después se agregó 1 mL de la solución a cada tubo y se incubó por 10 min a 25 °C. Las muestras fueron leídas en un espectrofotómetro a 520 nm y se determinó la concentración por la siguiente fórmula (SPINREACT, 2017):

$$\frac{(\text{A}) \text{ Muestra} - (\text{A}) \text{ Blanco}}{(\text{A}) \text{ Patrón} - (\text{A}) \text{ Blanco}} \times \text{Concentración de patrón} = \text{mg/dL}$$

4.6.2.5 Determinación de creatinina

La determinación de creatinina se realizó con los reactivos Creatinine J (R1y R2 SPINREACT). El principio se basa en el método de Jaffé descrito en el año de 1886 donde la creatinina reacciona con el ácido pícrico en solución básica dando un compuesto rojizo. El método de Jaffé es un método colorimétrico que tiene algunos compuestos que interfieren positiva o negativamente, sin embargo al medirlo en forma cinética se vuelve un método confiable (Jaffé, 1886; Perazzi y Angerosa, 2011; Salerno, 2011).

Para ello se atemperaron los reactivos y las muestras. Los reactivos de ácido pícrico e hidróxido sódico se mezclaron en partes iguales. Se agregó 100 µL de muestra o patrón a una celda de plástico y 1 mL de la mezcla de reactivos, se midió la absorbancia a 492 nm en dos tiempos (30 seg y 10 seg) para la cinética. Se determinó la concentración por la siguiente fórmula (SPINREACT, 2017):

$$\frac{(\Delta\text{A}) \text{ Muestra} - (\Delta\text{A}) \text{ Blanco}}{(\Delta\text{A}) \text{ Patrón} - (\Delta\text{A}) \text{ Blanco}} \times \text{Concentración de patrón} = \text{mg/dL}$$

4.6.2.6 Determinación de urea

La determinación de urea se realizó con Urea 37 (R1 y R2 SPINREACT). La urea presente en la muestra reacciona con o-ftalaldehído en un medio ácido dando un compuesto coloreado (Gindler y Daskalakis, 1984).

Se utilizó el método cinético. Para ello los reactivos se colocaron en una incubadora a 37 °C y las muestras se dejaron atemperar a temperatura ambiente, se agregó 1mL de R1 (o-ftalaldehído) a una celda y después 50 µL de muestra o patrón, se mezcló y se incubó por 1 minuto, después se añadió 1 mL de R2 (solución ácida), se mezcló y se midió absorbancia en un espectrofotómetro a 510 nm a 1 min y 2 min. Se utilizó la siguiente fórmula para realizar los cálculos (SPINREACT 2017):

$$\frac{(\Delta A) \text{ Muestra} - (\Delta A) \text{ Blanco}}{(\Delta A) \text{ Patrón} - (\Delta A) \text{ Blanco}} \times \text{Concentración de patrón} = \text{mg/dL}$$

4.6.27 Determinación de albúmina

La determinación se realizó con el reactivo Albúmina (SPINREACT). El principio químico se basa en que la albumina presente en la muestra reacciona con el verde de bromocresol, y al irse basicando en el medio por la concentración de proteína, cambia de amarillo verdoso a verde azulado (Webster, *et al*; 1974).

Para la realización de esta prueba se atemperaron reactivos y muestras, se añadieron 5 µL de muestra o patrón a un tubo y se agregó 1 mL de reactivo (verde de bromocresol), se mezcló e incubó por 10 min a temperatura ambiente para después leer la absorbancia a 630 nm. Para la obtención de la concentración, se utilizó la siguiente formula (SPINREACT, 2017):

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times \text{Concentración de patrón} = \text{g/dL}$$

4.7 ANÁLISIS EN ÓRGANOS

Se determinó la composición de ácidos grasos y se analizó la histología de los tejidos adiposo y hepático.

4.7.1 Obtención de membranas celulares del tejido adiposo y hepático

Se utilizó tejido adiposo retroperitoneal. Los órganos obtenidos y almacenados a -70 °C, fueron descongelados; se pesó tres gramos de muestra, se colocaron en un homogeneizador de vidrio con pistilo de teflón sobre hielo, adicionando un amortiguador de Bouskella-Krebs-Ringer-Tris pH 7.4 (NaCl 120 mm, CaCl 1.4mm, KCl 5.2 mm, MgSO4 1.4 mm, Tris 5 mm) a 4°C. El homogeneizado se filtró a través de dos capas de gasa y se centrifugó a 40 000 x g a 4 °C durante 40 minutos. El sobrenadante y la capa de grasa formadas se desecharon y el precipitado se resuspendió, con la ayuda del pistilo de teflón sobre hielo, en 5 mL de amortiguador Krebs-Ringer-Tris pH 7.4 y 1.25 mL de Percoll.

La preparación se centrifugó a 16 000 x g durante 20 min a 4 °C y se recuperó la capa blanca de la interface donde se localizaban las membranas celulares. Ésta fue diluida con un amortiguador Tris-Cloruro de Magnesio pH 7.5 (Tris 50 mm, MgCl 10mm) y centrifugada a 16,000 x g durante 10 minutos a 4 °C. El sobrenadante fue desechado y el precipitado se almacenó a -70°C para su posterior análisis.

4.7.2 Extracción de los lípidos de las membranas celulares

Los lípidos fueron extraídos por el método de Folch (Folch *et al.*, 1957). Las membranas celulares precipitadas se descongelaron y se resuspendieron en 1 mL de amortiguador Tris-Cloruro de magnesio pH 7.5. A 1 mL de la preparación de la membrana se le añadió 16 mL de la mezcla de Folch (cloroformo metanol 2:1 v/v). Se agitó en vortex durante 1 min y se añadieron 3 mL de NaCl al 0.73 %. Se agitó vigorosamente en vortex durante 1 min y posteriormente se centrifugó a 16 000 x g a 4°C durante 20 min. La fase superior se desechó y se recuperó la fase inferior en la cual se localizan los lípidos, sin arrastrar la interface de proteína formada. A la fase recuperada se le adicionó 7.5 mL de una mezcla cloroformo-metanol-NaCl 0.73 % (3:48:47 v/v/v), con el fin de eliminar las trazas de proteínas. Se agitó vigorosamente durante 1 min y se dejó separar durante 4 h a 4 °C. La fase superior fue desechada y la inferior fue filtrada a través de sulfato de sodio anhidro, colocado en un embudo de vidrio con papel filtro Watman, para eliminar impurezas y restos de agua. El filtrado se recuperó en un matraz balón (previamente llevado a peso constante) y se evaporó al vacío en un concentrador a 30 °C y posteriormente con flujo de nitrógeno. El extracto se resuspendió con cloroformo (BHT 0.02 %) en una proporción de 10 mg de lípidos por mL de cloroformo y se congeló a -20 °C para su posterior utilización. La diferencia en el peso del matraz vacío y después de la evaporación se utilizó para calcular la cantidad de lípidos extraídos. La determinación de ácidos grasos de las membranas se realizó de acuerdo a la técnica de Christie (1982), descrita arriba.

Cromatografía de gases

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAME) se analizaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). Se utilizó un cromatógrafo de gases (Hewlett Packard Modelo 61800B, GCD system). Con una columna capilar Carbo-Wax (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) usando un automuestreador 53 eber-splitless.

La temperatura de la columna se programa de la siguiente manera: la temperatura inicial es de 80°C durante 5 min, posteriormente se incrementa hasta 250 °C a una velocidad de 30 °C/min, y se mantiene por 25 min. Se utiliza helio como gas acarreador y los espectros de masas se obtienen mediante ionización por impacto electrónico a 70 Ev.

La identificación de los picos de cada metil éster se realiza por comparación de los espectros obtenidos, con los que contiene la biblioteca HP Chemstation- NIST 05 Mass Spectral Research Program Version 2.0 d y son confirmados a través de un estándar de 37 FAME Mix (18919-1AMP Supelco FAME Mix). Todos los químicos y los solventes utilizados son de grado analítico.

4.7.3 Análisis histológico

Para la realización del análisis histológico se obtuvieron los órganos de interés por medio de una incisión paramediana que se extendía desde el cartílago xifoides del esternón hasta el pubis y otra sobre cada arco costal hacia dorsal permitiendo la observación de los seis lobulillos del hígado. El hígado se ubicaba sobre la cara caudal del diafragma extendiéndose a ambos lados del plano mediano desde el arco costal derecho hasta el izquierdo.

Presentaba para su estudio las caras: parietal (craneal) de forma convexa relacionada al músculo diafragma y una cara visceral (caudal) cóncava relacionada al estómago y parte craneal del duodeno. Se observó que estaba dividido en los lóbulos derechos (lateral y medial), izquierdos (lateral y medial), cuadrado (muy pequeño) y caudado el cual presenta los procesos caudado y papilar (subdividido en parte dorsal y ventral). Se realizó una biopsia incisional en el lóbulo lateral derecho de cada hígado por individuo. Se extrajo también el tejido adiposo abdominal, epididimal e intercostal.

Para realizar los cortes histológicos, primero se llevó a cabo la fijación en formalina al 10%. Para la inclusión en parafina, se realizó previamente la deshidratación de los tejidos en alcoholes de concentración creciente hasta llegar a alcohol absoluto (60% - 100%). La metodología seguida se muestra en la Tabla 4.2.

El proceso de infiltración se realizó de forma manual con escuadras de acero inoxidable en la parafina fundida. Finalmente, se realizaron los cortes histológicos en láminas delgadas de 7µm en los microtomos (*Leyca* y *Thermo Scientific*). Los cortes se recogieron de manera seriada, con ayuda de un pincel se depositaron sobre la superficie de un baño de agua caliente (40 °C) donde se colocaron por cada litro de agua cuatro gramos de proteína de cerdo; luego se recogieron sobre portaobjetos y se dejaron secar en una estufa para que se adhieran al vidrio.

Para teñir las laminillas se utilizó la técnica de hematoxilina y eosina, siguiendo el protocolo original descrito en la sección de anexos.

Tabla 4.2 Protocolos de deshidratación, aclaramiento e impregnación de tejido hepático y tejido adiposo.

TEJIDO HEPÁTICO	
Deshidratación	Tiempo
Alcohol 60%	15 min
70%	20 min
80%	20 min
96%	30 min
96%	30 min
100%	30 min
100%	30 min
Aclaramiento	
OH – Xilol (1:1)	20 min
Xilol	20 min
Xilol	20 min
Impregnación	
Paraplast Xtra I	30 min
Paraplast Xtra II	30 min
Paraplast Xtra III	3 h
TEJIDO ADIPOSO	
Deshidratación	Tiempo
Alcohol 70%	30 min
80%	30 min
96%	60 min
100%	60 min
Aclaramiento	
OH – Xilol (1:1)	30 min
Xilol	30 min
Xilol	30 min
Impregnación	
Paraplast Plus I	2 -3 h
Paraplast Plus II	18 – 20 h Recambio cada 6 h

Así mismo, el análisis de imagen se realizó en un microscopio óptico (ZEISS Axio) con cámara adaptada (PROGEST). Para las mediciones celulares (diámetro, número de células, volumen) se utilizó el programa AXIO VISION.

4.7.4 Análisis estadístico.

Los datos fueron presentados como medias \pm desviación estándar (DE). El análisis estadístico se realizará mediante estadísticas descriptivas básicas, análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de Tukey $p < 0.05$.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Obtención del modelo de síndrome metabólico

El síndrome metabólico (SMet) es un conjunto de factores fisiológicos, bioquímicos y clínicos interconectados, que incluyen la dislipidemia aterogénica, hipertensión, estado inflamatorio y obesidad, y que conllevan a un mayor riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo II (DM II) y enfermedad cardiovascular en el individuo.

El SMet se generó en las ratas a través de la administración de sacarosa al 30 % en el agua de beber. En la FIGURA 5.1 se observa un nivel significativamente elevado de los niveles séricos de triglicéridos, colesterol y glucosa, así como del peso corporal del grupo SMet respecto al grupo TS, lo que confirma que el grupo de ratas TSMet desarrolló síndrome metabólico.

La administración de sacarosa o fructosa a animales de experimentación ha sido ampliamente usado para generar síndrome metabólico, ya que se ha demostrado que causa obesidad, acumulación de grasa visceral, esteatosis hepática, elevaciones en la presión arterial y en los niveles séricos de insulina, triglicéridos, glucosa, ácidos grasos libres, además de generar resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa (Dupas, *et al.*, 2017, Reyes-Saldaña *et al.*, 2015, Herrera-Meza *et al.*, 2013).

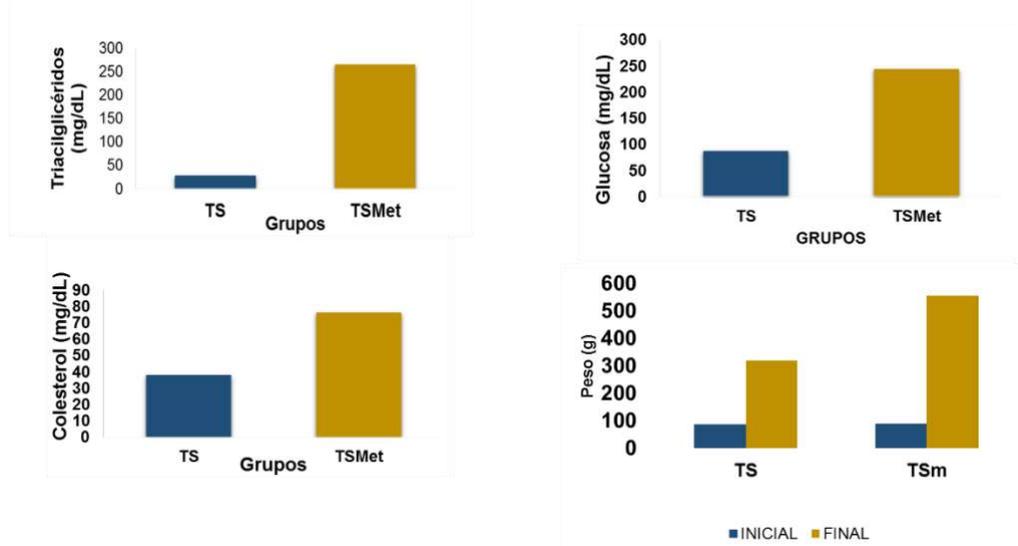


FIGURA 5.1 Niveles séricos de triglicéridos, colesterol y glucosa, y peso corporal después de 18 semanas de administración de sacarosa al 30% en el agua de beber (inducción del SMet). Testigo sano (TS) y grupo de inducción con sacarosa al 30% (TSMet). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística.

5.2 Administración de los aceites por vía intragástrica

Una vez obtenido el modelo de SMet, se administraron los aceites a los grupos experimentales y se analizó el efecto sobre parámetros del síndrome metabólico.

Peso corporal

En la FIGURA 5.2 se muestran los pesos corporales después de las ocho semanas de tratamiento, en donde se observa que el grupo TSMet tuvo un peso corporal significativamente más elevado que el del testigo sano (600 g vs 350 g; $p > 0.05$), lo que representó una elevación del 71% del peso corporal por efecto de la administración de sacarosa. La administración de los aceites (aceite de alga, aceite estercúlico, y la mezcla alga-estercúlico) no tuvo un efecto significativo sobre el peso corporal de las ratas, al no mostrar diferencia significativa con respecto a la grupo TSMet. Estos datos coinciden con lo reportado por Reyes Saldaña (2015), Herrera-Meza *et al.* (2013), y Ortinau *et al.* (2013), quienes no encontraron modificaciones en el peso corporal de ratas con síndrome metabólico inducido por sacarosa, ratas hipertensas espontáneas SHR, y ratas obesas OLEFT, respectivamente, después de la administración de aceite estercúlico.

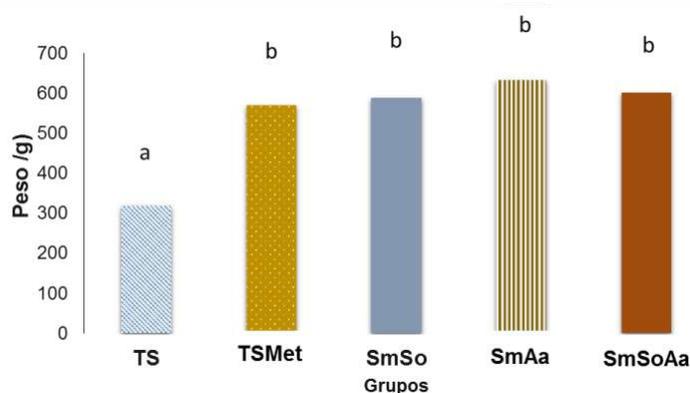


FIGURA 5.2 Peso corporal promedio de las ratas de los grupos experimentales, después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSo), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística.

Circunferencia abdominal

La circunferencia abdominal fue significativamente mayor en el grupo TSMet con respecto al grupo TS (25 cm vs 20; $p < 0.05$) (FIGURA 5.3). En este caso, únicamente la administración de aceite estercúlico provocó una disminución en el valor de circunferencia abdominal, hasta el nivel encontrado en el TS, mientras el aceite de alga y la mezcla de aceite estercúlico-alga no tuvieron efecto. Estos resultados son similares lo reportado por Cerdnaes y colaboradores en el 2013, quienes encontraron que la administración de aceite estercúlico disminuyó la circunferencia abdominal en ratas alimentadas con una dieta rica en grasas.

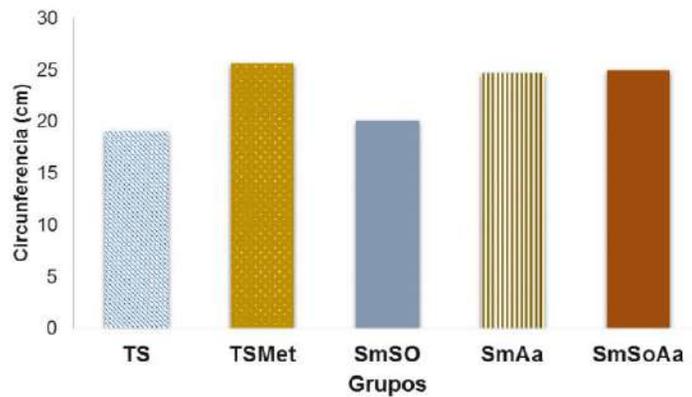


FIGURA 5.3 Circunferencia abdominal promedio de las ratas de los grupos experimentales, después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SMSO), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SMSOaA). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística.

5.2 Análisis histológico de tejido adiposo y tejido hepático.

Actividad de la SCD

El efecto de los aceites administrados sobre la actividad de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa fue determinado por el índice de desaturación, considerado como la relación de los ácidos C16:1/C16:0 y C18:1/C18:0, en las membranas del tejido adiposo y hepático. Como puede observarse en la Tabla 5.1, el índice de desaturación fue mayor en las ratas con síndrome metabólico (TSMet) en comparación con la de las ratas sanas (TS), demostrando que la actividad de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa se incrementa en la obesidad y el síndrome metabólico, como ya ha sido descrito anteriormente (Ortinou *et al.*, 2013; Alsharari *et al.*, 2017). Por otra parte, se puede observar que la actividad de la $\Delta 9$ -desaturasa se vio disminuida en los dos grupos que recibieron el aceite estercúlico (SmSo y SmSoAa), que es el objetivo de la administración de este aceite, como ha sido reportado previamente (Herrera-Meza *et al.*, 2013; Ortinou *et al.*, 2013).

Tabla 5.1 Índice de desaturación promedio del tejido adiposo abdominal y hepático de las ratas de los grupos experimentales, después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSo), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística.

Grupo	Tejido Adiposo	Hígado
	16:1/16:0	
TS	0.193 ± 0.036 a	0.138 ± 0.010 a
TSMet	0.523 ± 0.064 b	0.513 ± 0.089 b
SmSo	0.389 ± 0.069 c	0.248 ± 0.085 ac
SmAa	0.552 ± 0.025 b	0.509 ± 0.055 b
SmSoAa	0.431 ± 0.041 c	0.353 ± 0.074 c
	18:1/18:0	
TS	4.160 ± 0.966 a	3.267 ± 0.517 ac
TSMet	7.447 ± 2.602 b	4.802 ± 1.265 ab
SmSo	5.009 ± 0.645 ab	3.651 ± 1.050 acd
SmAa	5.935 ± 1.465 ab	5.427 ± 1.320 bd
SmSoAa	4.615 ± 0.903 a	2.265 ± 0.375 c

Pesos

En la Tabla 5.2 se observan los pesos del tejido adiposo abdominal, epididimal y del tejido hepático, en donde se puede observar que en el grupo con síndrome metabólico (TSMet), el peso de los tejidos adiposo y hepático fue significativamente mayor que en las ratas del grupo testigo sano (TS). Sin embargo, los pesos de estos tejidos no se vieron modificados después de la administración de los aceites. Esto concuerda con lo reportado por Major y colaboradores en el 2008 y Cerdanaes y colaboradores en el 2013, quienes no observan diferencias estadísticamente significativas en los pesos de órganos de ratas alimentadas con una dieta rica en grasas y en hámster's alimentados con una dieta rica en colesterol.

Tabla 5.2 Peso promedio del tejido adiposo epididimal, abdominal y hepático de las ratas de los grupos experimentales, después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSo), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística.

Tejido	TS (g)	TSMet (g)	SmSo (g)	SmAa (g)	SmSoAa (g)
Adiposo Abdominal	8.3 ^a	39.2 ^b	36.4 ^b	41.0 ^b	38.1 ^b
Adiposo Epididimal	6.7 ^a	20.9 ^b	18.7 ^b	21.6 ^b	19.7 ^b
Hepático	12.2 ^a	18.7 ^b	17.8 ^b	17.3 ^b	16.9 ^{ab}

Cortes histológicos

Se realizaron cortes histológicos del tejido adiposo abdominal y del tejido hepático, y el análisis de imagen se realizó en un microscopio óptico (ZEISS Axio) con cámara adaptada (PROGEST). La determinación del volumen celular se llevó a cabo con el programa AXIO VISION.

En la FIGURA 5.4 se observan los cortes histológicos del tejido adiposo en donde se puede apreciar cualitativamente que el grupo TSMet muestra una hipertrofia de los adipocitos, en comparación con el grupo TS. Se determinó el volumen celular promedio de cada grupo experimental, y puede observarse (FIGURA 5.5) que los tres aceites provocaron una disminución del volumen de los adipocitos: el aceite maíz-canola provocó una disminución del 45 %, el aceite de alga del 61 %, y en particular la mezcla de aceite estercúlico-alga (Grupo SmSoAa) generó la mayor disminución, del 73 %, alcanzando los valores de las ratas sanas.

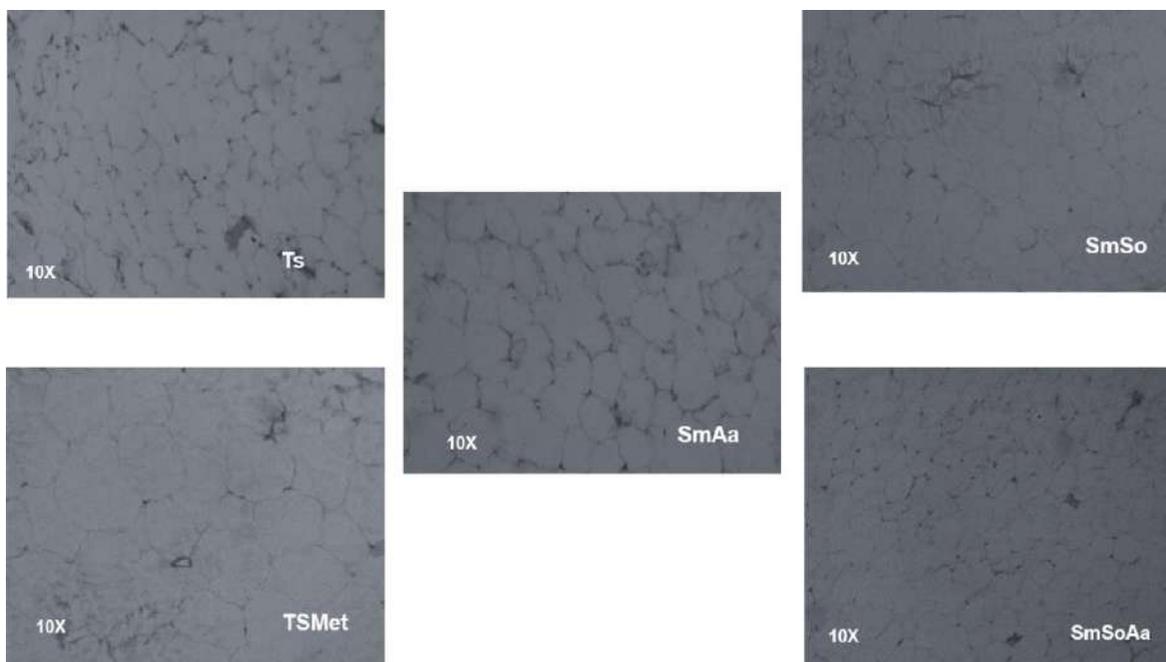


FIGURA 5.4 Cortes histológicos del tejido adiposo abdominal de los grupos experimentales, después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSo), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística. Software utilizado “AxioVision”.

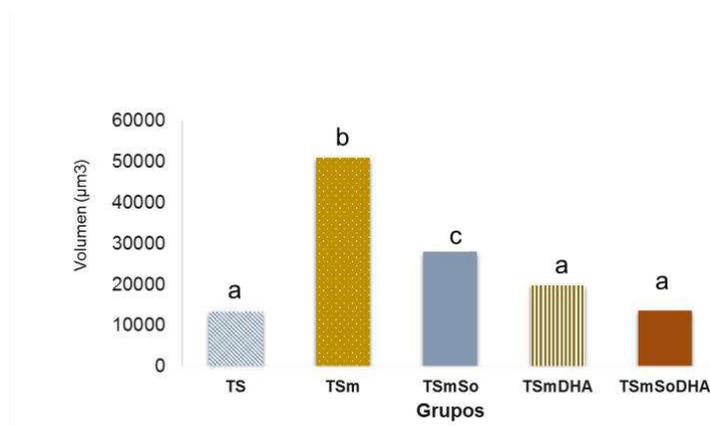


FIGURA 5.5 Volumen promedio de los adipocitos del tejido adiposo abdominal de los grupos experimentales, después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSo), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística. Software utilizado AxioVision.

En la FIGURA 5.6 se muestran los cortes histológicos del tejido hepático de los grupos experimentales. Cualitativamente puede observarse que los hepatocitos del grupo TSMet muestran una clara presencia de esteatosis hepática, que es característica del SMet. En los demás grupos se parecían también gotas de grasa en el tejido,

aunque en menor proporción que en el grupo TSMet. El volumen de los hepatocitos del grupo TSMet fue significativamente superior al del grupo TS (FIGURA 5.7), y éste disminuyó con la administración de los aceites: 21 % de disminución con el aceite estercúlico, 11 % con el aceite de alga, y 17 % con la mezcla estercúlico-alga. Se calculó el porcentaje de esteatosis en los cortes histológicos, y se encontró que los aceites estercúlico, alga y mezcla de estercúlico-alga disminuyeron significativamente el porcentaje de esteatosis, en comparación con el grupo TSMet (FIGURA 5.8): 92% con el aceite estercúlico, 44 % con el aceite de alga, y 85 % con la mezcla estercúlico-alga. En ambos casos, la disminución fue más notable en los grupos a los que se administró el aceite estercúlico, solo o con el aceite de alga.

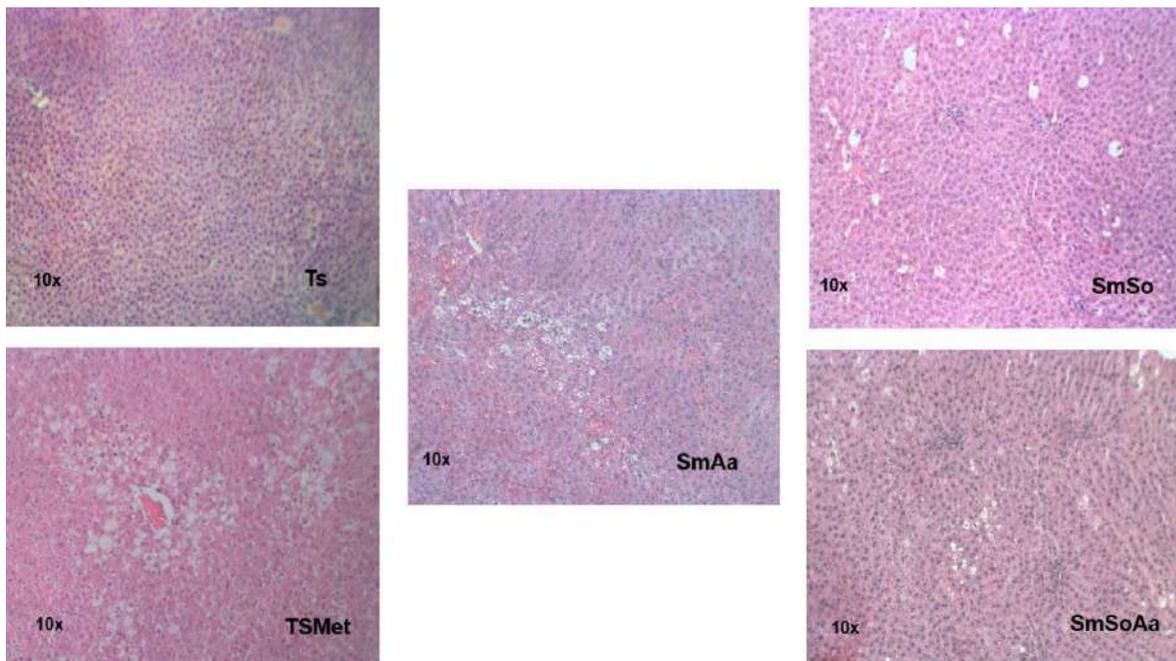


FIGURA 5.6 Cortes histológicos del tejido hepático de los grupos experimentales, después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSo), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística. Software utilizado AxioVision.

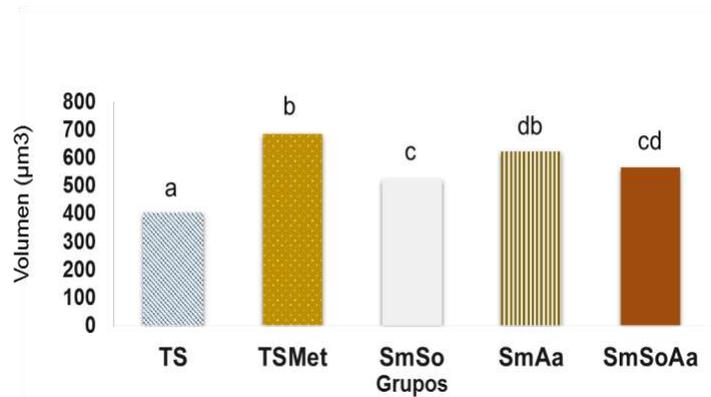


FIGURA 5.7 Volumen promedio de los hepatocitos de los grupos experimentales, después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSo), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística. Software utilizado “AxioVision”.

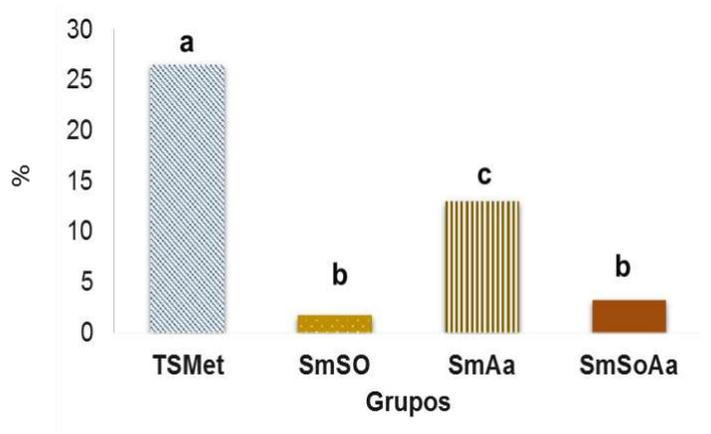


FIGURA 5.8 Porcentaje de esteatosis hepática de los grupos experimentales, después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSo), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística. Software utilizado “AxioVision”.

Estos resultados enfatizan el papel central que juega la enzima esteroil CoA desaturasa ($\Delta 9$ desaturasa) en el metabolismo de los lípidos. Una consecuencia importante de la inhibición de la actividad de esta enzima por el ácido estercúlico es el incremento de la oxidación de los ácidos grasos y la disminución de la síntesis y almacenamiento de los lípidos (Major *et al.*, 2008), lo que se ve reflejado en la disminución del tamaño de los adipocitos, que son los principales sitios de almacenamiento de los lípidos, y de la esteatosis hepática, como consecuencia de la disminución del depósito de grasa en el hígado.

5.3 Determinaciones de metabolitos séricos después de la administración de los aceites.

Se determinaron los metabolitos séricos de perfil lipídico, renal y hepático característicos del síndrome metabólico en las ratas de los grupos experimentales, después de ocho semanas de administración de los aceites.

Perfil lipídico

Triglicéridos.- Los niveles séricos de triglicéridos se muestran en la FIGURA 5.9. Puede observarse que en el grupo TSMet los niveles séricos fueron 400 % superiores en comparación con el TS. La administración del aceite estercúlico provocó una disminución significativa de los niveles circulantes de triglicéridos, en comparación con el grupo TS (disminución del 30 %), al igual que el aceite de alga (disminución del 33 %), y en particular la mezcla estercúlico-alga (disminución del 57 %).

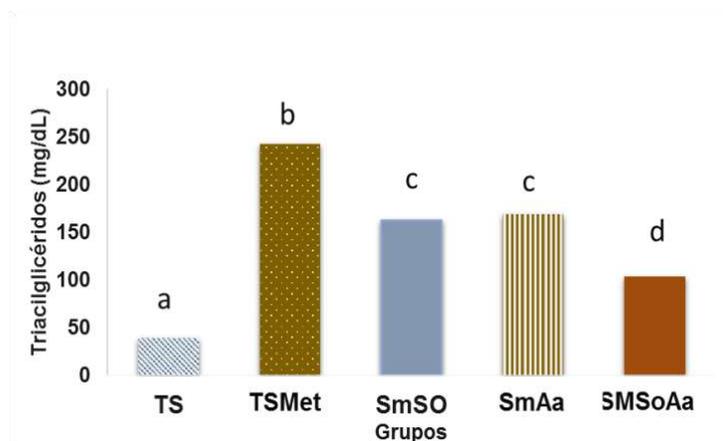


FIGURA 5.9 Niveles séricos promedio de triacilglicéridos de los grupos experimentales después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSO), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SMSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística.

La disminución de los niveles circulantes de triglicéridos después de la ingesta de aceite estercúlico es un efecto que ya se había observado por el grupo de investigación en ratas obesas Zucker (Reyes Saldaña, 2015) y ratas hipertensas espontáneas SHR (Herrera-Meza *et al.*, 2013), así como por Ortinau *et al.* (2013) en ratas obesas OLEFT. La disminución de la actividad de la enzima $\Delta 9$ desaturasa provocada por el ácido estercúlico debe ser la razón por la cual los ácidos grasos no son esterificados para su almacenamiento en forma de triglicéridos.

Colesterol.- En la FIGURA 5.10 se observa que los niveles de colesterol no se modificaron en el grupo TSMet en comparación con el testigo sano, tal como ha sido encontrado en otros trabajos (Herrera-Meza, *et al.*, 2013). El aceite estercúlico provocó una ligera disminución de los niveles de colesterol con respecto al TSMet (10 %), aunque

no significativa, y la administración del aceite de alga, solo o en combinación con el aceite estercúlico (29 % y 25 %, respectivamente), sí resultó en una disminución significativa de los niveles de colesterol.

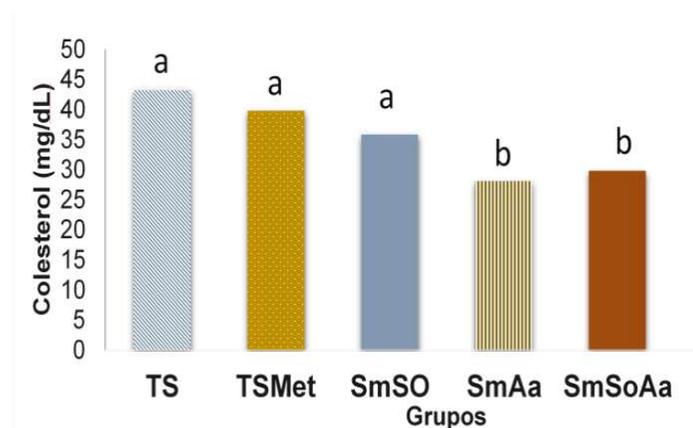


FIGURA 5.10 Niveles séricos promedio de colesterol de los grupos experimentales después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSO), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística.

Perfil renal

Creatinina. - Los niveles circulantes de creatinina se encontraron elevados en el grupo TSMet, en comparación con el grupo TS (FIGURA 5.11). La creatinina es un producto de desecho generado por la degradación de creatina en los músculos, y que los riñones filtran para excretar en la orina. Niveles altos de ésta en la sangre se asocia con un mal funcionamiento de los riñones. La administración de aceite estercúlico provocó una disminución significativa de los niveles de creatinina, con respecto al grupo TSMet, solo (28 %) o en combinación con el aceite de alga (16 %). El aceite de alga por sí solo no modificó los niveles circulantes de creatinina.

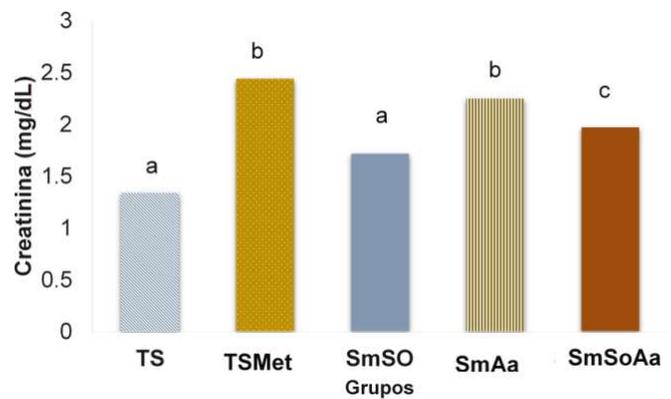


FIGURA 5.11 Niveles séricos promedio de creatinina de los grupos experimentales después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSo), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística.

Urea.- En la FIGURA 5.12 se observa que los niveles séricos de urea se encontraron elevados con respecto al grupo TS, en todos los grupos experimentales. Únicamente la administración de aceite estercúlico provocó una disminución significativa de la urea sérica (11 %) con respecto al grupo TSMet.

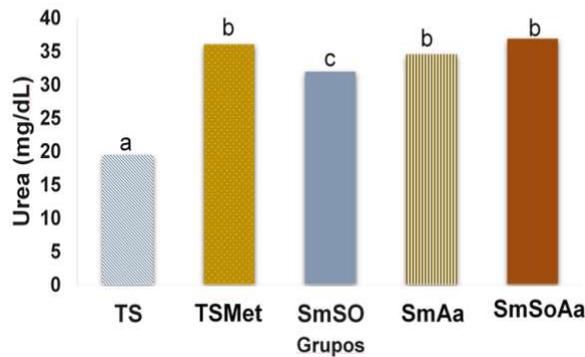


FIGURA 5.12 Niveles séricos promedio de urea de los grupos experimentales después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSo), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística.

Ácido úrico.- En la FIGURA 5.13 se muestran los niveles séricos de ácido úrico. Puede observarse que el ácido úrico se encontró significativamente elevado en el grupo TSMet con respecto al TS. El aceite estercúlico provocó una disminución del 34 % en los niveles circulantes de ácido úrico, y el aceite de alga, solo o en combinación con el aceite estercúlico, fue el aceite que causó la mayor disminución (80 % solo y en mezcla con el estercúlico).

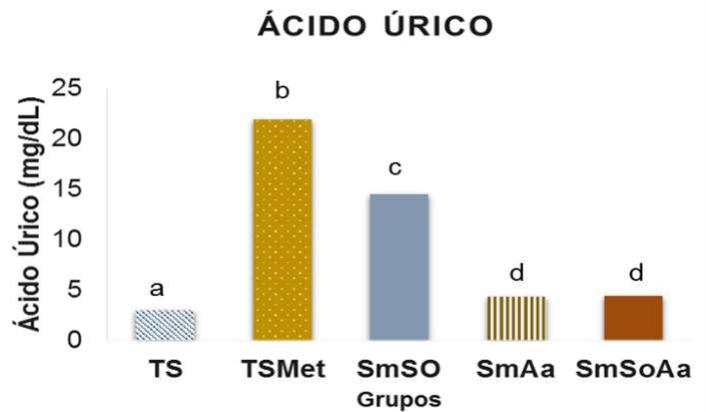


FIGURA 5.13 Niveles séricos promedio de ácido úrico de los grupos experimentales después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSo), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística.

Perfil hepático

Albúmina.- En la FIGURA 5.14 se muestran los niveles circulantes de albúmina, que se encontraron significativamente elevados en el grupo que recibió el aceite estercúlico (SmSo) únicamente. En el grupo TSMet los niveles fueron superiores a los del grupo TS, pero no significativamente. Los grupos que recibieron el aceite de alga (SmAa y SmSoAa) mostraron los niveles más bajos de albúmina sérica (21 % y 25 % menores), alcanzando a los niveles del grupo sano.

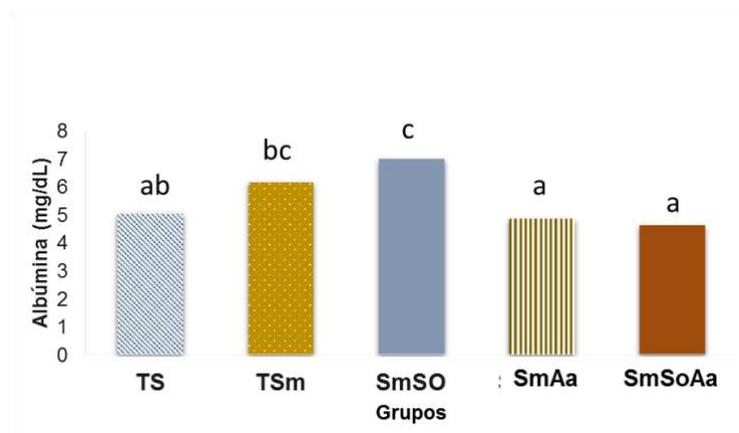


FIGURA 5.14 Niveles séricos promedio de albúmina de los grupos experimentales después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSo), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística.

Fosfatasa alcalina.- En cuanto a la fosfatasa alcalina, el grupo TSMet mostró niveles elevados significativamente en comparación con el grupo TS. La administración de los aceites provocó una disminución de los niveles, hasta

valores semejantes a los del grupo sano en el caso del grupo tratado con aceite estercúlico (SmSo) (disminución del 33%), y del 25 % y 22 % en los grupos con aceite de alga y mezcla de estercúlico-alga (FIGURA 5.15).

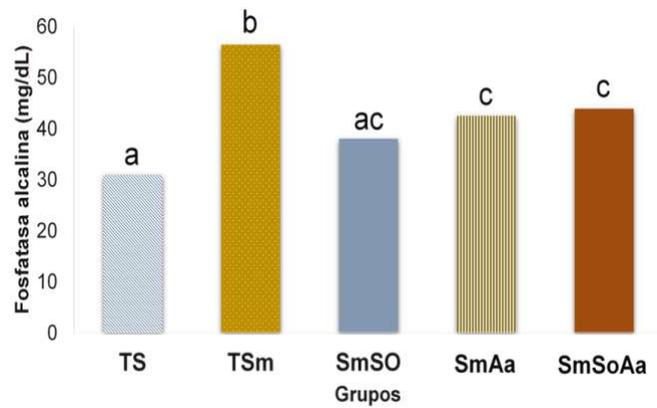


FIGURA 5.15 Niveles séricos promedio de fosfatasa alcalina de los grupos experimentales después de ocho semanas de administración de los aceites. Testigo sano (TS), Testigo con síndrome metabólico (TSMet), síndrome metabólico con aceite estercúlico (SmSo), síndrome metabólico con aceite de alga (SmAa), síndrome metabólico con la mezcla aceite estercúlico-alga (SmSoAa). ANOVA analizado por prueba de Tukey $p < 0.05$; letras diferentes denotan diferencia estadística.

En la Tabla 5.3 se muestra un resumen de los resultados obtenidos, donde puede observarse que tanto la administración del aceite estercúlico como el aceite de alga generaron efectos benéficos en algunos de los parámetros, mientras en otros, como los niveles séricos de triglicéridos y el volumen de los adipocitos del tejido adiposo abdominal, la administración simultánea de los aceites potenció el efecto de los aceites por separado.

TABLA 5.3 Resumen de resultados

EFECTOS	SmSo (%)	SmAa (%)	SmSoAa (%)
Peso de la rata	=	=	=
Circunferencia	↓ 33	↓ 8	↓ 11
Peso del hígado	↓ 5	↓ 7	↓ 10
Peso del tejido adiposo epididimal	↓11	↑3	↓6
Peso del tejido adiposo abdominal	↓7	↑4	↓3
En suero			
Colesterol total	↓ 10	↓ 29	↓ 25
Triglicéridos	↓33	↓ 30	↓ 57
Creatinina	↓ 29	↓ 8	↓ 21
Urea	↓ 14	↓ 6	=
Ácido úrico	↓33	↓ 90	↓ 90
Fosfatasa alcalina	↓32	↓30	↓22
Albúmina	↑14	↓20	↓23
En tejido			
Volumen de adipocitos	↓45	↓61	↓97
Volumen de hepatocitos	↓23	↓9	↓17
% de esteatosis	↓93	↓51	↓88

Entre las intervenciones dietarias que más se han estudiado para reducir los desórdenes asociados con el síndrome metabólico se encuentra la administración de aceites ricos en ácidos grasos poliinsaturados n-3 (AGPI n-3), como el aceite de pescado y de alga. Se han generado gran cantidad de evidencias a partir de estudios clínicos, experimentales y epidemiológicos que muestran que los AGPI n-3, particularmente el EPA (20:5 n-3) y DHA (22:6 n-3), tienen efectos protectores ante las enfermedades cardiovasculares al reducir los niveles circulantes de

triglicéridos, colesterol, insulina, presión arterial, ácidos grasos libres, mejorar la sensibilidad a la insulina, y muestran acciones antioxidantes, antitrombóticas y antiinflamatorias. Aunque los mecanismos precisos por los cuales los AGPI n-3 ejercen estos efectos no se conocen con exactitud, se han relacionado con la producción de eicosanoides anti-inflamatorios, vasodilatadores, la modificación de la fluidez membranar, y diversos efectos relacionados con el metabolismo de lípidos como la disminución de la lipogénesis, el incremento de la β -oxidación, la reducción de los ácidos grasos libres en el hígado, entre otros (Harris y Bulchandani, 2006; Mori, 2014). Estos efectos se observaron en el presente trabajo tras la administración del aceite de alga, rico en DHA (22:6 n-3), que provocó la disminución del depósito de grasa en el tejido adiposo y hepático, en los niveles séricos de triglicéridos, de colesterol, y de ácido úrico.

Por otro lado, la enzima $\Delta 9$ -desaturasa juega un papel central en la regulación del metabolismo de los lípidos, y la regulación de su actividad ha sido implicada con el síndrome metabólico y la obesidad (Rodríguez-Cuenca *et al.*, 2016). La inhibición de su actividad ha sido sugerida como una estrategia de tratamiento del síndrome metabólico y sus desórdenes metabólicos asociados. En este trabajo se confirmó que la actividad de la $\Delta 9$ -desaturasa está aumentada en las ratas con síndrome metabólico, y que ésta se ve disminuida tras la administración del aceite estercúlico en el tejido adiposo y hepático, en asociación con la reducción de los niveles circulantes de triglicéridos, creatinina, urea, ácido úrico, albúmina, el volumen de los adipocitos y la esteatosis hepática, lo que conlleva a un aumento en la sensibilidad a la insulina (Issandou *et al.*, 2009). Estos efectos han sido reportados también en otros modelos murinos de obesidad (Ortinou *et al.*, 2012; Ortinou *et al.*, 2013; Gomez *et al.*, 2003; Major *et al.*, 2008). La co-administración del aceite de alga con el aceite estercúlico potenció los efectos de ambos aceites, particularmente en cuanto a la adiposidad y los niveles séricos de triglicéridos.

6. CONCLUSIONES

La administración de sacarosa al 30 % en el agua de beber generó un modelo de síndrome metabólico en las ratas Wistar macho.

La inhibición de la enzima $\Delta 9$ -desaturasa por el ácido estercúlico provocó efectos benéficos en el perfil lipídico y hepático, y disminuyó el depósito de lípidos en el tejido adiposo y en la esteatosis hepática de las ratas con síndrome metabólico.

La ingesta de AGPI $\omega 3$ del aceite de alga, aunada a la inhibición de la $\Delta 9$ -desaturasa, potenció el efecto benéfico en la disminución de niveles circulantes de triglicéridos y en la disminución de la hipertrofia de los adipocitos.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A. Smorlesi, A. Frontini, A. Giordano, S. Cinti, The adipose organ: white-brown adipocyte plasticity and metabolic inflammation, *Obes. Rev.* 13; 870 83–96. 871. 2012.
- A. Webster, D, Bignell, A.H.C y Attwood, E.C. An assesment of the suitability of bromocresol green for the determination of serum albumin., *Clinica Chimica; acta* Vol. 53. 101-108. 1974.
- A.M. Mujumdar, D.G. Naik, R.J.Waghole, D.K. Kulkarni, M.S. Kumbhojkar. Pharmacological studies on sterculia foetida leaves. *Pharmaceutical Biology*; 38: 13–14. 2000.
- Acosta García Edgar. Obesidad, tejido adiposo y resistencia a la insulina. *Acta bioquím. clín. latinoam*; 46, 2: 183-194. 2016.
- Acosta García Edgar. Obesidad, tejido adiposo y resistencia a la insulina. *Acta bioquím. clín. latinoam.* 46, 2: 183-194. 2012.
- Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med*; 15: 539-53. 1998.
- Alsharari ZD, Rise'rus U, Leander K, Sjo'gren P, Carlsson AC, Vikstro'm M, et al. Serum Fatty Acids, Desaturase Activities and Abdominal Obesity – A Population-Based Study of 60-Year Old Men and Women; 12(1): e0170684. 2017.
- AR Saltiel. New perspectives into the molecular pathogenesis and treatment of type 2 diabetes. *Cell*; 104(4):517-29. 2001.
- Arkan, M.C., Hevener, A.L., Greten, F.R., Maeda, S., Li, Z.W., Long, J.M., Wynshaw-Boris, A., Poli, G., Olefsky, J., and Karin, M. IκK-β links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat Med.* 11, 191–198. 2005.
- Arnaud, E., Trystram, G., Relkin, P., Collignan, A. Thermal characterization of chicken fat dry fractionation process. *Journal of Food Engineering*; 72:390-397. 2006.
- B. Cousin, S. Cinti, M. Morroni, S. Raimbault, D. Ricquier, L. Penicaud, L. Casteilla, Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and 873 morphological characterization, *J. Cell Sci*; 103, 931–942. 1992.
- Badillo AT, Flake AW. The regulatory role of stromal microenvironments in fetal hematopoietic ontogeny. *Stem. Cell. Rev*; 2:241-246. 2006.
- Bao X., J.J. G. Thelen, Bonaventure., J.B. Ohlogge. Characterization of cyclopropane fatty acid synthase from sterculia foetida. *J Biol Chem*; 278 (15): 12846-12853. 2003.
- Bays HE, González-Campoy JM, Bray GA, et al. Potencial patogénico del tejido adiposo y consecuencias metabólicas de la hipertrofia de los adipocitos y el aumento de la adiposidad visceral. *Experto Rev. Cardiovasc. Ther*; 6: 343-368. 2008.
- Belalcazar LM, Haffner SM, Lang W, Hoogeveen RC, Rushing J, Schwenke DC, et al. Lifestyle intervention and/or statins for the reduction of C-reactive protein in type 2 diabetes: from the look AHEAD study. *Obesity*; 21:944–50. 2013.

Bellentani S, Saccoccio G, Costa G, Tiribelli C, Manenti F, Sodde M, Saveria Crocè L, Sasso F, Pozzato G, Cristianini G, Brandi G. Drinking habits as cofactors of risk for alcohol induced liver damage. The Dionysos Study Group. *Gut*. 4:845-50. 1997.

Bergman RN, Ader M, Huecking K, Van Citters G. Accurate assessment of β -cell function: the hyperbolic correction. *Diabetes*; 51(Suppl 1):S212–S220. 2002

Bergman RN, Lilly lecture. Toward physiological understanding of glucose tolerance. Minimal-model approach. *Diabetes*; 38:1512–1527 112. 1989

Bezerra, R.M., Ueno, M., Silva, M.S., Tavares, D.Q., Carvalho, C.R., Saad, M.J. A high fructose diet affects the early steps of insulin action in muscle and liver of rats. *J Nutr*; 130:1531-1535. 2000.

Bisschop PH, de Metz J, Ackermans MT, Endert E, Pijl H, Kuipers F, Meijer AJ, Sauerwein HP, Romijn JA. Dietary fat content alters insulin-mediated glucose metabolism in healthy men. *Am J Clin Nutr*; 73:554–559. 2001.

Bonny castle LL, Willer CJ, Conneely KN, Jackson AU, Burrill CP, Watanabe RM, Chines PS, Narisu N, Scott L J, Enloe ST, Swift AJ, Duren WL, Stringham HM, Erdos MR, Riebow NL, Buchanan TA, Valle TT, Tuomilehto J, Bergman RN, Mohlke KL, Boehnke M, Collins FS; Common variants in maturity-onset type 2 diabetes of the young genes contribute to risk of type 2 diabetes in Finns. *Diabetes*; 55:2534–2540. 2006.

Borkman M, Campbell LV, Chisholm DJ, Storlien LH. Comparison of the effects on insulin sensitivity of high carbohydrate and high fat diets in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*; 72:432–437. 1991.

Bravata DM, Wells CK, Concato J, Kernan WN, Brass LM, Gulanski BI 2004 Two measures of insulin sensitivity provided similar information in a U.S. population. *J Clin Epidemiol* 57: 1214–1217.

Brestoff, J.R., and Artis, D. Immune regulation of metabolic homeostasis in health and disease. *Cell* 161, 146–160. 2015.

Brunt EM, Tiniakos DG. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*; 16; 42: 5286-96. 2010.

Brunt EM. Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology. *Semin Liver Dis*; 21:3-16. 2001.

Bucolo, Giovanni y David. Quantitative determination of serum triglycerides by use of enzymes. Harold. 5, North Torrey Pines Road: Clinical Chemistry; Vol. 19. 1973.

Cai D, Yuan M, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, Shoelson SE. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK- β and NF- κ B. *Nat Med*; 11(2):183-90. 2005.

Carey DG, Jenkins AB, Campbel ILV, Freund J, Chisholm DJ. Abdominal fat and insulin resistance in normal and over weight women: direct measurements reveal a strong relation ship in subjects at both low and high risk of NIDDM. *Diabetes*; 45:633–638. 1996.

Carr D, Utschneider K, Hull R, Kodama K, Retzlaff BM, Bruozel JA, et al. Intra-abdominal fat is a major determinant of the national cholesterol education program adult treatment panel criteria for the metabolic syndrome. *Diabetes*; 53: 2087-94. 2004.

Cedernaes J, Alsjö J, Västermark A, Risérus U, Schiöth HB. Adipose tissue stearoyl-CoA desaturase 1 index is increased and linoleic acid is decreased in obesity-prone rats fed a high-fat diet. *Lipids Health Dis*. Jan 8; 12:2. 2013.

Chao-Wei Huang, Yi-Shan Chien, Yu-Jen Chen, Kolapo M. Ajuwon, Harry M. Mersmann, Shih-Torng Ding. Role of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids in Ameliorating the Obesity-Induced Metabolic Syndrome in Animal Models and Humans *Int J Mol Sci*; Oct; 17(10); 2016.

Christie W.W. A simple procedure for transmethylation of glycerolipids and cholesterol esters. *J Lipid Res*; 23:1073-1075. 1982.

Coppack, S. W., Evans, R. D., Kirk, M. L. Adipose tissue metabolism in obesity: Lipase action in vivo before and after a mixed meal. *Metaboism*; 41: 264-272. 1992.

Cornier MA, Donahoo WT, Pereira R, Gurevich I, Westergren R, Enerback S, Eckel PJ, Goalstone ML, Hill JO, Eckel RH, Draznin B. Insulin sensitivity determines the effectiveness of dietary macronutrient composition on weight loss in obese women. *Obes Res*; 13:703–709. 2005.

Cornier, M., Dabelea, D., Hernandez, T.L., Lindstrom, R.C., Steig, A.J., Stob, N.R., Van Pelt, R.E., Wang, H., Eckel, R.H. The metabolic syndrome. *Endocr Rev*; 29: 777-822. 2008.

Cupples LA, D'Agostino RB. Section 34: Some risk factors related to the annual incidence of cardiovascular disease and death in pooled repeated biennial measurements. In: Kannel WB, Wolf PA, Garrison RJ, editors. *Framingham Heart Study: 30 year follow-up*. Bethesda: US Department of Health and Human Services. 1987.

Despres JP. Abdominal obesity as important component of insulin-resistance syndrome. *Nutrition*; 9:452–459. 1993.

Diaconu CC, Neagu AI, Lungu R, Tardei G, Alexiu I, Bleotu C, Economescu MC, Bumbăcea RS, Pele I, Bumbăcea D. Plasticity of regulatory T cells under cytokine pressure. *Roum. Arch. Microbiol. Immunol*; 69:190-196. 2010.

Dupas J, Feray A, Goanvec C, Guernec A, Samson N, Bougaran P, Guerrero F, Mansourati J. Metabolic Syndrome and Hypertension Resulting from Fructose Enriched Diet in Wistar Rats. *Biomed Res Int*; 2017:2494067. 2017.

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

El Hafidi, M., Cuellar, A., Ramirez, J., Baños, G. Efect of sucrose addition to drinking water, that induces hypertension in the rats, on liver microsomal $\Delta 9$ and $\Delta 5$ desaturases activities. *J Nutr Biochem*; 12: 396:403. 2001.

Enzi G, Busetto L, Inelmen EM, Coin A, Sergi G. Historical perspective: visceral obesity and related comorbidity. In: Joannes Baptista. Morgagni's 'De sedibus et causis morborum per anatomen indagata'. *Int J Obes Relat Metab Disord*; 27: 534-5. 2003.

Esposito K, Giugliano D. Diet and inflammation: a link to metabolic and cardiovascular diseases. *European Heart J*; 27:15-20. 2006.

Folch, Jordi, Lees, M y Sloane-Stanley, G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J biol Chem*; Vol. 226. 497-509. 1956.

Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among U.S. adults. *Diabetes Care*; 27:2444– 2449. 2004.

Fossati, Piero y Prencipe, Lorenzo. Serum tryglicerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clinical Chemistry*; Vol. 28. 2077-2080. 1982.

Francaux M. Toll-like receptor signalling induced by endurance exercise. *Appl Physiol Nutr Metab*; 34(3):454-8. 2009.

- Gao Z, Zhang X, Zuberi A, Hwang D, Quon MJ, Lefevre M, Ye J. Inhibition of insulin sensitivity by free fatty acids requires activation of multiple serine kinases in 3T3-L1 adipocytes. *Mol Endocrinol*; 18(8):2024-34. 2004.
- Gardner CD, Kiazand A, Alhassan S, Kim S, Stafford RS, Balise RR, Kraemer HC, King AC. Comparison of the Atkins, Zone, Ornish, and LEARN diets for change in weight and related risk factors among overweight premenopausal women: the A TO Z Weight Loss Study: a randomized trial. *JAMA*; 297:969-977. 2007.
- Gindler, E. M y Daskalakis, Olga. Determination of urea. Patent: Sherwood Medical Company; 1984.
- Ginsberg HN. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest* 106:453-458. 2000.
- Gomez EF, Bauman DE, Ntambi JM, Fox BG. Effects of sterculic acid on stearoyl-CoA desaturase in differentiating 3T3L1 adipocytes. *Biochem Bioph Co*; 300, 316-326. 2003.
- Goodarzi MO, Taylor KD, Guo X, Hokanson JE, Haffner SM, Cui J, Chen YD, Wagennecht LE, Bergman RN, Rotter JI. Haplotypes in the lipoprotein lipase gene influence fasting insulin and discovery of a new risk haplotype. *J Clin Endocrinol Metab*; 92: 293-296 121. 2007.
- Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith Jr SC, Spertus JA, Costa F. Diagnosis and management of the metabolic syndrome. An American Heart Association/ National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. Executive summary. *Cardiol Rev*; 13:322-327. 2005.
- Grundy, S. Metabolic Syndrome Pandemic. *Arteriosclerosis, Thrombosis and vascular Biology* 28: 629-636. 2008.
- Guh DP, Zhang W, Bansback N, et al. La incidencia de co-morbidities relacionados con la obesidad y el sobrepeso: una revisión sistemática y meta-análisis. *BMC Public Health*; 9: 88-10852. 2009.
- H Malhi, GJ Gores. Molecular mechanisms of lipotoxicity in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*; 28(4):360-9. 2008.
- H. Karsten. *Sterculia apétala. Florae Columbiae terraumque adjacentium specimina selecta in peregrinatione duodecim annorum observata delineavit et descripsit*; 2(35): 250-251. 1869.
- Haffner, S.M., Mykkaenen, L., Festa, A. Insulin.resitant prediabetic subjects have more atherogenic risk factors that insulin sensitive prediabetic subjects: implications for preventing coronary heart disease during the prediabetic state. *Circulation*. 101: 975-800. 2000.
- Harber MP, Schenk S, Barkan AL, Horowitz JF. Alterations in carbohydrate metabolism in response to short-term dietary carbohydrate restriction. *Am J Physiol Endocrinol Metab*; 289:E306- E312. 2005.
- Harris WS, Bulchandani D. Why do omega-3 fatty acids lower serum triglycerides? *Curr Opin Lipidol*; 17: 387-393. 2006.
- Heine RJ. Dietary fish oil and insulin action in humans; 683:110-121. 1993.
- Herrera-Meza M. S., Mendoza López M. R., García Barradas O., Sanchez Otero M. G, Silva Hernández E. R., Angulo J. O, Oliart-Ros, RM. Dietary anhydrous milk fat naturally enriched with conjugated linoleic acid and vaccenic acid modify cardiovascular risk biomarkers in spontaneously hypertensive rats. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*; 1-10. 2013.
- Ho JS, Cannaday JJ, Barlow CE, Mitchell TL, Cooper KH, FitzGerald SJ. Relation of the number of metabolic syndrome risk factors with all-cause and cardiovascular mortality. *Am J Cardiol*; 102:689-92. 2008
- Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*; 444: 860-7. 2006.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Estadísticas de mortalidad. Defunciones generales por principales causas de mortalidad. 2008.

Iqbal, R., Anand, S., Ounpuu, S., Islam, S., Zhang, X., Keltai, M. Dietary patterns and the risk of acute myocardial infarction in 52 countries: results of the INTERHEART study, *Circulation*; 118: 1929-1937. 2008.

Issandou M, Bouillot A, Brusq JM, Forest MC, Grillot D, Guillard R, Martin S, Michiels C, Sulpice T, Daugan A. Pharmacological inhibition of Stearoyl-CoA Desaturase 1 improves insulin sensitivity in insulin-resistant rat models. *European Journal of Pharmacology*; 618,28–36. 2009.

Jaffe, M. On the precipitate which produces picric acid in normal urine, and on a new reaction of creatinine., *Physiol Chem*, 391-400; Vol. 10. 1886.

Kahn, B.B., Flier, J. S. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest*; 106: 473-481. 2000.

Karst. (Jacq.) Karst. Descripciones de especies: *Sterculia apetala*. OFI-CATIE; 893-896.

Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, Quon MJ. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab*; 85: 2402-10. 2000.

Kaufman, L.N., Peterson, M.M., Smith, S.M. Hypertensive effect of polyunsaturated dietary fat. *Metabolism*; 43:1-3. 1994.

Körner A., Pazaitou-Panayiotou K., Kelesidis T., Kelesidis I., Williams C.J., Kaprara A., Bullen J., Neuwirth A., Tseleni S., Mitsiades N., Kiess W., Mantzoros C.S. Total and High-Molecular-Weight Adiponectin in Breast Cancer: In Vitro and in Vivo Studies. *J Clin Endocrinol Metab*; 92:1041–1048. 2007.

Krebs DL, Hilton DJ. SOCS proteins: negative regulators of cytokine signaling. *Stem Cells*. 19(5):378-387. 2001. Krummel D. Nutrición y dietoterapia de Krause. A.M. Ocaña. 9ª ed. Mahan L.K. y Escott-Stump S. Ed Mc Graw-Hill interamericana editor S.A. De C.V., México, D.F. pp. 525. 2001.

Lancet Stefan N, Kantartzis K, Machann J, Schick F, Thamer C, Rittig K, Balletshofer B, Machicao F, Fritsche A, Haring HU. Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans. *Arch Intern Med* 168:1609–1616. 2008.

Lee, K.W., Lee, H. J., Cho, H.Y., Kim, Y.J. Role of the conjugated linoleic acid in the prevention of cancer. *Crit Rev Food Sci Nutr*; 45:135-144. 2005.

López – García, E., Schulze, M. B., Willett, W. C., Hu, F. B. Consumption of trans Fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. *J Nutr*; 135: 562-566. 2005.

Lovejoy JC, Smith SR, Champagne CM, Most MM, Lefevre M, DeLany JP, Denkins YM, Rood JC, Veldhuis J, Bray GA. Effects of diets enriched in saturated (palmitic), monounsaturated (oleic), or trans (elaidic) fatty acids on insulin sensitivity and substrate oxidation in healthy adults. *Diabetes Care*; 25:1283–1288. 2002.

Ma Y, Li Y, Chiriboga DE, Olendzki BC, Hebert JR, Li W, Leung K, Hafner AR, Ockene IS. Association between carbohydrate intake and serum lipids. *J Am Coll Nutr*; 25:155–163. 2006.

Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. DNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun*; 221: 286-9. 1996.

Major CA, Ryan K, Bennett AJ, Lock AL, Bauman DE, Salter AM. Inhibition of stearoyl CoA desaturase activity induces hypercholesterolemia in the cholesterol-fed hamster. *J. Lipid Res*. 49, 1456–1465. 2008.

Maria Eugenia Frigolet Vázquez-Vela, Nimbe Torres, Armando R. Tovar. White Adipose Tissue as Endocrine Organ and Its Role in Obesity. *Archives of Medical Research*; 39: 715-728. 2008

Maron DJ, Fair JM, Haskell WL. Saturated fat intake and insulin resistance in men with coronary artery disease. The Stanford Coronary Risk Intervention Project Investigators and Staff. *Circulation*; 84:2020–2027. 1991.

Mayer-Davis EJ, D'Agostino Jr R, Karter AJ, Haffner SM, Rewers MJ, Saad M, Bergman RN. Intensity and amount of physical activity in relation to insulin sensitivity: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study; 279:669–674. 1998.

Mayorga, C.J.C., González, C.A., García, A.H., Torres, R.C. Síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular. Obesidad, dislipidemia, hipertensión, prediabetes, diabetes tipo 2 y resistencia a la insulina. Libro 2: con aplicaciones a la práctica clínica. Intersistemas editores S.A. de C.V. Escuela de Medicina Universidad Anáhuac. México D.F. 2006.

McKeown NM, Meigs JB, Liu S, Saltzman E, Wilson PW, Jacques PF. Carbohydrate nutrition, insulin resistance, and the prevalence of the metabolic syndrome in the Framingham Offspring Cohort. *Diabetes Care*; 27:538–546. 2004.

McNeill A, Rosamond W, Girman C, Golden S, Schmidt M, East H, et al. The metabolic syndrome and 11-year risk of incident cardiovascular disease in the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes Care*; 28:385–90. 2005.

Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*; 454: 428–35. 2008.

Meisinger C, Koletzko B, Heinrich J. Metabolic syndrome: Older than usually assumed, but still too young to die. *Clin Chem*; 52: 897-8. 2006.

Mendler MH, Kanel G, Govindarajan S. Proposal for a histological scoring and grading system for non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*; 25:294-304. 2005.

Meshkani R, Adeli K. Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Clin Biochem*. 42(13-14):1331-46. 2009.

Mori TA. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: epidemiology and effects on cardiometabolic risk factors. *Food and Function*; 5: 2004-2019. 2014.

Mozaffarian, D., Rimm, E. B., King, I.B., Laweler, R.L., McDonad, G.B., Levy, W.C. Trans Fatty acids and systemic inflammation in heart failure. *Am J Clin Nutr*; 80: 1521-1525. 2004.

Murray, I., Havel, P. J., Sniderman, A. D. Reduced body weight, adipose tissue, and leptin levels despite increased energy intake in female mice lacking acylation-stimulating protein. *Endocrinology*; 141: 1040-18249. 2000.

Myers, J., Prakash, M., Froelicher V., Do, D., Partington S., Atwood J.E. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *Engl J Med*; 346: 793-801. 2002.

Natmbi, J.M., Miyazaki, M., Stoehr, J.P., Lan, H., Kendzierski, C.M., Yandell, B.S., Song, Y., Cohen, P., Friedman, J.M., Attie, A.D. Loss of stearoyl desaturase-1 function protects mice against obesity. *Proc Natl Acad Sci*; 99:11482-86. 2002.

Niu, S.L, Mitchell, D.C., Litman, B J. Trans Fatty acid derived phospholipids show increased membrane cholesterol and reduced receptor activation as compared to their cis analogs. *Biochem*; 44: 4458-4465. 2005.

Ntambi, J.M., Miyazaki, M. Regulation of stearoyl-CoA desaturases and role in metabolism. *Prog Lipid Res* 43:91-104. 2004.

Ofei F, Hurel S, Newkirk J, Sopwith M, Taylor R. Effects of an engineered human anti-TNF α antibody (CDP571) on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM. *Diabetes*; 45(7):881-5. 1996.

Olefsky JM, Farquhar JW, Reaven GM. Reappraisal of the role of insulin in hypertriglyceridemia. *Am J Med.* ; 57: 551-60. 1974.

Ortinau L. C., Nickelson K. J., Stromsdorfer K. L., Naik C. Y, Pickering R. T., Haynes R. A., et al. Sterculic Oil, a Natural Inhibitor of SCD1, Improves the Metabolic State of ObeseOLETF Rats. *Obesity biology and integrated physiology*; 21 (2): 344-352. 2013.

Ortinau Laura C, Taylor Pickering R., Nickelson Karen J, Stromsdorfer Kelly L, Naik Chaitasi Y, Haynes Rebecca A, et al. Sterculic Oil, a Natural SCD1 Inhibitor, Improves Glucose Tolerance in Obese ob/obMice. *ISRN Endocrinology*; 1-11. 2012.

Pacini G The hyperbolic equilibrium between insulin sensitivity and secretion. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*; 16 S22–S27. 2006.

Pasanisi F, Contaldo F, de Simone G, Mancini M. Benefits of sustained moderate weight loss in obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 11:401–406. 2001.

Perazzi, Beatriz y Angerosa, Margarita. Creatinine in blood: analytical quality and influence on the estimation of Glomerular Filtration Rate., *Acta Bioquím Clín Latinoam*; Vol. 45. ISSN 0325- 2957. 267-272. 2011.

Phillips CM, Perry IJ. Does inflammation determine metabolic health status in obese and nonobese adults. *J Clin Endocrinol Metab*; 98:E1610–9. 2013.

Pickup JC, Mattock MB, Chusney GD, Burt D. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute- phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X. *Diabetologia*; 40:1286–92. 1997.

Ralaimanarivo A., E.M. Gaydou, J.P. Bianchini. Fatty acid composition of seeds oil from six *Adansonia* species with particular reference to cyclopropane and cyclopropane fatty acid. *Lipids* 17:1-10. 1982.

Reaven G, Calciano A, Cody R, Lucas C, Millar R. Carbohydrate intolerant and hyperlipemia in patients with myocardial infarction without known diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*; 23: 1013-23. 1963.

Reaven GM. Banting lecture: role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*; 37: 1595-607. 1988.

Recasens, M., Ricart, W., Fernández-Real, J.M. Obesidad e inflamación. *Revista Médica Universidad de Navarra. Artículos de revisión*; 48:49-54. 2004.

Reyes Saldaña, Karla Roxana. M. en C. en Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Veracruz. Junio del. Efecto del aceite estercúlico sobre las manifestaciones del síndrome metabólico en ratas Zucker obesas. Asesores: Dra. Rosa María Oliart Ros y Dra. María Guadalupe Sánchez Otero. 2015.

Robb, L. Cytokines receptors and Hematopoietic differentiation. *Oncogene*; 26, 6715–6723. 2007.

Rodriguez-Cuenca S, Whyte L, Hagen R, Vidal-Puig A, Fuller M. Stearoyl-CoA Desaturase 1 Is a Key Determinant of Membrane Lipid Composition in 3T3-L1 Adipocytes; 11(9): e0162047. 2016.

RW. Matheny Jr, ML. Adamo. Current perspectives on Akt Akt-ivation and Akt-ions. *Exp Biol Med (Maywood)*; 234:1264-70. 2009.

Salerno, Costantino. *Appunti di Biochimica Clinica*. Página web: Edizioni Nuova Cultura, 2011.

- Schmid K.M. and G.W. Patterson. Effects of cyclopropenoid fatty acids on fungal growth and lipid composition. *Lipids*; 23I: 248-252. 1988.
- Schwab U, Uusitupa M, Karhapää P, Makimattila S, Rasanen M, Makinen E, Laakso M. Effects of two fat-modified diets on glucose and lipid metabolism in healthy subjects. *683:279–280*. 1993.
- Seboková, E., Klimes, I. Molecular and cellular determinants of triglyceride availability. *Ann NY Acad Sci*; 827. 200-214. 1997.
- Senthil Arun Kumar, Marie Magnusson, Leigh C. Ward, Nicholas A. Paul, Lindsay Brown. A Green Algae Mixture of *Scenedesmus* and *Schroederiella* Attenuates Obesity-Linked Metabolic Syndrome in Rats. *Nutrients*; 2015.
- Senthil Arun Kumar, Marie Magnusson, Leigh C. Ward, Nicholas A. Paul, Lindsay Brown, Mar Drugs. Seaweed Supplements Normalise Metabolic, Cardiovascular and Liver Responses in High-Carbohydrate, High-Fat Fed Rats; *13(2): 788–805*. 2015.
- St Onge MP, Janssen I, Heymsfield SB. Metabolic syndrome in normal-weight Americans: new definition of the metabolically obese, normal-weight individual. *Diabetes Care*; *27:2222–2228*. 2004.
- Stamatikos Alexis D., Paton Chad M. Role of stearyl-CoA desaturase-1 in skeletal muscle function and metabolism. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*; *305: p. 767-775*. 2013.
- Stefan N, Kantartzis K, Machann J, Schick F, Thamer C, Rittig K, Balletshofer B, Machicao F, Fritsche A, Haring HU. Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans. *Arch Intern Med* *168:1609–1616*. 2008.
- Stepanova M, Rafiq N, Younossi ZM. Components of metabolic syndrome are independent predictors of mortality in patients with chronic liver disease: a population-based study. *59, 10:1410-5*. 2010.
- Storlein, L.H., Kraegen, E.W, Jenkins, A.B., Chisholm, D.J., Ford, G.L., Bruce, D.G., Pascoe, W.S. Fish oil prevents insulin resistance induced by high-fat feeding in rats. *Science*; *237:885-888*. 1987.
- Terán-García, M., Bouchard, C. Genetics of the metabolic síndrome review. *Appl Physiol Nutr Metab*; *32:89-114*. 2007.
- Terauchi Y, Takamoto I, Kubota N, Matsui J, Suzuki R, Komeda K, Hara A, Toyoda Y, Miwa I, Aizawa S, Tsutsumi S, Tsubamoto Y, Hashimoto S, Eto K, Nakamura A, Noda M, Tobe K, Aburatani, H, Nagai R, Kadowaki T. Glucokinase and IRS-2 are required for compensatory cell hyperplasia in response to high-fat diet induced insulin resistance. *J Clin Invest*; *117:246–257*. 2007.
- Tilg H, Moschen AR. Adipocitoquinas: mediadores que unen el tejido adiposo, la inflamación y la inmunidad. *Nat Rev Immunol*; *6, 10: 772-783*. 2006.
- Tingting Shang, Liang Liu, Jia Zhou, Mingzhen Zhang, Qinling Hu, Min Fang, Yongning Wu, Ping Yao, Zhiyong Gong. Protective effects of various ratios of DHA/EPA supplementation on high-fat diet-induced liver damage in mice *Lipids Health Dis*; *16: 65*. 2017.
- Tobey, T.A., Mondon, C.E., Zavaroni, I., Reaven, G.M. Mechanism of insulin resistance in fructose- fed rats. *Metab*; *31:608-612*. 1982.
- Torres T. M. Síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular. Intolerancia a la glucosa, diabetes tipo 2, hipertensión arterial, obesidad, dislipidemia y resistencia a la insulina. Criterios clínicos aplicables a la práctica médica. González, C.A., Lavalle, G.F., Ríos, G. J. (Eds.). Intersistemas editores S.A. de C.V. Escuela de Medicina Universidad Anáhuac. México D.F. 2006.

Tumbelaka L.I., O. Slayden, F. Stormshak. Action of a cyclopropenoid Fatty acid on copus luteum of pregnant and nonpregnant ewes. *Biol Reprod*; 50:253- 257. 1994.

Unger, R. Lipotoxic diseases. *Annu. Rev. Med*; 53: 329-336. 2002.

Uusitupa M, Schwab U, Makimattila S, Karhapaa P, Sarkkinen E, Maliranta H, Agren J, Penttila I. Effects of two high-fat diets with different fatty acid compositions on glucose and lipid metabolism in healthy young women. *Am J Clin Nutr*; 59:1310–1316. 1994.

Van Gaal LF, Wauters MA, De Leeuw IH. The beneficial effects of modest weight loss on cardiovascular risk factors. *Int J Obes Relat Metab Disord*; 21:S5–S9. 1997.

Vessby B, Uusitupa M, Hermansen K, Riccardi G, Rivellese AA, Tapsel ILC, Nansen C, Berglund L, Louheranta A, Rasmussen BM, Calvert GD, Maffetone A, Pedersen E, Gustafsson IB, Storlien LH. Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: the KANWU Study. *Diabetologia*; 44:312–319. 2001.

Viberti, G.C., Jarrett, R.J., Kenn, H. Microalbuminuria as prediction of nephropath in diabetics; 2 (8298): 611. 2000.

Wajchenberg BL, Giannella-Neto D, da Silva MER, et al. La caracterización específica Depot-hormonal del tejido adiposo subcutáneo y visceral y su relación con el síndrome metabólico. *Horm Metab Res*; 34: 616-621. 2002.

Weickert MO, Pfeiffer AF. Signalling mechanisms linking hepatic glucose and Lipid metabolism. *Diabetologia*; 49(8):1732-41. 2006.

Weir GC, Bonner-Weir S. Adominantrole for glucosein-cell compensation of insulin resistance. *J Clin Invest*; 117:81–83. 2007.

Whang, H., Kouri G. Wollheim, C. ER stress and SREBP-1 actication are implicated in cell glucolipotoxicity. *Journal of cell science*; 118, 17:3905-3915. 2005.

Whelton PK, Appel LJ, Espeland MA, Applegate WB, Ettinger Jr WH, Kostis JB, Kumanyika S, Lacy CR, Johnson KC, Folmar S, Cutler JA. Sodium reduction and weight loss in the treatment of hypertension in older persons: a randomized controlled trial of nonpharmacologic interventions in the elderly. TONE Collaborative Research Group. *JAMA*; 279:839–846. 1998.

Wing RR, Koeske R, Epstein LH, Nowalk MP, Gooding W, Becker D. Long-term effects of modest weight loss in type II diabetic patients. *Arch Intern Med*; 147:1749–1753. 1987.

World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. 1999.

World Health Organization. The 10 leading causes of death by broad income group. 2004.

Yu C, Chen Y, Cline GW, Zhang D, Zong H, Wang Y, Bergeron R, Kim JK, Cushman SW, Cooney GJ, Atcheson B, White MF, Kraegen EW, Shulman GI. Mechanism by which fatty acids inhibit insulin activation of insulin receptor substrate-1 (IRS-1)-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity in muscle. *J Biol Chem*. 277(52):50230-6. 2002.

Zoeller R.A. and R. Wood. Effects of cyclopropene fatty acids on the Lipid composition of Morris hepatoma. *Lipids*; 19:529-538. 1984.