



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del consumo elevado de sacarosa sobre la concentración de
Corticosterona, Indicadores Metabólicos e Histología de la Glándula
Adrenal

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Yadira Díaz Aguila

Director

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Tlaxcala, Tlax.

Agosto, 2012.



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del consumo elevado de sacarosa sobre la concentración de
Corticosterona, Indicadores Metabólicos e Histología de la Glándula

Adrenal

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Yadira Díaz Aguila

Director

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Comité tutorial

Dra. Estela Cuevas Romero

Dra. Ma. Del Carmen Cortés Sánchez

Dr. Alfonso Alexander Aguilera

Dr. Pablo Pacheco Cabrera

Dr. Jorge Rodríguez Antolín

M en C. Margarita Cervantes Rodríguez

Tlaxcala, Tlax.

Agosto, 2012



Universidad Autónoma de Tlaxcala
Posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta

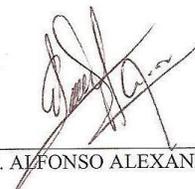


COORDINACIÓN DE LA MAESTRÍA
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que **Yadira Díaz Águila** realiza para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“Efecto del consumo elevado de sacarosa sobre la concentración de Corticosterona, Indicadores Metabólicos e Histología de la Glándula Adrenal”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., JULIO 23 DE 2012


DR. ALFONSO ALEXANDER AGUILERA


DR. PABLO PACHECO CARERA


DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO


DR. JORGE RODRÍGUEZ ANTOLÍN


DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado Bajo la Norma:
ISO 9001:2000-NMX-CC-9001-IMNC-2000



Km. 1.5 Carretera Tlaxcala-Puebla CP 90070 Tel/Fax: 01(246)462-15-57 e-mail: posgradocbucat@gmail.com
Tlaxcala, Tlax.

Agradecimientos

Agradecimientos

Esta investigación fue realizada bajo la dirección de la Dra. Leticia Nicolás Toledo en las inmediaciones del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se contó con la tutoría de los Drs. Estela Cuevas Romero, Francisco Castelán, Alfonso Alexander Aguilera, Ma. Del Carmen Cortés Sánchez, Jorge Rodríguez Antolín y Pablo Pacheco Cabrera. También se contó con la asesoría de la M en C. Margarita Cervantes Rodríguez y la QFB Laura García Rivera.

A la maestría en ciencias biológicas por el programa tan amplio que ofrece a los aspirantes y por el apoyo del mismo para la realización del proyecto aquí presentado.

Al apoyo recibido de la beca CONACyT 366801-DAY para la realización del proyecto de tesis.

Dedicatoria

Son muchas las personas especiales a las que me gustaría agradecer su amistad, apoyo, ánimo y compañía en las diferentes etapas de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en el corazón. Sin importar en dónde estén o si alguna vez llegan a leer estas dedicatorias quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

A Dios, por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

Mami, no me equivoco si digo que eres la mejor mamá del mundo, gracias por todo tu esfuerzo, tu apoyo y por la confianza que depositaste en mí. Gracias porque siempre has estado a mi lado. Te quiero mucho.

Papá, éste es un logro más que quiero compartir contigo, gracias por ser mi padre y por creer en mí. Quiero que sepas que ocupas un lugar especial en mi vida y en mi corazón.

A mis hermanos, son los mejores hermanos que una hermana puede tener. Gracias por soportarme y por brindarme su apoyo incondicional todo este tiempo.

A mi hermoso niño Bruno Díaz, amorcito aunque todavía no puedas leer, un día vas a aprender y por eso quiero que sepas que eres la razón de mi vida y el motivo que me alienta a seguir adelante, con tu sonrisita contagiosa. Te quiero mucho príncipe.

A mis abuelos, tíos y primos por ser mí ejemplo y por estar ahí en los momentos difíciles

A mis asesora, la Dra. Lety por su gran apoyo, tiempo, paciencia y motivación para la culminación de esta tesis.

A todos mis amigos, sin excluir a ninguno, pero en especial a Luis, Tavo, Irving, Iván, Raul Atriano, Are, Adri, Edith, Mariela, Marianita, Ely Bsb McLean, Arashi, Rosi, Yaz y Favi, mil gracias por los momentos que hemos pasado juntos y porque han estado conmigo siempre aunque sea solo para molestar y dar lata 😊 . Solo puedo decirles gracias.

Resumen

Los glucocorticoides, secretados por las glándulas adrenales, juegan un papel crítico en el metabolismo de carbohidratos y lípidos. Su exceso en pacientes con síndrome de Cushing se asocia con obesidad, resistencia a la insulina e hipertensión. En modelos animales, dietas ricas en sacarosa y grasa se asocian a intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia que conllevan a obesidad y diabetes tipo II, así como un aumento en la concentración de corticosterona. Mientras que la adrenalectomía revierte los efectos causados por la dieta. Es decir el fenotipo obeso requiere de la presencia de glucocorticoides. Los pocos estudios hechos en rata que asocian la corticosterona con indicadores metabólicos son muy drásticos porque extraen las glándulas adrenales y miden la hormona al final del tratamiento de la dieta, desconociéndose cuando inicia el aumento de esta hormona con la dieta rica en azúcares. El objetivo de esta tesis fue determinar si el consumo elevado de sacarosa aumenta la concentración de corticosterona, modifica los indicadores metabólicos y provoca cambios en el arreglo histológico de la glándula adrenal. Se utilizaron ratas machos de 21 días de edad de la cepa Wistar, que conformaron a los grupos control (CC) (n=10) y experimental (A30) (n=10), a los que se les proporcionó dieta control Chow y agua con sacarosa al 30% durante 13 semanas *ad libitum*. Se registró diariamente el peso corporal, consumo de alimento y consumo de agua. Se colectaron las heces en los días 7, 30, 60 y 90 de edad para medir la concentración de corticosterona por el método de ELISA. Al término del tratamiento, previo al sacrificio y habiendo cumplido un ayuno de doce horas, a cada rata se les midió la glucosa sérica mediante tiras reactivas. Después los animales fueron sacrificados por decapitación para colectar sangre y analizar los indicadores metabólicos: colesterol, triglicéridos, HDL y VLDL por medio de métodos enzimáticos colorimétricos, la concentración de leptina e insulina fueron analizados por RIA. Se les extrajo el tejido adiposo visceral y las glándulas adrenales y se pesaron. Se utilizó la tinción de hematoxilina eosina para analizar el espesor, número y área de células de cada zona de la corteza y médula adrenal. También se utilizó la tinción de Tricrómica de Masson para evaluar la presencia de fibrosis. Los datos fueron analizados aplicando prueba *t*-Student.; En comparación con los animales CC, los animales A30 mostraron: 1) un aumento significativo de corticosterona en el día 30 del tratamiento experimental ($P < 0.05$), aunque en el segundo y tercer mes de tratamiento disminuyó la

concentración de corticosterona al nivel de la concentración de la rata control. 2) también un aumento significativo de la concentración de triglicéridos, VLDL, leptina, insulina, resistencia a la insulina ($P < 0.05$), 3) No se encontraron diferencias en los niveles de glucosa, colesterol y HDL; aunque en el peso corporal no encontramos diferencias, la cantidad de tejido adiposo visceral aumentó significativamente ($P < 0.05$). El consumo de sacarosa no aumentó el peso de las glándulas adrenales, sin embargo, provocó un desarreglo histológico en las zonas de la corteza de la glándula adrenal derecha de los animales A30 comparados con los controles, principalmente en la zona reticular, donde se observa edema por la presencia de células globosas. En cuanto a la médula adrenal derecha presenta fibrosis con un aumento de colágeno, sin modificar el número y área de las células cromafines, así como la infiltración de células del sistema inmune tanto en la corteza como en la médula adrenal. Nuestros resultados aportan la observación de que el aumento en la concentración de corticosterona en heces ocurre desde el inicio de la dieta, además que existe una diferencia histológica entre la glándula adrenal derecha e izquierda. Podemos sugerir que el consumo elevado de sacarosa aumenta los niveles de insulina y lípidos sanguíneos, es probable que estas alteraciones metabólicas, influya en el desarreglo histológico que se observó en la glándula adrenal derecha y como consecuencia disminuyó la concentración corticosterona a partir de los 60 días del consumo de agua con sacarosa.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	13
1.1 Síndrome metabólico.....	14
1.2 Metabolismo de glucosa.....	16
1.2.1 Hígado	16
1.2.2 Lipoproteínas plasmáticas	17
1.2.3 Tejido adiposo.....	18
1.2.4 Páncreas.....	20
1.2 Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal	22
1.3. Glucocorticoides	23
1.3.1 Transporte plasmático de los glucocorticoides.....	23
1.3.2 Glándula Adrenal	24
1.5. Mecanismos de acción de glucocorticoides	28
2 ANTECEDENTES.....	29
2.1 Modelos animales.....	29
2.1.1 Consumo elevado de carbohidratos.....	29
2.1.2 Glucocorticoides e Indicadores metabólicos	30
2.2 Efecto de la sacarosa sobre la histología de páncreas, tejido adiposo e hígado	34
2.2.1 Páncreas.....	34
2.2.2 Tejido adiposo	34
2.2.3 Hígado	35
2.3 Histología de la glándula adrenal	36
3 JUSTIFICACIÓN	38
4 HIPÓTESIS	39
5 OBJETIVOS	39

5.1 Objetivo general	39
5.2 Objetivos específicos.....	39
6 MATERIAL Y MÉTODOS	40
6.1 Manejo de los animales	40
6.2 Grupos experimentales	40
6.2.1 Diseño experimental.....	41
6.3 Obtención de kilocalorías (Kcal) consumidas en el agua.....	41
6.4 Obtención de kilocalorías (Kcal) consumidas en el alimento	42
6.5 Obtención de muestras sanguíneas, glándula adrenal y tejido adiposo.....	42
6.6 Determinaciones bioquímicas	43
6.7 Obtención y determinación de corticosterona en muestras fecales	44
6.7.1 Colecta de muestras fecales.....	44
6.7.2 Extracción de hormona en muestras fecales.....	45
6.7.3 Determinación de corticosterona.....	45
6.8 Determinación de leptina e insulina por Radioinmunoanálisis (RIA).....	45
6.9 Análisis histológico de la glándula adrenal.....	46
6.10 Análisis estadístico.....	47
7 RESULTADOS.....	48
7.1 Peso corporal de las ratas	48
7.2 Consumo de alimento, agua y calorías totales de las ratas.....	48
7.3 Parámetros bioquímicos al sacrificio	50
7.3.1 Glucosa.....	50
7.3.2 Insulina.....	50
7.3.3 Índice de resistencia a la insulina	51

7.3.4 Triglicéridos	51
7.3.5 Lipoproteína de muy baja densidad (VLDL)	52
7.3.6. Colesterol	52
7.3.7 Lipoproteína de alta densidad (HDL).....	53
7.3.8 Leptina.....	53
7.4 Peso del tejido adiposo.....	54
7.5 Corticosterona en heces por gramo de heces a lo largo del tiempo.....	55
7.5.1 Correlación entre la concentración de corticosterona en heces por gramo de heces.....	57
7.5.2 Correlación entre la corticosterona sérica y la corticosterona en heces	57
7.5.3 Correlación entre la corticosterona sérica y los gramos de heces	58
7.6 Peso y características histológicas de la glándula adrenal.....	59
7.6.1 Peso de la glándula adrenal	59
7.6.2 Histología de la glándula adrenal	59
7.7. Corticosterona en heces y espesor de la zona fasciculada.....	70
7.8 Espesor y número de núcleos de la zona fasciculada	71
8 DISCUSIÓN	72
9 CONCLUSIONES	79
10 PERSPECTIVAS	80
11 REFERENCIAS	81
12. GLOSARIO.....	91
13 ANEXOS.....	93
13.1 Anexo 1. Deshidratación de la glándula adrenal	93
13.2 Anexo 2. Tinción de hematoxilina-eosina.....	94
13.3 Anexo 3. Tinción Tricrómica de Masson.....	96

13.4 Anexo 4. Tinción de Wright.....	98
14 PUBLICACIONES	100

1. INTRODUCCIÓN

La alimentación se entiende como la forma y manera de proporcionar al ser vivo, las sustancias que le son indispensables para mantener la salud y vida. La ingesta alimentaria se considera como una conducta y consiste en la obtención e ingestión de alimentos (Mataix 2009). La nutrición es el conjunto de procesos fisiológico-metabólicos mediante el cual los alimentos ingeridos se transforman y se asimilan, es decir, se incorporan al organismo de los seres vivos. Así, la alimentación es un acto voluntario y la nutrición es un acto involuntario. Una adecuada nutrición es aquella que contiene un balance entre lo que el organismo requiere y lo que gasta por sus actividades, es decir, un equilibrio entre los macro y micronutrientes (proteínas, carbohidratos, lípidos, minerales, vitaminas) contenidas en la dieta y la energía invertida en el desarrollo de sus actividades. Cuando no se cubren los requerimientos nutricionales mínimos necesarios a través de la dieta, se deteriora el estado nutricional promoviendo la aparición de cuadros clínicos severos como serían problemas de malnutrición (Mataix 2009).

La malnutrición se define como un estado donde una deficiencia o un exceso (o desequilibrio) de energía, proteínas u otros nutrientes provoca efectos adversos medibles en los tejidos, estructuras y funcionamiento corporal y desenlace clínico (Elia 2000). La malnutrición engloba cualquier alteración nutricional, tanto por consumo elevado (sobrenutrición¹) como por restricción (hiponutrición², desnutrición³, o subnutrición⁴) o por desequilibrio (disnutrición⁵) (Mataix 2009).

¹ Remitirse al glosario

² Remitirse al glosario

³ Remitirse al glosario

⁴ Remitirse al glosario

⁵ Remitirse al glosario

Problemas de malnutrición se han asociado con trastornos metabólicos como la obesidad. La obesidad es el resultado de un desequilibrio entre la ingestión y el gasto energético. Este desequilibrio es frecuentemente consecuencia, por un lado, de la ingestión de dietas con alta densidad energética y bajas en fibra y, por otro lado, por el consumo de bebidas azucaradas, en combinación con una escasa actividad física. Esta última se ha asociado a la urbanización, al crecimiento económico y a los cambios en la tecnología para la producción de bienes y servicios, así como a los estilos de vida y de recreación (Popkin 2002).

En lo que se refiere a obesidad por exceso de carbohidratos simples⁶ en la dieta, se ha mostrado que el consumo elevado de éstos, provoca un aumento de tejido adiposo, así como la presencia de alteraciones metabólicas (diabetes tipo II, hipertensión⁷, dislipidemias⁸, resistencia a la insulina). Estas alteraciones en conjunto se conocen como síndrome metabólico.

1.1 Síndrome metabólico

El síndrome metabólico es una condición que incluye diversas alteraciones fisiológico-metabólicas (intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina, presión arterial y obesidad) que aumentan la probabilidad de desarrollar hipertensión, diabetes⁹, y dislipidemias caracterizadas por bajos niveles sanguíneos de lipoproteína de alta densidad (HDL) consideradas factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares que generan un alto riesgo de mortalidad. Su fisiopatología se cree está relacionado con la resistencia a la insulina (Kahn y cols. 2005) y obesidad abdominal, esta última considerada como marcador de la disfunción del tejido adiposo en la regulación de apetito-saciedad relacionada con la secreción de leptina (Furukawa y cols. 2004). Según los criterios de “The American Heart Association in

⁶ Remitirse al glosario

⁷ Remitirse al glosario

⁸ Remitirse al glosario

⁹ Remitirse al glosario

conjunction with the National Heart, Lung, and Blood Institute (AHA/NHLBI)” el síndrome metabólico en humanos se define como la presencia de tres o más de los siguientes criterios: 1) Circunferencia de cintura ≥ 90 cm en hombres y ≥ 80 cm en mujeres; 2) Triglicéridos séricos ≥ 150 mg/dL; 3); Presión arterial $\geq 130/85$ mmHg; 4) HDL < 40 mg/dL en hombres y < 50 mg/dL en mujeres; 5) Glucosa en suero ≥ 100 mg/dL (Kasai y cols. 2008).

Un área la cual ha recibido mucho interés en recientes años ha sido el papel de los glucocorticoides en el desarrollo del síndrome metabólico. Un exceso de glucocorticoides en la circulación sanguínea puede deberse a: 1) una continua y pronunciada hipersecreción de glucocorticoides por adenomas ectópicos en la glándula pituitaria produciendo elevada concentración de ACTH, 2) presencia de adenomas en la glándula suprarrenal y 3) una repuesta yatrogénica a la administración de dosis elevadas de corticoides exógenos durante un tiempo prolongado en el tratamiento de enfermedades reumáticas crónicas. Actualmente, los glucocorticoides sintéticos son bastante utilizados en el tratamiento de enfermedades autoinmunes (Pinheiro y cols. 2009), dando como resultado el Síndrome de Cushing (Vegiopoulos y Herzig 2007). El Síndrome de Cushing se caracteriza por altos niveles de cortisol en la circulación sanguínea y desarrollo de obesidad visceral, hipertensión, hiperglucemia, resistencia a insulina y dislipidemias. Un tratamiento utilizado en pacientes con Síndrome de Cushing, es el uso del RU38486, es un esteroide sintético con propiedades antiprogesterona¹⁰ y antiglucocorticoides¹¹, actúa como un inhibidor competitivo del receptor a glucocorticoide, y lo que han observado es una disminución en la presión sanguínea, en la concentración de glucosa y triglicéridos sanguíneos (Stimson y Walker 2007).

¹⁰ Remitirse al glosario

¹¹ Remitirse al glosario

1.2 Metabolismo de glucosa

1.2.1 Hígado

Una de las funciones del hígado, es el metabolismo de glucosa, lo que se conoce como glucólisis. Cuando existe un aumento en el consumo de azúcares aumenta la glucólisis (Vegiopoulos y Herzig 2007). La glucosa ingresa a los hepatocitos por difusión facilitada, un proceso no afectado por la insulina. Una vez en el interior, la glucosa es rápidamente convertida en glucosa 6-fosfato. El éster de fosfato no puede difundir hacia afuera y por ende es atrapado dentro de la célula para iniciar el proceso de glucólisis. En consecuencia la glucosa 6-fosfato asegura un continuo gradiente de glucosa a través de la membrana del hepatocito o puede almacenarse en forma de glucógeno por la fosforilación inducida por la insulina. En esta forma es almacenado como fuente inmediata de glucosa para el mantenimiento del nivel sanguíneo (Devlin 2004). Otras hexosas, en especial fructosa y galactosa, son convertidas en glucosa. De las dos, la fructosa es particularmente importante, debido a la gran cantidad de sacarosa presente en la dieta humana. Es necesario recordar que la fructosa primero es fosforilada a fructosa 6-fosfato, por la enzima fructosa 1-fosfato, posteriormente se convierte en fructosa 1,6-bifosfato, para finalmente obtener una molécula de dihidroxiacetona fosfato y otra de gliceraldehído 3-fosfato, utilizado para la formación de triglicéridos hepáticos y la formación de glucosa por la vía gluconeogénica. Los ácidos grasos pueden sintetizarse en el hígado a partir de glucosa por la vía de la gluconeogénesis. El exceso de glucosa es convertido en ácidos grasos y almacenado en forma de triglicéridos. La síntesis de triglicéridos en el hígado se utiliza principalmente para la producción de lipoproteínas (Devlin 2004).

1.2.2 Lipoproteínas plasmáticas

Las lipoproteínas son partículas formadas por una fracción proteica denominada apolipoproteínas (Apo) y una fracción lipídica, cuya función es la de solubilizar y transportar lípidos en la circulación sanguínea. Se reconocen 5 tipos principales de lipoproteínas: los quilomicrones, las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL por sus siglas en inglés), las de baja densidad (LDL por sus siglas en inglés), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL por sus siglas en inglés) y las de alta densidad (HDL por sus siglas en inglés).

Los quilomicrones están formados en mayor proporción de triglicéridos (55 a 95 %) y contienen una cantidad relativamente baja en fosfolípidos y colesterol. Su principal componente es la apo B 48 y transporta grasa proveniente del intestino al hígado. Para las VLDL su componente lipídico fundamental son los triglicéridos (52%), de origen endógeno, aunque contienen un 22% de colesterol libre y esterificado. Las IDL, y LDL van dejando triglicéridos y aumentando su contenido en colesterol; las LDL tienen hasta un 50% de colesterol. Están encargados de transportar el colesterol del hígado a los tejidos periféricos y depositarlos, por ejemplo en paredes arteriales, debido a esto tienen un rol significativo en la enfermedad arteriosclerótica. Las HDL sintetizadas principalmente en el hígado y en menor cantidad en el intestino, son ricas en colesterol (19%) y tiene un contenido de triglicéridos bajo, son fundamentales en el transporte del exceso de colesterol desde los tejidos hacia el hígado, único órgano capaz de excretarlo por la vía biliar, ya sea directamente en forma de colesterol o después de convertirse en ácidos biliares (Devlin 2000).

Cuando existe un incremento de las lipoproteínas ricas en triglicéridos, la proteína transportadora de éster de colesterol (CEPT por sus siglas en inglés) condiciona un flujo de triglicéridos de VLDL hacia HDL y se transfiere el colesterol éster desde las HDL hacia las VLDL y LDL, generando HDL pequeñas, ricas en triglicéridos, más afines a la lipasa lipoproteína hepática y que van preferentemente al catabolismo terminal y excreción de la ApoA1 por vía renal. Esto explica la frecuente asociación observada en clínica, de triglicéridos altos y HDL bajo (Devlin 2000).

1.2.3 Tejido adiposo

El tejido adiposo es un tejido conjuntivo especializado, diseñado para la síntesis, almacenamiento e hidrólisis de triglicéridos. El tejido adiposo es el gran reservorio de energía del organismo a largo plazo. Una de las principales funciones de los adipocitos, células estructurales del tejido adiposo, es almacenar triglicéridos durante periodos de exceso calórico y movilizar estas reservas cuando el gasto energético excede al consumo. Más del 85% del volumen celular consiste en un único gran glóbulo de grasa (Devlin 2000).

La glucosa también ingresa a los adipocitos por un mecanismo de transporte dependiente de la insulina. Así como en el hígado, en el tejido adiposo también existe la síntesis de “*novo*” de ácidos grasos a partir de la acetil CoA, proveniente del metabolismo de la glucosa. Más importante, es la fosfodihidroxiacetona que es reducida al glicerol 3-fosfato. Los triglicéridos producidos a partir de la esterificación del acil CoA y el glicerol 3-fosfato, son luego almacenados en la célula. En consecuencia este proceso depende en su totalidad del suministro de ácidos grasos de las lipoproteínas (quilomicrones y VLDL) y del metabolismo de hidratos de carbono (Vázquez-Vela y cols. 2008; Devlin 2000).

La insulina y los glucocorticoides afectan el almacenamiento de lípidos, estimulando la síntesis de la lipoproteína lipasa (LPL por sus siglas en inglés), enzima capaz de hidrolizar los triglicéridos para liberar ácidos grasos y glicerol al interior de los tejidos. Dicha enzima se encuentra adherida a las paredes de los capilares sanguíneos, cuando esta activada por la apolipoproteína C-II, cataliza la hidrólisis de triglicéridos contenidos en diversas partículas en especial VLDL y quilomicrones, almacenando de esta forma triglicéridos en los adipocitos (Devlin 2000). En particular el tejido adiposo visceral, posee mayor número de receptores de glucocorticoides, que el tejido adiposo subcutáneo, explicando su mayor sensibilidad a esta hormona (Ramsay 1996). Por otro lado, la insulina reprime la lipólisis inhibiendo la acción de la enzima lipasa sensible a hormona, por el contrario dicha enzima es activada por las catecolaminas, la hormona de crecimiento, el glucagón, la ACTH y los glucocorticoides, también cataliza la conversión de los triglicéridos en ácidos grasos libres (Björntorp 1995).

En años recientes, el tejido adiposo ha sido considerado como un órgano endocrino, debido a la capacidad que tiene de secretar hormonas y ciertas adipocinas (Figura 3). De este modo, el tejido adiposo no solo es conocido por la capacidad que tiene de almacenar triglicéridos cuando existe un exceso de consumo de energía, sino también como un participante fundamental en el control del metabolismo energético. Entre las adipocinas que secreta encontramos a la leptina, adiponectina, resistina, serpina, lipocalina-2, PAI-1, RBP4, la glicoproteína Zn a-2, vaspina, visfatina, omentina, apelina involucradas en la secreción de insulina, presión arterial, homeostasis de glucosa, resistencia a la insulina, y TNF- α , IL-6 y MCP-1 que se encargan de la respuesta inflamatoria o migración celular. Por lo que, el papel de algunas adipocinas y su importancia en el control del balance energético y el desarrollo de la obesidad es estudiado (Vázquez-Vela y cols. 2008).

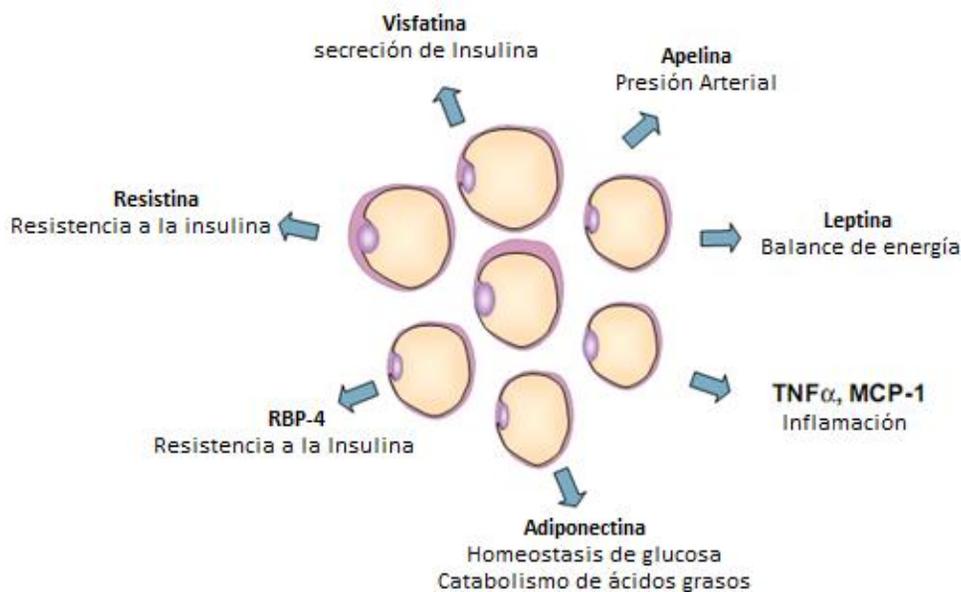


Figura 3. El tejido adiposo como órgano endocrino. Los adipocitos secretan varias proteínas con funciones endocrinas conocidas como adipocinas que regulan el metabolismo de glucosa, de ácidos grasos, mantienen la homeostasis del gasto energético, regulan la respuesta inflamatoria y la presión arterial, entre otros. El desequilibrio en la secreción de algunas de estas adipocinas se asocian con obesidad y síndrome metabólico (Modificada de Vázquez-Vela y cols., 2008).

De manera particular la leptina, hormona secretada en el tejido adiposo y encargada de la regulación de la ingesta de alimento y mantenimiento del peso corporal, es una hormona proteica, que se sintetiza exclusivamente en el tejido adiposo, a excepción de la placenta en la gestación, comportándose como una auténtica “hormona del tejido adiposo”. La leptina es codificada por el gen *ob* y la mutación del mismo en modelos animales originan el ratón *ob/ob* que se caracteriza por la deficiencia de leptina, resultando obesidad, hiperfagia, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina, hipotermia e infertilidad (Rappaport 2001).

La secreción de leptina es de tipo pulsátil, con un ritmo circadiano y con un pico entre las 22 y las 23 hrs, con el fin de suprimir el apetito durante el sueño, con un estado basal hacia el mediodía, en donde está influido por el aumento de los niveles de glucemia, ya que al ingerir alimento, la glucosa aumenta, manteniendo así los niveles de leptina y la ingesta de alimento. Las concentraciones de leptina circulante se correlacionan con la grasa corporal total e índice de masa corporal (IMC), sin embargo, no se sabe si el aumento de los niveles de triglicéridos, el metabolismo lipídico u otros factores asociados con el aumento de la secreción de leptina influyen para que aumente el tamaño del adipocito (Ahima y Flier 2000; Rappaport 2001).

1.2.4 Páncreas

El páncreas es un órgano mixto, consta de una parte exocrina, formada por células epiteliales, dispuestas en estructuras esféricas u ovoides llamados ácinos pancreáticos y secretan enzimas digestivas, que llegan al intestino delgado, y una parte endocrina que se agrupa en islotes de Langerhans. Dentro de los islotes se distinguen cuatro tipos de células: las células α que secretan glucagón, las células β que secretan insulina, las células δ que secretan somatostatina y las células F que secretan polipéptido pancreático (Devlin 2000).

La insulina es una hormona proteica, la cual tiene múltiples funciones que regulan el metabolismo: estimula e inhibe la glucogenólisis, inhibe la gluconeogénesis y promueve la glucólisis, favorece la síntesis de triglicéridos y estimula la síntesis de proteínas. Esta hormona sintetizada en las células β del páncreas se libera bajo la influencia de varios estímulos, el

principal es la ingesta de carbohidratos, aumentando sus niveles en el plasma sanguíneo para reducir los niveles de glucosa. Este mecanismo se lleva a cabo en las células diana principalmente en hígado, músculo y tejido adiposo, después de la ingesta alimentaria, se inicia una transducción de señales dependiente de insulina, cuyo efecto es el incremento en la captación de glucosa y su posterior almacenamiento, evitando así un ascenso excesivo de la glucemia postprandial con la reducción de glucosa sanguínea, por último se degrada la insulina secretada, finalizando así la respuesta unas 2 ó 3 horas después de la ingesta (Devlin 2000).

El primer paso de la acción de la insulina es su unión a un receptor específico en la membrana plasmática de la célula diana, tras la unión de la insulina a su receptor, la actividad tirosina-quinasa de la subunidad beta del receptor se activa, y fosforila múltiples residuos de tirosina en los denominados: sustrato del receptor de insulina 1 (IRS-1) y sustrato del receptor de insulina 2 (IRS-2). Estos sustratos multifosforilados se unen a continuación a dominios específicos, tipo SH2, en determinadas proteínas-quinasas traductoras, como la fosfatidilinositol 3-quinasa y otras. El proceso sigue con reacciones de fosforilación/defosforilación de serinas en múltiples enzimas-quinasas, como la familia de enzimas llamada MAP-quinasa. Pasando, finalmente, a los efectos biológicos finales, tales como la regulación de la síntesis de glucógeno y lípidos, la captación de glucosa y de aminoácidos, la activación de un gran número de enzimas intracelulares y la regulación de la síntesis de ARN y ADN (Calle cols. 1996).

El gen que codifica para el receptor de insulina, tiene diversos sitios para diferentes factores de transcripción, dentro de ellos, están los sitios respondedores a glucocorticoides (GRE) que representan hasta el momento los únicos elementos situados en el promotor del receptor de insulina capaz de darnos información sobre el posible mecanismo de la acción implicada en la regulación por hormonas esteroideas de la expresión del gen del receptor de insulina (Calle cols. 1996).

1.2 Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal

El eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal (HHA) está constituido principalmente por tres niveles: uno hipotalámico, uno hipofisario y otro adrenal; éstos se vinculan jerárquicamente regulando la secreción adrenal de glucocorticoides. El eje HHA es de vital importancia, ya que minimiza las desviaciones del estado homeostático y ayuda a regresar al equilibrio al organismo después de la exposición a agentes estresantes internos y externos. En el núcleo paraventricular hipotalámico aumenta la síntesis de la hormona liberadora de corticotropina (CRH por sus siglas en inglés), se libera al sistema hipofisario, que al unirse a su receptor en las células corticotropas de la adenohipófisis, se produce la secreción de la hormona adrenocorticotrofina (ACTH por sus siglas en inglés) que, a su vez, estimula la producción de glucocorticoides en las glándulas adrenales (Schawartz y cols. 2003; Perello y Spinedi 2004). Los glucocorticoides plasmáticos, a su vez, determinan un poderoso mecanismo de retroalimentación negativo sobre la actividad neuronal, regulando la síntesis de CRH y la sensibilidad a los mecanismos activadores del eje. La síntesis y secreción de glucocorticoides (cortisol en humanos y corticosterona en roedores), representa el paso final de una cascada neuroendocrina que inicia en el sistema nervioso central (Sapolsky y cols. 2000; Pacak y Palkovits 2001). Sin embargo, hay evidencias de una síntesis local de glucocorticoides regulado por la enzima 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (11 β -HSD) que se relaciona con el metabolismo lipídico, hepático y adiposo (Paterson y cols. 2004; Liu y cols. 2005; Lavery y cols. 2006; London y cols. 2007; London y cols. 2009). Hay dos isoenzimas: La enzima tipo 1 (11 β -HSD1) cuya función es incrementar la secreción de glucocorticoides, facilitando la conversión de cortisona inactiva a cortisol activo y se expresa en varios tejidos incluyendo: hígado, pulmón, tejido adiposo, músculo, corteza adrenal, células β pancreáticas, glándula pituitaria anterior y en ciertas áreas del cerebro incluyendo el hipocampo. La enzima tipo 2 (11 β -HSD2), disminuye la acción local de cortisol catalizando la inactivación de cortisol a cortisona y se expresa en riñón, colón, placenta y glándulas sudoríparas (Seckl y cols. 2004; Tomlinson y cols. 2004; Stimson y Walker 2007; Saiah 2008).

En adipocitos y hepatocitos la activación de la enzima 11 β -HSD1 amplifica la síntesis local de glucocorticoide. Se ha mostrado tanto en humanos como en roedores obesos un aumento de la enzima 11 β -HSD1 (Seckl y cols. 2004). Además, que la sobreexpresión de la enzima 11 β -HSD1 y el subsecuente aumento en los niveles de glucocorticoides es suficiente para provocar resistencia a la insulina, esteatosis hepática e incremento en la síntesis de lípidos hepáticos, un aumento en depósitos de grasa abdominal, mientras que la grasa periférica es menos afectada (Vegiopoulos y Herzig 2007; Saiah 2008). Recientes estudios indican que la inhibición de 11 β -HSD1 disminuye los efectos inducidos por los niveles elevados de glucocorticoides en parámetros metabólicos (Saiah 2008).

1.3. Glucocorticoides

1.3.1 Transporte plasmático de los glucocorticoides

Un 80-85% del cortisol plasmático está unido con gran afinidad a la proteína globulina de unión al cortisol (CBG por sus siglas en inglés), y un 10-15% unida a la proteína albúmina. Al aumentar las concentraciones de cortisol, la proteína CBG queda saturada (por encima de 60nmol/L), por lo que una mayor proporción se une a la proteína albúmina. Dado que el ritmo de disociación de la albúmina es más rápido que el de la CBG, el cortisol unido a la albumina se halla más fácilmente a disposición de los tejidos. La hormona libre es la única fisiológicamente activa, por lo que, en casos en donde está elevado el cortisol, el hígado, que tiene un tiempo de tránsito sinusoidal relativamente prolongado, puede captar una cierta cantidad de cortisol fijado a su globulina de unión, además de la captación de la hormona libre y de la unida a albúmina, por lo que aumentaría la gluconeogénesis¹² (Rodes y cols. 2001; Opherk y cols. 2004; Vegiopoulos y Herzig 2007).

Los glucocorticoides actúan a través de los receptores nucleares. Hay dos subtipos: receptores a glucocorticoides y receptores a mineralocorticoides. Los tejidos que expresan receptores de glucocorticoides son el hígado, pulmón, tejido adiposo, músculo, corteza adrenal, células β pancreáticas, glándula pituitaria anterior, tejidos determinantes para la

¹² Remitirse al glosario

homeostasis de lípidos, insulina y glucosa hepática. Mientras que en hipocampo y en corazón, tenemos la presencia del receptor de mineralocorticoides (Seckl y cols. 2004; Vegiopoulos y Herzig 2007).

En la degradación, la conjugación hepática de los metabolitos del cortisol y de la cortisona con sulfato y ácido glucurónico, favorecen la hidrosolubilidad y su eliminación renal. En general, cantidades aproximadamente iguales de los metabolitos conjugados del cortisol y de la cortisona se excretan por la orina (Brousset Hernández-Jáuregui y cols. 2005). Mientras que en el intestino, estos metabolitos pueden ser reabsorbidos por la circulación enterohepática¹³, desconjugados por las bacterias y eliminados por las heces. Sólo una pequeña porción de esteroides sanguíneos libres es secretada a través de la mucosa del intestino grueso, lo que permite encontrar una pequeña porción del esteroide original, sin conjugar, en la orina o heces (Vylitova y cols. 1998; Brousset Hernández-Jáuregui y cols. 2005).

1.3.2 Glándula Adrenal

1.3.2.1 Anatomía de la glándula adrenal

Las glándulas adrenales son estructuras retroperitoneales, pesan alrededor de 5g cada una en el humano y en la rata pesan alrededor de 70mg cada una y se encuentran en el polo superior de los riñones con la grasa perirrenal. La glándula izquierda tiene forma de media luna, mientras que la derecha es más piramidal.

La anatomía difiere dependiendo de su ubicación: la glándula izquierda se encuentra por detrás de la cola del páncreas, de la arteria del bazo y el estómago. Está separada del cardias gástrico por la bolsa omental; la glándula derecha se encuentra por detrás de la parte inferior de la vena cava, con la cara anterolateral contra el hígado. Ambas glándulas se encuentran laterales a la arteria frénica interior y están en contacto con el diafragma y por encima de su riñón correspondiente.

¹³ Remitirse al glosario

El drenaje venoso es a través de una sola vena suprarrenal principal, que va desde hilio y el drenaje en la vena cava inferior a la derecha y la vena renal en la izquierda. El drenaje linfático va desde la vena periaórtica a la vena pericaaval (Figura 1) (Ritchie y Balasubramanian 2011).

La circulación se realiza mediante un sistema portal de pequeñas arterias, que se dirigen de la cápsula a la corteza y que constituye una red de arterias y capilares; esta red continúa hacia algunas venas situadas al interior de la médula. Este sistema de vascularización permite la llegada de concentraciones elevadas de glucocorticoides a la medula adrenal, lo que favorece la síntesis de enzimas como la ortotransferasa del feniletanol-N-aminometilo; que transforma la noradrenalina a adrenalina (Munoz 1994).

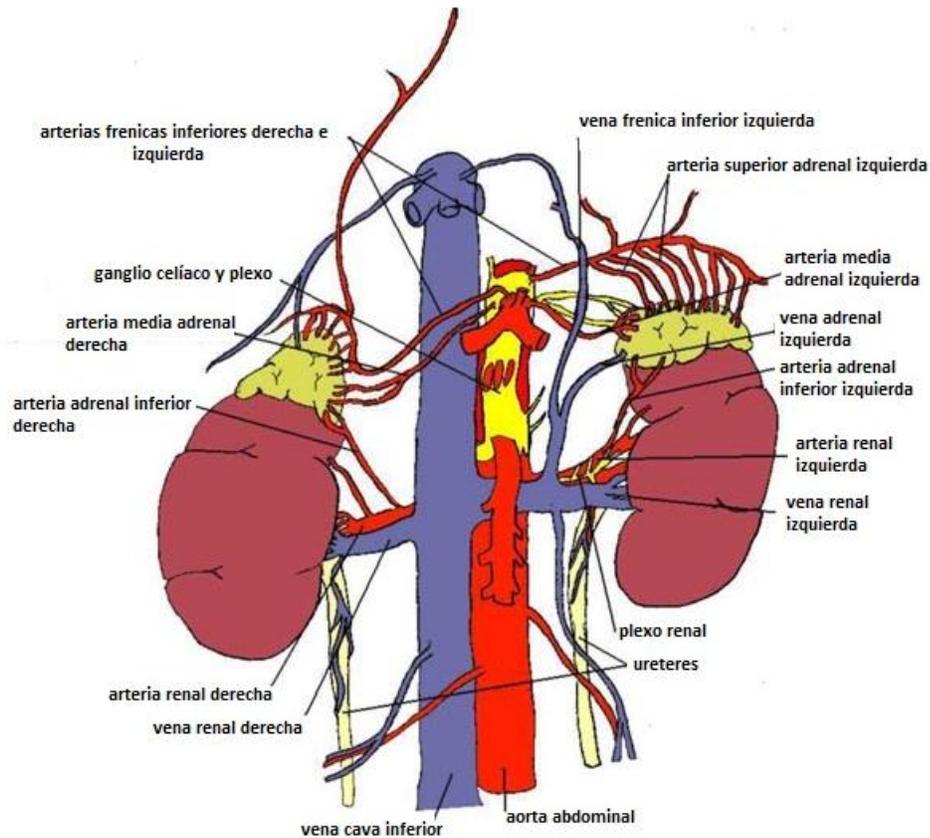


Figura 1. Drenaje venoso y arterial de la glándula adrenal

1.3.2.2 Histología de la glándula adrenal

1.3.2.2.1 Histología de la corteza adrenal

La glándula adrenal está rodeada por una cápsula fibrosa que penetra a la glándula. El límite cortico-medular es evidente, ya que la corteza muestra tres capas anatómicas y funcionales distintas. Al exterior se encuentra la zona glomerular, constituye aproximadamente el 15% de la corteza, está regulada por el sistema renina angiotensina y produce mineralocorticoides principalmente aldosterona cuya función es controlar la homeostasis electrolítica. La zona central es la fasciculada, constituye el 80% de la corteza y secreta glucocorticoides (cortisol y corticosterona), es una zona crucial del eje Hipotálamo-Hipofisiario-Adrenal, que coordina la los distintos sistemas para la respuesta lucha/huida propia de la respuesta al estrés (Keegan y Hammer 2002), esta actividad endocrina está regulada por ACTH, hormona liberada por células corticotropas en la hipófisis (Lalli 2010), los glucocorticoides también regulan el metabolismo de glucosa y ácidos grasos, y suprime la respuesta inflamatoria. La zona interior es la reticular, constituye sólo entre el 5-7% de la corteza y secretan pequeñas cantidades de andrógenos, fundamentalmente DHA (dehidroepiandrosterona) y la androstenediona que tienen una acción androgénica débil; en el varón apenas tiene efecto y se transforman en testosterona en los tejidos periféricos, en la mujer la mayor parte de testosterona circulante proviene de la corteza suprarrenal y sirve para mantener caracteres sexuales secundarios (vello axilar, vello púbico). La zona reticular también está coordinada por el eje Hipotálamo-Hipofisiario-Adrenal regulada por ACTH (Serrano 2009; Lalli 2010).

1.3.2.2.2 Histología de la médula adrenal

La médula secreta las hormonas noradrenalina y adrenalina en respuesta a estímulos recibidos de fibras simpáticas preganglionares¹⁴ del nervio esplácnico mayor. Las células cromafines son las más abundantes en la médula: son columnares, basófilas, con un citoplasma granular, se encuentran dispuestas en racimos alrededor de la vena medular. Además, se observan

¹⁴ Remitirse al glosario

agrupaciones de células poligonales de ganglios simpáticos (Figura 2) (Ritchie y Balasubramanian 2011).

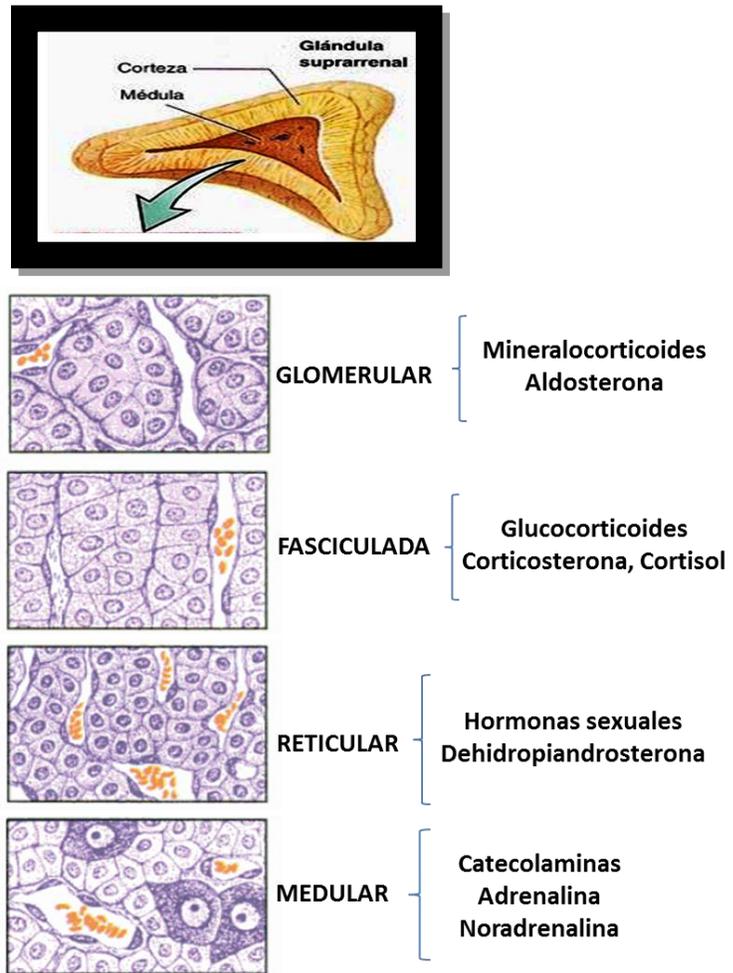


Figura 2. Histología de la glándula adrenal. Se observan las zonas que conforman la corteza y la médula así como las hormonas secretadas en cada una de ellas.

1.5. Mecanismos de acción de glucocorticoides

Acción de los Glucocorticoides			
TEJIDO	ACCIÓN	RESULTADO	REFERENCIA
Hígado	Inhibe cascada de señalización de la insulina	↓ Síntesis de glucógeno	Opherk y cols. 2004 Vegiopoulos y Herzig 2007
	↑ la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPCK por sus siglas en inglés), que actúa decarboxilando el oxalacetato a fosfoenolpiruvato, y la enzima glucosa-6-fosfatasa (G6Pasa por sus siglas en inglés) que hidroliza a la glucosa-6-fosfato en glucosa libre	↑ Gluconeogénesis	
	↑ Síntesis de triglicéridos y disminuye la oxidación de ácidos grasos	Esteatosis Hepática	Arnaldi y cols. 2010
Tejido adiposo	Inhibe cascada de señalización de la insulina	↓ Translocación del GLUT 4	Vegiopoulos y Herzig 2007
	↓ PEPCK	↑ Gliceroneogénesis	
	Estimula HSL	↑ Lipólisis	
	Estimula LPL	↓ Lipogénesis	
	↑ Función pro-adipogénica	Maduración del adipocito	Sliker y cols. 1995; Rentsch y Chiesi 1995; Pappaspyrou- Rao y cols. 1997; Zakrzewska y cols. 1997; Perello y Spinedi 2004
	↑ La expresión del mRNA del gen <i>ob</i>	↑ Leptina	
	↑ Leptina	Inhibe ingesta de alimento y secreción de GCs	
Páncreas	↓ Células β-pancreáticas	Inhibe secreción de insulina	
	↓ La función del transportador GLUT2		
Músculo	↓ Translocación del GLUT 4	Resistencia a la insulina	Vegiopoulos y Herzig 2007
	↓ Síntesis de glucógeno		
	↓ Síntesis de proteínas		
	↑ Degradación de proteínas	↑ Movilización de aminoácidos	
Riñón	Activa el MR en el túbulo distal	Retención de sodio y agua	
		↑ El volumen sanguíneo	

2 ANTECEDENTES

2.1 Modelos animales

2.1.1 Consumo elevado de carbohidratos

Dietas ricas en carbohidratos en etapas posteriores al nacimiento se han relacionado con la prevalencia de trastornos metabólicos. En la rata macho, se ha reportado que el consumo de agua azucarada al 30% después del destete, durante 18-21 semanas ocasiona sobrepeso, obesidad abdominal, hipertensión, intolerancia a la glucosa, dislipidemias (combinación de bajas concentraciones de HDL con altas concentraciones de triglicéridos y colesterol) (El Hafidi y cols. 2001; Alexander y cols. 2004; Pérez-Torres y cols. 2009), así como una disminución en el consumo de alimento (El Hafidi y Baños 1997; El Hafidi y cols. 2000, El Hafidi y cols. 2004, El Hafidi y cols. 2006).

El grupo de Herman-Oron y cols. (2008) reportó alteraciones metabólicas en ratas Sprague-Dawley sobrealimentadas, a partir de la semana 12 con fructosa (60%) durante siete semanas; ellos encuentran hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, hipertensión y resistencia a la insulina. Mientras que en ratas hipertensas espontáneas, de 12 semanas de edad, alimentadas con sacarosa al 12% por siete semanas, mencionan modificaciones en la presión arterial, intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina. Cabe resaltar que en estos estudios no se ha reportado nada con respecto a la concentración de corticosterona.

Una dieta rica en carbohidratos favorece la producción de enzimas como la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa para la producción de síntesis de *novo* de ácidos grasos en células parénquimas del hígado. Para conocer si la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es regulada de manera uniforme en las células endoteliales, kupffer y parénquima del hígado por dieta rica en carbohidratos, se utilizaron células aisladas de hígado de ratas Sprague-Dawley para observar la actividad y la cantidad de la expresión del mRNA de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa de la siguiente manera: 1) después de un ayuno de 24 hrs., 2) con un ayuno de 24 hrs seguido de una ingesta de alimento estándar por 48 hrs., 3) con un ayuno de 24 hrs seguido de una ingesta rica en carbohidratos por 48 hrs., 4) con una dieta

estándar, y 5) con una dieta estándar seguida de una dieta rica en carbohidratos por 48 hrs. Observando que la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en las células endoteliales fue de 150% mayor en el grupo con un ayuno de 24 hrs seguido de una ingesta rica en carbohidratos por 48 hrs, con respecto al grupo que solo estuvo en ayuno 24 hrs., y de 125% mayor en el grupo con una dieta estándar seguida de una dieta rica en carbohidratos por 48 hrs. que en el grupo con una dieta estándar. La expresión del mRNA de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa fue 300% mayor en las células endoteliales del grupo con un ayuno de 24 hrs seguido de una ingesta rica en carbohidratos por 48 hrs. en comparación al grupo que solo estuvo en ayuno 24 hrs. y que no obtuvo dieta rica en carbohidratos. En células de kupffer, la actividad y la expresión de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa no fueron diferentes entre los grupos. En las células parénquimas, la expresión de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa fue de 700-1200% más grande en las ratas que consumieron dietas ricas en carbohidratos comparado con los controles. Estos resultados indican que una dieta rica en carbohidratos a corto plazo estimula la expresión del mRNA de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en las células endoteliales y parenquimatosas del hígado. Debido a que la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, induce el metabolismo de especies reactivas a oxígeno, la respuesta puede representar una precondition de la vía antioxidante. (Spolarics 1999).

2.1.2 Glucocorticoides e Indicadores metabólicos

Es difícil establecer cuál es la causa primaria de la obesidad y cuáles son sus consecuencias, generalmente se asume que la hiperfagia se debe a leptino e insulino-resistencia, también se ha asociado con niveles altos de cortisol excretado en orina en humanos (Björntorp y cols. 2000; Stewart y Tomlinson 2002) y corticosterona en rata (Draper y Stewart 2005; Espíndola-Antunes y Kater 2007). Sin embargo, se halló que el aumento de la ingesta de alimento, *per se*, rápidamente las induce (Wang y cols. 2001). Cabe resaltar que resultados experimentales indican que el fenotipo obeso no puede ser inducido en ratas adrenalectomizadas, así parece claro que se requiere de glucocorticoides para inducir obesidad (Zakrzewska y cols. 1999). La circulación de leptina en mamíferos se correlaciona

con la cantidad de tejido adiposo y su síntesis (Murakami y cols. 1995) y secreción (Slieker y cols. 1995) se relacionan con los niveles de glucocorticoides, lo que nos indica claramente la relación del tejido adiposo con la función del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal (Spinedi y Gaillard 1998).

Para determinar si la ACTH endógena y los glucocorticoides ejercen un efecto sobre la secreción de leptina, se han propuesto diversos protocolos, uno de ellos es el de Spinedi y Gaillard (1998), en el cual utilizan ratas machos adultos de la cepa Wistar para formar tres grupos, los adrenalectomizados, los Sham y los adrenalectomizados con reemplazo de corticosterona (dexametasona) durante siete días. Encontraron que las ratas adrenalectomizadas incrementaron al doble los niveles de ACTH, sin detectar corticosterona y los niveles de leptina disminuyeron en plasma, mientras que en ratas adrenalectomizadas con dexametasona, se observaron niveles basales de ACTH y se restablecen niveles plasmáticos corticosterona y leptina como en ratas Sham. Estos resultados sugieren una importante función de ACTH y corticosterona sobre la regulación de la secreción de leptina en el tejido adiposo.

También se han encontrado alteraciones metabólicas en ratas machos adultos Sprague-Dawley que fueron alimentados con dieta alta en sacarosa-grasa (HSF). Los machos HSF presentaron un aumento de corticosterona, insulina, triglicéridos, actividad de la lipoproteína lipasa, tejido adiposo y glucosa que los machos con dieta control. De estos grupos se formaron seis grupos: intactos (Sham) + dieta control, adrenalectomizadas + dieta control y adrenalectomizadas con reemplazo de corticosterona + dieta control, intactos (Sham) + dieta HSF, adrenalectomizadas + dieta HSF y adrenalectomizadas con reemplazo de corticosterona + dieta HSF. Los machos adrenalectomizados + dieta HSF presentaron una disminución de triglicéridos hepáticos y plasmáticos, insulina, glucosa, peso del tejido adiposo y la enzima lipoproteína lipasa, con el reemplazo de corticosterona se revierte el efecto comparado con el grupo de dieta control. En los machos adrenalectomizados + dieta control con reemplazo de corticosterona también se observa el mismo patrón en los parámetros. La ingesta calórica en los machos con dieta HSF fue de 17% más que los machos con dieta control y la adrenalectomía significativamente disminuye la ingesta calórica en

ambos grupos experimentales. Este estudio sugiere que los glucocorticoides modulan indicadores metabólicos en obesidad inducida por dieta (Mantha y cols. 1999).

Posteriormente Mantha y Deshaies (2000) utilizando ratas machos adultos Sprague-Dawley que fueron alimentados con dieta alta en sacarosa-grasa (HSF) y adrenalectomizadas. Encontraron que la secreción de triglicéridos hepáticos se afecta por la adrenalectomía en ambos grupos. Los triglicéridos aumentan cuando la dieta es HSF, la adrenalectomía disminuye la proporción de la secreción de triglicéridos hepáticos en ratas con dieta control pero no en ratas con dieta HSF. La adrenalectomía disminuye la insulina en ratas con dieta control y en menor cantidad en ratas con dieta HSF. Asimismo, el depósito de grasa subcutánea y visceral fue más pequeña en ratas con dieta control y adrenalectomizadas y moderados en ratas con dieta HSF y adrenalectomizados. Este estudio sugiere que la corticosterona contribuye a mantener los depósitos grasos.

En ratas machos adultas de la cepa Sprague-Dawley adrenalectomizados, mostraron que la ingesta de alimento disminuye y que el reemplazo de la corticosterona a diferentes porcentaje 0%, 10% y 20% revierte el efecto de la adrenalectomía. A estas mismas ratas con reemplazo de corticosterona se les inyectó leptina vía intracerebroventricular, encontraron mayor reducción en el consumo de alimento comparado con el macho control. Los niveles de corticosterona disminuyen con la adrenalectomía y aumentan a niveles basales con el reemplazo de corticosterona. Mientras que la adrenalectomía y el reemplazo de corticosterona no tienen un efecto significativo en los niveles de insulina ya que ésta aumenta de manera dependiente a la dosis de corticosterona. Con respecto a la leptina en las ratas adrenalectomizadas, disminuyen los niveles, mientras que con el reemplazo de corticosterona se revierte el efecto, además las inyecciones de leptina, aumentan la pérdida de peso corporal (Gemmil y cols. 2002). Estos resultados sugieren, que el reemplazo de corticosterona aumenta los niveles de leptina en las ratas adrenalectomizadas, como ya se ha reportado tanto en humanos como en ratas administrándoles glucocorticoides (Kiess y cols. 1996). Es posible entonces pensar, que primero debe haber un aumento en la concentración de corticosterona, para influir en el aumento de la secreción de leptina, dato que no ha sido comprobado en el contexto del consumo de agua azucarada.

En este mismo contexto tenemos la siguiente investigación en ratas machos adultas de la cepa Sprague-Dawley, se les administró leptina vía intracerebroventricular por seis días y posteriormente las ratas fueron adrenalectomizadas o adrenalectomizadas con reemplazo de corticosterona a diferentes porcentajes: 0 (C0), 40 (C40) y 80mg (C80). Mostraron que la administración de leptina a ratas adrenalectomizadas, reduce la ingesta de alimento y fue aumentando dependiendo de la dosis del reemplazo de corticosterona. La leptina también disminuye el peso corporal, independientemente de la presencia o ausencia de corticosterona. La leptina disminuye en el grupo adrenalectomizado y el aumento de leptina es dependiente de la dosis de corticosterona. Mientras que la corticosterona disminuye en las ratas adrenalectomizadas y se revierte el efecto en presencia de leptina dependiente de la dosis de corticosterona. La administración de leptina en ratas adrenalectomizadas disminuye la insulina y el reemplazo de corticosterona no afectó la disminución de insulina. La glucosa disminuye con la administración de leptina, el cual fue acentuado por la adrenalectomía, mientras que el reemplazo de corticosterona tiende a mantener los niveles de glucosa como el grupo control. La leptina disminuye el nivel de triglicéridos en plasma independientemente de los niveles de corticosterona. En el grupo adrenalectomizado, los triglicéridos se disminuyen aún más que el grupo control. El contenido de triglicéridos hepáticos disminuye con la administración de leptina y se revierte el efecto dependiente de la dosis de corticosterona. La administración de leptina también disminuye la actividad de la enzima lipoproteína en tejido adiposo inguinal y epididimal. (Arvaniti y cols. 2001).

2.2 Efecto de la sacarosa sobre la histología de páncreas, tejido adiposo e hígado

2.2.1 Páncreas

Un estudio realizado por Bleisch y cols. (1952), en ratones con obesidad mórbida por consumo de sacarosa, observaron la presencia de hiperglucemia, resistencia a la insulina y aumento del colesterol y lipogénesis, debido a que los islotes pancreáticos de esos animales están hipertrofiados y las células α y β presentan signos de hiperactividad. El contenido insulínico del páncreas y la insulina sanguínea están aumentados. El papel de la hormona de crecimiento en este síndrome es fundamental, dado que estimula la producción de glucagón por las células α , la hiperglucemia producida por esta hormona activa el crecimiento y la funcionalidad de las células β , las que serían, sin embargo, insuficientes para contrarrestar el efecto del glucagón sobre la glucemia.

2.2.2 Tejido adiposo

En condiciones normales, el exceso de glucosa en el torrente circulatorio es captado por dos vías: la primera, por hígado, donde es transformada en triglicéridos y por medio de la acción de la insulina se almacenan en células del tejido adiposo; o directamente por tejido adiposo favorecidas por la acción de la insulina, donde se almacena en forma de triglicéridos. Las células del tejido adiposo visceral de ratas de cinco meses de edad, las cuales fueron sometidas a consumo de agua azucarada desde el destete, muestran mayor cantidad de tejido adiposo, favoreciendo la presencia de obesidad y alteraciones metabólicas en estas ratas (El Hafidi y Baños 1997; El Hafidi y cols. 2000, El Hafidi y cols. 2004, El Hafidi y cols. 2006). La insulina es uno de los principales inhibidores de la movilización de ácidos grasos, por lo que promueve su almacenamiento en los adipocitos, lo anterior favorece la hipertrofia de los adipocitos (Kahn y Flier 2000).

Los procesos de hipertrofia e hiperplasia adiposa, están asociados con anomalías intracelulares de la función del adipocito, resultando consecuencias intracelulares y sistémicas que incluyen resistencia a la insulina, producción de adipocinas, ácidos grasos libres. El aumento en la masa grasa, se manifiesta como el aumento de lípidos intracelulares y gran tamaño del adipocito (hipertrofia) y en el número de adipocitos (hiperplasia). La hipertrofia en

el adipocito, es evidente en el sobrepeso y diabetes tipo dos (Bahceci y cols. 2007), fue originalmente considerada, como la única ruta por la cual la masa del tejido adiposo aumenta; sin embargo, ahora se sabe que la hiperplasia del adipocito contribuye al incremento de la masa del tejido adiposo en la obesidad (De Ferranti y Mozaffarian 2009).

2.2.3 Hígado

El hígado es el órgano central de los procesos metabólicos jugando un papel importante en la maquinaria metabólica. Recientemente se ha estudiado la relación del efecto de las dietas ricas en grasa, con cambios en la arquitectura del hígado, por la presencia de vacuolas de lípidos presentes en las células que lo conforman. Para corroborar lo antes mencionado se utilizaron ratones machos de la cepa C57BL/6, asignados a uno de los dos grupos: el grupo control con una dieta estándar y el grupo con dieta alta en grasa 42% durante 6 semanas, observando en el grupo con dieta alta en grasa, un aumento en el peso corporal, presencia de vacuolas de lípidos en el hígado con la tinción de hematoxilina-eosina que se corroboran con la tinción de rojo oleoso que tiñe triglicéridos comparado con el grupo control (Alkhoury y cols. 2009).

Posterior a esto, se ha mostrado en ratas macho Wistar de tres meses de edad, de madres desnutridas durante la gestación, que el consumo de agua azucarada al 5% durante dos meses en edad adulta, provoca un aumento en el área del citoplasma del hepatocito, presencia de esteatosis hepática y niveles altos de triglicéridos, con respecto al tejido adiposo gonadal, niveles de glucosa y colesterol no encuentran efectos. Con lo anterior concluyen que el consumo de agua azucarada en concentraciones mínimas provoca alteraciones histológicas en hígado y niveles altos de triglicéridos sanguíneos (Pérez-Sánchez y cols. 2011).

La esteatohepatitis no alcohólica¹⁵ y la enfermedad de hígado graso no alcohólico son alteraciones hepáticas provocadas por el síndrome metabólico. Ratas machos de la cepa Wistar adultas fueron alimentados por cinco semanas con: fructosa, sacarosa, grasa, fructosa y grasa y la dieta control. Observando mayor cantidad de esteatosis macrovesicular¹⁶, aumento en el

¹⁵ Remitirse al glosario

¹⁶ Remitirse al glosario

peso corporal y del hígado, así como un aumento en los niveles de triglicéridos en los animales que consumieron fructuosa comparado con los otros cuatro grupos. Pero, al final del experimento, el grupo que consumió fructuosa, presenta una disminución en el contenido de grasa epididimal y peso corporal comparado con los grupos que consumieron sacarosa y los que consumieron fructuosa y grasa. Mientras que el grupo que consumió grasa, al final del experimento presentó mayor peso corporal, comparado con los grupos que consumieron la dieta control con fructuosa y la dieta fructuosa y grasa, pero sin observarse esteatosis macrovesicular. Concluyendo que las ratas alimentadas con fructosa presentan un mayor grado de esteatohepatitis no alcohólica (Kawasaki y cols. 2009).

2.3 Histología de la glándula adrenal

Con respecto a la histología de la glándula adrenal, se ha reportado la descripción de la zona medular en cobras, donde observaron modificaciones de la zona medular relacionadas con el periodo estacionario en el que se encontraban, es decir, que en invierno existe degeneración de los cordones de las células de la corteza, mientras que en primavera y verano los núcleos son grandes y las células se hipertrofian, lo que favorece un incremento de peso corporal en estos animales. En julio y agosto, las células de la corteza disminuyen su tamaño, lo que sugiere que existe una disminución de corticosteroides, mientras que de septiembre a diciembre existe un proceso de hiperplasia de las células de la corteza lo que favorece un almacenamiento de lípidos y colesterol con una disminución del peso corporal. Sugiriendo que la glándula adrenal es de gran utilidad durante ciertos periodos estacionarios (Lofts y cols. 1971).

Por otro lado, en nutrias jóvenes y adultas se ha estudiado la cantidad de catecolaminas y la microanatomía de la glándula adrenal, mostrando que los niveles de catecolaminas adrenales fueron mayores en los animales jóvenes que en los animales adultos. Cabe mencionar que en los animales jóvenes, la catecolamina predominante es la norepinefrina, mientras que en el adulto es la epinefrina. Con respecto al peso de las glándulas adrenales, tanto de hembras como en machos adultos no encontraron diferencias, mientras que el peso corporal de los animales jóvenes es mucho menor que el peso corporal

de los adultos. En todos los animales estudiados independientemente de su edad, se observó una diferencia en el tamaño de la glándula adrenal izquierda con respecto a la glándula derecha, sin presentar diferencias en su conformación, respecto a su histología, las nutrias adultas muestran una disminución en el grosor de la médula adrenal a diferencia de las nutrias jóvenes (Katomski y Ferrante 1974).

Son pocos los estudios que muestran una descripción histológica de la glándula adrenal, y de ellos, hay más estudios relacionados con la medula adrenal que con la corteza adrenal. Y nada con respecto a la participación de la glándula adrenal relacionada con el metabolismo de carbohidratos.

3 JUSTIFICACIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS), ha señalado que la obesidad es considerada como el problema de salud más importante de la actualidad, debido al número de personas que la padecen, a las muertes que ocasiona y a que su presencia está asociada con el incremento de riesgo y predisposición de padecer otras enfermedades (Booth y Lees 2007), entre las que se incluyen las de índole cardiovascular (17%), osteoarticular (24%), gastrointestinal (11%) además de la diabetes tipo dos (61%), atribuidas a la obesidad, entre otras.

En seres humanos, estudios epidemiológicos correlacionan la presencia de obesidad infantil con el consumo elevado de azúcares refinados (sacarosa y fructosa) y grasas a edades tempranas, que conforme transcurre el tiempo estos excesos, llevan a presentar diversas alteraciones, unas de ellas, la obesidad la cual se relaciona estrechamente con la presencia de síndrome metabólico (Rojas y cols. 2008).

Sin embargo, no hay estudios que relacionen el consumo de sacarosa con las concentraciones de corticosterona y el arreglo histológico de la glándula adrenal, y por otro lado, poco se sabe de la relación que existe, entre el consumo elevado de sacarosa con las concentraciones de corticosterona e indicadores metabólicos. Los pocos estudios, en modelos de rata que asocian la corticosterona con indicadores metabólicos, son muy drásticos porque extraen las glándulas adrenales, por lo que, posiblemente, además de modificar indicadores metabólicos deben estar modificando otros factores, dado que, la glándula adrenal participa en otras funciones como en el estrés y el sistema inmune. Es por ello, que se hace necesario indagar los efectos que tiene el consumo de sacarosa con la concentración de corticosterona y su relación con los indicadores metabólicos, además de analizar el arreglo histológico de la glándula adrenal del cual no se sabe nada, para obtener resultados que nos ayuden a conocer y entender, la participación de la glándula adrenal y la corticosterona con indicadores metabólicos relacionados con la obesidad, con el afán de trazar estrategias que ayuden a contrarrestar los estragos de tal enfermedad.

4 HIPÓTESIS

El consumo elevado de sacarosa aumenta la concentración de corticosterona, modifica los indicadores metabólicos y provoca cambios en el arreglo histológico de la glándula adrenal vs., las ratas que consumen agua simple.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar la relación entre la concentración de corticosterona con la modificación en los parámetros metabólicos y el arreglo histológico de la glándula adrenal bajo el consumo elevado de sacarosa.

5.2 Objetivos específicos

- Analizar la ganancia de peso corporal semanal en función del consumo de agua con sacarosa durante 12 semanas
- Determinar el peso del tejido adiposo visceral y el índice de adiposidad corporal
- Determinar la concentración de corticosterona en función del tiempo y tratamiento
- Determinar las concentraciones séricas de glucosa, colesterol, triglicéridos, HDL, VLDL, insulina y leptina en función de la condición
- Evaluar el arreglo histológico en la glándula adrenal en función de la condición

6 MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Manejo de los animales

Se utilizaron 21 ratas machos de la cepa Wistar de 21 días de edad mantenidas en condiciones de bioterio, con un fotoperiodo de 12/12 hrs, con ciclo luz-oscuridad invertido y temperatura de 20 ± 2 °C, con alimento y agua *ad libitum*. Todos los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo a la regulación establecida en el Manual de Seguridad en el trabajo de laboratorio del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta y en la Norma Oficial Mexicana en el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio NOM-062ZOO-1999. El protocolo de investigación fue revisado y aprobado por el comité de Bioética del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta.

6.2 Grupos experimentales

Al día del destete, se tomaron dos ratas de 20 madres diferentes. Las ratas se colocaron en jaulas independientes y fueron alimentados con dieta normal Chow 5001 de Purina. La diferencia es que a una rata, se le proporcionó agua simple, grupo control (CC), mientras que a la otra rata, se le proporcionó agua con sacarosa al 30%, grupo experimental (A30), tal manipulación se realizó a partir del día 22 de edad y hasta los cuatro meses de edad. En esta etapa, se registró diariamente el peso corporal, consumo de alimento y agua, durante los tres meses de tratamiento, ver diseño experimental (Figura 4).

6.2.1 Diseño experimental

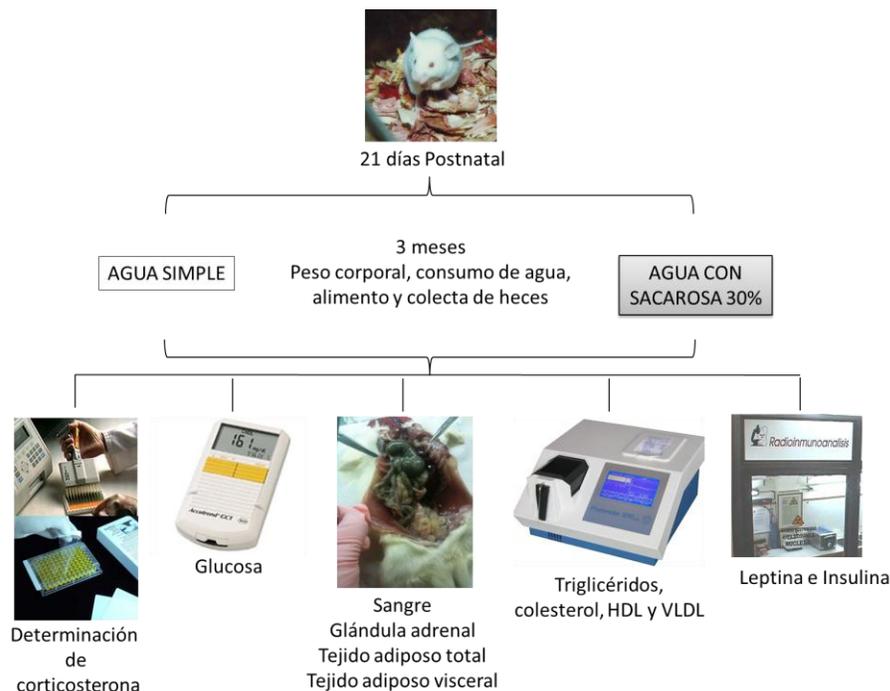


Figura 4. Diseño experimental. Grupo control (CC n=10), grupo con 30% de sacarosa (A30 n=11).

6.3 Obtención de kilocalorías (Kcal) consumidas en el agua

Para la obtención de kcal por agua se realizó lo siguiente:

- 1.- Se obtuvo la ingesta de agua por semana de vida de cada individuo.
- 2.- Posteriormente se elige un día al azar para promediar y obtener los ml consumidos por grupo por semana.
- 3.- Estos ml se multiplicaron por 30 gr de azúcar y se dividieron entre 100 ml de agua para obtener los g de azúcar consumidos.
- 4.- Estos g se multiplicaron por 4 que son las kcal que nos proporciona un gr de azúcar para obtener las kcal ingeridas en el agua.

6.4 Obtención de kilocalorías (Kcal) consumidas en el alimento

Para la obtención de kcal consumidas por el alimento:

- 1.- Se obtuvo la ingesta de alimento por semana de vida de cada individuo.
- 2.- Posteriormente se elige un día al azar para promediar y obtener los g consumidos por grupo por semana.
- 3.- Estos g se multiplicaron por 3.4 g que son las kcal que nos proporciona 1g de alimento Chow 5001.

6.5 Obtención de muestras sanguíneas, glándula adrenal y tejido adiposo

Al término del tratamiento, previo al sacrificio, las ratas de ambos grupos fueron dejadas en ayuno para lo cual se les quita el alimento a las ocho de la noche y a las ratas del grupo A30 se les retira el agua azucarada, colocándoles agua simple para cumplir un ayuno de doce horas, al día siguiente, a las ocho de la mañana a cada rata se le mide la glucosa sérica con un analizador Accutrend GCT, Roche Diagnostics. Inmediatamente después los animales fueron sacrificados por decapitación para coleccionar dos tubos (13 x 100mm) de sangre tanto a las ratas controles como a las tratadas. La sangre se dejó reposar en baño maría durante 15 minutos, después se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos. El suero fue separado haciendo alícuotas de 300 µL de suero las cuales se conservaron en congelación a -30°C. Ese mismo día se utilizó una alícuota para determinar las concentraciones de colesterol, triglicéridos, HDL y VLDL. Posteriormente se utilizó otra alícuota para determinar las concentraciones sanguíneas de corticosterona, leptina e insulina. La rata decapitada inmediatamente se colocó en posición supina¹⁷, se realizó una incisión longitudinal sobre la línea media ventral, desde la cavidad abdominal hasta el dorsal del pene. La glándula adrenal y el tejido adiposo visceral y total, fue extraído y pesado.

¹⁷ Remitirse al glosario

6.6 Determinaciones bioquímicas

Para la determinación de colesterol se utilizó el método enzimático combinado de colesterol oxidasa y colesterol esterasa. Según el procedimiento No. 1010 de Stanbio Colesterol liquicolor (LINCON laboratorios). En tubos Eppendorf se pipetearon 5 µl de la muestra sanguínea con 500 µl del reactivo enzimático líquido (cat No. 1011). Se agitó en vortex y se dejó estabilizar a temperatura ambiente por 10 minutos. Posteriormente se realizó la lectura en un fotómetro a 492 nm.

Para la determinación de HDL, primero se precipitaron las lipoproteínas de muy baja y baja densidad (LDL y VLDL respectivamente) por medio del reactivo de cloruro de magnesio/dextran sulfato. Para esto, se pipetearon 125 µl de muestra sanguínea y 12.5 µl del reactivo precipitante. Se agitó en vortex y se dejó estabilizar a temperatura ambiente por 5 minutos. Posteriormente se centrifugaron a 1000 rpm por 10 minutos. Luego se pipetearon 12.5 µl del sobrenadante y se agregó 500 µl del mismo reactivo que se utilizó para la determinación de colesterol total (reactivo enzimático). Se agitaron en vortex y se dejaron reposar por 10 minutos a temperatura ambiente. Se realizó la lectura en un fotómetro a 492 nm.

Para la determinación de triglicéridos se utilizó un método colorimétrico enzimático (glicerolfosfato oxidasa). Según el procedimiento No. 2100 del Stanbio Trigliceridos liquicolor (LINCON Laboratorios). Se preparó previamente el buffer (cat No. 2102), por cada 50 ml de éste, se adicionaron 50 µl de activador (cat No. 2102), se mezcló y se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de utilizarlo. Se agregó en el tubo Eppendorf 5 µl de muestra sanguínea y 500 µl de buffer. Se agitaron en vortex y se dejaron reposar por 10 minutos a temperatura ambiente. Se realizó la lectura en un espectrofotómetro a 500 nm.

Una vez teniendo los datos de la concentración de triglicéridos totales (que circulan unidas a las VLDL) se estimó el colesterol asociado a las VLDL (CVLDL) según la fórmula:
 $[CVLDL] = 0.2 \times [TGT]$.

6.7 Obtención y determinación de corticosterona en muestras fecales

Para analizar la concentración de corticosterona se obtuvieron muestras fecales por tres razones: 1) Para evitar que las ratas se alteraran por la manipulación en cautiverio y estresarlos, por ejemplo, por transportarlos, con el uso de anestesia o cirugía para la obtención de la muestra sanguínea (Valdespino y cols. 2007), 2) En la degradación de los glucocorticoides al llegar a hígado se inicia el catabolismo por la enzima 11β -HSD1 la cual convierte a los glucocorticoides en metabolitos inactivos (17-cetoesteroides y sulfatos) para ser eliminados en la orina o bilis como conjugados (Tomlinson y cols. 2004). En el intestino estos metabolitos pueden ser reabsorbidos por la circulación enterohepática¹⁸ y luego ser desechados en las heces en forma de corticosterona libre (Brousset Hernández-Jauregui y cols. 2005) y 3) Dado que se ha propuesto una acción local de glucocorticoides que al parecer no son controlados por el eje HHA, sino por la enzima 11β -HSD regulando el aumento en los niveles de glucocorticoides, es posible se presente un aumento en los niveles de corticosterona en heces, sin afectar las concentraciones en plasma (Stimson y Walker 2007).

6.7.1 Colecta de muestras fecales

La colecta de muestras fecales de las ratas, se realizó al final de la primera semana de haber iniciado el experimento y posteriormente al final de cada mes hasta finalizar el experimento (3 meses de tratamiento). Con una hora de diferencia entre colecta para evitar la degradación de las proteínas en un lapso de 10 hrs (iniciando a las 9:00 de la mañana y concluyendo a las 19:00 hrs). Las muestras fecales fueron depositadas en bolsas de papel previamente etiquetadas, con el número de la rata, así como el tratamiento al que fueron sometidas, posteriormente se guardaron a -30°C en un congelador (Revco) hasta el día de la extracción.

¹⁸ Remitirse al glosario

6.7.2 Extracción de hormona en muestras fecales

Para la extracción total de hormonas, las muestras fecales se descongelaron y pesaron en una báscula analítica (Sartorius) para obtener los gramos totales de las mismas. Las muestras fueron depositadas en tubos cónico de polipropileno Falcon de 50 ml y se les agregó etanol (4 ml de etanol por 0.5 gr de muestra) y agua desionizada (1ml de agua por 0.5 gr de muestra).

Posteriormente las muestras se agitaron en un agitador finemixer SH2000 por 30 minutos en movimiento constante, la solución obtenida se centrifugó en una centrifuga clínica J-600 a 2500 rpm por 15 minutos. El extracto obtenido se colocó en tubos Eppendorf etiquetados y se guardaron a -30°C en un congelador (Revco) hasta el análisis. Metodología obtenida del Institute of Biochemistry, University of Veterinary Medicine and Ludwig Boltzmann Institute of Veterinary Endocrinology. Vienna, Austria. Versión 2002.

6.7.3 Determinación de corticosterona

El análisis de corticosterona tanto en heces como sanguínea se realizó por el método de **ELISA** (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay) por medio de kits disponible comercialmente, Kit Enzyme Immunoassay, compañía Assay Desing No.900-097, la sensibilidad del ensayo es de 2.11pg/ml Intraensayo y 5.32 pg/ml Interensayo y el porcentaje de recuperación fue del 70%. Los estándares y las muestras se corrieron por duplicado.

6.8 Determinación de leptina e insulina por Radioinmunoanálisis (RIA)

Estas hormonas se midieron en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

El radioinmunoanálisis se basa en una reacción antígeno-anticuerpo. Los anticuerpos deben ser específicos contra la sustancia que queremos determinar. La cantidad de anticuerpo añadida al análisis es limitada, e inferior a la cantidad de antígeno total. Por lo que va a quedar saturado con él. El antígeno es la hormona (de la muestra) que queremos determinar. Además del antígeno presente en la muestra problema, se le añade una cantidad conocida de antígeno marcado (I^{125}). Los dos tipos de antígenos compiten, en igualdad de condiciones, por unirse al anticuerpo. Las concentraciones del antígeno marcado y del anticuerpo son constantes, la

única variable del sistema es la concentración de antígeno no marcado (muestra problema). Cuanto mayor sea la cantidad de antígeno en la muestra problema, este desplaza al antígeno marcado y por tanto se fija al anticuerpo cantidades menores de antígeno marcado (Janeway y cols. 2003).

Una vez obtenidos los datos de la concentración de insulina, se obtuvo el índice de resistencia a la insulina mediante la siguiente fórmula HOMA: Glucosa (mmol/ml)* Insulina (pmol/l)/ 22.5, la cual nos indica la capacidad de la insulina para producir la respuesta fisiológica sobre el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa (Martínez de Morentin y cols. 2003).

6.9 Análisis histológico de la glándula adrenal

Las glándulas se procesaron con Bouin¹⁹ durante 24 hrs. Posteriormente, el tejido fue deshidratado con alcohol etílico en concentraciones ascendentes (60, 70, 80, 96 y 100%), aclarado en xileno para infiltrarlo e incluirlo en paraplast-Xtra. Se obtuvieron cortes histológicos transversales de 7µm de espesor (16 de cada animal glándula derecha e izquierda) con un micrótopo, los cuales se colocaron en dos portaobjetos, ocho cortes por laminilla. La primera laminilla fue teñida con hematoxilina eosina (tiñe citoplasma y núcleo) para determinar el espesor de las capas, número de células, área de las células e hipertrofia, con la ayuda de un analizador de Imágenes AxioVision REL 4.6 (Zeiss Inc 2007) (Figura 5 y 6) en fotografías tomadas con una cámara OLYMPUS de 5.1 mega píxeles, montada en un microscopio óptico Zeiss Imager A.1 (a 400 aumentos totales). La segunda laminilla fue teñida con Tricrómica de Masson (tiñe colágeno y vasos sanguíneos). Debido a la presencia de células globosas en la zona de la corteza adrenal, células indicadoras de proceso inflamatorio, se decidió teñir una sola laminilla con Wright (tiñe células del sistema inmune) de cada grupo.

¹⁹ Remitirse al glosario

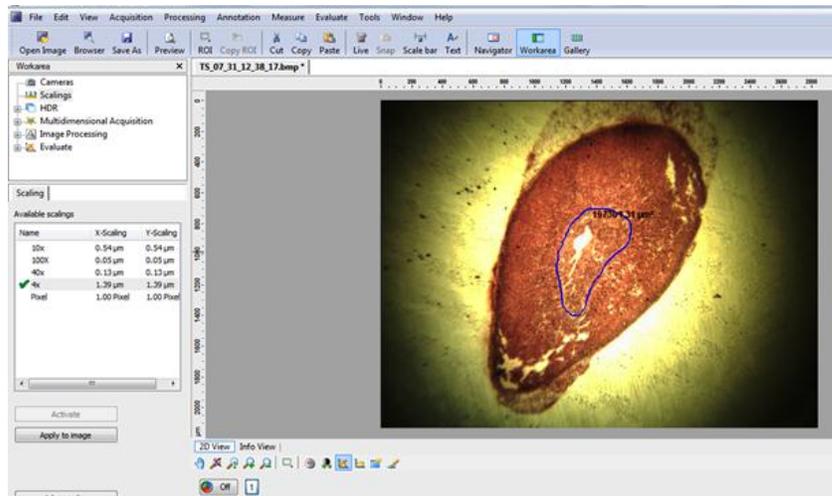


Figura 5. Espesor de la corteza y médula adrenal

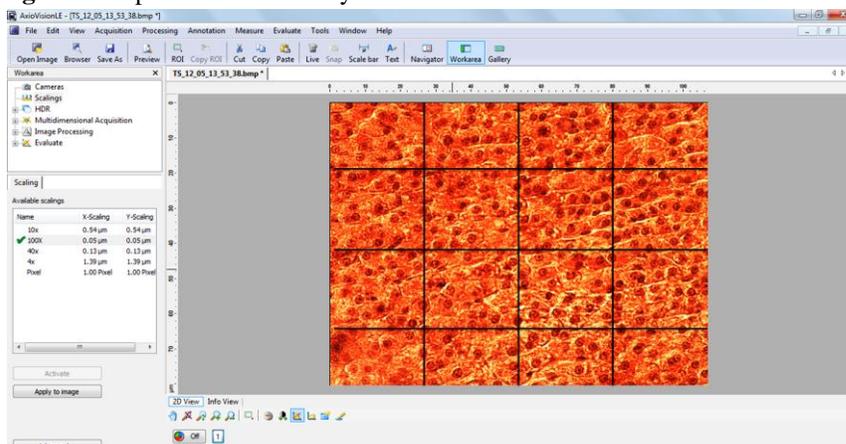


Figura 6. Medición del área de las células

6.10 Análisis estadístico

Las medidas obtenidas se analizaron en una base de datos por medio del programa GraphPad Prisma. Los datos de colesterol, glucosa, HDL y VLDL se analizaron por medio de una prueba de *t*-Student ($P < 0,05$). La prueba de Spearman se utilizó para correlacionar la corticosterona sérica y corticosterona en heces, la corticosterona sérica y los gramos de heces, la corticosterona en heces y los gramos de heces y la corticosterona en heces y el espesor de la zona fasciculada. Los datos de corticosterona se analizaron con una prueba de ANOVA de dos vías y Bonferroni como prueba pos-hoc ($P < 0,05$). Todos los datos representan media \pm e.e.

7 RESULTADOS

7.1 Peso corporal de las ratas

El peso corporal al inicio del tratamiento para las ratas controles que bebieron agua simple (CC) fue de 98 ± 5 g y para las ratas que bebieron agua azucarada al 30% (A30) fue de 84 ± 6 g. Al final del experimento, las ratas del grupo CC tuvieron un peso corporal de 344 ± 9 g y las ratas del grupo A30 tuvieron un peso corporal de 340 ± 11 g, sin presentar diferencias significativas a lo largo del experimento (Figura 5).

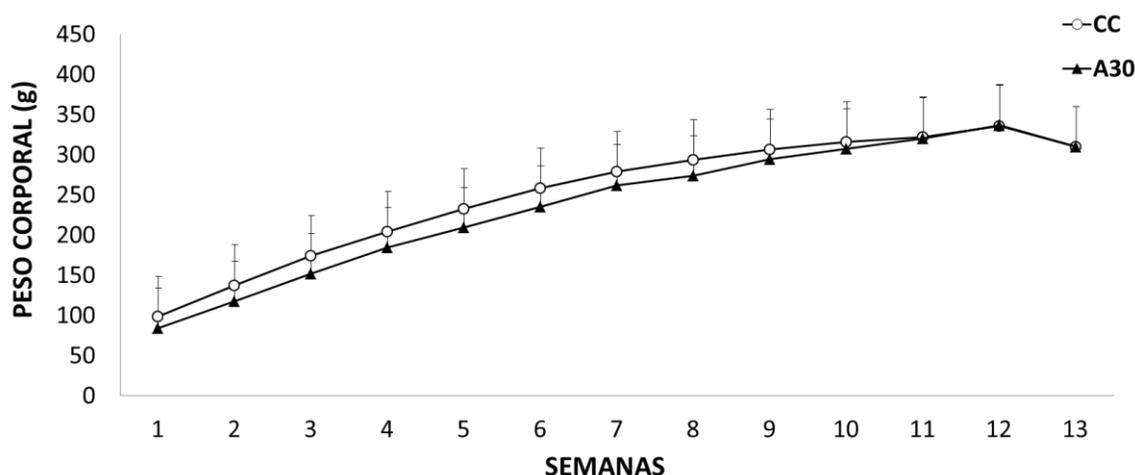


Figura 5. Registro de peso corporal semanal. Se muestra la media \pm e.e. No hay diferencia entre grupos. $P > 0.05$, *t*-Student. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.2 Consumo de alimento, agua y calorías totales de las ratas

El consumo de alimento semanal por 100g de peso corporal en el grupo CC fue de 22 ± 0.73 y en el grupo A30 fue de 11 ± 0.29 , el consumo de alimento en el grupo A30 disminuye un 50% de manera constante desde el inicio del experimento por el consumo elevado de sacarosa contenida en el agua (Figura 6).

El consumo de agua semanal por 100g de peso corporal en el grupo CC fue de 70 ± 2 ml y en el grupo A30 fue de 76 ± 3 ml, sin encontrar diferencias significativas entre los grupos a lo largo del experimento (Figura 7).

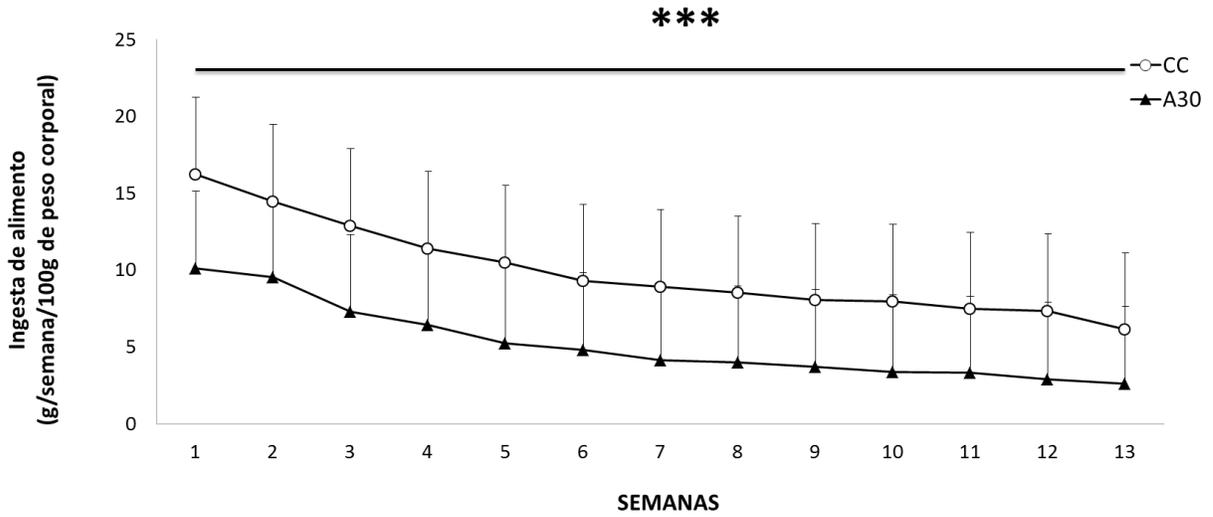


Figura 6. Ingesta de alimento semanal por 100g de peso corporal. Se muestra la media±e.e. El consumo de alimento disminuye por efecto del consumo elevado de sacarosa. * $P < 0.05$, *t*-Student. CC (n=10) y A30 (n=11).

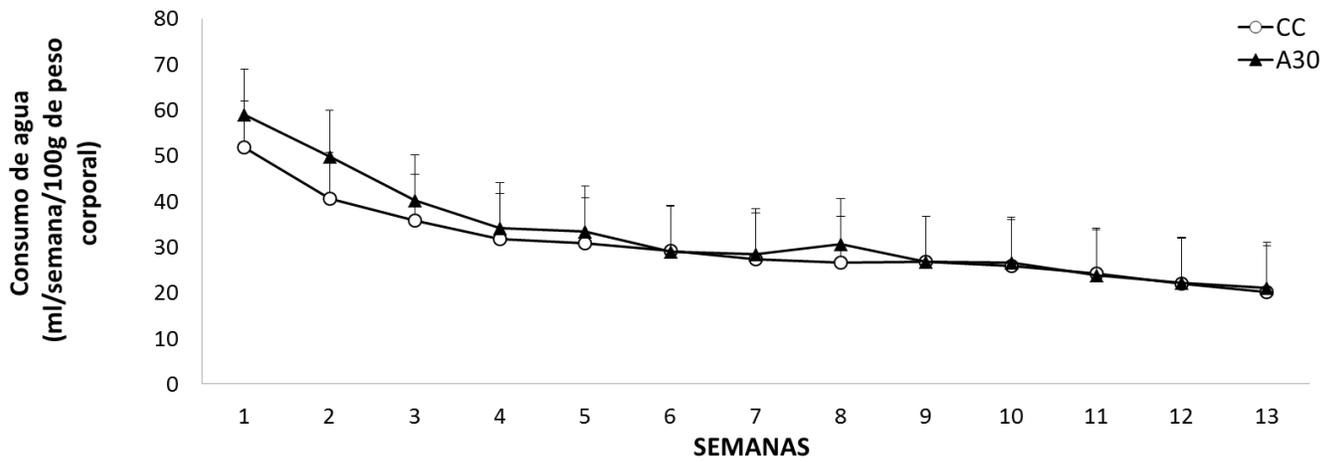


Figura 7. Consumo de agua semanal por 100g de peso corporal. Se muestra la media±e.e. No hay diferencia entre grupos. $P > 0.05$, *t*-Student. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.3 Parámetros bioquímicos al sacrificio

7.3.1 Glucosa

La concentración de glucosa en el grupo CC fue de 109.8 ± 3.884 mg/dl y en el grupo A30 fue de 100.0 ± 7.335 mg/dl. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($P=0.266$; Figura 8).

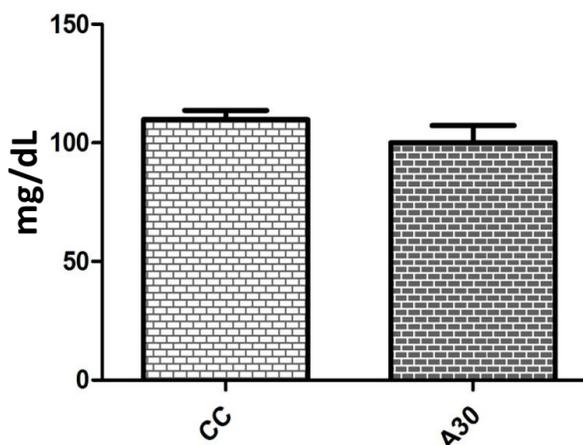


Figura 8 Concentración de glucosa previa al sacrificio. Se muestra la media \pm e.e. No hay diferencia entre grupos. $P>0.05$, *t*-Student. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.3.2 Insulina

La concentración de insulina en el grupo CC fue de 0.5 ± 0.3 ng/ml y en el grupo A30 fue de 1.15 ± 0.73 ng/ml. Se observa una diferencia significativa en la concentración de insulina en sangre entre los grupos ($P=0.025$; Figura 9).

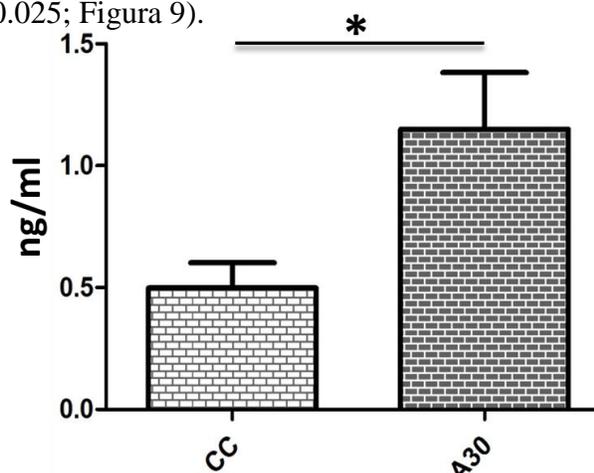


Figura 9. Concentración de insulina al sacrificio. Se muestra la media \pm e.e. La concentración de insulina aumenta por efecto del consumo elevado de sacarosa. $*P<0.05$, *t*-Student. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.3.3 Índice de resistencia a la insulina

El índice de resistencia a la insulina en el grupo CC fue de 4.16 ± 2.5 mmol/pmol y en el grupo A30 fue de 9.33 ± 5.9 mmol/pmol. El índice de resistencia a la insulina se presenta en el grupo A30 por efecto del consumo elevado de sacarosa ($P=0.025$; Figura 10).

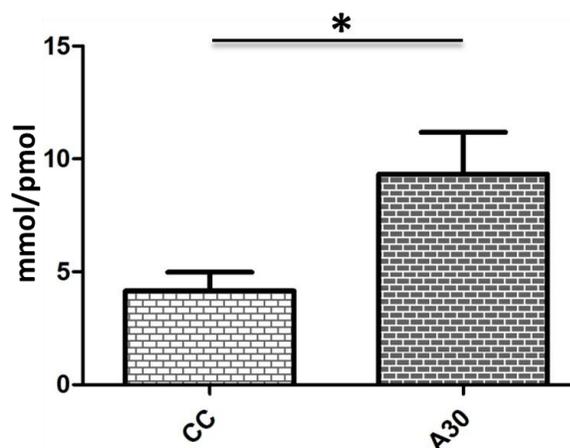


Figura 10. Índice de resistencia a la insulina por consumo elevado de sacarosa. Se muestra la media \pm e.e. * $P < 0.05$, *t*-Student. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.3.4 Triglicéridos

La concentración de triglicéridos en el grupo CC fue de 44.2 ± 2.435 mg/dl y en el grupo A30 fue de 68.91 ± 7.873 mg/dl. La concentración de triglicéridos en sangre aumenta por efecto del consumo elevado de sacarosa ($P=0.009$; Figura 11).

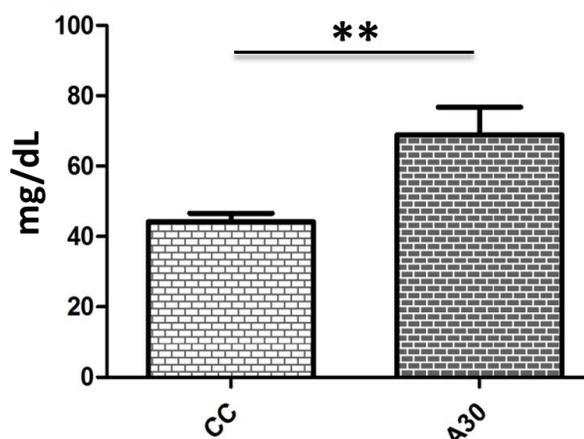


Figura 11. Concentración de triglicéridos séricos. Se muestra la media \pm e.e. La concentración de triglicéridos aumenta por efecto del consumo elevado de sacarosa ** $P < 0.01$, *t*-Student. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.3.5 Lipoproteína de muy baja densidad (VLDL)

La concentración de VLDL en el grupo CC fue de 8.840 ± 0.4870 mg/dl y del grupo A30 fue de 13.78 ± 1.575 mg/dl. La concentración de lipoproteína de baja densidad en sangre aumenta por efecto del consumo elevado de sacarosa ($P=0.009$; Figura 12).

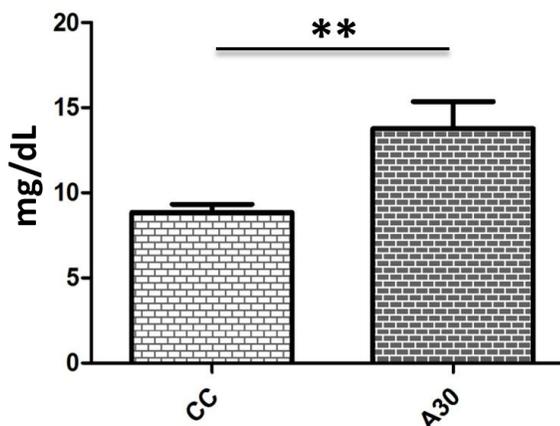


Figura 12. Lipoproteínas de baja densidad (VLDL). Se muestra la media \pm e.e. La concentración de VLDL aumenta por efecto del aumento de triglicéridos. ** $P < 0.001$, *t*-Student. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.3.6. Colesterol

La concentración de colesterol en el grupo CC fue de 59.85 ± 2.498 mg/dl y en el grupo A30 fue de 61.23 ± 2.647 mg/dl. No se encontraron diferencias significativas ($P=0.711$; Figura 13).

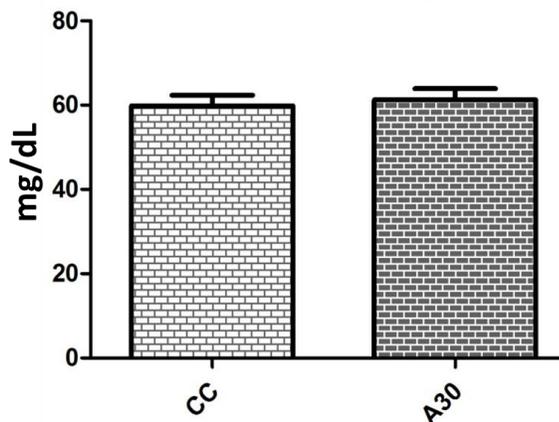


Figura 13. Concentración de colesterol sérico. Se muestra la media \pm e.e. No hay diferencias entre grupos. $P > 0.05$, *t*-Student. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.3.7 Lipoproteína de alta densidad (HDL)

La concentración de la lipoproteína de alta densidad HDL en el grupo CC fue de 35.80 ± 2.851 mg/dl y del grupo A30 fue de 43.18 ± 2.869 mg/dl. No se encontraron diferencias significativas ($P=0.085$; Figura 14).

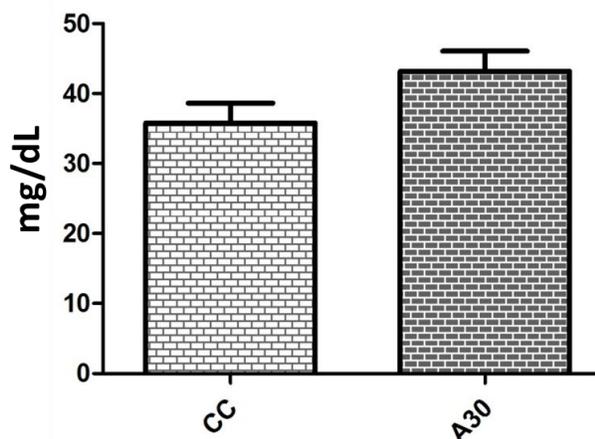


Figura 14. Lipoproteínas de alta densidad (HDL). Se muestra la media \pm e.e. No hay diferencias entre grupos. $P>0.05$, *t*-Student. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.3.8 Leptina

La concentración de leptina en el grupo CC fue de 2.5 ± 0.7 ng/dL y en el grupo A30 fue de 5 ± 2.3 ng/dL. Se observa una diferencia significativa en la concentración de leptina en sangre entre los dos grupos ($P=0.008$; Figura 15).

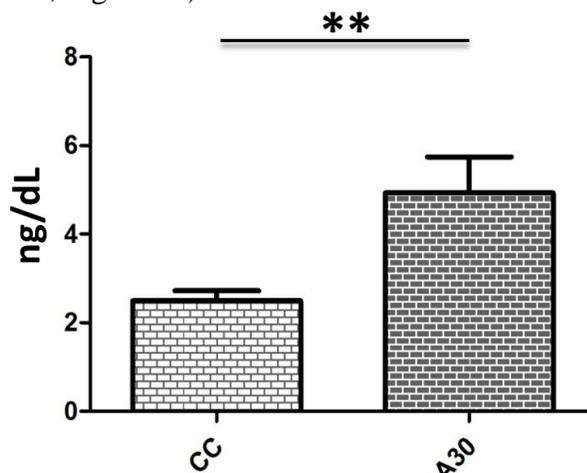


Figura 15. Concentración de leptina al sacrificio. Se muestra la media \pm e.e. La concentración de leptina aumenta por efecto de los niveles elevados de insulina (** $P < 0.01$), *t*-Student. CC (n=9) y A30 (n=7).

7.4 Peso del tejido adiposo

En la Figura 16 se pueden observar las fotografías de las ratas colocadas en posición supina exponiendo el tejido adiposo visceral. Se observa mayor cantidad de tejido adiposo en la rata del grupo A30 comparado con la rata del grupo CC.

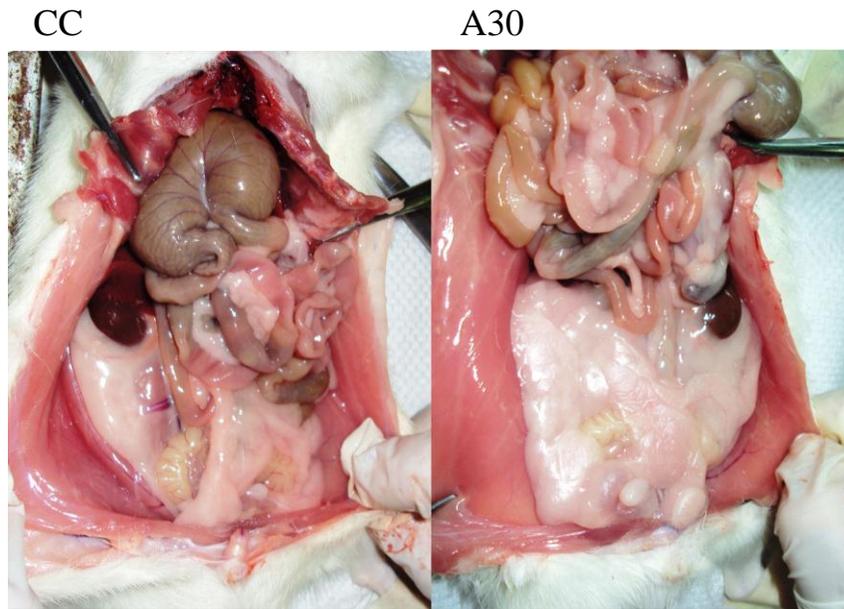


Figura 16. Fotografías exponiendo el tejido adiposo visceral al final del tratamiento. CC (n=10) y A30 (n=11).

El peso relativo del tejido adiposo visceral en el grupo A30 fue de $2.2 \pm 1.3\%$ y en el grupo CC fue de $1 \pm 0.3\%$ (Figura 17A). Mientras que el índice de adiposidad también es mayor en el grupo A30 4 ± 1.6 comparado con el grupo CC 2 ± 0.4 (Figura 17B). El análisis estadístico muestra un aumento de tejido adiposo visceral y total por efecto del consumo elevado de sacarosa contenida en el agua ($P < 0.05$).

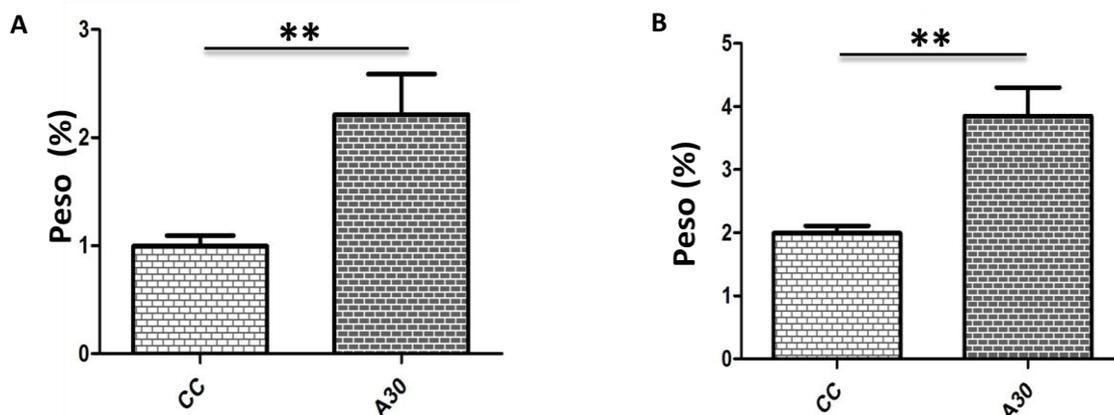


Figura 17. Peso relativo tejido adiposo visceral (A) e índice de adiposidad (B). Se muestra la media \pm e.e. Diferencias estadísticamente significativas comparado con el control durante el tratamiento. ** $P < 0.01$, *t* Student. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.5 Corticosterona en heces por gramo de heces a lo largo del tiempo

Al final del día siete de consumo elevado de sacarosa, la concentración de corticosterona en el grupo CC fue de 19737 ± 1898 pg/ml y del grupo A30 fue de 27178 ± 12246 pg/ml. No se encontraron diferencias significativas entre grupos, pero si se observa una diferencia en el peso corporal, consumo de alimento y agua en el grupo A30 comparado con el grupo CC (Figura 18).

Al final del día treinta de tratamiento, la concentración de corticosterona en el grupo CC fue de 29018 ± 2673 pg/ml y en grupo A30 fue de 86768 ± 33010 pg/ml ($P < 0.05$, Figura 10), observándose diferencias significativas, mientras el peso corporal tiende a disminuir en el grupo A30 comparado con el grupo CC, sin embargo las diferencias con respecto al consumo de agua y alimento parecen mantenerse (Figura 18). Para el día sesenta de tratamiento

experimental, la concentración de corticosterona en el grupo CC fue de 25932 ± 4111 pg/ml y grupo A30 fue de 42817 ± 15578 pg/ml ($P > 0.05$; Figura 18), se observa una disminución en la concentración de corticosterona en el grupo A30 con respecto al día treinta de tratamiento, sin diferencias significativas con respecto al grupo CC, las diferencias con respecto al peso corporal desaparecen, mientras que las del consumo de alimento y agua siguen manteniéndose. Al día noventa de tratamiento, la concentración de corticosterona en el grupo CC fue de 30949 ± 8153 pg/ml y en el grupo A30 fue de 38974 ± 11352 pg/ml, ($P > 0.05$; Figura 18), se sigue observando la disminución de la concentración de corticosterona como se presentó en el día sesenta sin encontrar diferencias con respecto al grupo control, el peso corporal, la ingesta de alimento y agua se mantienen como en los sesenta días.

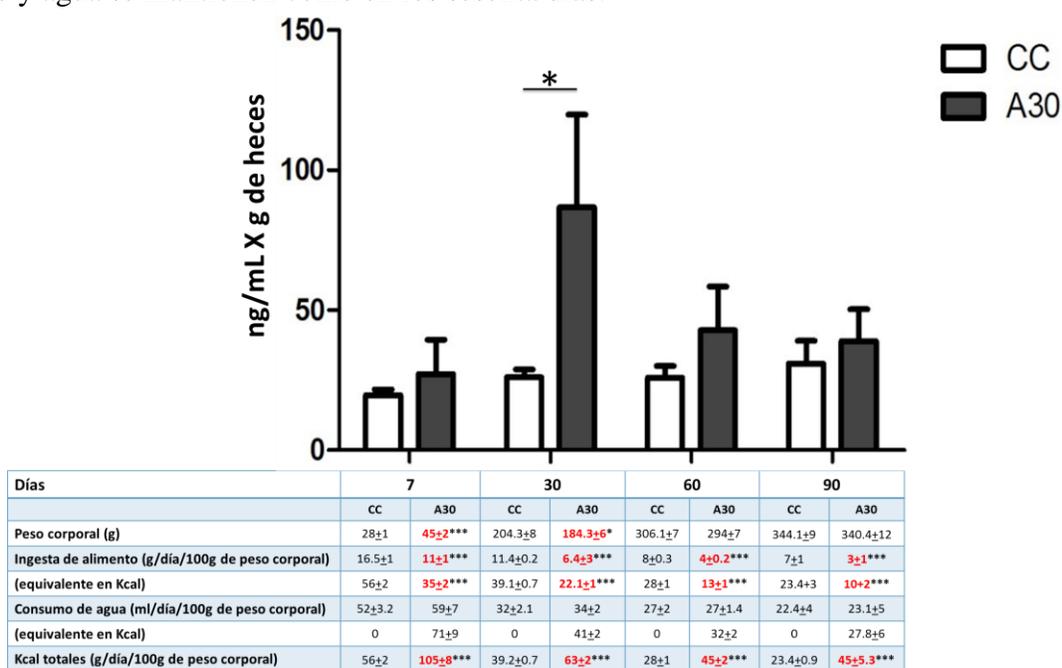


Figura 18. Concentración de corticosterona en heces. Se muestra la media±e.e. * Diferencias significativa por el consumo de agua azucarada en el día treinta ($P < 0,05$), posteriormente no hay diferencias entre grupos. ANOVA dos vías, Bonferroni post hoc, la tabla muestra peso corporal, consumo de alimento y agua, así como los equivalentes en calorías y las calorías totales. Mostrando diferencias significativas en el peso corporal del grupo A30 en los días 7 y 30 con respecto al grupo CC. Mientras que las diferencias con respecto al consumo de agua y alimento se mantienen desde día 7 hasta el día 90 en grupo A30. *** $P < 0.001$, t Student. CC ($n=10$) y A30 ($n=11$).

Tratamiento, $F_{1,3}=4.394$; $P=0.0408$ (< 0.05)

Tiempo, $F_{1,3}=1.796$; $P= 0.1561$ (>0.05)

Interacción, $F_{1,3}=1.220$; $P= 0.3089$ (>0.05)

7.5.1 Correlación entre la concentración de corticosterona en heces por gramo de heces

En la figura 19A se muestra la correlación de la corticosterona en heces por gramos de heces al final del experimento en el grupo CC, mientras que en la figura 19B se muestra la correlación de la corticosterona en heces por gramos de heces al final del experimento en el grupo A30. No se observa correlación en ningún grupo, es decir, la concentración de corticosterona en heces fue independiente de los gramos de heces colectados en ambos grupos.

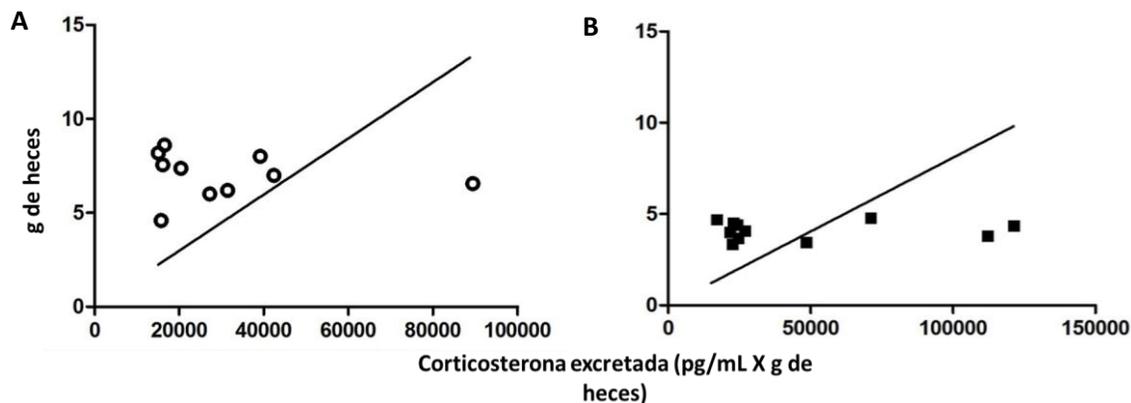


Figura 19. A) Correlación de corticosterona en heces con los g de heces del grupo CC. Se muestra la media \pm e.e. No hay diferencias en el grupo. Correlación de Spearman $r = -0.2242$; $P = 0.5367$. B) Correlación de corticosterona en heces con los g de heces del grupo A30. Se muestra la media \pm e.e. No hay diferencias en el grupo. Correlación de Spearman $r = -0.2974$; $P = 0.1904$. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.5.2 Correlación entre la corticosterona sérica y la corticosterona en heces

La figura 20A muestra la correlación entre la corticosterona sérica y la corticosterona en heces al final del experimento en el grupo CC y la figura 20B muestra la correlación entre la corticosterona sérica y la corticosterona en heces al final del experimento en el grupo A30. No se observa correlación en ningún grupo, es decir, la concentración de corticosterona sérica fue independiente a la concentración corticosterona excretados en heces en ambos grupos.

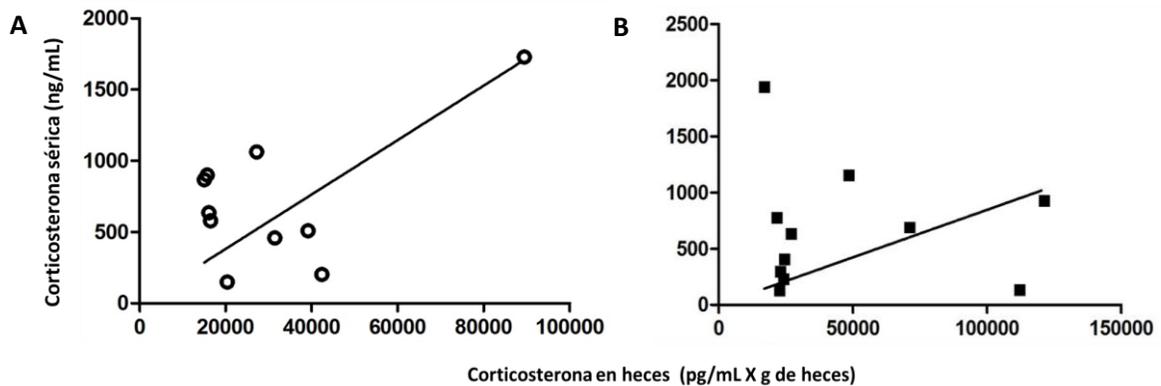


Figura 20. **A)** Correlación entre la corticosterona sérica y la corticosterona en heces del grupo CC. Se muestra la media±e.e. No hay correlación en el grupo. Correlación de Spearman $r = -0.1394$; $P = 0.7072$. **B)** Correlación entre la corticosterona sérica y la corticosterona en heces del grupo A30. Se muestra la media±e.e. No hay correlación en el grupo. Correlación de Spearman $r = -0.009091$; $P = 0.9895$. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.5.3 Correlación entre la corticosterona sérica y los gramos de heces

En la figura 21A se muestra la correlación entre la corticosterona sérica y los gramos de heces al final del experimento en el grupo CC y en la figura 21B se muestra la correlación entre la corticosterona sérica y los gramos de heces al final del experimento en el grupo A30. No se observan correlaciones, es decir, la concentración de corticosterona sérica fue independiente de los gramos de heces en ambos grupos.

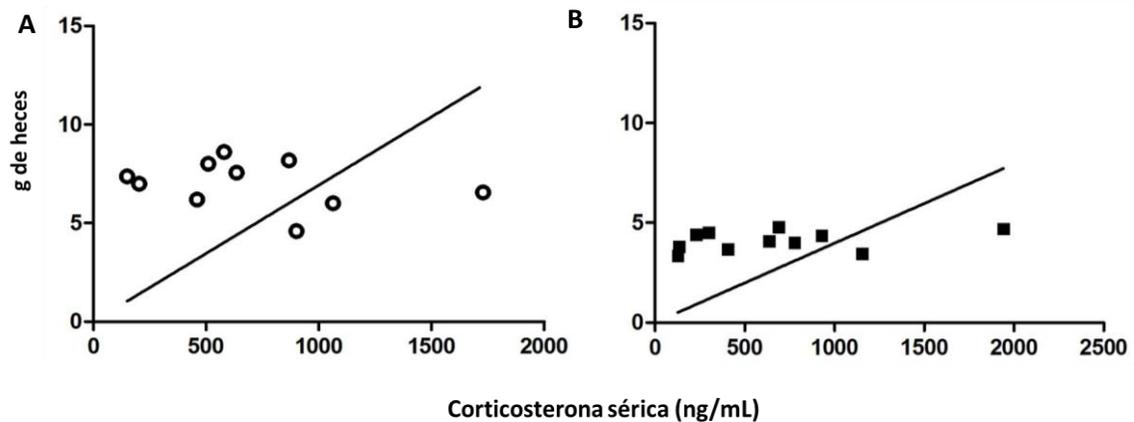


Figura 21. **A)** Correlación entre la corticosterona sérica y los gramos de heces en el grupo CC. Se muestra la media±e.e. No hay diferencias en el grupo CC. Correlación de Spearman $r = -0.2970$; $P = 0.4069$. **B)** Correlación entre la corticosterona sérica y los gramos de heces en el grupo A30. Se muestra la media±e.e. No hay diferencias en el grupo A30. Correlación de Spearman $r = 0.3091$; $P = 0.3560$. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.6 Peso y características histológicas de la glándula adrenal

7.6.1 Peso de la glándula adrenal

El peso de las glándulas adrenales por 100 gramos de peso corporal en el grupo CC fue de 0.02 ± 0.005 gramos y en el grupo A30 fue de 0.021 ± 0.002 gramos. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($P=0.527$; Figura 22).

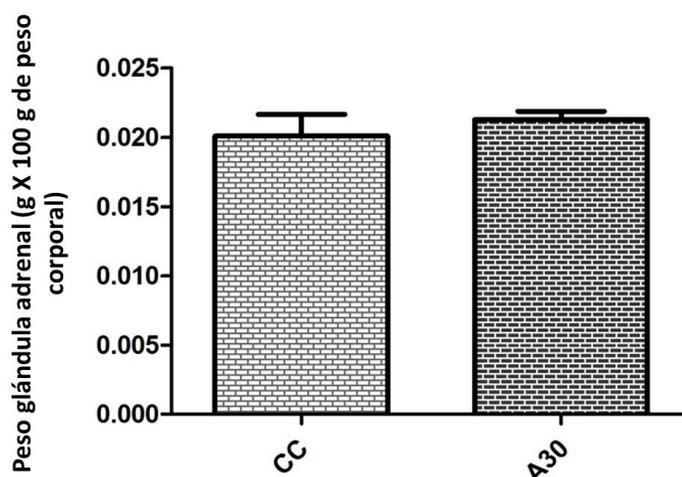


Figura 22. Peso de las glándulas adrenales. Se muestra la media \pm e.e. No hay diferencias entre grupos. $P>0.05$, *t*-Student. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.6.2 Histología de la glándula adrenal

Los cortes histológicos de las glándulas adrenales derecha e izquierda en el grupo CC, muestran que las zonas de la corteza adrenal se encuentran bien delimitadas. Sin embargo, se observan diferencias histológicas entre las dos glándulas, en la zona reticular de la glándula derecha podemos observar espacios sinusoidales pequeños, mientras en la zona reticular de la glándula izquierda, se observan espacios sinusoidales grandes, en ambas glándulas podemos encontrar el núcleo y el citoplasma bien delimitado como podemos observar en las microfotografías (figura 23).

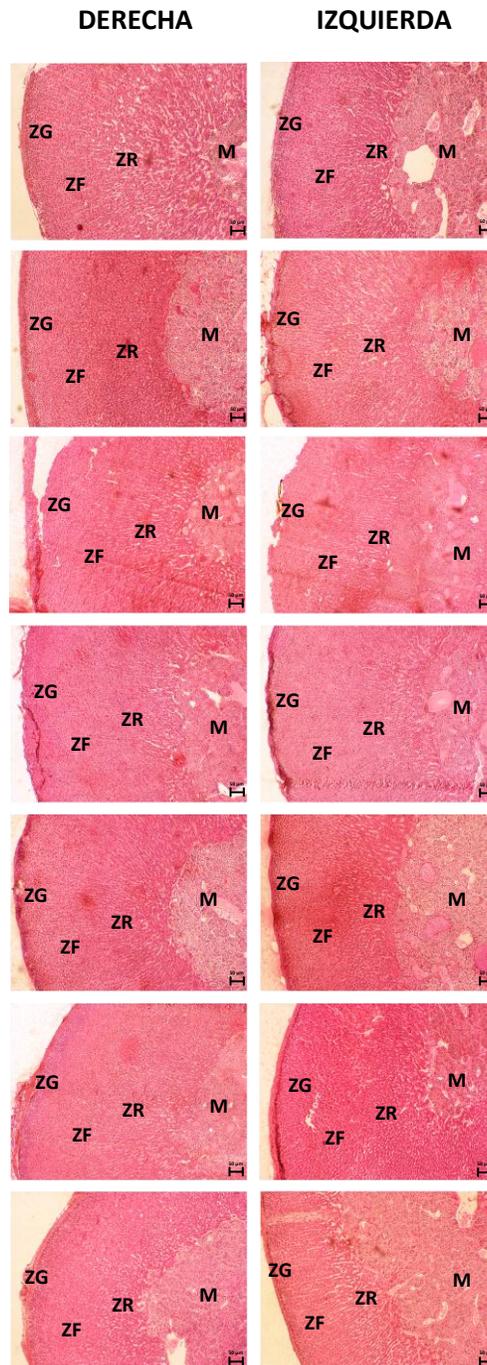


Figura 23. Microfotografías de los cortes histológicos de las glándulas adrenales (derecha e izquierda) del grupo CC (n=10). ZG (Zona Glomerular), ZF (Zona Fasciculada), ZR (Zona Reticular), M (Médula adrenal) teñido con Hematoxilina-Eosina (10x).

En los cortes histológicos de la médula de glándula adrenal derecha en el grupo CC, podemos observar el núcleo y citoplasma de las células cromafines delimitados así como la presencia de espacios sinusoidales, mientras que en la médula de la glándula adrenal izquierda, las células

cromafines se encuentran compactas sin presencia de espacios sinusoidales (Microfotografías a 10X, Figura 24A). En la microfotografía a 40X, se pueden observar con mayor claridad estas diferencias entre ambas glándulas del grupo control (Figura 24B).

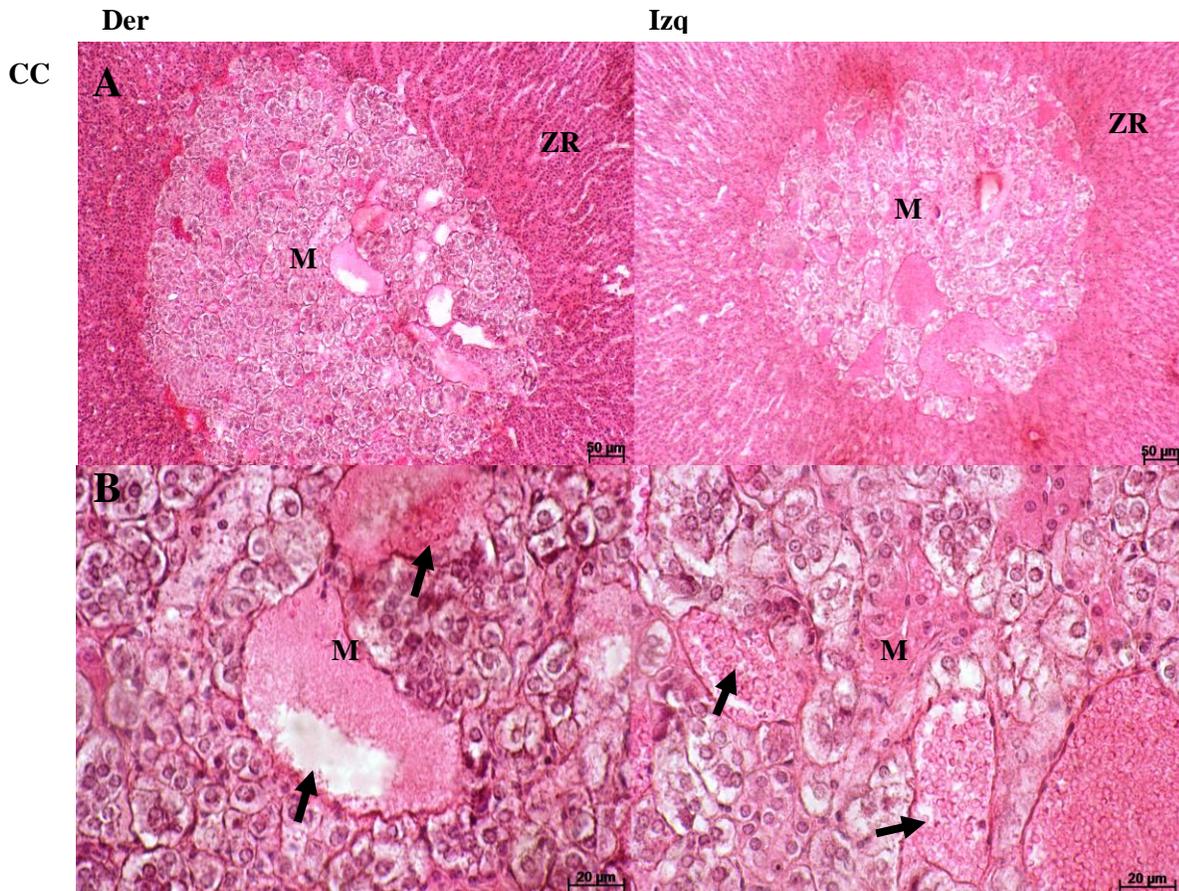


Figura 24. **A** Microfotografías de los cortes histológicos de la médula adrenal (derecha e izquierda) del grupo CC. Zona Reticular (ZR), Médula adrenal (M) (10x). **B** Microfotografías de los cortes histológicos de la médula adrenal (derecha e izquierda) del grupo CC teñido con Hematoxilina-Eosina. Médula adrenal (M) células cromafines (➡) (40x). Grupo CC (n=10).

En la tabla 2 se observa el peso, espesor de las zonas, área y número de células que conforman la corteza y la médula de la glándula adrenal derecha e izquierda del grupo CC. Observado un aumento en el número de células en la zona fasciculada de la glándula derecha comparada con la glándula izquierda del grupo CC ($P < 0.05$).

Tabla 2. Características histológicas de la glándula adrenal derecha e izquierda del grupo control

Variables	Derecha	Izquierda
	Control	Control
Peso (mg/100g peso corporal)	9 _± 7	9 _± 7
Espesor de la corteza (μm)	4435 _± 423.1	5189 _± 144.8
Espesor de la zona glomerular (μm)	60.21 _± 6.11	55.57 _± 4.00
Área de células de la zona glomerular (μm)	SN	SN
Número de células de la zona glomerular	54.40 _± 5.68	56.80 _± 9.36
Espesor zona de la zona fascicular (μm)	365.60 _± 18.75	350.80 _± 18.93
Área de las células de la zona fascicular (μm)	127.70 _± 7.06	157.40 _± 13.17
Número de células de la zona fascicular	38.50 _± 3.60	37.67 _± 2.20
Espesor de la zona reticular (μm)	402.50 _± 28.25	523.30_±33.07*
Área de células de la zona reticular (μm)	87.75 _± 6.84	105.5 _± 9.00
Número de células de la zona reticular	56.83 _± 3.32	45.17_±3.04*
Espesor de la médula (μm)	3202 _± 215.1	2611 _± 199.5
Área de células de la médula(μm)	152.20 _± 5.71	160.80 _± 13.83
Número de células de la médula	38.29 _± 3.20	46.29 _± 4.35

Se muestra media+e.e. Diferencia estadísticamente significativa en la glándula adrenal derecha comparada con la glándula adrenal izquierda del grupo control. * $P < 0.05$ t Student, CC (n=10)

Los cortes histológicos de las glándulas adrenales derecha en el grupo A30, muestran que hay un aumento en el espesor de la zona reticular y una disminución en el espesor de la zona fasciculada en la corteza de la glándula adrenal. Sin embargo, en la glándula adrenal izquierda, no observamos estos cambios como podemos observar en las microfotografías (figura 25).

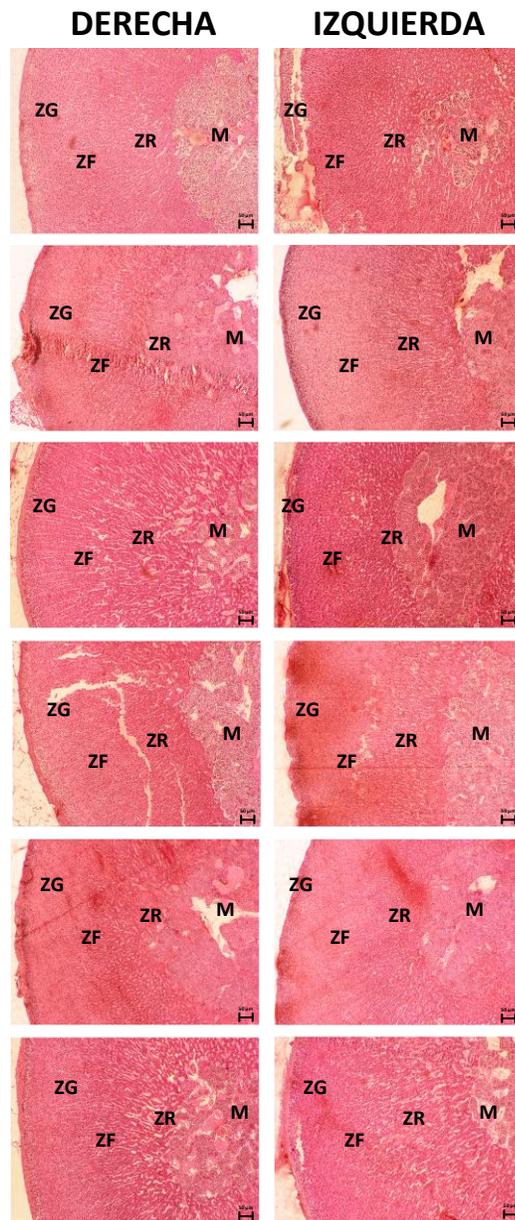


Figura 25. Microfotografías de los cortes histológicos de las glándulas adrenales (derecha e izquierda) del grupo A30 (n=11). ZG (Zona Glomerular), ZF (Zona Fasciculada), ZR (Zona Reticular), M (Médula adrenal) teñido con Hematoxilina-Eosina (10x).

En la microfotografía a 10X de los cortes histológicos de la médula de glándula adrenal derecha en el grupo A30, podemos observar espacios sinusoidales mucho más grandes y las células cromafines se compactan, comparado con el grupo control, mientras que en la medula de la glándula adrenal izquierda, no observamos espacios sinusoidales y las células cromafines se observan compactadas (Figura 26A). En la microfotografía a 40X, se pueden observar con mayor claridad estas diferencias entre ambas glándulas del grupo control (Figura 26B).

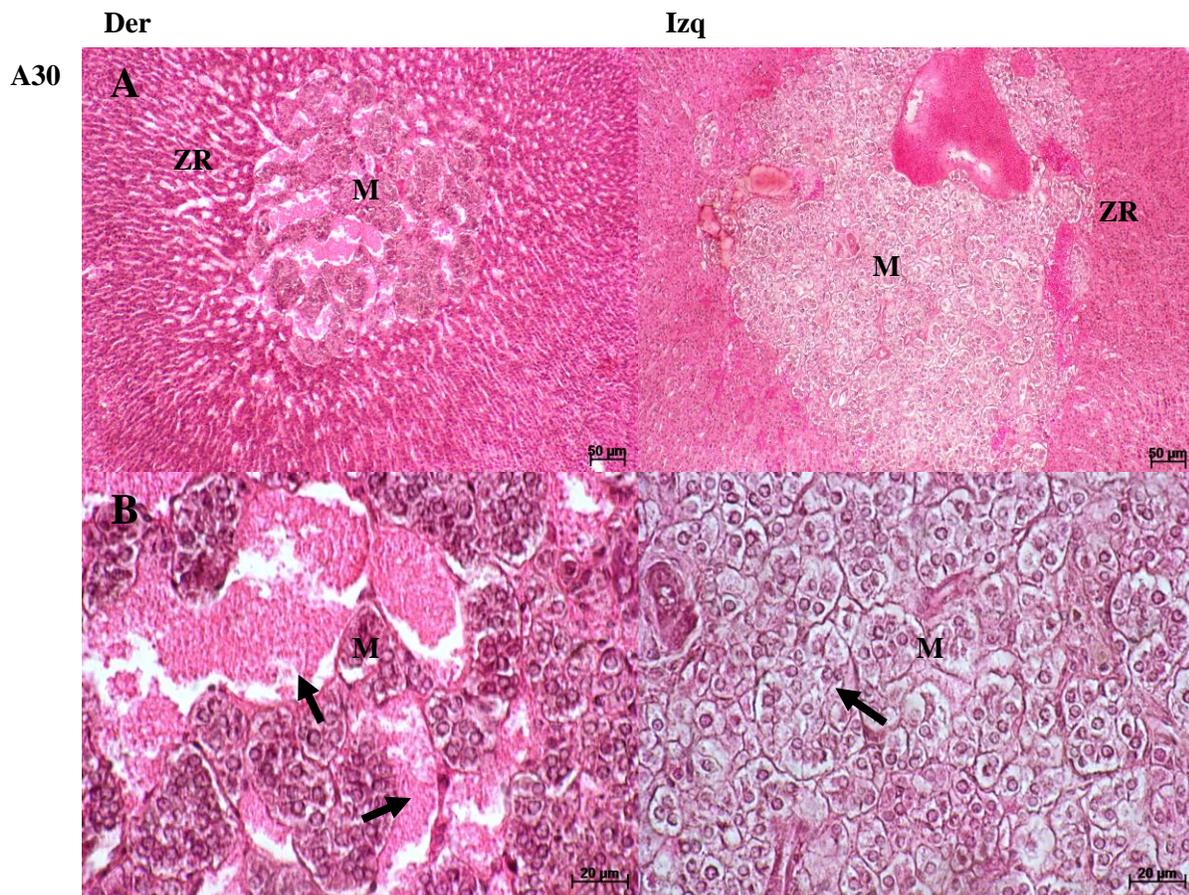


Figura 26. **A** Microfotografías de los cortes histológicos de la médula de la glándula adrenal (derecha e izquierda) del grupo A30. Zona Reticular (ZR), Médula adrenal (M) (10x). **B** Microfotografías de los cortes histológicos de la médula de la glándula adrenal (derecha e izquierda) del grupo A30. Médula adrenal (M) células cromafines (➡) (40x), teñido con Hematoxilina-Eosina. Grupo A30 (n=10).

La tabla 3 muestra el peso, espesor de las zonas, área y número de células que conforman la corteza y la médula de la glándula adrenal derecha e izquierda del grupo A30. Observando un aumento en el espesor de la zona fasciculada, en el número de células en la zona reticular y en el área de las células de la medula adrenal izquierda con respecto a la medula adrenal derecha ($P<0.05$).

Tabla 3. Características histológicas de la glándula adrenal derecha e izquierda del grupo experimental

Variables	Derecha	Izquierda
	A30	A30
Peso (mg/100g peso corporal)	10 _± 6	10 _± 4
Espesor de la corteza (μm)	5744 _± 311.3	5150 _± 153.8
Espesor de la zona glomerular (μm)	62.81 _± 4.158	77.67 _± 11.80
Área de células de la zona glomerular (μm)	SN	SN
Número de células de la zona glomerular	65.80 _± 15.66	51.80 _± 8.28
Espesor zona de la zona fascicular (μm)	258.7 _± 23.77	339.40_±21.81*
Área de las células de la zona fascicular (μm)	134.3 _± 3.61	126.6 _± 9.19
Número de células de la zona fascicular	50.00 _± 1.05	39.80_±3.07*
Espesor de la zona reticular (μm)	525.70 _± 41.11	589.40 _± 34.21
Área de células de la zona reticular (μm)	87.36 _± 8.88	93.84 _± 5.36
Número de células de la zona reticular	59.00 _± 2.61	50.40 _± 3.44
Espesor de la médula (μm)	2476 _± 236.8	2487 _± 171.4
Área de células de la médula (μm)	149.8 _± 11.13	133.4 _± 9.36
Número de células de la médula	37.00 _± 4.23	39.80 _± 6.00

Se muestra media_±e.e. Diferencias estadísticamente significativas en la glándula adrenal derecha comparado con la glándula adrenal izquierda del grupo A30. * $P < 0.05$ t Student, CC (n=10) y A30 (n=11).

En la tabla 4, se muestra las diferencias encontradas en la glándula adrenal tanto derecha, como izquierda entre los dos grupos. En el grupo A30 en la glándula adrenal derecha, aumenta el espesor de la corteza y de la zona reticular, disminuyendo el espesor de la zona fasciculada y la médula con un aumento en el área de las células de la zona fascicular. Con respecto a la glándula izquierda solo se encontraron diferencias en la disminución del área de las células de la zona reticular, comparado con el grupo control. Con respecto a la médula adrenal no se encontraron diferencias entre los grupos.

Tabla 4. Características histológicas de la glándula adrenal derecha e izquierda

Variables	DERECHA		IZQUIERDA	
	CC	A30	CC	A30
Peso (mg/100g peso corporal)	9 \pm 7	10 \pm 6	9 \pm 7	10 \pm 4
Espesor de la corteza (μ m)	4435 \pm 423.1	5744\pm311.3*	5189 \pm 144.8	5150 \pm 153.8
Espesor de la zona glomerular (μ m)	60.21 \pm 6.11	62.81 \pm 4.16	55.57 \pm 4.00	77.67 \pm 12.00
Área de células de la zona glomerular (μ m)	SN	SN	SN	SN
Número de células de la zona glomerular	54.40 \pm 5.68	65.80 \pm 15.66	56.80 \pm 9.36	51.80 \pm 8.28
Espesor zona de la zona fascicular (μ m)	365.60 \pm 18.75	258.70\pm23.77**	350.80 \pm 18.93	339.40 \pm 21.81
Área de las células de la zona fascicular (μ m)	127.0 \pm 7.06	134.3 \pm 3.61	157.4 \pm 13.17	126.6 \pm 9.19
Número de células de la zona fascicular	38.50 \pm 3.60	50.00\pm1.05*	37.67 \pm 2.20	39.80 \pm 3.07
Espesor de la zona reticular (μ m)	402.50 \pm 28.25	525.70\pm41.11*	523.30 \pm 33.07	589.40 \pm 34.21
Área de células de la zona reticular (μ m)	87.75 \pm 6.838	87.36 \pm 8.88	105.5 \pm 19.00	93.84 \pm 5.36
Número de células de la zona reticular	56.83 \pm 3.32	59.00 \pm 2.61	45.17 \pm 3.04	50.40 \pm 3.44
Espesor de la médula (μ m)	3202 \pm 215.1	2476\pm236.8*	2611 \pm 215.1	2487 \pm 171.4
Área de células de la médula(μ m)	152.2 \pm 5.71	149.8 \pm 11.13	160.8 \pm 13.83	133.4 \pm 9.36
Número de células de la médula	38.29 \pm 3.20	37.00 \pm 4.23	46.29 \pm 4.35	39.80 \pm 5.98

Se muestra media \pm e.e. Diferencias estadísticamente significativas entre glándulas y grupos. * P <0.05; ** P < 0.01 t Student, CC (n=10) y A30 (n=11).

En la figura 27, se muestra las microfotografías solamente de los cortes histológicos de la glándula adrenal derecha, dado que fue la glándula que presentó más cambios por el consumo de sacarosa. Con la tinción de Tricrómica de Masson, podemos observar que la capa de tejido conectivo que rodea a la glándula adrenal es más delgada en el grupo A30, así como los espacios sinusoidales más grandes en las zonas fascicular y reticular comparado con el grupo control, que ya habíamos observado con la tinción de hematoxilina eosina (Figura 25). En las microfotografías a 40X, podemos observar mejor los espacios sinusoidales más grandes en el grupo A30, así como la presencia de células globosas que son indicadores de inflamación comparado con el grupo control (Figura 28).

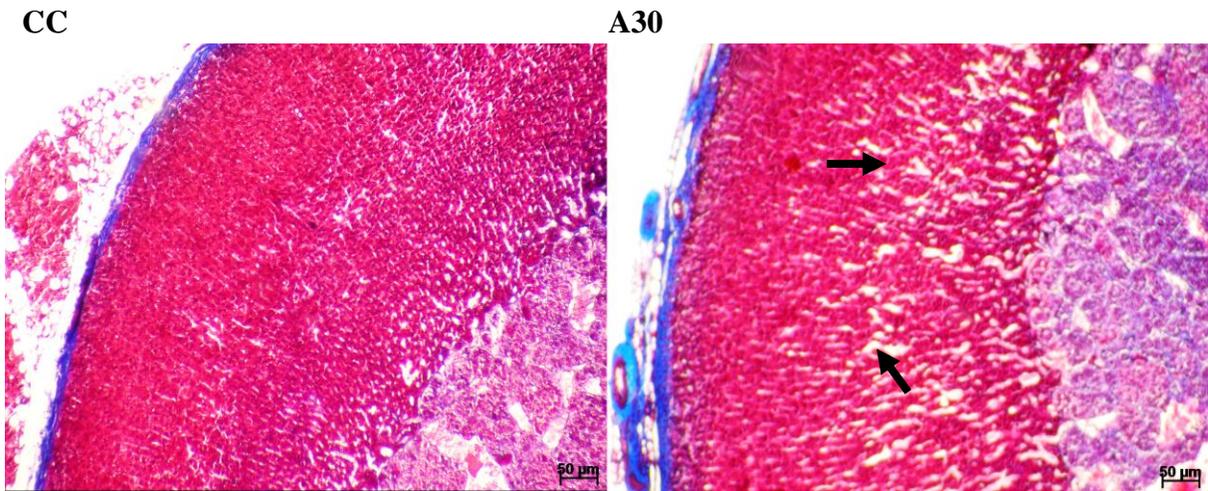


Figura 27. Microfotografías de los cortes histológicos de la glándula adrenal derecha de ambos grupos. Observamos más grandes los espacios sinusoidales (➡) en la zona reticular del grupo A30 teñido con Tricrómica de Masson en comparación con el grupo control. CC (n=10) y A30 (n=11).

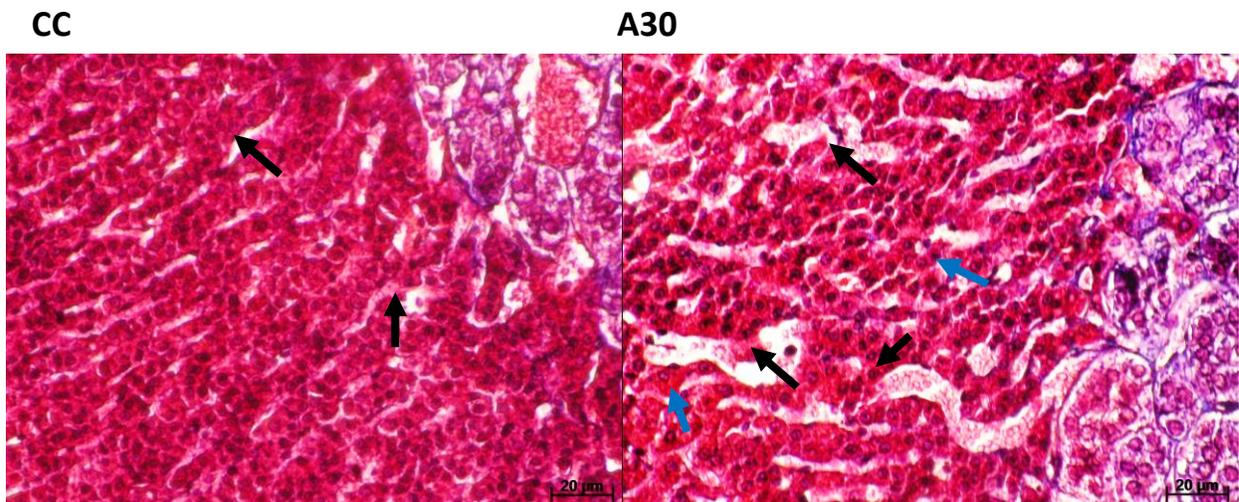


Figura 28. Microfotografías de los cortes histológicos de la glándula adrenal derecha de ambos grupos. Observamos más grande los espacios sinusoidales del grupo A30 (➡), y la presencia de células globosas (➡) en la zona reticular, teñido con Tricrómica de Masson en comparación con el grupo control. CC (n=10) y A30 (n=11).

En las microfotografías de los cortes histológicos de la médula adrenal derecha teñida con Tricrómica de Masson, podemos observar más espacios sinusoidales, mayor número de vasos sanguíneos y mayor cantidad de colágeno y las células cromafines más compactadas en el grupo A30 comparado con el grupo CC (Figura 29A a 10X). En las microfotografías a 40X,

podemos observar mejor estas diferencias (Figura 29B). Mientras que en la médula adrenal izquierda no se observan cambios entre los grupos.

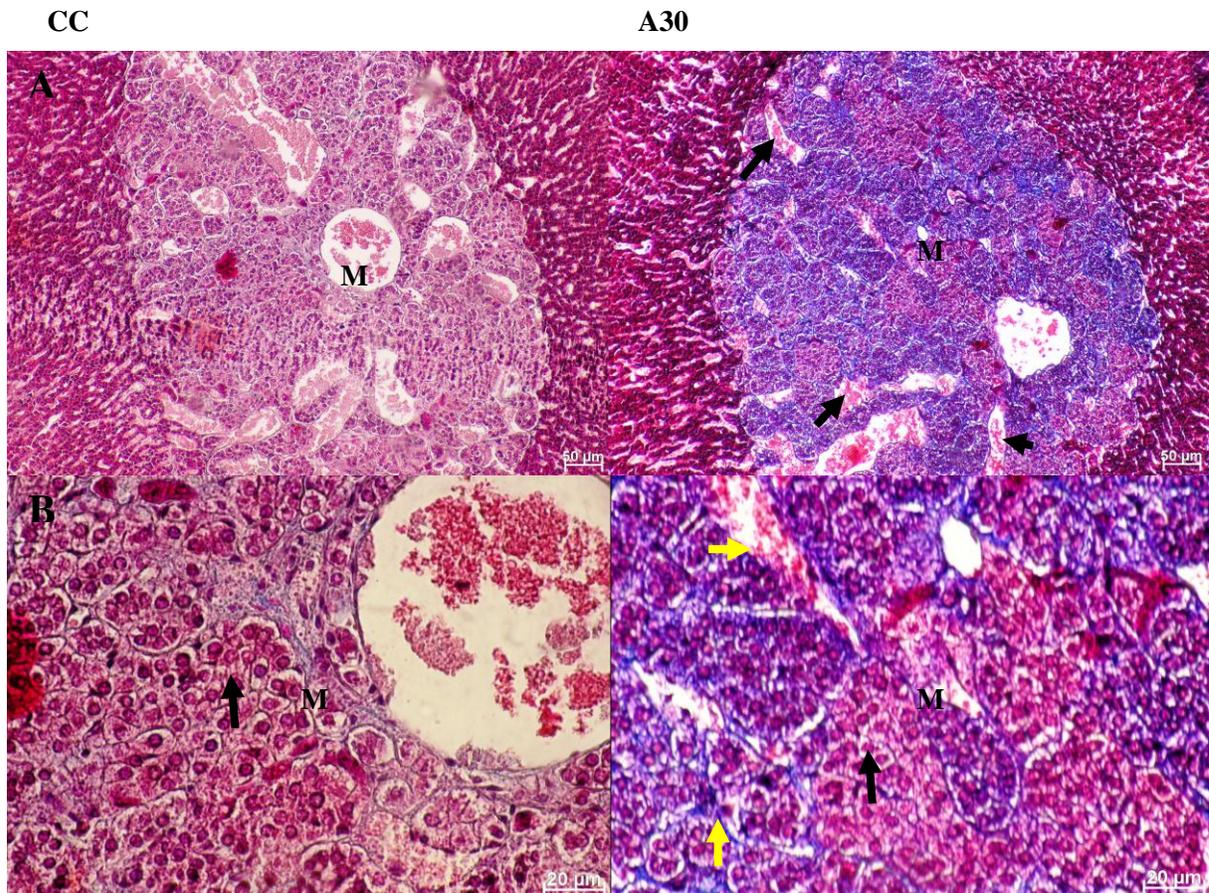


Figura 29. A Microfotografías de los cortes histológicos de la médula adrenal derecha de ambos grupos (CC y A30) (10x). B Células cromafines (➔), presencia de espacios sinusoidales y vasos sanguíneos (➡) (40x) teñida con Tricrómica de Masson. CC (n=10) y A30 (n=11).

En las microfotografías de los cortes histológicos de la glándula adrenal teñida con Wright, podemos observar la presencia de más leucocitos en la zona fasciculada y reticular de la corteza y también en la médula de la glándula adrenal derecha del grupo A30, comparado con el grupo CC sin observar leucocitos en la zona glomerular en ambos grupos (Figura 30 A, B, C).

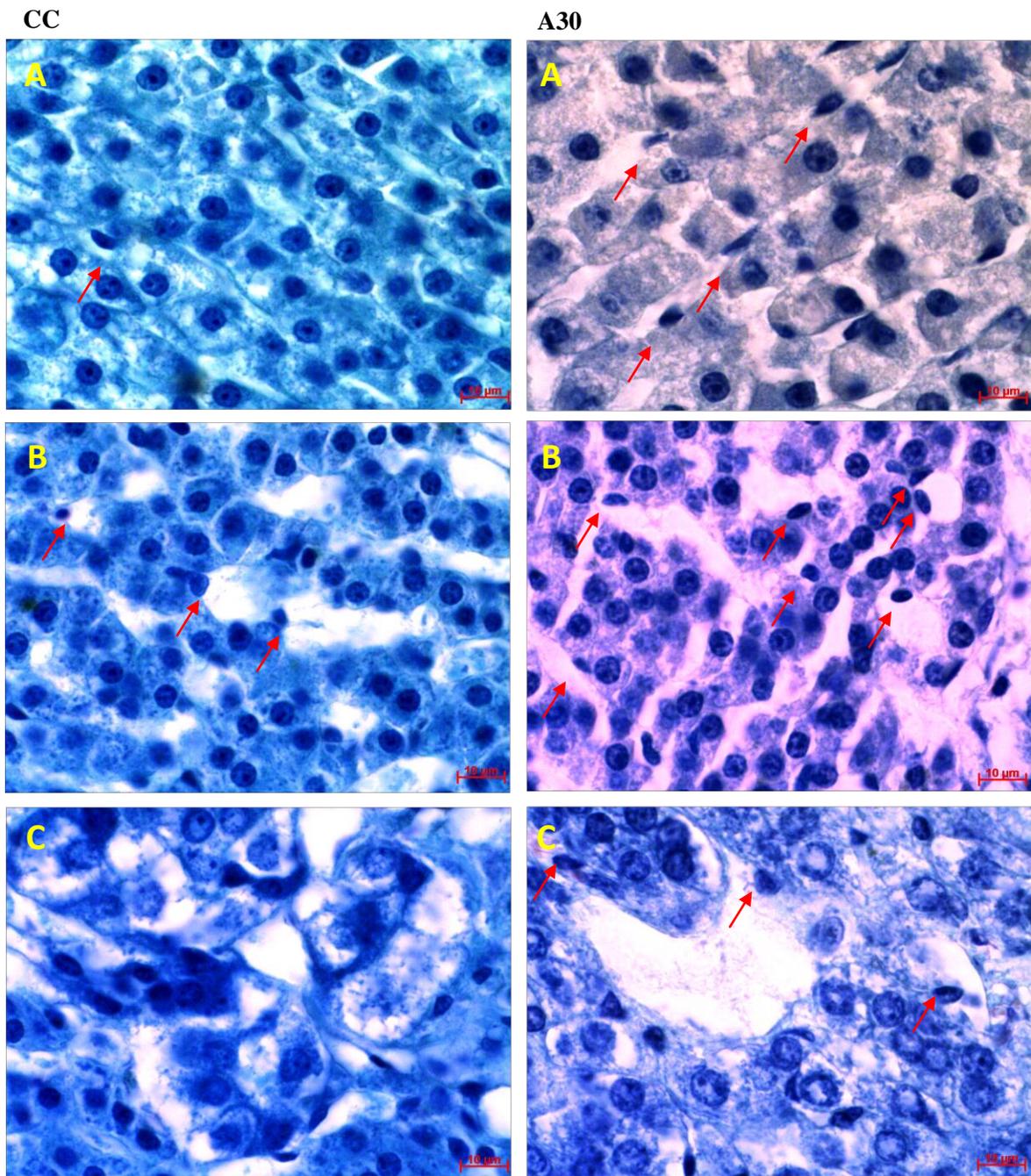


Figura 30 Microfotografías de los cortes histológicos de la glándula adrenal. **A** Células de la zona fasciculada de la glándula adrenal derecha de ambos grupos (CC y A30). **B** Células de la zona reticular de la glándula adrenal derecha de ambos grupos (CC y A30). **C** Células cromafines de la médula adrenal derecha de ambos grupos (CC y A30) observamos la presencia de leucocitos (→) (100x) teñida con Tinción de Wright.

7.7. Corticosterona en heces y espesor de la zona fasciculada

En la figura 31A, se muestra la correlación de la concentración de corticosterona en heces y el espesor de la zona fasciculada de la corteza adrenal al final del tratamiento en el grupo CC, observándose que existe correlación, es decir la concentración de corticosterona en heces es dependiente del espesor de la zona fasciculada. Mientras que en la figura 31B, se muestra la correlación de la concentración de corticosterona en heces y el espesor de la zona fasciculada de la corteza adrenal al final del tratamiento en el grupo A30, no se observa esta correlación.

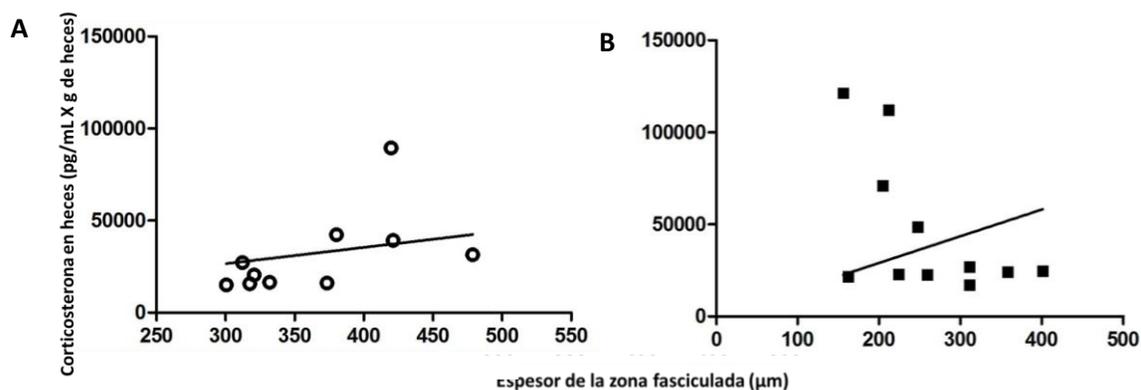


Figura 31. A) Correlación de la concentración de corticosterona en heces con el espesor de la zona fasciculada en el grupo CC. Se muestra la media±e.e. Si existe correlación. Correlación de Spearman $r= 0.7212$; $*P= 0.0234$. B) Correlación de la concentración de corticosterona en heces con el espesor de la zona fasciculada en el grupo A30. Se muestra la media±e.e. No existe correlación. Correlación de Spearman $r= -0.3455$; $P= 0.2993$. CC (n=10) y A30 (n=11).

7.8 Espesor y número de núcleos de la zona fasciculada

En la figura 32A, se muestra la correlación entre el espesor y el número de núcleos de la zona fasciculada en el grupo CC y la figura 32B, se muestra la correlación entre el espesor y el número de núcleos de la zona fasciculada en el grupo A30. No se observa correlación, es decir, el número de núcleos son los mismos independientemente del espesor de la zona fasciculada en ambos grupos.

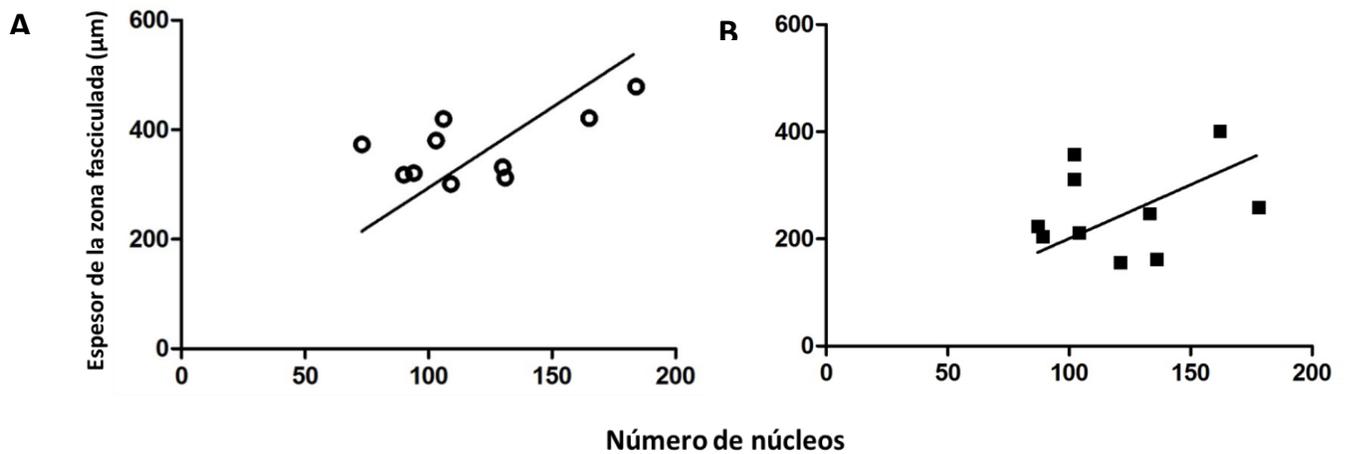


Figura 32. A) Correlación entre el espesor de la zona fasciculada y el número de núcleos en el grupo CC. Se muestra la media±e.e. No existe correlación. Correlación de Spearman $r= 0.3333$; $P= 0.3487$. B) Correlación entre el espesor de la zona fasciculada y el número de núcleos en el grupo A30. Se muestra la media±e.e. No existe correlación. Correlación de Spearman $r= 0.1459$; $P= 0.6821$. CC (n=10) y A30 (n=11).

8 DISCUSIÓN

Dietas ricas en carbohidratos proporcionadas a ratas machos al destete, han mostrado la presencia de trastornos metabólicos. Por otro lado, se han encontrado trastornos metabólicos en ratas machos adultos que fueron alimentados con dieta alta en sacarosa y grasa y un aumento en la concentración de corticosterona, mientras que la adrenalectomía revierte los efectos de la dieta. Sin embargo, no hay estudios que reporten los efectos por consumo elevado de sacarosa a temprana edad, sobre la concentración de corticosterona ni tampoco las alteraciones a nivel histológico de la glándula adrenal. Este estudio se realizó para conocer el papel de la sacarosa sobre la concentración de corticosterona, indicadores metabólicos e histología de la glándula adrenal.

Lo que encontramos fue que las ratas que consumen agua con sacarosa presentan algunas de las características encontradas en pacientes con síndrome metabólico, como alteraciones en el metabolismo lipídico, lo que conlleva a una hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia y el aumento en la acumulación de tejido adiposo visceral comparado con el grupo control, como se ha descrito en otros estudios (El Hafidi y Baños 1997; El Hafidi y cols. 2000, Alexander y cols. 2004; El Hafidi y cols. 2004, El Hafidi y cols. 2006; Herman-Oron y cols. 2008; Pérez-Torres y cols. 2009). Sin embargo, a pesar de encontrar un incremento en la acumulación de tejido adiposo visceral en las ratas que consumieron agua con sacarosa, no podemos considerarlas como ratas obesas ya que no encontramos diferencias en el peso corporal de ambos grupos. Aunque London y cols. (2009) consideran en su estudio que la rata obesa, es aquella que presenta mayor cantidad de tejido adiposo comparado con la rata control. En nuestro estudio la acumulación de grasa no aumenta el peso corporal, esto puede deberse a la disminución del consumo de alimento en las ratas que consumieron sacarosa, mientras que el consumo de agua fue similar en ambos grupos, por lo que las ratas que consumieron sacarosa, ingirieron más calorías totales. La composición corporal no fue analizada, pero sí se observó un aumento de tejido adiposo visceral e índice de adiposidad en las ratas que consumieron agua con sacarosa como podemos observar en la figura 6 A y B. Estas observaciones son similares a las descritas previamente (El Hafidi y cols. 2001; Alexander y

cols. 2004; Pérez-Torres y cols. 2009), sin conocer si la administración de sacarosa resultó en un aumento del contenido de tejido adiposo a expensas de otros tejidos.

Cabe resaltar que el fenotipo obeso no se puede inducir en ausencia de las glándulas adrenales, así parece claro que se requiere de glucocorticoides para inducir obesidad (Zakrzewska y cols. 1999) especialmente, obesidad inducida por dieta en grasa (Björntorp y cols. 2000; Arnaldi y cols. 2010) y dieta rica en sacarosa y grasa (Mantha y cols. 1999; Mantha y Deshaies 2000). Ha sido establecido, que dietas ricas en sacarosa inducen obesidad abdominal, hipertrigliceridemia y dislipidemia, pero no está claro, cómo es que en la obesidad se presentan niveles altos de cortisol excretado en orina en humanos (Björntorp y cols. 2000; Stewart y Tomlinson 2002) y corticosterona en rata (Draper y Stewart 2005; Espíndola-Antunes y Kater 2007) sin cambios en la concentración sistémica.

Lo que nosotros encontramos es que la sacarosa induce un aumento en la concentración de corticosterona en heces a los 30 días de tratamiento, esto podría deberse al aumento de la tasa metabólica del tejido adiposo e hígado en estos animales, el mecanismo por el cual, el consumo de sacarosa aumenta los niveles de corticosterona en heces al primer mes podría atribuirse al aumento de la actividad oxido-reductasa de la enzima 11β -HSD1, tanto en tejido adiposo como en hígado provocando un aumento de glucocorticoides intracelular, dicha enzima se relaciona con el metabolismo lipídico en hígado y en tejido adiposo (Seckl y cols. 2004; Tomlinson y cols. 2004; Stimson y Walker 2007; Saiah 2008), esto se ha mostrado en ratones knock-out donde una dieta rica en sacarosa aumenta la expresión del mRNA de la enzima hexosa 6-fosfato deshidrogenasa (enzima sintetizada a partir de la sacarosa) en tejido adiposo, lo que produce un aumento de la Nicotinamida Adenina Dinucleotido Fosfato-oxidasa (NADPH) necesaria para la actividad oxido-reductasa de la enzima 11β -HSD1 (Bujalska y cols. 2005; Lavery y cols. 2006), por lo que, una dieta rica en sacarosa favorece un flujo citosólico de la vía de las pentosas a través de la enzima glucosa 6-fosfato deshidrogenasa en tejido adiposo (London y cols. 2007; London y cols. 2009), y por consiguiente el aumento en el flujo de la actividad de la enzima 11β -HSD1. Es de gran relevancia mencionar que la concentración de corticosterona encontrada en heces es

independiente de los gramos de heces colectados, es decir, que la cantidad no influye en la concentración.

A partir de los dos meses de la ingesta de agua con sacarosa, disminuye la concentración de corticosterona y se mantiene ese nivel hasta el final del experimento, no encontrando diferencias comparado con el grupo control. Nosotros suponemos, por un lado, que el aumento en la concentración de insulina, influyó para aumentar la concentración de leptina, dado que se ha mostrado que la insulina es el principal estimulador de la secreción de leptina, aumentando la expresión del gen *ob* que sintetiza leptina (Rohner-Jeanrenaud 1999; Perello y Spinedi 2004). Por otro lado, el aumento en la concentración de corticosterona al primer mes estaría influyendo en el aumento de la concentración de leptina, dado que se ha mostrado que en ratas adrenalectomizadas, se disminuye la concentración de leptina, mientras que con el reemplazo de corticosterona revierte el efecto (Gemmill y cols. 2002), como ya se ha reportado, tanto en humanos como en ratas administrándoles glucocorticoides (Kiess y cols. 1996), por lo que es posible sugerir, que al existir un aumento en las concentraciones de insulina y corticosterona aumenten las concentraciones de leptina induciendo un *down-regulation* en la glándula adrenal, disminuyendo la concentración de corticosterona al segundo y tercer mes de consumo de agua con sacarosa. Sin embargo, no sabemos y sería interesante analizar la concentración de corticosterona, insulina y leptina sanguínea desde el primer mes del consumo de agua azucarada, análisis que no ha sido estudiado en el contexto del consumo de agua con sacarosa a temprana edad.

De la misma forma el aumento de insulina podría ser la causa por la que no encontramos diferencias en los niveles de glucosa, y es posible que la concentración de insulina esté promoviendo el almacenamiento de triglicéridos en el adipocito, dado que se ha mostrado que la insulina es uno de los principales inhibidores de la movilización de ácidos grasos (Kahn y Flier 2000) favoreciendo la hipertrofia de estas células. Sin embargo, encontramos una diferencia significativa de resistencia a la insulina en el grupo experimental comparado con el control, lo que sugiere que hay una alteración en la captura de glucosa, en la síntesis de aminoácidos en músculo y la síntesis de triglicéridos en tejido adiposo como se ha

reportado (Vegiopoulos y Herzing 2007). Mientras que los efectos periféricos de leptina son muy importantes para inhibir la ingesta de alimento, por lo que sugerimos que probablemente este aumento de leptina esté contribuyendo en la disminución de la ingesta de alimento que encontramos en las ratas que consumieron agua azucarada.

Nuestro estudio muestra que no hay diferencia en la concentración de glucosa, colesterol, HDL y tampoco en la concentración de corticosterona en suero al final del experimento lo que se correlaciona con la concentración de corticosterona en heces. Pero si existen diferencias en las concentraciones de triglicéridos y VLDL que no podemos explicar sea consecuencia del peso corporal, debido a que no encontramos diferencias entre los dos grupos de ratas, estos datos coinciden con los reportados en otros estudios (El Hafidi y cols. 2001; Alexander y cols. 2004; Pérez-Torres y cols. 2009).

Efecto del consumo elevado de sacarosa sobre la histología de la glándula adrenal

No hay diferencias en el peso de las glándulas adrenales con respecto al peso corporal de las ratas en ambos grupos. Un dato interesante que encontramos, es que la glándula adrenal no es homogénea en su estructura anatómica, quizás por las diferencias de la forma e irrigación. En el grupo control se puede observar que las zonas de la corteza, núcleo y citoplasma están bien delimitadas en ambas glándulas. Sin embargo, se puede observar que la zona reticular de la glándula derecha presenta espacios sinusoidales pequeños, mientras que en la zona reticular de la glándula izquierda, se observan espacios sinusoidales grandes. Con respecto a la médula adrenal derecha, también podemos observar el núcleo y citoplasma de las células cromafines delimitados, así como la presencia de espacios sinusoidales, mientras en la médula de la glándula izquierda, las células cromafines son más compactas y no se observan espacios sinusoidales.

En el grupo experimental, contrario a lo observado en la glándula derecha del grupo control, encontramos aumenta el tamaño de los sinusoides por lo que aumenta el espesor de la zona reticular, y como consecuencia disminuye el espesor de la zona fasciculada y aumenta el número de células de esta zona. Sin embargo, en la glándula adrenal izquierda no observamos

estos cambios tan evidentes en la glándula derecha, solo una disminución en el área de las células de la zona reticular como se puede observar en las microfotografías (figura 20). Lo que pensamos es que debido a que en la zona reticular aumenta el tamaño de los sinusoides, el espesor de la zona fasciculada se hace más compacta y disminuye su espesor y ésta para tratar de compensar su función, aumenta el número de células en dicha zona. Este desarreglo de la glándula adrenal al final del experimento, puede ser otro factor que provoque la disminución de la concentración de corticosterona. Tampoco encontramos una correlación entre la concentración de corticosterona excretada en heces y número de núcleos con el espesor de la zona fascicular. Con respecto a la médula adrenal derecha se puede observar espacios sinusoidales más grandes y las células cromafines se compactan, mientras que en la médula izquierda, no se observan espacios sinusoidales. Como vemos el efecto de la sacarosa afectó más a la glándula adrenal derecha, tanto en la corteza y médula adrenal.

Después de observar con la tinción de hematoxilina eosina la presencia de espacios sinusoidales más grandes en la zona fasciculada y reticular de la corteza y también en la médula adrenal, nos preguntamos si podría contener colágeno en su interior. Por ello, se utilizó la tinción de Tricrómica de Masson, solamente de los cortes histológicos de la glándula adrenal derecha, dado que fue la glándula que presentó más cambios por el consumo de sacarosa. Con esta tinción pudimos corroborar el desarreglo histológico de la glándula adrenal encontrado con la tinción de hematoxilina eosina, pero también observamos que la glándula adrenal derecha del grupo experimental, está rodeada de una capa de tejido conectivo más delgada comparada con grupo control, también pudimos observar que en la zona reticular se encuentran células globosas, lo que nos indica la presencia de inflamación. Es evidente que el consumo de agua azucarada provocó un desarreglo en la glándula adrenal, el aumento en el tamaño de los espacios sinusoidales lo que hace que cambie el grosor de las zonas de la corteza adrenal. Mientras que en la medular de la glándula adrenal derecha se puede observar, mayor número de vasos sanguíneos, las células cromafines más compactas y mayor cantidad de colágeno lo que nos indica el inicio de fibrosis en el grupo experimental comparado con el grupo control. Se ha reportado, que la inflamación y la presencia de colágeno es el comienzo

de un proceso de fibrosis lo que podría alterar la secreción hormonal (Brown y cols. 1989) de esta manera la retroalimentación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal se podría alterar y posteriormente provocar la muerte celular por ello, la presencia de células pro y antiinflamatorias (Romero-Sarmiento y cols. 2012).

Se ha reportado que la leptina favorece la llegada de macrófagos, participando como un quimioatrayente en la célula, debido a que aumenta la síntesis de ciertas quimiocinas como la proteína quimioatrayente de monocitos-1 (MCP-1 por sus siglas en inglés), y vías de señalización necesarias para la migración de macrófagos como la de la cinasa aminoterminal c-Jun-1 (JAK-1 por sus siglas en inglés), la señal de activadores de transducción (STAT por sus siglas en inglés), las cinasas proteicas activadoras de la mitogénesis (MAPK por sus siglas en inglés) y la fosfatidilinositol 3-quinasa que regulan la activación de los macrófagos, ya que los macrófagos poseen receptores de leptina (Gruen y cols. 2007). Se ha observado en ratones *ob/ob*, que la administración central de leptina acelera la infiltración de macrófagos renales a través de la melanocortina, sugiriendo que el sistema nervioso central, es capaz de controlar la inflamación periférica (Kim y cols. 2007; Tanaka y cols. 2010). Sin embargo, recientemente se ha observado que durante el desarrollo de la obesidad, el aumento de tejido adiposo en humanos y ratones activa vías de señalización como la activación del Factor de Necrosis Tumoral-alfa (FNT- α) y la Interleucina-6 (IL-6) para llevar a cabo el proceso de apoptosis, estas vías de señalización citotóxicas llevan a cabo la activación de caspasas proteínas relacionadas con la apoptosis del adipocito, incrementado de esta manera la apoptosis en el adipocito, lo que lleva a un aumento en la infiltración de macrófagos, provocando posteriormente resistencia a la insulina, esteatosis hepática y dislipidemias (Alkhour y cols. 2009). Con estos antecedentes es probable pensar que el aumento de leptina que se encontró al final del experimento esté participando en la infiltración de células leucocitarias, un inicio de inflamación.

Continuando con el estudio tendríamos que mostrar si efectivamente habría células del sistema inmune que se estuvieran infiltrando en la glándula adrenal, por lo que, se procedió a teñir cortes histológicos con la tinción de Wright. Lo que encontramos fue un mayor número leucocitos en la zona fascicular, reticular y medular de la glándula adrenal derecha de ratas que consumieron agua azucarada con respecto a la rata control. Cabe resaltar que estas células leucocitarias son más evidentes en la zona reticular lo que se correlaciona con el desarreglo observan con la técnica de Hematoxilina Eosina y Tricrómica de Masson en la zona reticular. Se sabe que el reclutamiento de los leucocitos inicia cuando existe presencia de inflamación en la célula, ya que la función principal de la inflamación, es conseguir que los leucocitos lleguen al lugar de la lesión para eliminar los agentes que causan la lesión (Robbins y Cotran 2007). Lo que pensamos es que tanto el desarreglo en la zona reticular, como el inicio de fibrosis en la médula adrenal están favoreciendo la llegada de los leucocitos para contrarrestar el inicio de inflamación aguda, se dice que es una inflamación aguda porque no existe la presencia de macrófagos en la glándula adrenal. Nosotros no encontramos macrófagos en la glándula adrenal, esta información lo sabemos porque se realizó la técnica de inmunohistoquímica para asegurarnos de observar macrófagos.

No sabemos si este desarreglo de la glándula adrenal, se correlacione con la disminución en la secreción de la corticosterona al final del experimento y que lo mismo suceda para la zona reticular y médula adrenal, hacen falta más estudios para analizar las consecuencias del desarreglo histológico como por ejemplo: estrés oxidativo, número de receptores adrenales y la secreción de catecolaminas. Además, si estos efectos se pueden revertir cuando las ratas dejen de consumir agua azucarada.

9 CONCLUSIONES

En conclusión, se utilizó un modelo de síndrome metabólico inducido por el consumo de agua con sacarosa (30%):

- Induce alteraciones metabólicas
- Aumento en la concentración de corticosterona en heces en el primer mes de tratamiento
- Modificaciones en la glándula adrenal derecha:
 - Disminución del espesor de la zona fasciculada con un aumento en el área de las células.
 - Aumento del espesor de la zona reticular
 - Aumento de espacios sinusoidales en la zona reticular y medular
 - Presencia de células globosas en la zona reticular
 - Presencia de fibrosis en la médula adrenal
 - Presencia de leucocitos en la corteza y médula adrenal
- Sin aumentar peso corporal, glucosa, colesterol y HDL

10 PERSPECTIVAS

De acuerdo a los resultados, sería interesante evaluar si el síndrome metabólico es previo al aumento de la concentración de corticosterona o viceversa. Otro dato interesante sería bloquear la secreción de leptina y evaluar la concentración de corticosterona de esta manera podríamos concluir que la secreción de leptina, disminuyó la concentración de corticosterona al final del experimento.

También sería interesante saber si dejar de consumir agua con sacarosa, todas las alteraciones metabólicas encontradas se revierten, lo que recientemente se le ha llamado intervención. Por otro lado, aumentar el tiempo del consumo de agua con sacarosa, es posible encontrar una leptino-insulinoresistencia como se ha reportado en otros modelos de estudios, para evaluar la posible participación de la corticosterona en el síndrome metabólico, hacen falta estudios que indiquen de que manera la corticosterona influye para que se presente el síndrome metabólico.

Con respecto a los resultados obtenidos sobre la histología de la glándula adrenal, donde observamos claramente un desarreglo en la zona reticular y medular, falta evaluar si hay una diferencia estadística en el número de leucocitos entre los dos grupos experimentales, solamente se mostró la presencia de las células en mayor aparición en el grupo experimental pero no se evaluó en todos los grupos, hasta este momento podemos decir que hay un inicio de un proceso inflamatorio. Aunado a esto, hace falta evaluar las diferentes hormonas que se sintetizan en cada una de las zonas de la corteza y médula adrenal. También sería interesante evaluar el arreglo histológico de la glándula adrenal después de administrar glucocorticoides sintético como la dexametasona, no se sabe nada con respecto al arreglo histológico en este sentido. Por ultimo sería relevante conocer en este mismo contexto, si estas modificaciones hormonales, alteran parámetros fisiológicos de la conducta sexual, evaluar si el consumo de sacarosa a temprana edad, modifica la concentración de testosterona y si estas modificaciones influyen la histología de las gónadas y epidídimo, modificando la concentración, movilidad y calidad espermática. Ya que todas estas alteraciones se conocen pero desde el punto de vista del consumo de dietas ricas en grasa.

11 REFERENCIAS

- Ahima SR, Flier SJ. 2000. Leptin. *Annual Review Physiology* 62: 413–37.
- Alexander AA, Hernández DG, Lara BM, Angulo G, Oliart RR. 2004. Effects of fish oil on hypertension, plasma lipids, and tumor necrosis factor- α in rats with sucrose-induced metabolic syndrome. *Journal of Nutrition Biochemical* 15: 350-357.
- Alkhoury N, Gornicka A, Berk MP, Thapaliya S, Dixon LJ, Kashyap S, Schauer PR, Feldstein AE. 2009. Adipocyte apoptosis, a link between obesity, insulin resistance, and hepatic steatosis. *The Journal of Biological Chemistry* 285: 3428–3438.
- Arnaldi G, Scandali VM, Trementino L, Cardinaletti M, Appolloni G, Boscaro M. 2010. Pathophysiology of dyslipidemia in Cushing’s syndrome. *Neuroendocrinology* 92: 86-90.
- Arvaniti K, Richard D, Picard F, Deshaies Y. 2001. Lipid deposition in rats centrally infused with leptin in the presence or absence of corticosterona. *American Journal of Physiology Endocrinology Metabolic* 281: 809-816.
- Ashby P, Robinson SD. 1979. Effects of insulin, glucocorticoids and adrenaline on the activity of rat adipose-tissue lipoprotein lipids. *Biochemistry Journal* 188: 185–192.
- Bahceci M, Gokalp D, Bahceci S, Tuzcu A, Atmaca S, Arikan S. 2007. The correlation between adiposity and adiponectin, tumor necrosis factor alpha, interleukin-6 and high sensitivity C-reactive protein levels. Is adipocyte size associated with inflammation in adults? *Journal of Endocrinology Investigation* 30: 210-214.
- Balachandran A, Guan H, Sellan M, van Uum S, Yang K. 2008. Insulin and dexamethasone dynamically regulate adipocyte 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *Endocrinology* 149: 4069-79.
- Bleisch VR, Mayer J, Dickie MM. 1952. Familial diabetes mellitus in mice associated with insulin resistance, obesity and hyperplasia of the islands of Langerhans. *American Journal of Pathology* 28: 369-385.
- Björntorp P. 1995. Liver triglycerides and metabolism. *International Journal of Obesity and related Metabolic Disorders* 19: 839-840.
- Booth FW, Lees SJ. 2007. Fundamental questions about genes, inactivity, and chronic diseases. *Physiology Genomics* 28: 146-157.

- Brousset Hernández-Jáuregui DM, Galindo MF, Valdez PRA, Romano PM, Schuneman AA. 2005. Cortisol en saliva, orina y heces: evaluación no invasiva en mamíferos silvestres. *Journal Veterinaria México* 3: 1-14.
- Brown FM, Zuckerman M, Longway S, Rabinowe SL. 1989. Adrenal medullary fibrosis in IDDM of long duration. *Diabetes Care* 12: 494-7.
- Calles C, Campión J, Maestro B, Dávila N. 1996. Modulación de la expresión del gen del receptor de insulina por hormonas esteroideas: Consecuencias patológicas. *Diabetology* 13:1-10.
- Bujalska IJ, Draper N, Michailidou Z, Tomlinson JW, White PC, Chapman KE, Walker EA, Stewart PM. 2005. Hexose-6-phosphate dehydrogenase confers oxo-reductase activity upon 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1. *Journal of Molecular Endocrinology* 34:675-684.
- Devlin T. 2000. Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas. 3° Edición. Editorial Reverté 1-22.
- De Ferranti S, Mozaffarian D. 2009. La tormenta perfecta: obesidad, disfunción del adipocito y consecuencias metabólicas. *Clinical Chemistry* 54: 945-955.
- Draper N, Stewart PM. 2005. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase and the pre-receptor regulation of corticosteroid hormone action. *The Journal Endocrinology* 186:251-271.
- El Hafidi M, Baños G. 1997. In vivo plasma lipid oxidation in sugar-induced rat hipertrigliceridemia and hypertension. *Hypertension* 30: 624-628.
- El Hafidi M, Valdez R, Baños G. 2000. Possible relationship between altered fatty acid composition of serum, platelets, and Aorta and Hypertension induced by sugar feeding in rats. *Clinical and Experimental Hypertension* 22: 99-108.
- El Hafidi M, Cuellar A, Ramirez J, Baños G. 2001. Effect of sucrose addition to the drinking water, that induces hypertension in the rats, on liver microsomal $\Omega 9$ and $\Omega 5$ -desaturase activity. *Journal of Nutrition Biochemical* 12: 65-71.
- El Hafidi M, Pérez I, Zamora J, Soto V, Carvajal-Sandoval G, Baños G. 2004. Glycine intake decreases plasma free fatty acids, adipose cell size, and blood pressure in sucrose-fed rats.

American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology 287: 1387–1393.

El Hafidi M, Pérez I, Carrillo S, Cardoso G, Zamora J, Chavira R, Baños G. 2006. Effect of sex hormones on non-esterified fatty acids, intra-abdominal fat accumulation, and hypertension induced by sucrosa diet in male rats. *Clinical Experimental. Hipertension* 28: 669–668.

Elia M. 2000. Guidelines for detection and management of malnutrition. A report by the Malnutrition Advisory Group. Maidenhead: BAPEN.

Espíndola-Antunes D, Kater EC. 2007. Adipose Tissue Expression of 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 in Cushing's Syndrome and in Obesity. *Arquivos Brasileiros de Endocrinología e Metabologia* 8: 51-58.

Fernandez-Vazquez G; Torrecilla GE, Rubio H MA. 2010. The metabolic syndrome as intrahepatocytic Cushing's syndrome. *Endocrinology Nutrition* 003:1-4.

Ferrari P. 2010. The role of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human hypertension. *Biochimica Biophysica Acta* 12: 1178-1187

Fried SK, Russell CD, Grauso NL and Brolin RE. 1993. Lipoprotein lipase regulation by insulin and glucocorticoid in subcutaneous and omental adipose tissue of obese women and men. *The Journal of Clinical Investigation* 92: 2191-2198.

Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. 2004. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The journal of Clinical Investigation* 114:1752-1761.

Gemmill ME, Eskay RL, Hall NL, Douglass LW, Castonguay TW. 2002. Leptin Suppresses Food Intake and Body Weight in Corticosterone-Replaced Adrenalectomized Rats. *The Journal of Nutrition* 133: 504-509.

Glasow A, Haidan A, Hilbers U, Breidert M, Gillespie J, Scherbaum WA, Chrousos GP, Bornstein SR. 1998. Expression of Ob receptor in normal human adrenals: differential regulation of adrenocortical and adrenomedullary function by leptin. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 12: 4459-66.

- Goodwin JE, Zhang J, Geller DS. 2008. A critical role for vascular smooth muscle in acute glucocorticoid-induced hypertension. *Journal of the American Society of Nephrology* 19: 1291-1299.
- Gruen ML, Hao M, Piston DW, Hasty AH. 2007. Leptin requires canonical migratory signaling pathways for induction of monocyte and macrophage chemotaxis. *American Journal of Physiology Cell Physiology* 293:1481-8.
- Herman-Oron M, Kamari Y, Grossman E, Yeger G, Peleg E, Shabtay Z, Shamiss A, Sharabi Y. 2008. Metabolic syndrome: comparison of the two commonly used animal models. *American Journal of Hypertension* 21: 1018-1022.
- Janeway Jr. CA, Travers P, Walport M, Sholmchilk MJ. 2003. Inmunobiología: El sistema inmunitario en condiciones de salud y enfermedad. Editorial *Masson* segunda condición 619-620.
- Kahn BB, Flier SJ. 2000. Obesity and insulin resistance. *The journal of clinical investigation* 106: 473-481
- Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. 2005. The metabolic syndrome: Time for a critical appraisal. *Diabetologia* 48: 1684-1699.
- Katomski PA, Ferrante FL. 1974. Catecholamine content and histology of the adrenal glands of the nutria (*Myocastor coypus*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 48: 539-46.
- Kasai T, Miyauchi K, Kubota N, Tamura H, Kojima T, Yokoyama K, Kurata T, Daida H. 2008. The relationship between the metabolic syndrome defined by various criteria and the extent of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 197: 944-950.
- Kawasaki T, Igarashi K, Koeda T, Sugimoto K, Nakagawa K, Hayashi S, Yamaji R, Inui H, Fukusato T, Yamanouchi T. 2009. Rats fed fructose-enriched diets have characteristics of nonalcoholic hepatic steatosis. *The Journal of Nutrition Nutrition and Disease* 139: 2067-71.
- Keegan CE, Hammer GD. 2002. Recent insights into organogenesis of the adrenal cortex. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 13: 200-8.
- Kershaw EE, Morton MN, Dhillon H, Ramage L, Seckl RJ, Flier SJ. 2005. Adipocyte-Specific Glucocorticoid Inactivation Protects Against Diet-Induced Obesity. *Diabetes* 54: 1023–1031.

- Kiess W, Englaro P, Hanitsch S, Rascher W, Attanasio, A, Blum WF. 1996. High leptin concentrations in serum of very obese children are further stimulated by dexamethasone. *Hormone Metabolic Research* 28: 708–710.
- Kim JY, van de Wall E, Laplante M, Azzara A, Trujillo ME, Hofmann SM, Schraw T, Durand JL, Li H, Li G, Jelicks LA, Mehler MF, Hui DY, Deshaies Y, Shulman GI, Schwartz GJ, Scherer PE. 2007. Obesity-associated improvements in metabolic profile through expansion of adipose tissue. *The Journal of Clinical Investigation* 117:2621-37.
- Lalli E. 2010. Adrenal cortex ontogenesis. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 24: 853–864.
- Lavery GG, Walker EA, Draper N, Jeyasuria P, Marcos J, Shackleton CH, Parker KL, White PC, Stewart PM. 2006. Hexose-6-phosphate dehydrogenase knock-out mice lack 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1-mediated glucocorticoid generation. *The Journal of Biological Chemistry* 281:6546-6551.
- Liu Y, Nakagawa Y, Wang Y, Li R, Li X, Ohzeki T, Friedman TC. 2003. Leptin activation of corticosterone production in hepatocytes may contribute to the reversal of obesity and hyperglycemia in leptin-deficient ob/ob mice. *Diabetes* 52: 1409-1416.
- Liu Y, Nakagawa Y, Wang Y, Sakurai R, Tripathi PV, Lutfy K, Friedman TC. 2005. Increased glucocorticoid receptor and 11{beta}-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 expression in hepatocytes may contribute to the phenotype of type 2 diabetes in db/db mice. *Diabetes* 54: 32-40.
- Lofts B, Phillips JG, Tam WH. 1971. Seasonal changes in the histology of the adrenal gland of the cobra, *Naja naja*. *General and Comparative Endocrinology* 16: 121-131.
- London E, Lala G, Berger R, Panzenbeck A, Kohli AA, Renner M, Jackson A, Raynor T, Loya K, Castonguay WT. 2007. Sucrose access differentially modifies 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase-1 and hexose-6-phosphate dehydrogenase message in liver and adipose tissue in rats. *The Journal of Nutrition* 12: 2616-2621.
- London E, Castonguay WT. 2009. Diet and the role of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-1 on obesity. *Journal of Nutritional Biochemistry* 20: 485–493.

- Mantha L, Palacios E, Deshaies Y. 1999. Modulation of triglyceride metabolism by glucocorticoids in diet-induced obesity. *American Journal Physiological Society (Regulatory Integrative Company Physiology)* 277: 455-464.
- Mantha L, Deshaies Y. 2000. Energy intake-independent modulation of triglyceride metabolism by glucocorticoids in the rat. *American Journal Physiological Society (Regulatory Integrative Company Physiology)* 278: 1424-1432.
- Mataix V, J. 2009. Nutrición y alimentación humana; Editorial: *Ergón*, 2da edición.
- Moliner De La Puente JR, Domínguez Sardiña M, González Paradela MC, Alfaro Alonso G, Crespo Sabaris J, Rodríguez Fernández M, Pérez García M, Castiñeiras Pérez MC. 2004. Hipertensión Arterial. *Guías Clínicas* 34:1-10.
- Munoz J. Fisiología: Células, órganos y sistemas. Editorial *Ghandi*, 1994.
- Murakami T, Iida M, Shima K. 1995. Dexamethasone regulates obese expression in isolated rat adipocytes. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 214: 1260-1267.
- Opherk C, Tronche F, Kellendonk C, Kohlmüller D, Schulze A, Schmid W, Schütz G. 2004. Inactivation of the glucocorticoid receptor in hepatocytes leads to fasting hypoglycemia and ameliorates hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Molecular Endocrinology* 18: 1346-1353.
- Pacák K, Palkovits M. 2001. Stressor Specificity of Central Neuroendocrine Responses: Implications for Stress-Related Disorders. *Endocrinology* 22:502-548.
- Papaspyrou-Rao S, Schneider HS, Petersen RN, Fried KS. 1997. Dexamethasone Increases Leptin Expression in Humans in Vivo. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 82: 1635.
- Paterson JM, Morton NM, Fievet C, Kenyon CJ, Holmes MC, Staels B, Seckl JR, Mullins JJ. 2004. Metabolic syndrome without obesity: Hepatic overexpression of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in transgenic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101:7088-7093.
- Perello M, Spinedi E. 2004. Aspectos neuroendocrinos de la obesidad. *Medicina*. 64: 257-264.

- Pérez-Sánchez E. 2011. Restricción proteínica en la rata madre gestante: consecuencias en la anatomía y el metabolismo de la progenie que en su etapa adulta consume cantidades elevadas de carbohidratos. 3-60.
- Pérez-Torres I, Roque P, El Hafidi M, Diaz-Diaz E, Baños G. 2009. Association of renal damage and oxidative stress in a rat model of metabolic syndrome. Influence of gender; *Free Radical Research* 43: 761-771.
- Pinheiro CH, Filho WM, Neto JO, Marinho MJ, Neto RM, Smith MM, Silva CA. 2009. Ejercicio físico previene alteraciones cardiometabólicas inducidas por el uso crónico de glucocorticoides. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 93:392-400.
- Popkin B. 2002. An overview on the nutrition transition and its health implications: The Bellagio meeting. *Public Health Nutrition* 5: 93-103.
- Ramsay T. 1996. Fat Cells. *En: Endocrinology and metabolism clinics of North America*. Vol 25, N° 4. WB Saunders.
- Rappaport M. 2001. Leptina: una hormona integradora. *IntraMed*.
- Raynolds MV, Awald PD, Gordon DF, Gutierrez-Hartmann A, Rule DC, Wood WM and Eckel RH. 1990. Lipoprotein lipase gene expression in rat adipocyte is regulated by isoproterenol and insulin through different mechanisms. *Molecular Endocrinology* 4: 1416-1422.
- Rentsch J, Chiesi M. 1995. Regulation of ob gene mRNA levels in cultured adipocytes. *FEBS Lett* 379: 55-9.
- Ritchie EJ, Balasubramanian S. 2011. Anatomy of the pituitary, thyroid, parathyroid and adrenal glands. *Basic Sciences* 29: 403-40.
- Robbins, Cotran. 2007. Patología estructural y funcional. *Elsiver* 7ma edición.43-77.
- Rodes J, Pierre-Benhamou J, Bircher J, McIntyre N, Rizzetto M. 2001. Tratado de Hepatología Clínica. *2da edición editorial Masson* tomo II: 1993-1994.
- Rohner-Jeanraud F. 1999. Neuroendocrine regulation of nutrient partitioning. *Annals of New York Academy of Science*. 18:261-71.

Rojas J, Bermúdez V, Leal E, Aparicio D, Peña G, Acosta L, Finol F, Urdaneta A. Colmenares C, Almarza J, Linares S, Carrillo M, Bustamante M. 2008. Orígenes étnicos y enfermedades cardiovasculares. *Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez"*.

Romero-Sarmiento Y, Soto-Rodríguez I, Arzaba-Villalba A, García SH, Alexander-Aguilera A. 2012. Effects of conjugated linoleic acid on oxidative stress in rats with sucrose-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Functional Foods* 4: 219–225.

Saiah E. 2008. The role of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in metabolic disease and therapeutic potential of 11beta-hsd1 inhibitors. *Current Medicinal Chemistry* 15:642-649.

Sapolsky MR, Romero LM, Munck UA. 2000. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocrinology* 21:55-89.

Schwartz WM, Woods CS, Seeley JR, Barsh SG, Baskin GD, Leibel LR. 2003. Is the Energy Homeostasis System Inherently Biased Toward Weight Gain?. *Diabetes* 52:232-238.

Seckl JR, Morton NM, Chapman KE, Walker BR. 2004. Glucocorticoids and 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase in adipose tissue. *Recent Progress in Hormone Research* 59:359-393.

Semenkovich CF, Wims M, Noe L, Etienne J and Chan L. 1989. Insulin regulation of lipoprotein lipase activity in 3T3-L1 adipocytes is mediated at post-transcriptional and post-translational levels. *The Journal of Biological Chemistry* 264: 9030-9038.

Serrano G MA. 2009. Papel de la placenta en el desarrollo fetal y en la salud del adulto, *Catedrática de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Medicina. Universidad de Salamanca*. 169-203.

Slieker LJ, Sloop KW, Surface PL, Kriauciunas A, LaQuier F, Manetta J, Bue-Valleskey J, Stephens TW. 1995. Regulation of expression of *ob* mRNA and protein by glucocorticoids and cAMP. *The Journal of Biology Chemistry* 271:5301-5304.

Spolarics Z. 1999. A Carbohydrate-Rich Diet Stimulates Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Expression in Rat Hepatic Sinusoidal Endothelial Cells. *American Society for Nutritional Sciences* 129: 105–108.

- Stewart MP, Tomlinson WJ. 2002. Cortisol, 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 and central obesity. *Endocrinology and Metabolism* 3: 94–96.
- Stimson RH, Walker BR. 2007. Glucocorticoids and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in obesity and the metabolic syndrome. *Minerva Endocrinology* 32: 141-159.
- Spinedi E, Gaillard RC. 1998. A regulatory Loop Between the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal (HPA) Axis and Circulating Leptin: A Physiological Role of ACTH. *Endocrinology* 139: 4016-4020.
- Tanaka M, Suganami T, Sugita S, Shimoda Y, Kasahara M, Aoe S, Takeya M, Takeda S, Kamei Y, Ogawa Y. 2010. Role of central leptin signaling in renal macrophage infiltration. *Endocrine Journal* 57:61-72.
- Tannenbaum BM, Brindley DN, Tannenbaum GS, Dallman MF, McArthur MD, Meaney MJ. 1997. High-fat feeding alters both basal and stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal activity in the rat. *The American Journal of Physiology* 273: 1168-77.
- Tomlinson JW, Walker EA, Bujalska IJ, Draper N, Lavery GG, Cooper MS, Hewison M, Stewart PM. 2004. 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1: a tissue-specific regulator of glucocorticoid response. *Endocrine Reviews* 25:831-866.
- Valdespino C, Martínez-Mota R, García-Feria LM, Martínez-Romero LE. 2007. Evaluación de eventos reproductivos y estrés fisiológico en vertebrados silvestres a partir de sus excretas: Evaluación de una metodología no invasiva. *Acta Zoológica Mexicana* 23:151-180.
- Vázquez-Vela ME, Torres N, Tovar AR. 2008. White adipose tissue as endocrine organ and its role in obesity. *Archives of Medical Research* 39: 715–728.
- Vegiopoulos A, Herzig S. 2007. Glucocorticoids, metabolism and metabolic diseases. *Molecular and Cellular Endocrinology* 275:43–61.
- Vylitova M, Miks I, Pácha J. 1998. Metabolism of Corticosterone in Mammalian and Avian Intestine. *General and Comparative Endocrinology* 109: 315–324.
- Wang J, Obici S, Morgan K, Barzilai N, Feng Z, Rossetti L. 2001. Overfeeding rapidly induces leptin and insulin resistance. *Diabetes* 50: 2786-2791.

Zakrzewska KE, Cusin I, Stricker-Krongrad A, Boss O, Ricquier D, Jeanrenaud B, Rohner-Jeanrenaud F. 1999. Induction of obesity and hyperleptinemia by central glucocorticoid infusion in the rat. *Diabetes* 48:365-70.

12. GLOSARIO

1.-Sobrenutrición: en el que la ingesta alimentaria supera las necesidades de energía, se considera a menudo que no afecta por igual a ricos y pobres, pero en realidad, junto a la desnutrición, ambos están cada vez más asociados a la pobreza.

2.-Hiponutrición: aporte insuficiente de alimento o una incapacidad para utilizar los nutrientes del alimento.

3.-Desnutrición: es la ingesta insuficiente de alimentos de forma continuada, que es insuficiente para satisfacer las necesidades de energía alimentaria, sea por absorción deficiente y/o por uso biológico deficiente de los nutrientes consumidos.

4.-Subnutrición: ingesta de alimentos que es insuficiente para satisfacer las necesidades de energía alimentaria de manera continua.

5.-Disnutrición: es la ingesta alimentaria excesiva de un nutriente específico, con la disminución del resto.

6.-Carbohidratos simples: son los monosacáridos, entre los cuales podemos mencionar a la glucosa y la fructosa que son los responsables del sabor dulce de muchos frutos.

7.-Hipertensión: es una enfermedad crónica caracterizada por un incremento continuo de las cifras de presión sanguínea en las arterias

8.-Dislipidemias: son una serie de diversas condiciones patológicas cuyo único elemento común es una alteración del metabolismo de los lípidos, con su consecuente alteración de las concentraciones de lípidos y lipoproteínas en la sangre.

9.-Diabetes: es un conjunto de trastornos metabólicos, que afecta a diferentes órganos y tejidos, dura toda la vida y se caracteriza por un aumento de los niveles de glucosa en la sangre: hiperglucemia.

10.-Antiprogesterona: impide que la hormona progesterona desarrolle sus acciones fisiológicas normales.

11.-Antiglucocorticoide: inhibición de la síntesis o de la acción de los glucocorticoides

12.-Glucogenólisis: es un proceso catabólico llevado a cabo en el citosol que consiste en la remoción de un monómero de glucosa de un glucógeno mediante fosforilación para producir glucosa 1 fosfato, que después se convertirá en glucosa 6 fosfato, la glucólisis

13.-Circulación enterohepática: se refiere a la circulación de los ácidos biliares en el hígado, donde son producidas y secretadas en la bilis, el intestino delgado, donde ayuda en la digestión de las grasas y otras sustancias, de nuevo al hígado.

14.-Fibras simpáticas preganglionares: son fibras nerviosas autonómicas provenientes del sistema nervioso central y que se dirigen al ganglio autonómico.

15.-Esteatohepatitis no alcohólica: es una inflamación grasa del hígado que no es debida a hábito alcohólico.

16.-Esteatosis macrovesicular: gotas de grasa forman vacuolas grandes que desplazan el núcleo hacia la periferia.

17.-Posición supina: la persona tendida y descansando sobre nalgas, espalda, cabeza y hombros.

18.-Circulación enterohepática: se refiere a la circulación de los ácidos biliares en el hígado, donde son producidas y secretadas en la bilis, el intestino delgado, donde ayuda en la digestión de las grasas y otras sustancias, de nuevo al hígado.

19.-Bouin: es un fijador popular para estudios de histología, debido a su excelente estado de conservación de los núcleos y cromosomas.

13 ANEXOS

13.1 Anexo 1. Deshidratación de la glándula adrenal

1. Después de la disección, mantener el tejido en Bouin por 24 horas.
2. Sacar el tejido del Bouin y cortarlo a la mitad para deshidratar.
3. Realizar la deshidratación de acuerdo a la lista siguiente, cuidando de que la solución cubra ligeramente el tejido y mantener en agitación.

No de solución	Solución y concentración	Tiempo en minutos
1	Etanol 60%	15 min
2	Etanol 70%	20 min
3	Etanol 80%	20 min
4	Etanol 80%	30 min
5	Etanol 96%	30 min
6	Etanol 96%	30 min
7	Etanol 100%	30 min
8	Etanol 100%	30 min
9	Etanol 100%-Xileno	30 min
10	Xileno	30 min
11	Xileno	30 min

4. Posteriormente se colocan en paraplast X-tra (McCormick) por 45 min.
5. Se realiza otros dos cambios de paraplast X-tra (McCormick) el primero de 45 min y el segundo de 1hr 30 min.
6. Incluir los tejidos con paraplast limpio y dejar que solidifiquen.

NOTA: Previamente poner a licuar el paraplast en el horno a una temperatura máxima de 56 °C.

13.2 Anexo 2. Tinción de hematoxilina-eosina

Después de obtener los cortes en el micrótopo se dejan secar mínimo por 24 h, posteriormente se tiñen con los siguientes tiempos en las diferentes soluciones.

Pasos	No	Soluciones	Tiempo
Desparafinar	1	Xileno	5 min
	2	Xileno	5 min
	3	Etanol 100%-Xileno	5 min
Hidratación	4	Etanol 100%	5 min
	5	Etanol 100%	5 min
	6	Etanol 96%	3 min
	7	Etanol 80%	3 min
	8	Etanol 60%	3 min
	9	Agua destilada	3 min
Contraste	10	Hematoxilina de Harris	40 min
	11	Agua corriente	40 seg
	12	Etanol ácido	40 seg
	13	Agua destilada	40 seg
Azuleamiento	14	Etanol amoniaco	3 min
	15	Agua destilada	40 seg
	16	Eosina	3 min

	17	Agua destilada	40 seg
Deshidratación	18	Etanol 96%	40 seg
	19	Etanol 96%	40 seg
	20	Etanol 100%	30 seg
	21	Etanol 100%	30 seg
	22	Etanol 100%-Xileno	30 seg
	23	Xileno	30 seg
	24	Xileno	30 seg

Finalmente sin dejarlos expuestos al ambiente, los portaobjetos se montan con Cytoseal TM 60 y se dejan secar.

13.3 Anexo 3. Tinción Tricrómica de Masson

Después de obtener los cortes en el micrótopo se dejan secar mínimo por 24 h, posteriormente se tiñen con los siguientes tiempos en las diferentes soluciones.

Pasos	No	Soluciones	Tiempo
Desparafinar	1	Xileno	10 min
	2	Xileno-Etanol	5 min
	3	Etanol 100%	10 min
	4	Etanol 96%	3 min
	5	Etanol 80%	3 min
	6	Etanol 60%	3 min
	7	Agua destilada	3 min
Mordente	8	Fijador Bouin	12 hrs
	9	Agua corriente	20 min
	10	Hematoxilina de Weigert	11 min
	11	Agua corriente	40 seg
	12	Agua destilada	40 seg
Azuleamiento	13	Amoniaco al 1%	4 min
	14	Agua corriente	40 seg
	15	Biebrich Scarlet-Fushina Ácida	10 min
	16	Agua corriente	40 seg
Contraste	17	Ácido. Fosfomolibdico-Ácido Fosfotungstico	4 min
	18	Azul de Anilina	5 min
	19	Ácido Acético Glacial al 1%	3 min

	20	Agua Corriente	40 seg
Deshidratación	21	Etanol 80%	40 seg
	22	Etanol 96%	30 seg
	23	Etanol 100%	1 min
	24	Etanol-Xileno	10 seg
	25	Xileno	20 seg

Finalmente sin dejarlos expuestos al ambiente, los portaobjetos se montan con Cytoseal TM 60 y se dejan secar.

13.4 Anexo 4. Tinción de Wright

Después de obtener los cortes en el micrótopo se dejan secar mínimo por 24 h, posteriormente se tiñen con los siguientes tiempos en las diferentes soluciones.

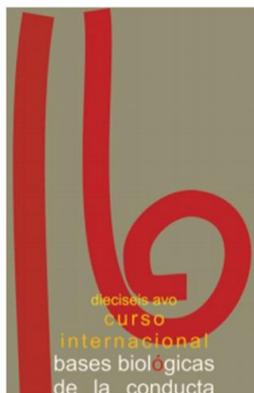
Pasos	No	Soluciones	Tiempo
Desparafinar	1	Xileno	5 min
	2	Xileno	5 min
	3	Etanol 100%-Xileno	5 min
Hidratación	4	Etanol 100%	5 min
	5	Etanol 100%	5 min
	6	Etanol 96%	3 min
	7	Etanol 80%	3 min
	8	Etanol 60%	3 min
	9	Agua destilada	3 min
Contraste	10	Colorante de Wrioth	5 min
	11	Agua corriente	5 min
Azuleamiento	12	Hematoxilina de Mayer	5 min
	13	Agua corriente	1 min
	18	Etanol 96%	40 seg
	19	Etanol 96%	40 seg
	20	Etanol 100%	30 seg

Deshidratación	21	Etanol 100%	30 seg
	22	Etanol 100%-Xileno	30 seg
	23	Xileno	30 seg
	24	Xileno	30 seg

Finalmente sin dejarlos expuestos al ambiente, los portaobjetos se montan con Cytoseal TM 60 y se dejan secar.

14 PUBLICACIONES

Cartel 18



Efecto del consumo elevado de sacarosa sobre la concentración de corticosterona, indicadores metabólicos e histología de la glándula adrenal

Yadira Díaz-Aguila¹, Margarita Cervantes Rodríguez^{3, 4}, Laura García Rivera², Estela Cuevas⁵, Francisco Castelán⁵, Jorge Rodríguez Antolín⁵ y Leticia Nicolás Toledo⁵

¹Maestría en Ciencias Biológicas, UAT; ²Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM; ³Doctorado en Neuroetología, UV; ⁴Licenciatura en Nutrición, UAT; ⁵Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UAT.

La ingesta alimentaria se considera como una conducta y consiste en la obtención e ingestión de alimentos. La nutrición se define como el conjunto de procesos fisiológicos mediante el cual, los alimentos ingeridos se transforman y se asimilan. Así, la alimentación es un acto voluntario y la nutrición es un acto involuntario. Una adecuada nutrición, es aquella que contiene un balance entre lo que el organismo requiere y lo que gasta por sus actividades. Cuando no se cubren los requerimientos nutricionales a través de la dieta, se deteriora el estado nutricional promoviendo la aparición de cuadros clínicos de malnutrición. La malnutrición se define como un estado donde, una deficiencia o un exceso de nutrientes provoca efectos adversos en los tejidos, las estructuras y en el funcionamiento corporal. Problemas de malnutrición se han asociado con trastornos metabólicos como la obesidad. La obesidad es el resultado de un desequilibrio entre la ingestión y el gasto energético. Específicamente, la obesidad provocada por el exceso de consumo de carbohidratos simples en la dieta, se ha mostrado que provoca un aumento de tejido adiposo, así como la presencia de alteraciones metabólicas (diabetes tipo dos, hipertensión, enfermedad cardiovascular, hiperlipidemias y carbohidratos anormales) alteraciones que en conjunto se conocen como síndrome metabólico. En este contexto, un área reciente que ha interesado a varios investigadores, es la participación de los glucocorticoides, secretados por las glándulas adrenales, dado que, los glucocorticoides juegan un papel crítico en el metabolismo de carbohidratos y lípidos. El exceso de cortisol en pacientes con síndrome de Cushing se asocia con obesidad, resistencia a la insulina, diabetes tipo 2 e hipertensión. En modelos animales, dietas ricas en azúcares y grasa (HSF) conllevan a obesidad, hipertensión, intolerancia a la glucosa, bajas concentraciones de HDL (lipoproteína de alta densidad), hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, así como un aumento en las concentraciones de corticosterona. Mientras que la adrenalectomía revierte los efectos causados por la dieta HSF. Es decir el fenotipo obeso requiere de la presencia de glucocorticoides. Los pocos estudios hechos en rata que asocian la corticosterona con indicadores metabólicos son muy drásticos, porque extraen las glándulas adrenales y miden la hormona al final del tratamiento con dieta alta en grasa-sacarosa, desconociéndose cuando inicia el aumento de esta hormona y si este aumento modifica los indicadores metabólicos y el arreglo histológico de la glándula adrenal. Por ello, estamos

19 al 22 de octubre de 2011. Tlaxcala, México.

108

interesados en evaluar si el consumo elevado de sacarosa aumenta la concentración de corticosterona e influye en la modificación de indicadores metabólicos y en el arreglo histológico de la glándula adrenal. Para ello utilizamos ratas machos de 21 días de edad de la cepa Wistar, que conformaron a los grupos control (n=10) y experimental (n=11), este último grupo se le proporcionó agua con sacarosa al 30% durante tres meses. Se registró diariamente el peso corporal, consumo de alimento y consumo de agua. Al término del tratamiento, previo al sacrificio y habiendo cumplido un ayuno de doce horas, a cada rata se le midió la glucosa sérica mediante tiras reactivas. Después los animales fueron sacrificados por decapitación para coleccionar sangre y analizar los indicadores metabólicos: glucosa, colesterol, triglicéridos, HDL y VLDL (lipoproteína de baja densidad) por medio de métodos colorimétricos enzimáticos. La rata decapitada inmediatamente se colocó en posición supina, se realizó una incisión longitudinal sobre la línea media ventral, desde la cavidad abdominal (situada entre la cara inferior del tórax y la cara superior de la pelvis y extremidades inferiores) hasta el músculo peneano. Las glándulas adrenales y el tejido adiposo visceral fueron extraídos y pesados. La glándula adrenal se procesó con Bouin durante 24 h. Posteriormente, el tejido fue deshidratado con alcohol etílico en concentraciones ascendentes (60, 70, 80, 96 y 100%), aclarado en xileno para infiltrarlo e incluirlo en paraplast – Xtra. Se obtuvieron cortes histológicos transversales (ocho de cada animal) de siete μm de espesor, los cuales se colocaron en dos portaobjetos, cuatro cortes por laminilla. La laminilla fue teñida con hematoxilina eosina y se determinó el espesor de las capas, número de células, área de las células e hipertrofia, con la ayuda de un analizador de imágenes AxioVision REL 4.6 (Zeiss Inc 2007) en microfotografías tomadas con una cámara OLYMPUS de 5.1 mega píxeles montada en un microscopio óptico Zeiss Imager A.1 (a 400 aumentos totales). Se coleccionaron las heces al final de cada mes para medir la concentración de corticosterona por el método de ELISA.

Los resultados fueron analizados para determinar la normalidad de su distribución y se aplicó la prueba estadística correspondiente. Los resultados muestran que los animales que consumieron sacarosa, aumentaron significativamente la concentración de corticosterona ($P < 0.05$), los niveles de triglicéridos ($P < 0.0097$) y VLDL ($P < 0.0097$). Con respecto a glucosa, colesterol y HDL no hay diferencias. No hubo diferencias en el peso de las glándulas adrenales y el peso corporal es similar. Sin embargo, la cantidad de tejido adiposo visceral aumentó significativamente. Actualmente estamos analizando los cortes histológicos de la glándula adrenal. Los resultados muestran que el consumo elevado de sacarosa aumenta la concentración de corticosterona acompañado por un aumento en los niveles de lípidos sanguíneos. Nuestros resultados aportan la observación de que el aumento en los niveles de corticosterona ocurre desde el inicio de la dieta, lo que probablemente conlleva a la alteración en los niveles de lípidos sanguíneos. No sabemos a partir de cuándo se elevan los lípidos, es posible que dicho aumento sea posterior al de corticosterona, dado que se ha reportado que la corticosterona modula los niveles de lípidos. Financiamiento: CONACYT a DAY (366801), a CRM (93494); PROMEP a CRM (UATLX-233).



IV Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas



Título : DIETA RICA EN CARBOHIDRATOS DURANTE LA EDAD TEMPRANA INDUCE NIVELES ALTOS DE CORTICOSTERONA Y LÍPIDOS EN LA EDAD ADULTA

Autor : Díaz Aguila Yadira

E-Mail : yadis19@gmail.com

Institución : Universidad Autónoma de Tlaxcala

Aval : Martínez Gómez Margarita

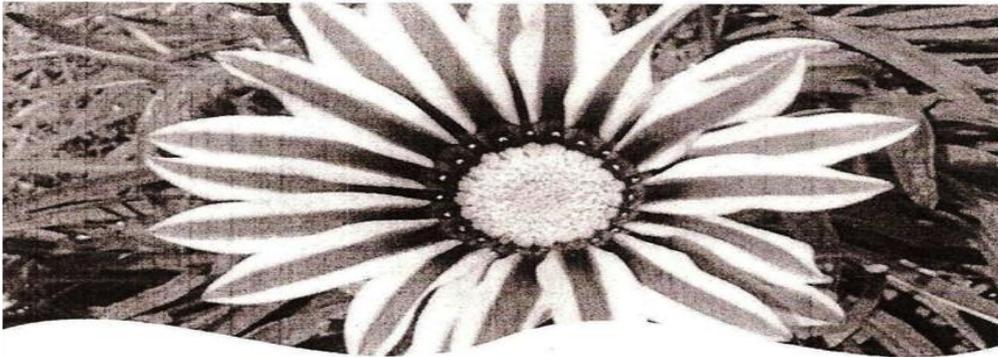
Autores : Díaz-Aguila Y, Martínez-Gómez M, Cervantes-Rodríguez M, García-Rivera L, Cuevas E, Castelán F, Rodríguez-Antolín J, Nicolás-Toledo L

1Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, 2Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, 3Doctorado en Neuroetología, Universidad Veracruzana 4Licenciatura en Nutrición 5Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Resumen : Los glucocorticoides, secretados por las glándulas adrenales, juegan un papel crítico en el metabolismo de carbohidratos y lípidos. Su exceso en pacientes con síndrome de Cushing se asocia con obesidad, resistencia a la insulina, diabetes tipo 2 e hipertensión. En modelos animales, dietas ricas en azúcares conllevan a obesidad, hipertensión, intolerancia a la glucosa, bajas concentraciones de HDL, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, así como un aumento en las concentraciones de corticosterona. Mientras que la adrenalectomía revierte los efectos causados por la dieta. Es decir el fenotipo obeso requiere de la presencia de glucocorticoides. Los pocos estudios hechos en rata que asocian la corticosterona con indicadores metabólicos son muy drásticos porque extraen las glándulas adrenales y miden la hormona al final del tratamiento de la dieta, desconociéndose cuando inicia el aumento de esta hormona con la dieta rica en azúcares. Metodología: Se utilizaron ratas machos de 21 días de edad de la cepa Wistar, que conformaron a los grupos control (n=10) y experimental (n=10), a los que se les proporcionó agua con sacarosa al 30% durante tres meses. Se registró diariamente el peso corporal, consumo de alimento y consumo de agua. Al término del tratamiento, previo al sacrificio y habiendo cumplido un ayuno de doce horas, a cada rata se les midió la glucosa sérica mediante tiras reactivas. Después los animales fueron sacrificados por decapitación para coleccionar sangre y analizar los indicadores metabólicos: glucosa, colesterol, triglicéridos, HDL y VLDL por medio de métodos colorimétricos enzimáticos. Se les extrajo el tejido adiposo visceral y las glándulas adrenales y se pesaron. Se coleccionaron las heces al final de cada mes para medir la concentración de corticosterona por el método de ELISA. Los datos fueron analizados aplicando prueba t-Student. Resultados: En comparación con los animales controles, los animales con una dieta rica en carbohidratos mostraron: 1) un aumento significativo de corticosterona a partir del primer mes hasta el final del experimento, 2) un peso similar de las glándulas adrenales; 3) un aumento significativo de la concentración de triglicéridos y VLDL, 4) niveles similares de glucosa, colesterol y HDL; 5) el peso corporal similar pero con un aumento significativo en la cantidad de tejido adiposo visceral. Conclusiones: El consumo elevado de carbohidratos aumenta los niveles de corticosterona acompañado por un aumento en los niveles de lípidos sanguíneos, como ya ha sido descrito por otros autores. Nuestros resultados aportan la observación de que el aumento en los niveles de corticosterona ocurre desde el inicio de la dieta, lo que probablemente conlleva a la alteración en los niveles de lípidos sanguíneos. No sabemos a partir de cuándo se elevan los lípidos, es posible que dicho aumento sea posterior al de corticosterona, dado que se ha reportado que la corticosterona modula los niveles de lípidos. Financiamiento: CONACYT a DAY (366801), a CRM (93494); PROMEP a CRM (UATLX-233).



Universidad Autónoma de Tlaxcala



XV Foro de Avances de Investigación

BIOLOGÍA
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNÍA
CIENCIAS AMBIENTALES

EFFECTO DEL CONSUMO ELEVADO DE SACAROSA SOBRE INDICADORES METABÓLICOS E HISTOLOGÍA DEL TEJIDO ADIPOSITO EN LA RATA JUVENIL

Tlilayatzí-Armas M¹, Díaz-Aguila Y³, García-Rivera L², Rodríguez-Antolín J³, Nicolás-Toledo L³.

¹ Licenciatura en Biología. Facultad de Biología. Universidad Autónoma de Tlaxcala. m_i_108@hotmail.com

² Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad Nacional Autónoma de México.

³ Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta. Universidad Autónoma de Tlaxcala. lettita2@yahoo.com

Introducción

La obesidad es el resultado de un desequilibrio entre la ingestión y el gasto energético. Este desequilibrio es frecuentemente consecuencia por el consumo de bebidas azucaradas, en combinación con una escasa actividad física (Popkin 2002). Se ha mostrado que el aumento en el consumo de bebidas azucaradas provoca un aumento de tejido adiposo, así como la presencia de alteraciones metabólicas (diabetes tipo dos, hipertensión, metabolismo de lípidos y carbohidratos anormales, enfermedad cardiovascular). Estas alteraciones en conjunto se conocen como síndrome metabólico. Su fisiopatología se cree está relacionado con la resistencia a la insulina y obesidad abdominal, esta última considerada como marcador de la disfunción del tejido adiposo.

En seres humanos, estudios epidemiológicos correlacionan la

presencia de obesidad infantil con el consumo elevado de azúcares refinados (sacarosa y fructosa) y grasas a edades tempranas, que llevan a presentar diversas alteraciones, unas de ellas, la obesidad la cual se relaciona estrechamente con la presencia de síndrome metabólico. En condiciones normales el exceso de glucosa en el torrente circulatorio es captado por dos vías la primera: por hígado, donde es transformada en triglicéridos y por medio de la acción de la insulina se almacenan en células del tejido adiposo; o directamente por tejido adiposo favorecidas por la acción de la insulina donde se almacena en triglicéridos. El tejido adiposo es el sitio donde se almacenan triglicéridos para ser usados como sustrato para la obtención de energía. Los triglicéridos almacenados en el tejido adiposo constituyen la mayor reserva energética del cuerpo,