



Universidad Autónoma de Tlaxcala

**Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Posgrado en Ciencias Biológicas**

**Efecto del consumo de sacarosa más estrés sobre la
concentración de corticosterona e histología de la glándula
adrenal en ratas machos**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

Lic. Nut. Kenia Atonal Juárez

Director

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Tlaxcala, Tlax.

Noviembre, 2015.



Universidad Autónoma de Tlaxcala

**Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Posgrado en Ciencias Biológicas**

**Efecto del consumo de sacarosa más estrés sobre la
concentración de corticosterona e histología de la glándula
adrenal en ratas machos**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P r e s e n t a

Lic. Nut. Kenia Atonal Juárez

Director

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Comité Tutorial

Dr. Jorge Rodríguez Antolín

Dra. Senobia Rosalía Cruz Lumbreras

Dra. Margarita Cervantes Rodríguez

Dra. Estela Cuevas Romero

Tlaxcala, Tlax.

Noviembre, 2015.

Financiamiento

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.

Agradecimiento al apoyo recibido de la beca CONACYT (553887-AJK) para la realización del proyecto de tesis.

La maestría en Ciencias Biológicas está registrada en el Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional. Padrón Nacional de Posgrado (PNP).



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



COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
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 Kenia Atonal Juárez realiza para la obtención del grado de Maestra 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 de sacarosa más estrés sobre la concentración de corticosterona e histología de la glándula adrenal en ratas machos”**.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., JULIO 15 DE 2015


DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO


DR. JORGE RODRÍGUEZ ANTOLÍN


DRA. MARGARITA CERVANTES RODRÍGUEZ


DRA. MARTHA ELBA GONZÁLEZ MEJÍA


DRA. SENOBIA ROSALÍA CRUZ LUMBRERAS



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: posgradoctbcuat@gmail.com
Tlaxcala, Tlax.

Agradecimientos

Al posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Al apoyo recibido de la beca CONACYT (553887-AJK) para la realización del proyecto de tesis.

Se contó con la tutoría de los Drs. Ida Soto Rodríguez, Jorge Rodríguez Antolín, Senobia Rosalía Cruz Lumbreras, Margarita Cervantes Rodríguez y Estela Cuevas Romero a los cuales agradezco sus enriquecedoras aportaciones en la realización de la presente tesis. Un reconocimiento especial a la M. C. Yadira Díaz Aguila por su gran apoyo en el desarrollo de la presente tesis y a la QFB. Laura García Rivera por su valioso apoyo en el análisis de corticosterona.

Agradecimientos

A **DIOS** por cuidarme como a la niña de sus ojos, y por amarme con ese amor perfecto. Gracias SEÑOR por cuidar mi camino, guiar mis pasos, bendecir mi vida con salud y llevarme de victoria en victoria.

A la Dra. Leticia Nicolás Toledo, una extraordinaria persona a quien tuve la fortuna de haber conocido y que gracias a su apoyo, conocimientos, confianza y motivación pude cumplir este sueño en mi camino. Mi respeto y gran admiración.

A mis padres: Paz y Miguel Ángel...a quienes amo con todo mi corazón y agradezco su confianza, comprensión, cariño y amor. Gracias por apoyarme a lo largo de mi vida y por creer en mí. Este logro es nuestro. Los amo.

A mi gran amigo y novio: Migue, gracias por ser el apoyo incondicional en mi vida, por guiarme a tomar las mejores decisiones y por estar ahí siempre, en los momentos más tristes así como en los más felices de mi vida. Te amo.

A mi abuelita Mauri, mi segunda mamá, a quien amo mucho y le agradezco que siempre este al pendiente de mí, brindándome su cariño y dándome de sus consejos sabios. Te amo abuelita y abuelito Costa.

A mi hermana Say, la mejor hermana que puedo tener, que con su sentido del humor me alegra las mañanas, gracias hermana por tu apoyo y amor. Y a mi hermano Migue, que quiero y amo, y que siempre podrá contar conmigo.

A mis tíos, por todo su cariño, apoyo, y por creer en mí.

A don David y doña Luisa, por brindarme todas esas muestras de cariño, apoyo y afecto. Mi respeto, y agradecimiento para ustedes.

A mis compañeras de laboratorio: especialmente a *Yadi* y *Mar* por su valiosa amistad y apoyo. A Christian, Adriana, Yeimi, Julie y Marlene por los momentos compartidos y por su amistad.

RESUMEN

El consumo de bebidas endulzadas con azúcar inducen trastornos metabólicos que promueven el desarrollo del síndrome metabólico en humanos, y uno de los factores relacionados con la aparición de componentes del síndrome metabólico es la disfunción de la glándula adrenal, con cambios morfológicos y microvasculares, aunado a esto, estresores crónicos provocados por el estilo de vida, causan cambios fisiológicos y trastornos neuroendocrinos en humanos. En modelos animales, la dieta alta en sacarosa provoca alteraciones histológicas en la glándula adrenal y modificaciones metabólicas, sin embargo, no se afectan los niveles de corticosterona. Por otra parte, distintos estresores crónicos causan alteraciones fisiológicas, sin embargo, no hay estudios que reporten cambios en la histología adrenal con respecto a la dieta alta en sacarosa más el estrés y menos desde temprana edad. Este estudio se realizó para conocer si la combinación del consumo elevado de sacarosa y el estrés aumentan la concentración de corticosterona y provocan cambios en el arreglo histológico de la glándula adrenal. Ratas machos Wistar fueron separados al destete (21 días de edad) en cuatro grupos experimentales (8/grupo): agua simple (grupo C); agua simple + estrés (grupo E); 30% de sacarosa diluida en agua (A30) y 30% de sacarosa diluida en agua + estrés (A30+E), las ratas fueron expuestas a estrés durante 4 semanas al inicio del 3er mes del consumo de agua azucarada, para evitar la habituación de la respuesta al estrés. Se registró diariamente el peso corporal, consumo de alimento y consumo de agua. Todos los grupos fueron sacrificados al concluir los tres meses de tratamiento. Al término del tratamiento, 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 colectar sangre y analizar la concentración de corticosterona por el método de ELISA. Se les extrajo el contenido de tejido adiposo visceral, las glándulas adrenales, y se pesaron. Las glándulas fueron fijadas en Bouin-Duboscq, deshidratado en alcoholes ascendentes, aclarado en xileno e incluido en paraplast-Xtra. Los cortes histológicos de 7µm fueron teñidos con 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 con una ANOVA de dos vías y Newman-Keuls como prueba post-hoc.

Encontramos que el estrés provocó una congestión de eritrocitos en la zona reticular y en la médula adrenal, aumentó el espesor y el número de células de la zona glomerular, hiperplasia celular en la zona fascicular, reticular y médula adrenal, y aumento el espesor de la capsula y el tamaño de las glándulas adrenales en ambas glándulas. Por otro lado, la sacarosa provocó infiltración de colágeno en la médula adrenal indicando fibrosis en la glándula, y aumento el tejido adiposo visceral, mientras que la combinación de ambos estímulos provocó en la zona glomerular de la glándula derecha disminución de células grandes, mientras en la izquierda aumentaron drásticamente las células pequeñas, hiperplasia en la zona fascicular de ambas glándulas y en la zona reticular de la glándula derecha, mientras que en la izquierda disminuye el espesor, y en la médula adrenal de ambas glándulas aumento el área y se observa hiperplasia, además aumento el grosor de la capsula en ambas glándulas y aumento el tamaño de la glándula adrenal izquierda. Sin cambios en los niveles de corticosterona. Es claro que el estrés y el alto consumo de sacarosa, inducen modificaciones histológicas en la glándula adrenal. El estímulo del estrés aplicado a las ratas no fue suficiente para inducir un aumento en los niveles de corticosterona y tampoco la dieta afecta los niveles de corticosterona. Sin embargo, esto no quiere decir que en edades posteriores se mantengan las mismas condiciones dado que, los niños son consumidores de bebidas azucaradas, además tienen una glándula adrenal inmadura lo que podría afectar la respuesta al estrés en edades posteriores. Nuestro análisis es relevante para entender la participación de la corticosterona en procesos metabólicos y prevenir durante la infancia para disminuir la vulnerabilidad de los desórdenes relacionados con el estrés en edad adulta.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	12
1.1 Eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal	14
1.2 Glándula Adrenal	15
1.3 Mecanismos de acción de glucocorticoides	18
1.4 Transporte plasmático de los glucocorticoides	18
2. ANTECEDENTES.....	20
2.1 Modelos animales.....	20
2.1.1 Carbohidratos e indicadores metabólicos.....	20
2.1.2 Glucocorticoides e indicadores metabólicos	21
2.1.3 Dieta más estrés e indicadores metabólicos	24
3. JUSTIFICACIÓN	27
4. HIPÓTESIS	28
5. OBJETIVOS	28
5.1 Objetivo general	28
5.2 Objetivos Específicos.....	28
6. MATERIAL Y MÉTODOS	29
6.1 Manejo de los animales	29
6.2 Diseño experimental.....	30
6.3 Procedimiento de estrés.....	30
6.4 Protocolo de la dieta y registro del peso corporal	31
6.5 Obtención de kilocalorías (kcal) consumidas en el alimento y agua.....	31
6.6 Obtención de muestras sanguíneas, glándula adrenal y tejido adiposo.....	32
6.7 Determinación de corticosterona.....	32

6.8 Obtención y análisis histológico de la glándula adrenal	32
6.9 Análisis estadístico	33
7. RESULTADOS	34
7.1 Parámetros de crecimiento	34
7.2 Adiposo Visceral	34
7.3 Glucosa sérica	36
7.4 Peso de las glándulas adrenales	36
7.5 Histología de la glándula adrenal	37
7.5.1 Características cualitativas de la glándula adrenal derecha	37
7.5.2 Características cuantitativas de la glándula adrenal derecha	38
7.5.2.1 Capsula	38
7.5.2.2 Características morfométricas	38
7.5.2.3 Características cualitativas de la glándula adrenal izquierda	41
7.5.2.4 Asimetría cuantitativa de la glándula adrenal izquierda	42
7.5.2.5 Capsula	42
7.5.2.6 Caracterización morfométrica	42
7.6 Corticosterona sérica	45
8. DISCUSION	46
9. CONCLUSIONES	51
10. PERSPECTIVAS	52
11. REFERENCIAS	53
12. GLOSARIO	62
13. ANEXOS	63
13.1 Deshidratación de la glándula adrenal	63

13.2 Tinción Hematoxilina-Eosina	64
13.3 Tinción Tricrómica de Masson	66
14. PUBLICACIONES	67

1. INTRODUCCIÓN

En seres humanos la obesidad es conocida como una enfermedad crónica (Marti y cols. 2008), con alteraciones metabólicas que pueden ser provocados por predisposición genética. Sin embargo, también pueden influir factores sociales y psicológicos (Perello y Spinedi 2004) y hábitos alimenticios relacionados a los cambios en la conducta alimentaria y la ingesta de alimento hipercalórico (Naska y cols. 2011). Adicionalmente, el estrés puede definirse como la interrupción de las funciones homeostáticas normales de un organismo causada por un "factor de estrés" un desafío fisiológico o psicológico (Fernando y cols. 2013), dado que los estresores crónicos provocados por el estilo de vida, causan cambios fisiológicos y neuroendocrinos (Bjorntorp 2000) que son asociados con el aumento en la ingesta de alimento y adipogénesis (Roberge y cols. 2007). El estrés, combinado con una sobrealimentación y aunado al sedentarismo, puede provocar sobrepeso y obesidad abdominal relacionados con el índice de cintura-cadera, índice de masa corporal e hiperglucemia en humanos (Smith y cols. 2005; Bordbar y cols. 2012). Aunado a ello, en humanos se ha mostrado que la alteración de la función del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal se asocia con obesidad abdominal (Kyrou y cols. 2006). Por otro lado, el síndrome de Cushing que se caracteriza por un aumento en los niveles de cortisol se ha asociado con el desarrollo del síndrome metabólico (Vegiopoulos y Herzig 2007) y esteatosis hepática (Arnaldi y cols. 2010).

En modelos animales se ha mostrado que las glándulas adrenales juegan un papel importante en el desarrollo de la obesidad, por ejemplo, la eliminación de glucocorticoides por adrenalectomía tiene un impacto importante en la obesidad inducida por dieta (Mantha y cols. 1999; Mantha y Deshaies 2000). Aunque, si se administran glucocorticoides exógenos se revierten los efectos de la adrenalectomía (Mantha y cols. 1999), lo que indica que los glucocorticoides contribuyen a mantener los depósitos grasos. Sin embargo hay controversia en la información, porque tenemos aquellos trabajos que reportan alteraciones metabólicas sin estar afectada la corticosterona, incluso Stimson y Walker (2007) reportan que en humanos y animales obesos no se eleva el cortisol o corticosterona.

Por otro lado, la participación de los glucocorticoides en la movilización de reservas de energía, es de vital importancia para la supervivencia durante desafíos cotidianos (fisiológicos

y/o psicológicos) (Charmandari y cols. 2003; Pervanidou y Chrousos 2012), que se asocian con la hipertrofia celular y el crecimiento adrenal por el incremento en las concentraciones de glucocorticoides en situaciones de estrés (Challis y cols. 2001; Gotohda y cols. 2005), además de la proliferación en la glándula adrenal (Ulrich-Lai y cols. 2006).

Como hemos observado, la dieta y el estrés juegan un papel muy importante sobre las cuestiones fisiológicas del metabolismo, por lo cual, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del consumo de sacarosa más estrés sobre la concentración de corticosterona y aunado a esto, los cambios histológicos que sufre la glándula adrenal en respuesta a estos dos estímulos, en ratas macho.

1.1 Eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal

El eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal 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 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), que actúa a través de la eminencia media y el sistema vascular portal sobre las células corticotropas de la adenohipófisis, para aumentar la hormona adrenocorticotrofina (ACTH por sus siglas en inglés), aumentando la producción de glucocorticoides en las glándulas adrenales (Schawartz y cols. 2003; Perello y Spinedi 2004), estos glucocorticoides activan varios procesos fisiológicos para hacer frente a la situación estresante (Roubos y cols. 2012). Para este fin los glucocorticoides estimulan la síntesis de glucosa para restablecer el estado homeostático. Cuando se restaura la homeostasis inicia la retroalimentación negativa de glucocorticoides disminuyendo la actividad del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal.

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 y corticosterona), representa el paso final de una cascada neuroendocrina que inicia en el sistema nervioso central (Sapolsky y cols. 2000; Pacak y Palkovits 2001).

Los glucocorticoides, realizan diversas acciones, sobre el metabolismo general, entre otras: aumentan la gluconeogénesis hepática, por la respuesta a hormonas gluconeogénicas (glucagón y catecolaminas); estimulan la proteólisis en tejidos periféricos, suministrando sustratos gluconeogénicos al hígado; inhiben la captación de glucosa por tejidos periféricos; aumentan la lipólisis adipocitaria (Sapolsky y cols. 2000). Los glucocorticoides estimulan la expresión y secreción de leptina, independientemente de los efectos sobre el apetito, ya que se ha propuesto que tal hormona posee una acción inhibitoria sobre el eje Hipotálamo Hipófisis Adrenal (Perello y Spinedi, 2004).

1.2 Glándula Adrenal

Las glándulas adrenales son estructuras retroperitoneales, pesan alrededor de 5 g cada una en el humano y en la rata pesan alrededor de 70 mg cada una y se encuentran en el polo superior de los riñones con la grasa perirrenal. Tienen forma asimétrica la glándula izquierda tiene forma de media luna, mientras que la derecha es más piramidal. La anatomía también 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. Mientras que la glándula derecha se encuentra por detrás de la parte inferior de la vena cava, con la cara anterolateral contra el hígado. Sin embargo, ambas glándulas se encuentran irrigadas a través de las arterias suprarrenales superior, media e inferior (figura 1) (Ritchie y Balasubramanian 2011).

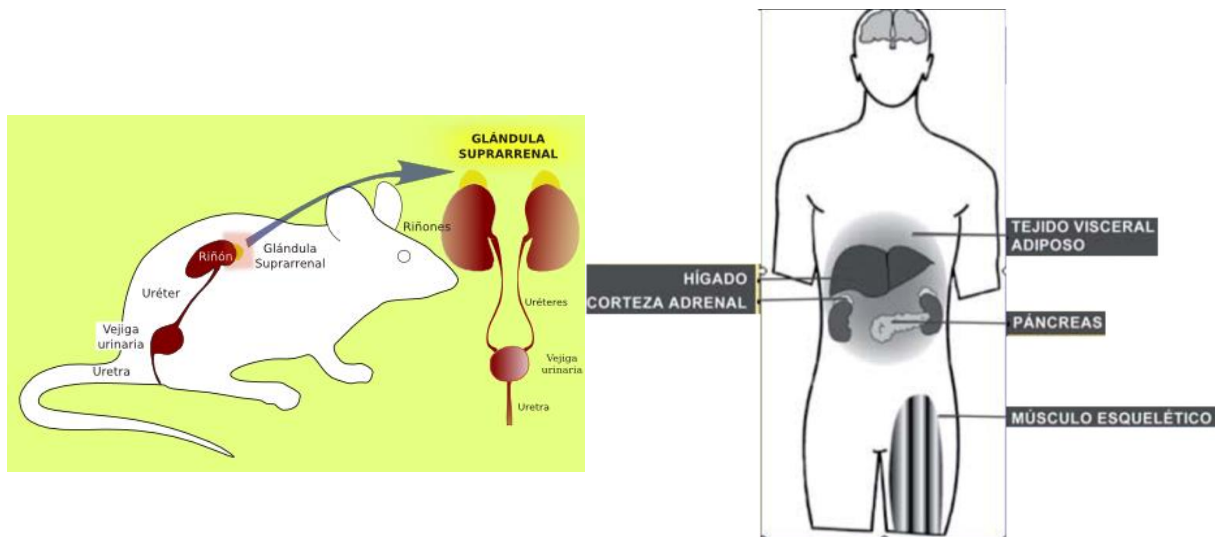


Figura 1. Localización de la glándula adrenal de izquierda a derecha: rata-humano.

Histológicamente la glándula adrenal está cubierta por una capa de tejido conectivo denominada capsula. Esta se encuentra dividida por dos compartimientos principales, de diferente origen embrionario y que secretan diferentes hormonas: corteza y médula. Al interior de la glándula la circulación se realiza mediante un sistema portal de pequeñas arterias corticales y medulares. Las arterias corticales que se dirigen de la cápsula a la corteza e irrigan sinusoides corticales que drenan a venas colectoras del límite corticomédular (figura 2), mientras que las arterias medulares transcurren por las trabéculas de tejido conectivo y drenan

directamente en la médula, donde se ramifican en una rica red capilar (figura 2). Este sistema de vascularización permite la llegada de concentraciones elevadas de glucocorticoides a la médula adrenal, lo que favorece la síntesis de enzimas como la ortotransferasa del feniletanol-N-aminometilo; que transforma la noradrenalina a adrenalina (Ritchie y Balasubramanian 2011).

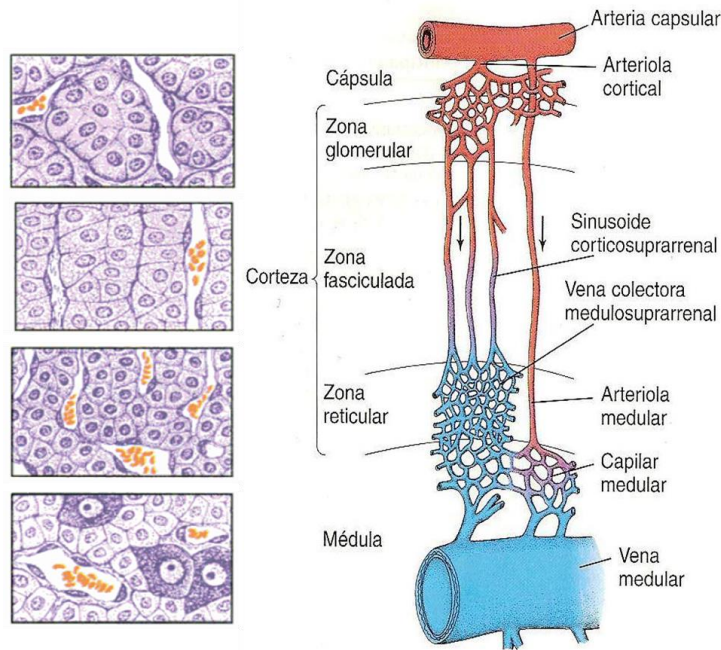


Figura 2. Irrigación adreno-cotico-medular. Se observan las zonas que conforman la corteza y la médula así como arterias y venas que irrigan y drenan cada una de ellas.

Está organizada en dos regiones principales: corteza y médula. La corteza a su vez se subdivide en tres zonas: la zona glomerular o externa que constituye aproximadamente el 15% de la corteza, está posee células cilíndricas a manera de cordones separadas por trabéculas de tejido conectivo que contienen escasos capilares, es regulada por el sistema renina angiotensina y produce mineralocorticoides principalmente aldosterona cuya función es controlar la homeostasis electrolítica, además de ser el sitio primario de división celular (figura 3). La zona central es la fasciculada, constituye el 80% de la corteza, en esta zona podemos encontrar células voluminosas y grandes, con abundante citoplasma y vesículas de lípidos, secreta glucocorticoides (cortisol y corticosterona) y es una zona crucial del eje

Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal, ya que coordina 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 (Lalli 2010; figura 3), y por último en el interior encontramos a la zona reticular, constituye sólo entre el 5-7% de la corteza sus células son más pequeñas y juntas ya que se encuentra en el sitio de transición con la médula, además de ser segundo lugar de síntesis de andrógenos (dehidroepiandrosterona y androstenediona), también es el sitio donde inicia el proceso de muerte celular (Serrano 2009; Lalli 2010; figura 3).

La médula secreta las hormonas noradrenalina y adrenalina en respuesta a estímulos recibidos de fibras simpáticas preganglionares del nervio esplácnico mayor (fibras nerviosas autonómicas provenientes del sistema nervioso central y que se dirigen al ganglio autonómico). 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 agrupaciones de células poligonales de ganglios simpáticos (Ritchie y Balasubramanian 2011; figura 3).

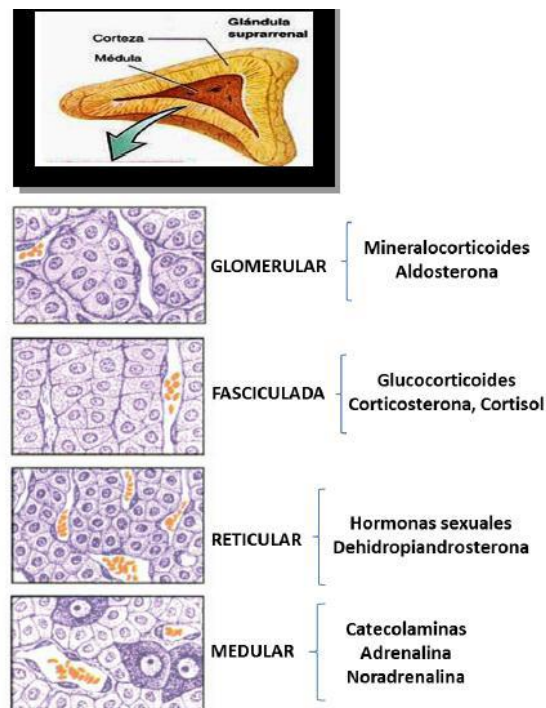


Figura 3. Histología de la glándula adrenal. Se observan las zonas que conforman la corteza y la médula así como las hormonas secretadas en cada una de ellas.

1.3 Mecanismos de acción de glucocorticoides

Una vez que los glucocorticoides son sintetizados y secretados al torrente circulatorio, se distribuyen a los diferentes tejidos diana. A nivel hepático, la corticosterona favorece la síntesis de glucosa, estimulando la PEPCK hepática y la glucosa-6-fosfatasa, inhibe la cascada de señalización de la insulina disminuyendo la síntesis de glucógeno, aumenta la síntesis de triglicéridos y disminuye la oxidación de ácidos grasos (Ophrek y cols. 2004; Vegiopoulos y Herzig 2007; Arnaldi y cols. 2010). En el tejido adiposo, estimula la lipoprotein lipasa y la lipasa sensible a hormonas, favoreciendo la acumulación de grasa en hígado, a su vez incrementa los niveles de leptina regulando la ingesta de alimento (Perello y Spinedi 2004; Vegiopoulos y Herzig 2007). En el páncreas, disminuye las células β -pancreáticas y la función del GLUT 2 inhibiendo la secreción de insulina (Vegiopoulos y Herzig 2007).

1.4 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 60 nmol/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 gluconeogénesis (Rodes y cols. 2001; Opherk y cols. 2004; Vegiopoulos y Herzig 2007).

Los glucocorticoides actúan a través de receptores nucleares. 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 homeostasis de lípidos, insulina y glucosa hepática (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 enterohepática, 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 conjugado, en la orina o heces (Vylitova y cols. 1998; Brousset Hernández-Jáuregui y cols. 2005).

2. ANTECEDENTES

2.1 Modelos animales

2.1.1 Carbohidratos e indicadores metabólicos

En modelos animales el consumo de azúcar a diferentes porcentajes, tiempo de exposición y edad han sido asociados con la presencia de obesidad y alteraciones metabólicas, además de la presencia de alteraciones en órganos metabólicos importantes como hígado, páncreas, riñón, glándulas como el tejido adiposo y la glándula adrenal (Bleisch y cols. 1952; Kahn y Flier 2000; El Hafidi 2001; 2004; Alexander y cols. 2004; Kawasaki y cols. 2009; Pérez-Sánchez 2011; Roncal-Jimenez et al. 2011; Díaz-Aguila y cols. 2015).

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 provoca sobrepeso, obesidad abdominal, hipertensión, intolerancia a la glucosa, dislipidemias. (El Hafidi y cols. 1997; El Hafidi y cols. 2000; 2001; 2004; 2006; Alexander y cols. 2004; Pérez-Torres y cols. 2009).

El grupo de Oron-Herman y cols. (2008) reportó alteraciones metabólicas en ratas Sprague-Dawley sobrealimentadas con fructosa (60%) a partir de la semana 12 durante siete semanas, ellos encuentran hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, hipertensión y resistencia a la insulina. También en ratas hipertensas espontáneas de 12 semanas de edad, alimentadas con sacarosa al 12% por siete semanas, presentan modificaciones en la presión arterial, intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina (Janeway y cols. 2003) y en ratas Wistar, que consumieron una dieta de sacarosa al 30% en edades tempranas (25 a 28 días) durante 18 a 24 semanas presentan acumulación de grasa visceral, aumento en los niveles de insulina, triglicéridos y presión arterial (Kahn y Flier 2000; London y Castonguay 2009). En cuanto a los efectos que provoca el consumo elevado de carbohidratos durante un periodo más corto de tiempo (4 semanas), se utilizaron 16 ratas Sprague Dawley divididas en dos grupos: Grupo A, dieta control y Grupo B, dieta alta en sacarosa, las muestras de sangre fueron analizadas reportando que en el grupo control hubo menor glucemia (32,2%), insulina (68,4%) y la mejora de parámetros lipídicos sin ninguna

elevación en la presión arterial, en comparación con el grupo de la dieta alta en sacarosa (Chandramouli y cols. 2011). Cabe resaltar que en estos estudios no se ha reportado nada con respecto a la concentración de corticosterona.

2.1.2 Glucocorticoides e indicadores metabólicos

Es importante resaltar que el fenotipo obeso no puede ser inducido en ratas adrenalectomizadas, así parece claro que se requiere de glucocorticoides para inducir obesidad. Esto se ha observado en ratas machos adultos Sprague-Dawley que fueron alimentados con dieta alta en sacarosa-grasa (HSF) con las cuales se formaron seis grupos: intactos (Sham) + dieta control, adrenalectomizados + dieta control y adrenalectomizados con reemplazo de corticosterona + dieta control, intactos (Sham) + dieta HSF, adrenalectomizados + dieta HSF y adrenalectomizados con reemplazo de corticosterona + dieta HSF y observaron que la dieta HSF altero los triglicéridos hepáticos y plasmáticos, insulina, glucosa, peso del tejido adiposo y la enzima lipoproteína lipasa, mientras que al realizar la adrenalectomía + la dieta HSF presentaron una disminución de triglicéridos hepáticos y plasmáticos, insulina, glucosa, peso del tejido adiposo y la enzima lipoproteína lipasa, sin embargo, al grupo de machos adrenalectomizados que se les administro el reemplazo de corticosterona mas la dieta HSF observaron que se revierte el efecto comparado con el grupo de dieta control, concluyendo que los glucocorticoides modulan los triglicéridos y algunos indicadores metabólicos en la obesidad inducida por dieta (Mantha y cols. 1999).

Posteriormente, Mantha y Deshaies (2000) utilizaron ratas macho adultos Sprague-Dawley y formaron los siguientes grupos, intactos (Sham) + dieta Chow, adrenalectomizados + dieta Chow, intactos (Sham) + dieta HSF y adrenalectomizados + dieta HSF y encontraron que la secreción de triglicéridos hepáticos se afecta por la adrenalectomía en ambos grupos, los triglicéridos aumentan cuando la dieta es HSF, sin embargo la adrenalectomía disminuye la proporción de la secreción de triglicéridos hepáticos en ratas con dieta Chow pero no en ratas con dieta HSF, además disminuye la insulina en ratas con dieta Chow y en menor cantidad en ratas con dieta HSF; asimismo, el depósito de grasa subcutánea y visceral fue menor en ratas con dieta control y adrenalectomizados y moderados en ratas con dieta HSF y

adrenalectomizados. Este estudio sugiere que la corticosterona contribuye a mantener los depósitos grasos.

Como se ha observado, los glucocorticoides son importantes para el desarrollo de la obesidad y para inducir alteraciones metabólicas, sin embargo, esto dependerá del tiempo de exposición a la dieta, así como la edad de los animales. Por lo cual, en ratas macho Wistar que fueron alimentados con una dieta alta en sacarosa (33%) a los 21 días de edad durante dos meses, o bien a los 65 días edad durante dos semanas, se observa un incremento de leptina, insulina, triglicéridos y LDL en el grupo de 21 días de edad sin cambios en la concentración de corticosterona, mientras el grupo de 65 días de edad mostró un aumento de colesterol, leptina y corticosterona sin cambios en la insulina y triglicéridos al final de las dos semanas del consumo de sacarosa (Fuente-Martín y cols. 2012). Sin conocer lo que sucede con la microarquitectura de la glándula adrenal. Recientemente, en ratas macho Wistar adultos alimentados con 30% de sacarosa durante 7 semanas, se han observado alteraciones en los parámetros metabólicos y un incremento en los niveles de corticosterona, además de la infiltración de lípidos en la corteza suprarrenal afectando la zona fascicular (Martinez Calejman y cols. 2012), como podemos observar, la dieta no solamente altera los parámetros metabólicos, sino también afecta la morfología de órganos importantes como la glándula adrenal.

Por otra parte, la aplicación del estrés en modelos animales, puede o no inducir corticosterona alta, probablemente por que influyen factores como la edad en que se aplica el estrés (Teixeira y cols. 2002; Passos y cols. 2004; Corona-Pérez y cols. 2015 en revisión); el tipo de dieta más el estrés (Fachin y cols. 2008; Bruder-Nascimento y cols. 2013), así como el tipo, intensidad y duración del estrés (Ricart-Jané y cols. 2002, Ulrich-Lai y cols. 2006; Fernando y cols. 2013), por lo tanto, la respuesta al estrés dependerá de estas condiciones. Respecto a lo que se ha reportado en humanos, la presencia de estrés incrementa el apetito, aumenta el peso corporal y modifica ciertas hormonas como la leptina, insulina y cortisol, lo que se ha asociado con el desarrollo de la obesidad y síndrome metabólico en edad adulta (Vanaelst y cols. 2012), esto es consistente a lo que se ha documentado, donde el estrés afecta la alimentación de dos maneras; el 30% de las personas reduce la ingesta de alimentos, y por

consiguiente se produce la pérdida de peso corporal durante o después de la situación estresante, mientras que el resto (70%) de las personas tienden a aumentar la ingesta de alimentos durante la exposición al estrés (Stone y Brownell 1994, Epel y cols. 2004). Sin embargo, se ha reportado que la obesidad provocada por la dieta tanto en humanos como en la rata, no eleva las concentraciones de corticosterona sistémica (Stimson and Walker 2007).

Siguiendo en el mismo contexto, pero ahora en modelos animales, se ha mostrado en la edad temprana una correlación entre la presencia de estrés (nutricional, hormonal o ambiental) y el desarrollo de enfermedades crónicas como obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares en la edad adulta (Passos y cols. 2000, 2004), aunado a esto, el tipo y tiempo de exposición al estrés juega un papel clave en el desarrollo de las alteraciones metabólicas, por ejemplo, usualmente, hay dos tipos de estrés aplicados a los modelos de ratas, cuando se somete a la rata por varios días y tiempo prolongado se le denomina estrés crónico, observando una disminución en la ingesta de alimento, así como del peso corporal, disminución del glucógeno en hígado y de insulina en plasma, aumento en el peso de las glándulas adrenales, sin cambios en los niveles de corticosterona, por el contrario, cuando es una sola exposición de estrés a lo que se le denomina estrés agudo, se observa un aumento significativo de glucosa, insulina, glicerol, cuerpos cetónicos y corticosterona, por tanto, la respuesta de la corticosterona al estrés, depende del tipo de estrés (agudo o crónico) (Ricart-Jané y cols. 2002).

Por otro lado, células aisladas de glándula adrenal de ratas macho que fueron estresados por restricción, 2 h al día durante 14 días, se observó mayor actividad de AMPc en las células de la zona fascicular, aumento en los niveles de corticosterona sistémica, así como mayores respuestas de corticosterona a la ACTH. Concluyendo que el estrés crónico aumenta las concentraciones de corticosterona, debido al aumento de la actividad del receptor de ACTH, ya que la función de la zona fascicular probablemente está mediada por un aumento de la secreción de ACTH durante el estrés crónico (Aguilera y cols. 1996).

Cuando ratas macho Sprague-Dawley adultos son sometidos a diferentes tipos de estrés durante 14 días, la sumatoria de estos estímulos resulta en la disminución del peso corporal,

aumento de las glándulas adrenales, aumento de corticosterona plasmática y adrenal sin cambios en los niveles de ACTH, proliferación en la zona fascicular y disminución en el número de núcleos de la médula adrenal. Estos resultados demuestran que el aumento del peso de las glándulas adrenales, se debe a la hiperplasia e hipertrofia celular que se producen en la zona fascicular, que se asocian con el aumento de la respuesta máxima de corticosterona a la ACTH. Estos cambios crónicos inducidos por el estrés reflejan la severidad del modelo de estrés que se utilizó, sobre la morfología y la función adrenal, sin embargo, la sumatoria de los diferentes tipos de estrés no deja claro cuál de estos es el causante de las alteraciones histológicas en la glándula adrenal (Ulrich-Lai y cols. 2006).

Por tanto, los glucocorticoides participan en la movilización de las reservas de energía para la supervivencia, durante desafíos cotidianos (fisiológicos y/o psicológicos) (Charmandari y cols. 2003; Pervanidou y Chrousos 2012), además de activar procesos fisiológicos para hacer frente a la situación estresante (Roubos y cols. 2012). Para este fin los glucocorticoides estimulan la secreción de adrenalina, glucagón y la actividad neuronal simpática para elevar las concentraciones de glucosa en sangre y garantizar un sustrato adecuado para el cerebro y el musculo (Dallman y cols. 2004).

2.1.3 Dieta más estrés e indicadores metabólicos

Son pocos los estudios que evalúan la interacción del estrés con la dieta y los indicadores metabólicos, sobre este contexto un estudio muestra que ratones machos propensos y resistentes a la obesidad (C57BL6J y AJ), fueron alimentados con dos tipos de dietas, alta en carbohidratos y alta en grasas sometidos a 5 factores de estrés por 2 h durante 25 días (con su respectivo grupo control, sin estrés). Observando que los ratones alimentados con la dieta alta en grasas tenían mayor contenido de tejido adiposo retroperitoneal e inguinal y los niveles de glucosa fueron alterados comparados con los ratones alimentados con carbohidratos, mientras que los ratones alimentados con ambas dietas más el estrés tenían menor contenido de grasa corporal, sin cambios en los niveles de glucosa, insulina y corticosterona. Concluyendo que el estrés crónico tiene un efecto más catabólico que anabólico, incluso cuando los genes y el medio ambiente son propicios a la obesidad (Michel y cols. 2005). Mientras que si el estrés se aplica en ratas macho Wistar de 30 días de edad, por restricción 1h diaria 5 veces a la semana

durante 15 semanas y la alimentación es a base de una dieta alta en grasas, se observa que la obesidad inducida por la dieta (sin estrés) aumenta el peso corporal así como el tejido adiposo total, los niveles de glucosa, insulina, y leptina, contrario al estrés y la dieta más el estrés donde aumenta el peso de las glándulas adrenales, así como los niveles de corticosterona y provocan hipertensión arterial. Concluyendo que el estrés impidió la aparición de la obesidad (Bruder-Nascimento y cols. 2013).

Por otro lado, siguiendo en el contexto del estrés crónico más la dieta, lo que se ha mostrado en ratas macho Wistar adultos alimentados con una dieta rica en carbohidratos (ingesta de chocolate) y sometidos a estrés por restricción 1 h diaria cinco días a la semana durante 50 días, es que la dieta (sin estrés) aumenta el peso corporal, el tejido adiposo, colesterol, LDL y glucosa, contrario a lo que se observa en la combinación de la dieta más el estrés donde disminuye el peso corporal, los niveles de insulina y aumenta el peso de las glándulas adrenales, lo que sugiere una reducción de los efectos del estrés por el consumo de alimentos agradables al paladar (chocolate), además de que los animales comen alimentos ricos en carbohidratos en un intento de reducir la respuesta al estrés (Fachin y cols. 2008). Esto se corrobora en edades tempranas, donde ratas macho Wistar de 21 días posnatal alimentados con una dieta alta en carbohidratos y sometidos a estrés por aislamiento social durante 7 días, aumentan el consumo de kilocalorías, por otro lado, los animales con dieta alta en carbohidratos (sin estrés) aumentan el peso corporal y el tejido adiposo retroperitoneal mientras la insulina disminuye. Sin embargo, el estrés disminuye la glucosa, la insulina y aumenta el neuropéptido Y (NPY) y la dieta más el estrés disminuye la insulina y la adiponectina. Concluyendo que la dieta, el estrés y la combinación de ambos estímulos provocan efectos diferentes en esta edad, y que además son factores causales para la programación metabólica durante el período prepúber, que podrían tener implicaciones sobre la vulnerabilidad a los trastornos relacionados con el estrés en la edad adulta (Krolow et al. 2013). Es importante mencionar que desafortunadamente no evaluaron las concentraciones de corticosterona en estos modelos de dieta más estrés.

Ahora, lo que se ha reportado con dietas hipercalóricas es que dependiendo del tiempo de exposición a la dieta más el estrés, el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal puede verse

afectado, resultando en niveles de corticosterona normales o alterados. Así mismo, Macedo y cols. (2012) utilizaron ratas macho Wistar de 60 días posnatal, sometidos a estrés por restricción 1h diaria por cinco días a la semana, durante seis semanas. Observando que la obesidad inducida por la dieta aumenta el peso corporal, leptina, triglicéridos y colesterol. Sin embargo, el estrés disminuye la ganancia de peso corporal, aumenta el peso de las glándulas adrenales, sin cambios en los niveles de corticosterona, concluyendo que los animales se habituaron a esta condición. Mientras que si el estrés se aplica durante un tiempo más prolongado 1h diaria por cinco días a la semana durante 80 días con esta misma dieta, se observa una interacción entre el estrés crónico y la obesidad inducida por la dieta afectando los niveles de colesterol total y corticosterona, sugiriendo que el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal presento hiperactividad (de Oliveira y cols. 2014).

Recientemente en nuestro laboratorio, Díaz-Aguila y cols. (2015) mostraron que el consumo de sacarosa al 30% a temprana edad durante tres meses, provoca alteraciones metabólicas e histológicas en la glándula adrenal. Aunado a esto, estamos interesados en saber cómo responderá la glándula adrenal con estas modificaciones histológicas ante la presencia de estrés crónico.

3. JUSTIFICACIÓN

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. Conforme transcurre el tiempo, estos excesos llevan a la aparición de diversas alteraciones metabólicas (Rojas y cols. 2008). Estas alteraciones se ven influenciadas por factores como la cantidad de nutrientes en la dieta, la duración de la exposición a la dieta y aunado a esto, los estresores crónicos provocados por el estilo de vida que son asociados con el aumento en la ingesta de alimento y adipogénesis (Roberge y cols. 2007) ocasionando sobrepeso y obesidad (Smith y cols. 2005). Mientras que, en modelos animales, el estrés crónico por restricción en la ración disminuye el peso corporal y la ingesta de alimento sin afectar los niveles de corticosterona (Macedo y cols. 2012), contrario a la dieta alta en grasas donde aumenta la corticosterona (Bruder-Nascimento y cols. 2013).

Por otro lado, se ha mostrado que el aumento de glucocorticoides provoca un aumento en la gluconeogénesis, resistencia a la insulina, esteatosis hepática y depósitos de grasa abdominal (Vegiopoulos y Herzig 2007; Arnaldi y cols. 2010). Lo que sugiere una asociación con el desarrollo del síndrome metabólico. Mientras que en condiciones de estrés participan en la movilización de las reservas de energía para la supervivencia, durante desafíos fisiológicos y/o psicológicos (Charmandari y cols. 2003; Pervanidou y Chrousos 2012). Sin embargo, se ha reportado que tanto en seres humanos como en ratas machos, la obesidad no eleva el cortisol o corticosterona (Stimson y Walker 2007), desconociendo cual es la causa.

Hacen falta estudios que evalúen los efectos del consumo de sacarosa más el estrés sobre los niveles de corticosterona y más sobre el arreglo histológico de la glándula adrenal. Hasta el momento solo se ha reportado que el consumo elevado de carbohidratos provoca infiltración de grasa en la glándula adrenal en la edad adulta (Martinez Calejman y cols. 2012), pero nada sobre la combinación de la dieta más el estrés desde temprana edad hasta la edad adulta dado que, los niños tienen una glándula adrenal inmadura (Lashansky y cols. 1992; Palmert y cols. 2001; Meikle y cols. 2007; Mouritsen y cols. 2014) que podría afectar la respuesta al estrés en edades posteriores.

4. HIPÓTESIS

El consumo de sacarosa más el estrés aumentan la concentración de corticosterona y provocan alteraciones histológicas en la glándula adrenal de ratas macho.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar el efecto del consumo de sacarosa más el estrés sobre la concentración de corticosterona y las alteraciones de la glándula adrenal de ratas macho.

5.2 Objetivos Específicos

- Determinar la concentración de corticosterona sérica de ratas macho.
- Evaluar el arreglo histológico de la glándula adrenal (espesor, densidad celular y porcentaje de células de la zona glomerular, fascicular, reticular y médula).

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Manejo de los animales

Se utilizaron 32 ratas machos de la cepa Wistar de 21 días de edad. Al día del destete se tomaron ratas machos procedentes de madres diferentes. Las ratas se colocaron aleatoriamente en jaulas independientes de polipropileno (37 cm x 27 cm x 16 cm) 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* en el Centro Tlaxcala Biología de la Conducta. Todos los procedimientos experimentales se realizan 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. Las ratas fueron aleatoriamente elegidas en los siguientes grupos (8/grupo) experimentales: ratas que consumieron agua simple (C), agua simple + estrés (E), agua azucarada 30% (A30) y agua azucarada + estrés (A30+E).

6.2 Diseño experimental

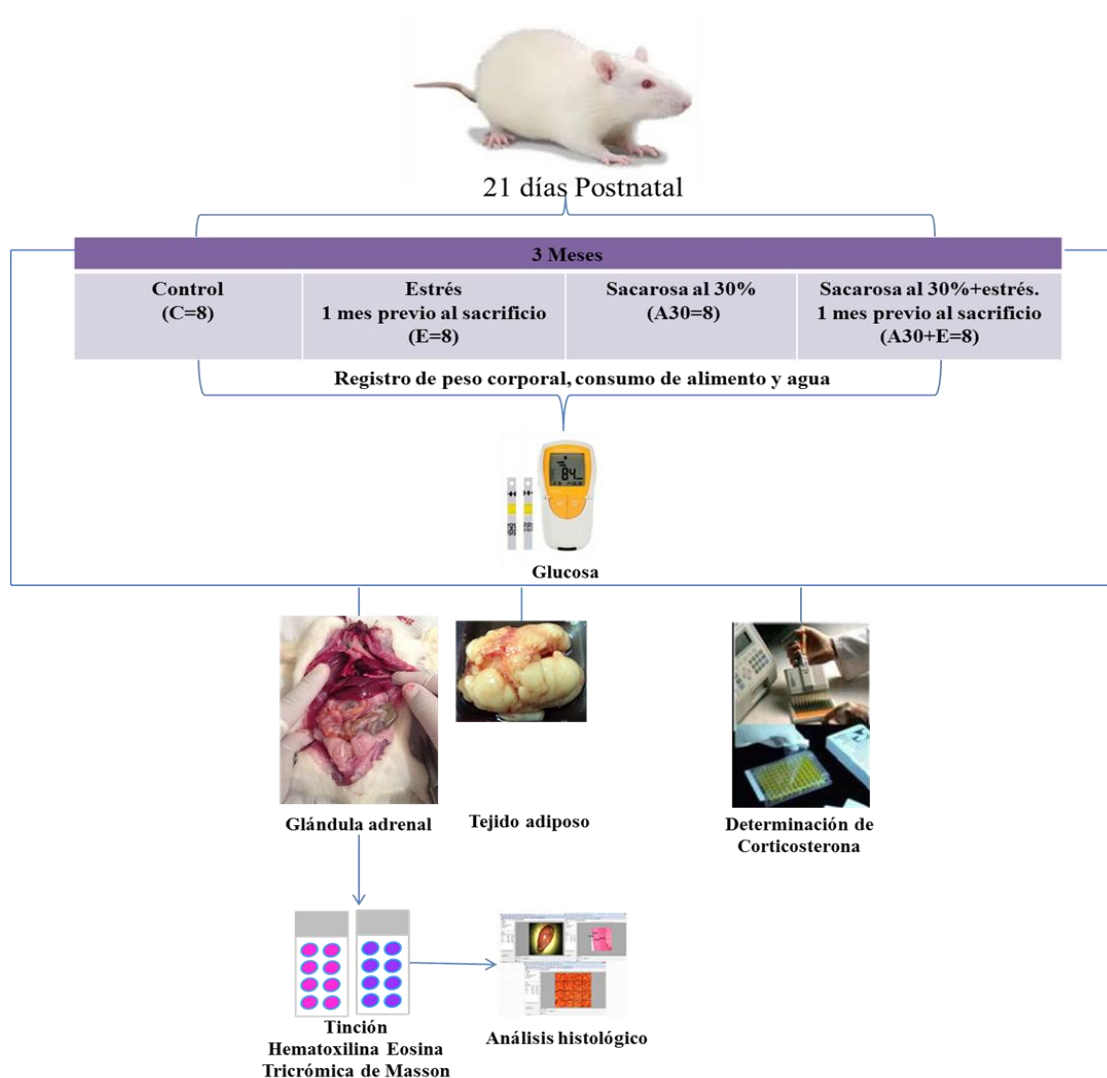


Figura 4. Diseño experimental. Grupos: C control, E estresado, A30 sacarosa al 30% y A30+E sacarosa al 30% más estrés. (N total=32).

6.3 Procedimiento de estrés

Para someter a los animales a estrés, se colocaron en tubos de plástico (25 cm × 7 cm), fijados con cinta adhesiva en el exterior, un extremo se mantuvo abierto para que la rata pudiera respirar. Las ratas fueron expuestas a estrés al inicio del 3er mes del consumo de agua, para evitar la habituación de la respuesta al estrés durante 28 días. Las ratas fueron expuestas 1h diaria de estrés a las 11:00 h durante los 5 días de la semana sin estímulo el fin de semana. Las

ratas fueron regresadas a sus cajas inmediatamente después del estrés. Las ratas del grupo control no fueron expuestas a estrés y fueron mantenidas en sus cajas sin alimento durante el periodo experimental (Macedo y cols. 2012). Todos los grupos fueron sacrificados al concluir los tres meses de tratamiento (ver diseño experimental, figura 4).

6.4 Protocolo de la dieta y registro del peso corporal

Todas las ratas fueron alimentadas con dieta normal Chow 5001 de Purina (Tabla 1). Los grupos experimentales recibieron 30% de sacarosa estándar comercial diluida en el agua que consumieron, las ratas del grupo control consumieron agua simple. El consumo de alimento y agua fue a *ad libitum*. Durante el periodo de tratamiento, se hizo un registro diario del peso corporal, consumo de alimento y agua. El consumo de alimento y agua fue medido, colocando una cantidad conocida en cada jaula obteniendo la cantidad remanente 24 horas después.

DIETA CONTROL (CHOW 5001 PURINA)		
Nutrimento	Porcentaje (%)	Kcal
Proteínas	29	98.6
Lípidos	13	44.2
Carbohidratos	58	197.2
Total	100	340

Tabla 1. Aporte calórico y nutrimental por cada 100 gramos de alimento de dieta Chow 5001 de Purina

6.5 Obtención de kilocalorías (kcal) consumidas en el alimento y agua

La ingesta calórica individual se determinó por la ingesta de alimento consumido, se calcularon los g/100 g de peso corporal x 3.3 kcal/g de alimento.

El consumo de sacarosa fue evaluado los mL de agua/100 g de peso corporal x los g del azúcar/mL de agua x 4 kcal/g de azúcar.

6.6 Obtención de muestras sanguíneas, glándula adrenal y tejido adiposo

Al término del tratamiento previo al sacrificio, las ratas de cada grupo fueron dejadas en ayuno, por lo cual se les quito el alimento a las ocho de la noche, y a las ratas que recibían 30% de sacarosa se les retiro el agua y se les coloco agua simple para cumplir un ayuno de doce horas, al día siguiente a las ocho de la mañana a cada rata se le midió la glucosa sérica con un analizador Accutrend GCT analyzer (Roche Diagnostics, USA). Inmediatamente los animales fueron sacrificados por decapitación para colectar dos tubos de sangre (13 x 100 mm). La sangre se dejó reposar en baño maría durante 15 minutos, después se centrifugo a 2500 rpm durante 15 minutos. El suero fue separado haciendo alícuotas de 300 µL, las cuales se conservaron en congelación a -30°C para el análisis de corticosterona. La rata decapitada inmediatamente se colocó en posición supina, se realizo una incisión longitudinal sobre la línea media ventral, desde la cavidad abdominal hasta el dorsal del pene. Las glándulas adrenales y el tejido adiposo fueron extraídos y pesados (ajustando el peso x100 g de peso corporal).

6.7 Determinación de corticosterona

El análisis de corticosterona se realizó por medio de kits disponible comercialmente, Kit Enzyme Immunoassay, compañía Assay Desing No.900-097. Los estándares y las muestras se corrieron por duplicado. El coeficiente de variación intra-ensayo e inter ensayo fue 2.1 pg/mL and 5.3 pg/mL, respectivamente.

6.8 Obtención y análisis histológico de la glándula adrenal

Las glándulas fueron fijadas en Bouin-Duboscq 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 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). Se obtuvieron cortes histológicos transversales de 7µm de espesor con un micrótopo (Leica RM2135, Germany), 16 cortes por animal (glándula derecha e izquierda), los cuales se colocaron en portaobjetos, ocho cortes por laminilla. Las laminillas fueron teñidas Hematoxilina-Eosina y Tricromica de Masson. Se tomaron fotomicrofotografías con

una cámara OLYMPUS de 5.1 mega píxeles, montada en un microscopio óptico Zeiss Imager A.1 (a 400 aumentos totales), para determinar el espesor de las capas, número de células y área de las células e hipertrofia, se utilizó un analizador de Imágenes AxioVision REL 4.6 (Zeiss Inc 2007).

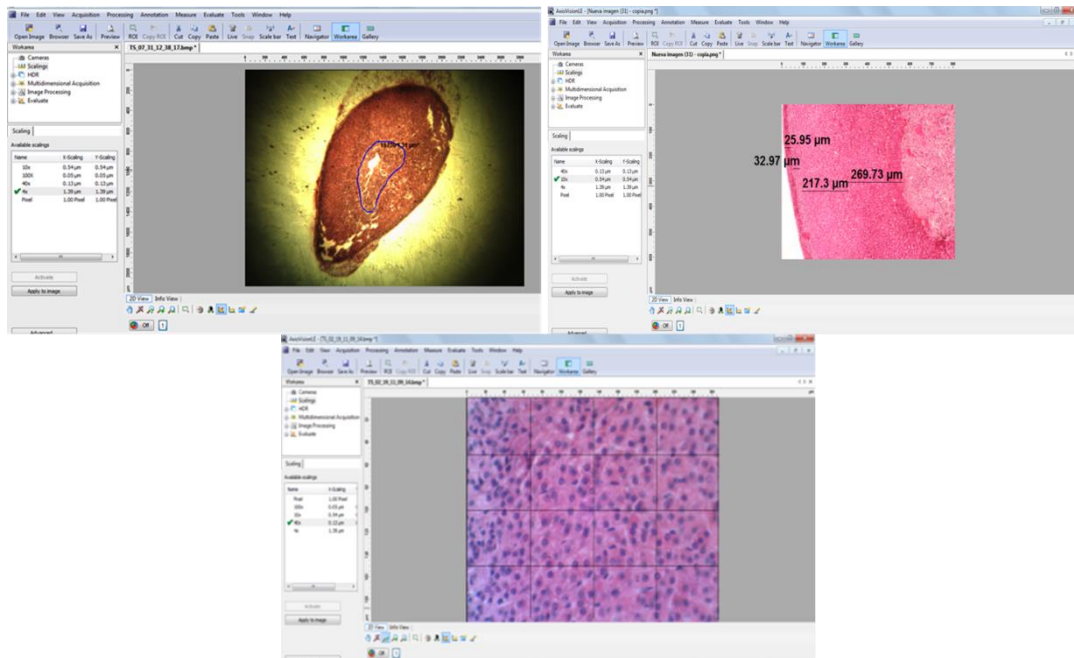


Figura 5. Área de la corteza y médula adrenal, espesor de las capas de la corteza adrenal, y número y área de las células de la corteza y médula adrenal.

6.9 Análisis estadístico

Los valores obtenidos se analizaron en una base de datos por medio del programa GB-STAT 6.0. Los datos se analizaron con una ANOVA de dos vías y Newman-Keuls como prueba post-hoc ($p < 0.05$). Todos los datos representan la media \pm ee. Por último, el porcentaje de células por campo se analizó con una Chi-cuadrada y posteriormente una prueba de Fisher ($p < 0.05$) los datos representan la media para todos los grupos.

7. RESULTADOS

7.1 Parámetros de crecimiento

La ganancia de peso corporal fue disminuido solo por el estrés comparado con los grupos control y A30 (dieta, $F_{1,28}=0.23$; $p=0.63$; estrés, $F_{1,28}=13.51$; $p=0.001$; interacción, $F_{1,28}=0.0028$; $p=0.95$; tabla 2). La ingesta de alimento, fue disminuida por el estrés en comparación al grupo control. Sin embargo, la dieta de sacarosa afectó mucho más el consumo de alimento en los grupos A30 y A30+E (dieta, $F_{1,28}=218.93$; $p<0.0001$; estrés, $F_{1,28}=7.35$; $p=0.01$; interacción, $F_{1,28}=1.06$; $p=0.31$; tabla 2). Todos los animales consumen la misma cantidad de agua (dieta, $F_{1,28}=1.48$; $p=0.23$; estrés, $F_{1,28}=4.55$; $p=0.04$; interacción, $F_{1,28}=0.55$; $p=0.46$; tabla 2). Consecuentemente, la ingesta total de calorías es más alta en los grupos A30 y A30+E (dieta, $F_{1,28}=30.610$; $p<0.0001$; estrés, $F_{1,28}=15.10$; $p=0.10$; interacción, $F_{1,28}=1.72$; $p=0.19$; tabla 2).

Variables	C	E	A30	A30+E
Ganancia de peso corporal (Peso final-Peso inicial)	268±10 ^a	216±10 ^b	262±17 ^a	208±18 ^b
Ingesta de alimento (g/día/100g de peso corporal)	7±0.2 ^a	6±0.5 ^b	3±0.2 ^c	2±0.2 ^c
Consumo de agua (mL/día/100g de peso corporal)	23±1	18±1	24±2	21±1
Kcal totales (g/día/100g de peso corporal)	25±1 ^a	21±2 ^a	38±3 ^b	33±2 ^b

Tabla 2. Efecto de la sacarosa más el estrés sobre la ganancia de peso corporal, consumo de alimento, agua e ingesta de calorías totales. Grupos: C control, E estresado, A30 sacarosa al 30% y A30+E sacarosa al 30% más estrés (n=8/grupo). Se muestra media ± e.e. Letras diferentes ($p<0.05$). ANOVA dos vías, Newman-Keuls post hoc.

7.2 Adiposo Visceral

El índice de adiposidad aumenta por la dieta (dieta, $F_{1,28}=8.55$; $p=0.006$; estrés, $F_{1,28}=0.95$; $p=0.338$; interacción, $F_{1,28}=2.34$; $p=0.136$; tabla 3). Resultados similares se observan en el tejido adiposo pericardio (dieta, $F_{1,28}=8.31$; $p=0.007$; estrés, $F_{1,28}=1.35$; $p=0.255$; interacción,

$F_{1,28}=5.60$; $p=0.025$; tabla 3), tejido adiposo visceral (dieta, $F_{1,28}=10.99$; $p=0.002$; estrés, $F_{1,28}=6.69$; $p=0.015$; interacción, $F_{1,28}=3.84$; $p=0.059$; tabla 3), y tejido adiposo gonadal (dieta, $F_{1,28}=4.47$; $p=0.043$; estrés, $F_{1,28}=7.38$; $p=0.011$; interacción, $F_{1,28}=1.23$; $p=0.276$; tabla 3). Mientras el tejido adiposo perirrenal aumenta por el estrés (dieta, $F_{1,28}=2.92$; $p=0.098$; estrés, $F_{1,28}=21.67$; $p<0.0001$; interacción, $F_{1,28}=0.20$ $p=0.652$; tabla 3).

Variables	C	E	A30	A30+E
Indice de adiposidad (g/100gPC)	2.1±0.1 ^a	2.5±0.4 ^a	4±0.6 ^b	3.1±0.5 ^{ab}
Pericardio (g/100gPC)	0.1±0.02 ^a	0.1±0.01 ^a	0.2±0.02 ^b	0.1±0.01 ^a
Perirrenal (g/100gPC)	0.2±0.02 ^a	1±0.1 ^b	0.4±0.05 ^a	1±0.2 ^b
Visceral (g/100gPC)	1±0.1 ^a	1±0.1 ^a	2.3±0.4 ^b	1±0.2 ^a
Gonadal (g/100gPC)	1±0.05 ^a	1±0.1 ^a	1.5±0.2 ^b	1±0.2 ^a

Tabla 3. Efecto de la sacarosa más el estrés sobre el contenido de tejido adiposo. Grupos: C control, E estresado, A30 sacarosa al 30% y A30+E sacarosa al 30% más estrés (n=8/grupo). Se muestra media ± e.e. Letras diferentes ($p<0.05$). ANOVA dos vías, Newman-Keuls post hoc.

En la figura 6, se muestran las fotografías de las ratas colocadas en posición supina exponiendo el tejido adiposo visceral. Se observa una mayor acumulación de tejido adiposo en la rata experimental del Grupo A30 comparado con los grupos C, E y A30+E.

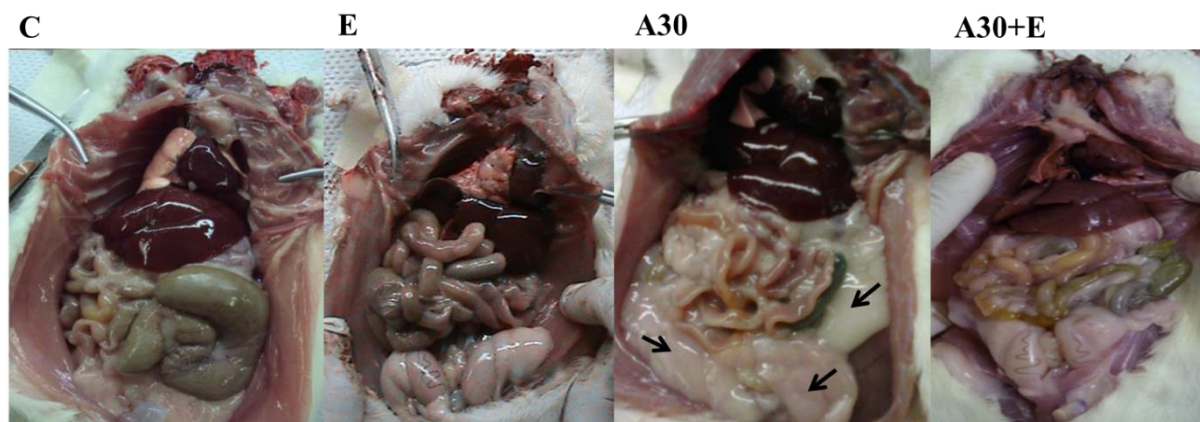


Figura 6. Las fotografías muestran el tejido adiposo visceral (flechas negras). Grupos: C control, E estresado, A30 sacarosa al 30% y A30+E sacarosa al 30% más estrés.

7.3 Glucosa sérica

No se encontraron diferencias en los niveles de glucosa por la dieta $F_{1, 28}=2.7106$, $p=0.1109$, estrés $F_{1, 28}=0.1652$, $p=0.6875$ o interacción $F_{1, 28}=0.004$, $p=0.8338$ (figura 7).

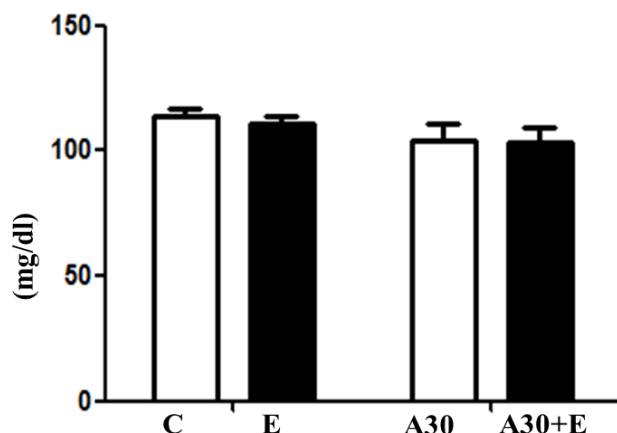


Figura 7. Efecto de la sacarosa más el estrés sobre los niveles sanguíneos de glucosa. Grupos: C control, E estresado, A30 sacarosa al 30% y A30+E sacarosa al 30% más estrés ($n=8$ /grupo). Se muestra la media \pm e.e. No hay diferencia entre grupos. $p>0.05$, ANOVA dos vías, Newman-Keuls post hoc.

7.4 Peso de las glándulas adrenales

El peso de la glándula adrenal derecha aumenta por el estrés comparado con el grupo C (dieta, $F_{1, 28}=0.01$; $p=0.89$; estrés, $F_{1, 28}=11.00$; $p=0.002$; interacción, $F_{1, 28}=1.54$; $p=0.22$; figura 8A), resultado similar ocurre en la glándula adrenal izquierda en el grupo E y A30+E comparado con el grupo control (dieta, $F_{1, 28}=0.48$; $p=0.49$; estrés, $F_{1, 28}=18.15$; $p=0.0002$; interacción, $F_{1, 28}=0.48$; $p=0.49$; figura 8B).

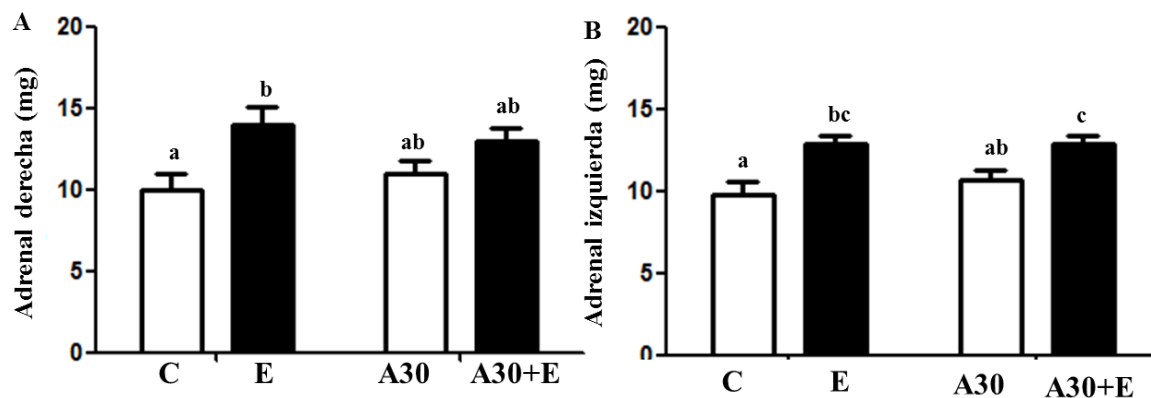


Figura 8. Efecto de la sacarosa más el estrés sobre el peso de la glándula adrenal derecha e izquierda. Grupos: C control, E estresado, A30 sacarosa al 30% y A30+E sacarosa al 30% más estrés ($n=8$ /grupo). Se muestra la media \pm e.e. Letras diferentes ($p<0.05$). ANOVA dos vías, Newman-Keuls post hoc.

7.5 Histología de la glándula adrenal

7.5.1 Características cualitativas de la glándula adrenal derecha

En el grupo C, observamos una delgada capa de tejido conectivo, con un núcleo y citoplasma bien delimitado en la corteza, así como la presencia de espacios sinusoidales en la zona reticular (figura 9A). Respecto a la médula adrenal, se observa un núcleo y citoplasma bien delimitado de las células cromafines con la presencia de vasos sanguíneos grandes (figura 9B). Por otra parte, el grupo E, presenta una delgada capa de tejido conectivo, con un núcleo y citoplasma bien delimitado en la corteza, aunado a esto, también podemos observar una congestión de sinusoides en la zona reticular por la presencia de eritrocitos (figura 9C). La médula adrenal presenta un núcleo y citoplasma bien delimitado de la células cromafines con vasos sanguíneos congestionados (figura 9D). El grupo A30, presenta una gruesa capa de tejido conectivo, con la presencia de células globosas y espacios de gran tamaño en la zona reticular (figura 9E). La médula adrenal, además de tener un núcleo y citoplasma bien delimitado con infiltración de colágeno en las células cromafines, se puede observar vasos sanguíneos grandes (figura 9F). Finalmente, el grupo A30+E, presenta una delgada capa de tejido conectivo, con un núcleo y citoplasma bien delimitado en la corteza, pequeños espacios sinusoidales en la zona reticular (figura 9G) y la médula adrenal tiene un núcleo y citoplasma bien delimitado de la células cromafines, así como pequeños vasos sanguíneos sin acumulación de eritrocitos (figura 9H).

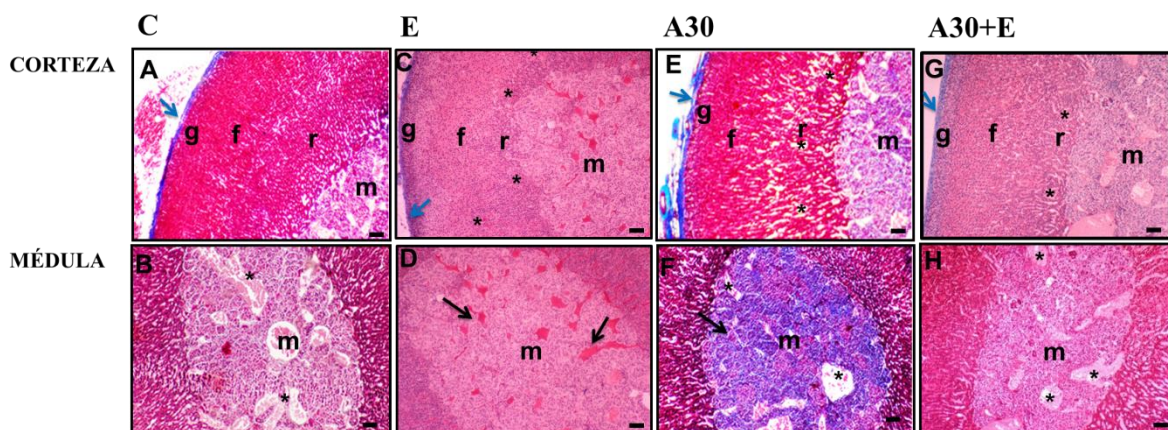


Figura 9. Organización histológica de la glándula adrenal derecha. Grupos: C control, E estresado, A30 sacarosa al 30% y A30+E sacarosa al 30% más estrés (n=8/grupo). A,B) Corteza y médula adrenal del grupo C;

C,D) Corteza y médula adrenal del grupo E; E,F) Corteza y médula adrenal del grupo A30; G,H) Corteza y médula adrenal del grupo A30+E. Teñido con Tricrómica de Masson. Zona Glomerular (g); Zona Fasciculada (f); Zona Reticular (r), médula (m), capsula (→), espacios sinusoidales del grupo A30 y A30+E (*), acumulación de eritrocitos del grupo E (*); médula: vasos sanguíneos del grupo C, A30 y A30+E (*), acumulación de eritrocitos del grupo E (→) y colágeno del grupo A30 (→). Barra=50µm.

7.5.2 Características cuantitativas de la glándula adrenal derecha

7.5.2.1 Capsula

El espesor de la capsula de la glándula adrenal aumenta por el estrés (dieta, $F_{1,28}=0.8770$, $p=0.357$; estrés, $F_{1,28}=37.2517$, $p=0.0001$; interacción, $F_{1,28}=0.0038$, $p=0.950$, figura 10).

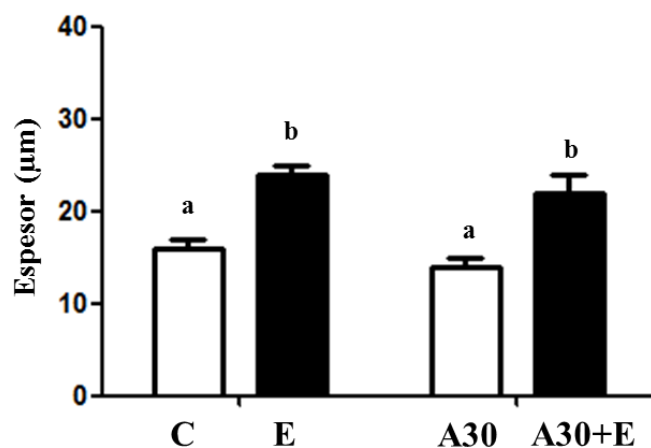


Figura 10. Efecto de la sacarosa más el estrés sobre la capsula de la glándula adrenal derecha. Grupos: C control, E estresado, A30 sacarosa al 30% y A30+E sacarosa al 30% más estrés (n=8/grupo). Se muestra la media \pm e.e. Letras diferentes ($p<0.05$). ANOVA dos vías, Newman-Keuls post hoc.

7.5.2.2 Características morfológicas

En la zona glomerular, el espesor incrementa por el estrés (dieta, $F_{1,28}=2.55$; $p>0.05$; estrés, $F_{1,28}=17.35$; $p=0.0003$; interacción, $F_{1,28}=5.29$; $p>0.05$; fig. 11A). La densidad de sus células también fueron afectadas por el estrés (dieta, $F_{1,28}=0.75$; $p>0.05$; estrés, $F_{1,28}=15.97$; $p=0.0004$; interacción, $F_{1,28}=1.10$; $p>0.05$; fig. 11B). El análisis de acuerdo al porcentaje de células con un área $<60 \mu\text{m}^2$ disminuye en el grupo A30 (20%; $p<0.05$; fig. 11C), comparado con el grupo E (36%) y A30+E (43%), el porcentaje de células con un área $61-100 \mu\text{m}^2$ es similar entre grupos ($p>0.05$; fig. 11C), finalmente, el porcentaje de células con un área $>101 \mu\text{m}^2$

disminuye en el grupo E (14%; $p < 0.05$; fig. 11C) comparado con el grupo A30 (32%), y el grupo A30+E disminuye (5%; $p < 0.05$; fig. 11C) comparado con el grupo C (22%).

En la zona fascicular, el espesor disminuye por la dieta en el grupo A30 con respecto al grupo C, E y A30+E (dieta, $F_{1,28}=7.51$; $p=0.01$; estrés, $F_{1,28}=6.94$; $p > 0.05$; interacción, $F_{1,28}=2.02$; $p > 0.05$; fig. 11D). La densidad celular incrementa por efecto del estrés en los grupos E y A30+E (estrés, $F_{1,28}=9.61$; $p=0.004$) y por la dieta en el grupo A30 (dieta $F_{1,28}=4.14$; $p < 0.05$) con respecto al grupo C, sin observar cambios por la interacción de los dos factores ($F_{1,28}=2.33$; $p > 0.05$, fig. 11E). El análisis de acuerdo al porcentaje de células con un área $< 100 \mu\text{m}^2$ incrementa en el grupo E (39%; $p < 0.05$) y A30+E (40%; $p < 0.05$; fig. 11F), respecto al C (19%) y A30 (17%), adicionalmente el porcentaje de células con un área de $101-199 \mu\text{m}^2$ disminuye en el grupo E (56%; $p < 0.05$) y en el grupo A30+E (56%; $p < 0.05$; fig. 11F), comparado con el grupo C (77%) y A30 (79%) y finalmente el porcentaje de células con un área $> 200 \mu\text{m}^2$ es similar entre los cuatro grupos ($p > 0.05$; fig. 11F).

En la zona reticular, el espesor no se modifica por la dieta, $F_{1,28}=0.46$; $p > 0.05$, el estrés, $F_{1,28}=0.96$; $p > 0.05$ o la interacción, $F_{1,28}=8.38$; $p > 0.05$; (fig. 11G). La densidad celular incrementa por el estrés (dieta, $F_{1,28}=1.92$; $p > 0.05$; estrés, $F_{1,28}=26.85$; $p < 0.0001$; interacción, $F_{1,28}=6.66$; $p > 0.05$; fig. 11H), adicionalmente el porcentaje de células con un área $< 60 \mu\text{m}^2$ incrementa en el grupo E (37%; $p < 0.05$) y en el grupo A30+E (35%; $p < 0.05$; fig. 11I), comparado con el grupo C (17%) y A30 (21%), el porcentaje de células con un área $61-100 \mu\text{m}^2$ no se modifica entre los cuatro grupos ($p > 0.05$; fig. 11I) y el porcentaje de células con un área $> 101 \mu\text{m}^2$ disminuye en el grupo E (10%; $p < 0.05$; fig. 11I), con respecto al C (26%) y A30 (27%), y el grupo A30+E disminuye (14%; $p < 0.05$; fig. 11I) comparado con el grupo A30 (27%).

El área de la médula incrementa por el estrés (dieta, $F_{1,28}=0.18$; $p > 0.05$; estrés, $F_{1,28}=36.49$; $p < 0.0001$; interacción, $F_{1,28}=0.44$; $p > 0.05$; fig. 11J), resultados similares se observan en la densidad celular (dieta, $F_{1,28}=0.65$; $p > 0.05$; estrés, $F_{1,28}=9.10$; $p=0.005$; interacción, $F_{1,28}=1.39$; $p > 0.05$; fig. 11K). La distribución de células con un área $< 100 \mu\text{m}^2$ incrementa en el grupo E (55%; $p < 0.05$) y en el grupo A30+E (47%; $p < 0.05$; fig. 11L), comparado con el

grupo C (14%) y A30 (14%). Por el contrario, el porcentaje de células con un área de 101-199 μm^2 disminuye en el grupo E (44%; $p<0.05$), y en el grupo A30+E (46%; $p<0.05$; fig. 11L), comparado con el grupo C (69%) y A30 (72%). Finalmente, el porcentaje de células con un área $>200 \mu\text{m}^2$ disminuye por el estrés (1%; $p<0.05$; fig. 11L), comparado con el grupo C (17%) y A30 (14%).

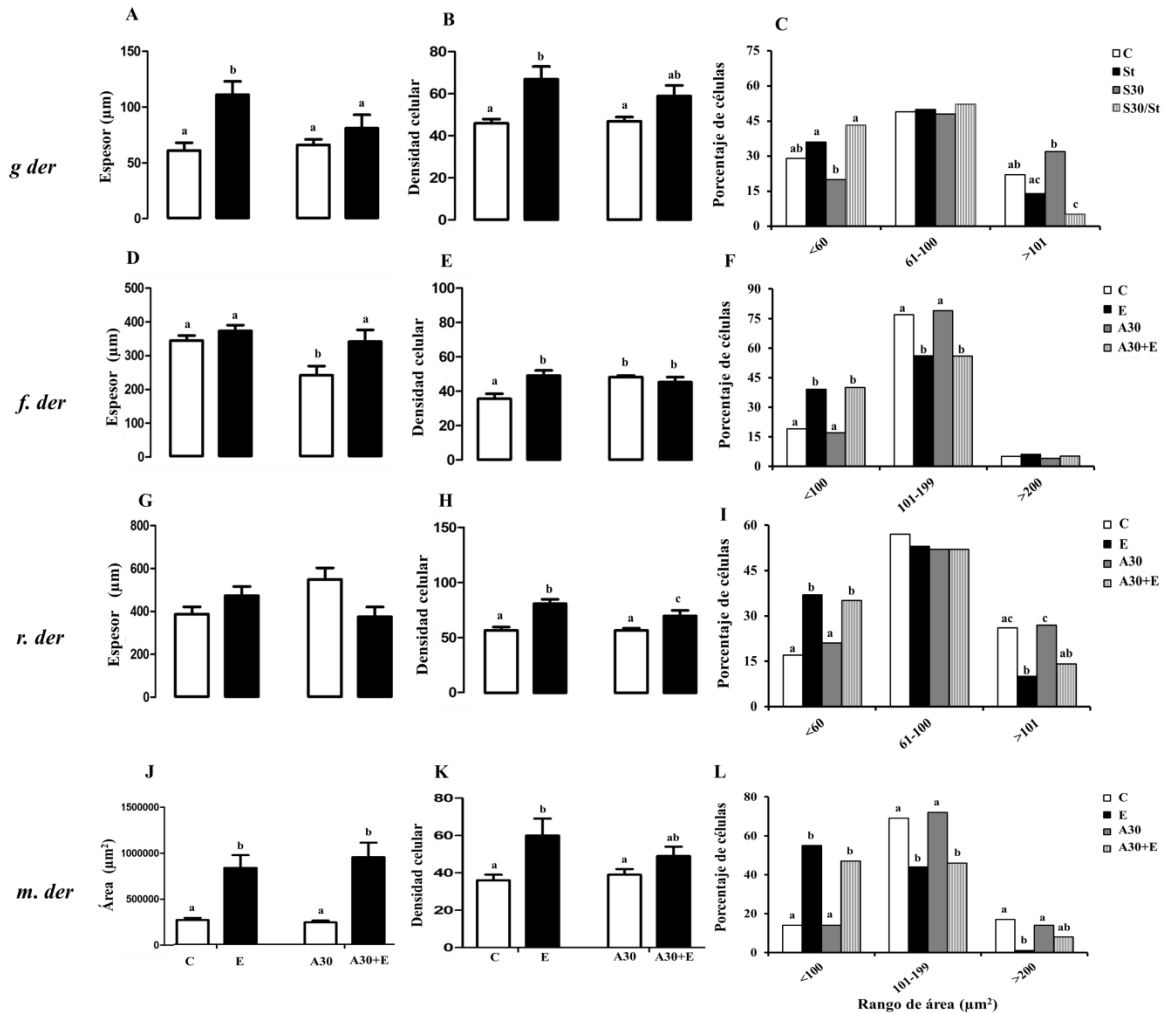


Figura 11. Caracterización morfométrica de la glándula adrenal derecha. Variaciones morfométricas del espesor de las zonas (A, D, G, J), densidad celular (B, E, H, K) y porcentaje de células distribuidas por rango de área (C, F, I, L) de la zona glomerular (ZG), zona fascicular (ZF), zona reticular (ZR) y médula (M). Se muestra la media \pm e.e. Letras diferentes, $p<0.05$; ANOVA dos vías Newman-Keuls post hoc. Chi-cuadrada y prueba de Fisher. Grupos: C control, E estresado, A30 sacarosa al 30% y A30+E sacarosa al 30% más estrés (n=8/grupo).

7.5.2.3 Características cualitativas de la glándula adrenal izquierda

En el grupo C, se observa una delgada capa de tejido conectivo, con un núcleo y citoplasma bien delimitado en la corteza, además de una gran cantidad de espacios sinusoidales que van de la zona fascicular a la zona reticular (figura 12A). Respecto a la médula adrenal, podemos observar un núcleo y citoplasma bien delimitado de las células cromafines, con pequeños vasos sanguíneos y una delgada capa de tejido conectivo que rodea a la médula (figura 12B). En el grupo E, se observa una delgada capa de tejido conectivo con un núcleo y citoplasma bien delimitado en la corteza y una acumulación de eritrocitos en los espacios sinusoidales de la zona reticular (figura 12C). La médula adrenal presenta un núcleo y citoplasma bien delimitado de las células cromafines, congestión de vasos sanguíneos por acumulación de eritrocitos (figura 12D). El grupo A30, presenta una gruesa capa de tejido, con un núcleo y citoplasma bien delimitado en la corteza, así como la presencia de pequeños espacios sinusoidales en la zona reticular (figura 12E), en la médula se observan unas células cromafines más compactas con un núcleo y citoplasma bien delimitado con presencia de tejido conectivo, pocos vasos sanguíneos (figura 12F). Finalmente el grupo A30+E, presenta una gruesa capa de tejido, con un núcleo y citoplasma bien delimitado en la corteza, así como la presencia de pequeños espacios sinusoidales en la zona reticular (figura 12G), en la médula se observa un núcleo y citoplasma bien delimitado en las células cromafines, con vasos sanguíneos grandes (figura 12H).

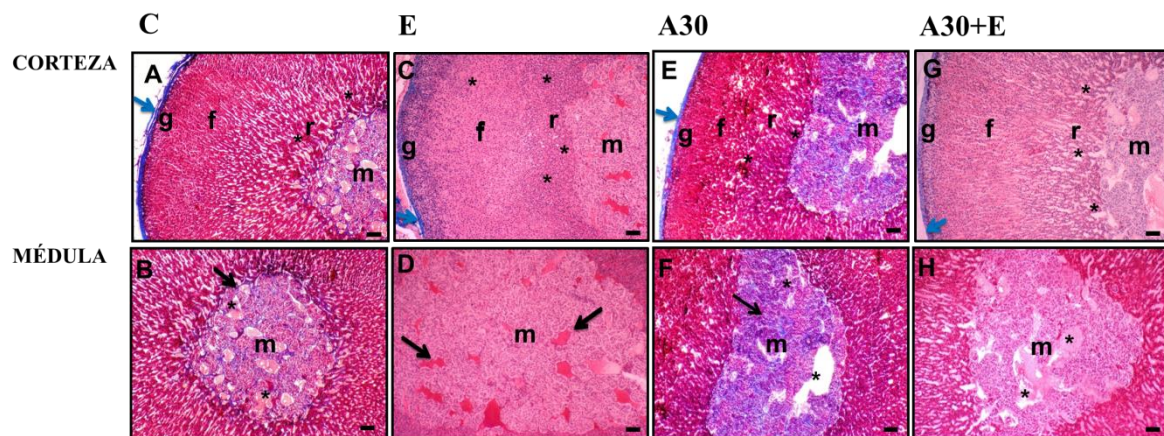


Figura 12. Organización histológica de la glándula adrenal izquierda. Grupos: C control, E estresado, A30 sacarosa al 30% y A30+E sacarosa al 30% más estrés (n=8/grupo). A,B Corteza y médula adrenal del grupo C; C,D) Corteza y médula adrenal del grupo E; E,F) Corteza y médula adrenal del grupo A30; G,H) Corteza y médula adrenal del grupo A30+E. Teñido con Tricrómica de Masson. Zona Glomerular (g); Zona Fasciculada (f);

Zona Reticular (r), médula (m), capsula (→), espacios sinusoidales del grupo A30 y A30+E (*), acumulación de eritrocitos del grupo E (*); médula: vasos sanguíneos del grupo C, A30 y A30+E (*), acumulación de eritrocitos del grupo E (→) y colágeno del grupo A30 (→). Barra=50µm.

7.5.2.4 Asimetría cuantitativa de la glándula adrenal izquierda

7.5.2.5 Capsula

El espesor de la capsula de la glándula adrenal aumento por el estrés (dieta, $F_{1,28}=1.5913$, $p=0.2175$; estrés, $F_{1,28}=15.5426$, $p=0.0005$; interacción, $F_{1,28}=0.2063$, $p=0.6531$, figura 13).

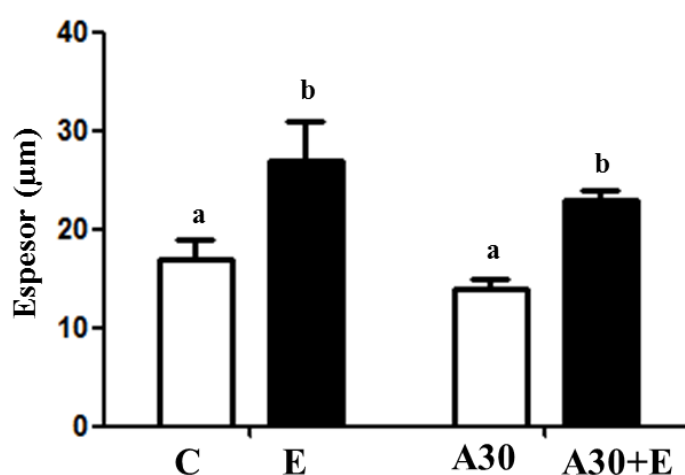


Figura 13. Efecto de la sacarosa más el estrés sobre la capsula de la glándula adrenal izquierda. Grupos: C control, E estresado, A30 sacarosa al 30% y A30+E sacarosa al 30% más estrés (n=8/grupo). Se muestra la media \pm e.e. Letras diferentes ($p<0.05$). ANOVA dos vías, Newman-Keuls post hoc.

7.5.2.6 Caracterización morfométrica

En la zona glomerular, el espesor incrementa en el grupo E por efecto del estrés comparado con el grupo C (dieta, $F_{1,28}=0.11$; $p>0.05$; estrés, $F_{1,28}=7.26$; $p=0.01$; interacción, $F_{1,28}=6.22$; $p>0.05$; fig. 14A). La densidad celular es similar entre grupos (dieta, $F_{1,28}=0.005$; $p>0.05$; estrés, $F_{1,28}=4.12$; $p>0.05$; interacción, $F_{1,28}=1.59$ $p>0.05$; fig. 14B). El porcentaje de células con un área $<60 \mu\text{m}^2$ incrementa por el estrés (31%; $p<0.05$; fig. 15C), sin embargo, los dos estímulos incrementan mucho más el porcentaje de células (57%; $p<0.0001$; fig. 14C), comparado con el grupo C (12%) y A30 (8%). El porcentaje de células con un área $61-100 \mu\text{m}^2$ fueron similares entre grupos ($p>0.05$; fig. 14C). Finalmente, el porcentaje de células con

un área $>101 \mu\text{m}^2$ disminuye por el estrés (16%; $p<0.05$; fig. 14C) con respecto al grupo C (32%), sin embargo, el grupo A30 incrementa el porcentaje de células (48%; $p<0.05$ fig. 14C) con respecto al grupo C (32%). Interesantemente el grupo A30+E disminuye el porcentaje de células (2%; $p<0.05$ fig. 14C) respecto a los demás grupos, C (32%), E (16%) y A30 (48%).

En la zona fascicular, el espesor fue similar entre grupos (dieta, $F_{1,28}=0.07$; $p>0.05$; estrés $F_{1,28}=4.96$; $p>0.05$; interacción, $F_{1,28}=0.04$; $p>0.05$; fig. 14D). La densidad celular incrementa en el grupo E, comparado con el grupo C y A30 (dieta, $F_{1,28}=1.16$; $p>0.05$; estrés, $F_{1,28}=18.56$; $p=0.0002$; interacción, $F_{1,28}=3.32$; $p>0.05$; fig. 15E). El porcentaje de células con un área $<100\mu\text{m}^2$ incrementa en el grupo E (41%; $p<0.05$) y A30+E (43%; $p<0.05$; fig. 14F) respecto al grupo C (17%) y A30 (26%). El porcentaje de células con un área $101-199 \mu\text{m}^2$ fue similar entre grupos ($p>0.05$; fig. 14F), mientras, que el porcentaje de células con un área $>200 \mu\text{m}^2$ disminuye en los grupos E (3%; $p<0.05$), A30 (5%; $p<0.05$) y A30+E (2%; $p<0.05$; fig. 14F), comparados con el grupo C (19%).

En la zona reticular, el espesor disminuye por la dieta (dieta, $F_{1,28}=29.26$; $p<0.0001$; estrés, $F_{1,28}=1.99$; $p>0.05$; interacción, $F_{1,28}=0.38$; $p>0.05$; fig. 14G). La densidad celular incrementa en el grupo E con respecto a los grupos C y A30 (dieta, $F_{1,28}=0.16$; $p>0.05$; estrés, $F_{1,28}=14.59$; $p=0.0007$; interacción, $F_{1,28}=2.08$; $p>0.05$; fig. 14H). El porcentaje de células con un área $<60 \mu\text{m}^2$ incrementa en el grupo E (35%; $p<0.05$) y A30+E (39%; $p<0.05$; fig. 14I), comparado con el grupo C (5%), y A30 (9%), mientras que, el porcentaje de células con un área $61-100 \mu\text{m}^2$ es similar entre grupos ($p>0.05$; fig. 15I), finalmente el porcentaje de células con un área $>101 \mu\text{m}^2$ disminuye en el grupo E (12%; $p<0.05$) y A30+E (14%; $p<0.05$; fig. 14I), comparado con el grupo C (42%), y A30 (33%).

El área de la médula adrenal incrementa por el estrés (dieta, $F_{1,28}=0.67$; $p>0.05$; estrés, $F_{1,28}=37.14$; $p<0.0001$; interacción, $F_{1,28}=0.02$; $p>0.05$; fig. 14J), la densidad celular fue similar entre grupos (dieta, $F_{1,28}=0.34$; $p>0.05$; estrés, $F_{1,28}=4.76$; $p>0.05$; interacción, $F_{1,28}=0.14$; $p>0.05$; fig. 14K). La distribución de células con un área $<100 \mu\text{m}^2$ incrementa en el grupo E (56%; $p<0.05$) y A30+E (55%; $p<0.05$; fig. 14L), comparado con el grupo C (16%), y A30 (23%). Adicionalmente el porcentaje de células con un área $101-199 \mu\text{m}^2$

disminuye en el grupo E (44%; $p<0.05$) y A30+E (42%; $p<0.05$; fig. 14L), comparado con el grupo C (69%), y A30 (69%). Finalmente, el porcentaje de células con un área $>200 \mu\text{m}^2$ disminuye en el grupo E (1%; $p<0.05$) y A30+E (3%; $p<0.05$; fig. 14L), comparado con el grupo C (15%).

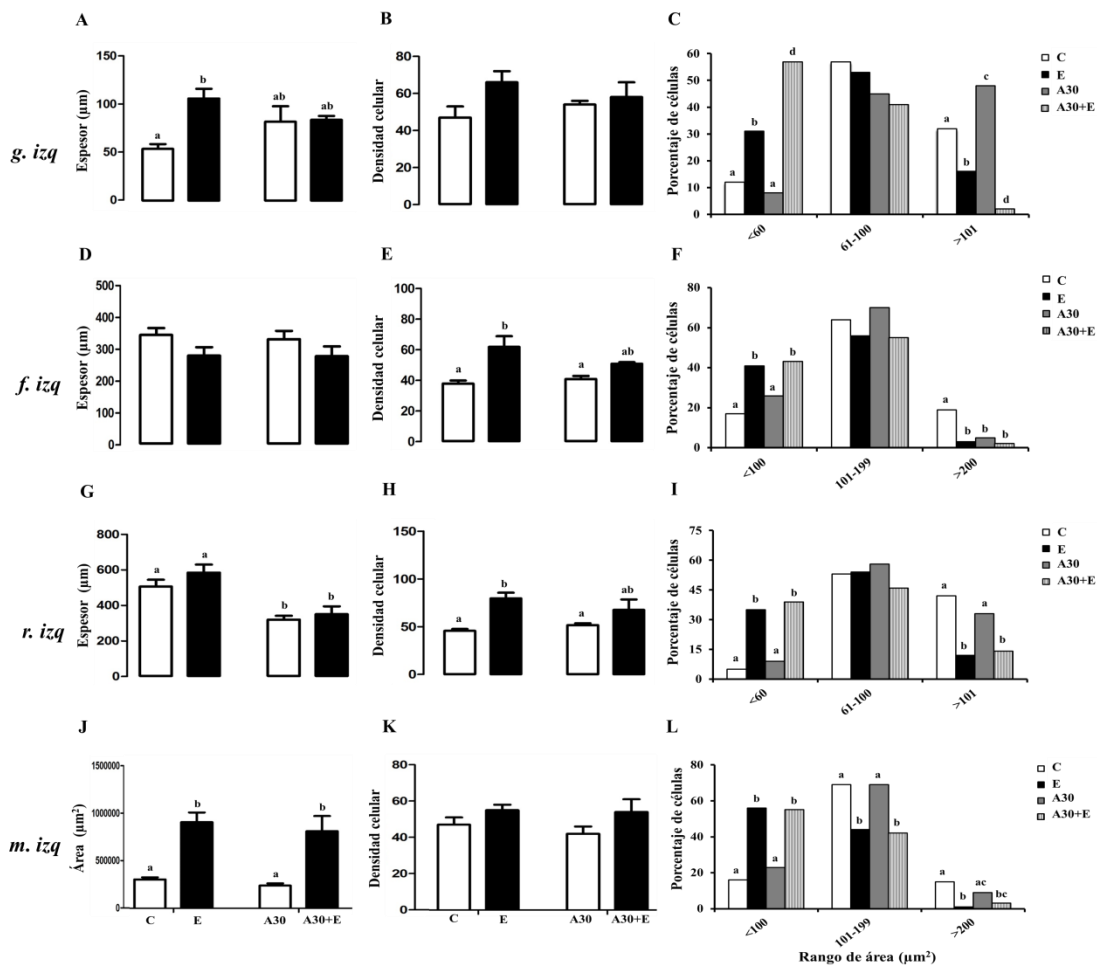


Figura 14. Caracterización morfométrica de la glándula adrenal izquierda. Variaciones morfométricas del espesor de las capas (A, D, G, J), densidad celular (B, E, H, K) y porcentaje de células distribuidas por rango de área (C, F, I, L) de la zona glomerular (ZG), zona fascicular (ZF), zona reticular (ZR) y médula (M). Se muestra la media \pm e.e. Letras diferentes, $p<0.05$; ANOVA dos vías Newman-Keuls post hoc. Chi-cuadrada y prueba de Fisher. Grupos: C control, E estresado, A30 sacarosa al 30% y A30+E sacarosa al 30% más estrés ($n=8$ /grupo).

7.6 Corticosterona sérica

Las concentraciones de corticosterona fueron similares entre grupos (dieta, $F_{1,20}=0.29$; $p=0.59$; estrés, $F_{1,20}=3.95$; $p=0.06$; interacción, $F_{1,20}=0.73$; $p=0.40$; fig. 15).

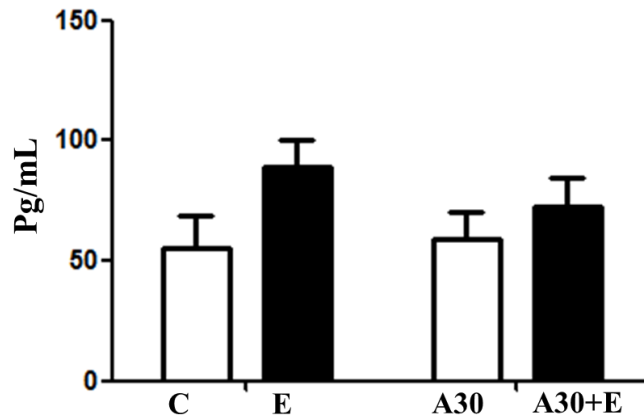


Figura 15. Efecto de la sacarosa más el estrés sobre la concentración de corticosterona. Grupos: C control, E estresado, A30 sacarosa al 30% y A30+E sacarosa al 30% más estrés (n=8/grupo). Se muestra la media \pm e.e. ($p>0.05$). ANOVA dos vías, Newman-Keuls post hoc.

8. DISCUSION

Tanto en seres humanos como en ratas machos, se ha observado que dietas ricas en carbohidratos inducen trastornos metabólicos (Naska y cols. 2011; de Koning y cols. 2012; Martinez Calejman y cols. 2012; Díaz-Aguila y cols. 2015). Sin embargo, estresores crónicos provocados por el estilo de vida causan cambios fisiológicos y también trastornos neuroendocrinos en humanos (Bjorntorp 2000; Epel y cols. 2001; Smith y cols. 2005; Bordbar y cols. 2012). Distintos modelos animales expuestos a estresores como inmovilización, restricción y choques eléctricos causan alteraciones fisiológicas (Bali y Jaggi 2015), y la exposición a la luz intensa provoca un aumento en la presión arterial sistólica (Fernando y cols. 2013). Varios son los órganos o tejidos involucrados en los procesos fisiológicos del metabolismo, por ejemplo: el páncreas, el hígado, los riñones, el cerebro, la musculatura estriada, pocos trabajos han reportado que la glándula adrenal también es importante para entender dichos mecanismos (De Silva and Wijesiriwardene 2007). En nuestro laboratorio recientemente, hemos mostrado en ratas machos que fueron alimentadas con dieta alta en sacarosa desde el destete hasta la edad adulta, alteraciones histológicas en la glándula adrenal con modificaciones metabólicas, sin embargo, no se afectan los niveles de corticosterona (Díaz Aguila y cols. 2015). Por ello, nos interesó evaluar el efecto del estrés y la combinación de la dieta alta en sacarosa más estrés sobre la organización histológica de la glándula adrenal.

Nuestros resultados muestran que el estrés disminuye el peso corporal y la ingesta de alimento como se ha reportado previamente (Ricart-Jané y cols. 2002; Adan y Epel. 2007). A este respecto se ha documentado que ante una situación de estrés se libera la hormona noradrenalina y la CRH, que poseen acción inhibitoria sobre el apetito provocando efectos anoréxicos que conllevan a la disminución del consumo de alimento y por ende a la pérdida de peso corporal (Dallman y cols. 2003; Dallman y cols. 2004), también el aumento de la leptina posee acción inhibitoria sobre el apetito (Macedo y cols. 2012). Sin embargo, existe controversia ya que se ha reportado que el estrés aumenta la ingesta de alimento (Silveira et al. 2000; Fachin y cols. 2008). En el caso de los animales que consumieron agua con sacarosa, no encontramos diferencias en el peso corporal, a pesar de que disminuye el consumo de alimento, probablemente por el aumento en la acumulación de tejido adiposo visceral e índice

de adiposidad como podemos observar en la figura 6 (A30), que corrobora resultados publicados anteriormente con el mismo procedimiento experimental (El Hafidi y cols. 2001, 2004, 2006; Alexander y cols. 2004; Pérez-Torres y cols. 2009; Díaz-Aguila y cols. 2015). Respecto a los animales que estuvieron sometidos a los dos estímulos (la dieta más el estrés), disminuyen el peso corporal y la ingesta de alimento, esto puede atribuirse a que el estrés estimula la secreción de niveles altos de catecolaminas (Altuna y cols. 2006) a través del sistema nervioso autónomo simpático, promoviendo la lipólisis en tejidos periféricos (Torres y cols. 2001; Perello y Spinedi 2004; Fachin y cols. 2008; Torres y Nowson 2007), por ello, el exceso de calorías contenidas en el agua con sacarosa no se están almacenando, contrario a lo que sucede en los animales que consumieron sacarosa, por lo que el estrés crónico bloquea los efectos de la dieta alta en sacarosa, no permitiendo el aumento de peso corporal, así como la grasa visceral y el índice de adiposidad, estas observaciones son similares a las descritas previamente (Laugero y cols. 2001, Corona-Pérez y cols. 2015 en revisión). Es lo mismo que sucede cuando a las ratas se les proporciona una dieta alta en grasa y se someten a estrés, disminuye el tejido adiposo y el índice de adiposidad comparado con la rata que solo consume la dieta alta en grasa (Bruder-Nascimento y cols. 2013). Sin embargo, observamos un aumento en la cantidad de tejido adiposo perirrenal, esto podría asociarse con otros estudios donde se ha observado que el consumo de dietas ricas en grasas y carbohidratos aumentan el tejido adiposo perirrenal a través de la activación del sistema nervioso simpático, provocando aumento en la presión arterial (Amin y cols. 2011). Por otro lado, se ha observado que el estrés psicosocial causa hipertrofia en la glándula adrenal produciendo un aumento en los niveles de aldosterona, renina, y noradrenalina aumentando la presión arterial (Henry y cols. 1993; Roberge y cols. 2007).

Los niveles de glucosa sérica no fueron afectados, lo que se ha reportado en dietas con sacarosa (El Hafidi y cols. 2001,2004; Aguilera y cols. 2004; Díaz-Aguila y cols. 2015), es posible que los niveles de glucosa se mantengan normales por el aumento de insulina y/o (Díaz-Aguila y cols. 2015), por el aumento de la leptina (Perry et al. 2014; Díaz-Aguila y cols. 2015). En el caso de los animales que estuvieron sometidos a ambos estímulos, estos gastaron la energía proveniente de la sacarosa para responder al estrés, dado que se ha propuesto que los animales comen alimentos de alta densidad energética en un intento de reducir la respuesta

al estrés crónico (Fachin y cols. 2008; Roubos y cols. 2012). Cabe resaltar que estos datos son característicos de un estrés crónico (Pecoraro y cols. 2004; Fachin y cols. 2008; Ricart-Jané y cols. 2002).

Efecto del consumo de sacarosa más estrés sobre la histología de la glándula adrenal:

Ahora adicionamos información acerca de los efectos que provoca el estrés y la dieta más el estrés con respecto al peso de la glándula adrenal. Por un lado, encontramos que el estrés aumenta el tamaño, y el espesor de la capsula en ambas glándulas, probablemente por la hipertrofia glandular (Ricart-Jané y cols. 2002; Ulrich-Lai y cols. 2006; Fachin y cols. 2008; Bloss y cols. 2010; Macedo y cols. 2012; Bruder-Nascimento y cols. 2013) o por la hiperplasia celular (Ulrich-Lai y cols. 2006). En apoyo a esto, ahora estamos mostrando un desarreglo en el porcentaje de células observando hiperplasia celular. Interesantemente, ambos estímulos incrementan únicamente el peso de la glándula izquierda, dicha glándula ha sido relacionada con la respuesta al estrés en comparación con la glándula derecha que es más relacionada con alteraciones metabólicas (Szigethy y cols. 1994; Sullivan y Gratton 1999; Ohashi et al. 2001). Por otro lado, siguiendo con el desarreglo histológico, la dieta provoca infiltración de colágeno en la médula adrenal indicando fibrosis en la glándula, lo que podría alterar la secreción hormonal (Brown y cols. 1989) desregulando la retroalimentación del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal lo que sugiere la muerte celular (Johnson y DiPietro 2013). Desafortunadamente no medimos las catecolaminas. Sin embargo, con el estrés se observa una congestión de eritrocitos en la zona reticular y en la médula adrenal, y nosotros sugerimos que el aumento de células pequeñas impiden el paso adecuado de la luz de los espacios sinusoidales y de los vasos sanguíneos para la irrigación celular, incluso se observa como el estrés altera el diámetro y la forma de los vasos sanguíneos, por otro lado, se ha demostrado que el aumento de eritrocitos está estrechamente relacionado con el estrés oxidativo en diferentes modelos celulares (D'Angelo et al. 2001; D'Angelo et al. 2005). Además de esto, la zona glomerular de ambas glándulas aumentó el espesor y el número de células, y posiblemente esté incrementando esta zona hacia la periferia haciéndola más grande, se desconoce si este desarreglo tiene alguna implicación sobre la aldosterona, dado que se ha mostrado que ante una condición de estrés, se presenta atrofia en esta zona (Ulrich-Lai y cols.

2006). Respecto a la zona fascicular, se observa hiperplasia celular en ambas glándulas sin afectar los niveles de corticosterona, lo que sugiere que la corticosterona no participa en el desarrollo del síndrome metabólico en edad adulta (Díaz-Aguila y cols. 2015), por el contrario, en ratas juveniles, el estrés induce hipertrofia y aumento en los niveles de corticosterona (Díaz-Aguila, Tesis de Doctorado), y esteatosis hepática (Corona-Pérez y cols. 2015 en revisión), esto es consistente con otros estudios donde la hipertrofia es la responsable de la liberación de corticosterona en respuesta a una señal de estrés (Miyamoto y cols. 1999; Gotohda y cols. 2005; Ulrich-Lai y cols. 2006). La zona reticular también muestra hiperplasia, lo que sugiere que esta multiplicación de células pequeñas disminuye la luz de los espacios sinusoidales provocando un estancamiento de eritrocitos, como se observa en la figura (10C y 13C). En la médula adrenal observamos hiperplasia, contrario a lo que se ha mostrado en ratas sometidas a diferentes estresores, provocando hipertrofia y un aumento en los niveles de corticosterona plasmática y adrenal (Ulrich-Lai y cols. 2006). Es relevante recalcar que no hay estudios donde reporten cambios en la histología adrenal con respecto a la dieta alta en sacarosa más el estrés, por lo que nuestros resultados son de gran interés para entender los procesos fisiológicos de la glándula adrenal desde temprana edad; así mismo, nosotros encontramos que en la zona glomerular de la glándula derecha disminuyen las células grandes, mientras en la izquierda aumentan drásticamente las células pequeñas y disminuyen las células grandes, respecto a la zona fascicular de ambas glándulas se observa hiperplasia, contrario a lo que se observa en animales de 51 días postnatal, donde la dieta más el estrés provoca hipertrofia celular (Díaz-Aguila, Tesis de Doctorado), sin embargo, tanto la hiperplasia como la hipertrofia mantienen las concentraciones de corticosterona normal en ambas edades, esto es contrario a lo que sucede en ratas hembras adultas, donde disminuyen las células y los niveles de corticosterona (Malendowicz y cols. 2000). Nosotros sugerimos que la corticosterona se mantuvo normal debido a que la dieta en sacarosa proporciono una gran cantidad de sustrato energético que fue utilizado después del estrés, como lo sugiere Laugero y cols. (2001), de esta manera sugerimos que inicia la retroalimentación negativa de los glucocorticoides, disminuyendo la actividad del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, la ACTH y corticosterona en plasma (Minor y Saade 1997; Strack y cols. 1997; Levin y cols. 2000; Michel y cols. 2005). La zona reticular de la glándula derecha muestra hiperplasia, mientras

que en la izquierda disminuye el espesor pero aumentan las células pequeñas, ante estas diferencias asimétricas en la zona glomerular y reticular de la glándula derecha e izquierda, sugerimos que podrían estar asociadas a las diferencias en la inervación de fibras aferentes y eferentes incluyendo su irrigación (Gerendai and Halász 1997), finalmente, en la médula adrenal de ambas glándulas aumenta el área, correlacionándose con el aumento del peso de las glándulas y se observa un aumento de células pequeñas provocando hiperplasia, y disminuyen las células grandes.

El estrés provoca la acumulación de eritrocitos en la médula y en la zona reticular e hiperplasia celular, la dieta alta en sacarosa causa infiltración de colágeno en la médula adrenal, mientras que en ambos estímulos, la dieta alta en sacarosa evita la acumulación de eritrocitos inducido por el estrés, además induce hiperplasia que se correlaciona con el aumento del peso de las glándulas adrenales. De manera específica, la hiperplasia de la zona fascicular sugiere que fue capaz de mantener los niveles de corticosterona normal, esto indica que el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal no se afectó. Es claro que el estrés y el alto consumo de sacarosa, inducen modificaciones histológicas en la glándula adrenal. El estímulo del estrés aplicado a las ratas no fue suficiente para inducir un aumento en los niveles de corticosterona y tampoco la dieta afecta los niveles de corticosterona. Sin embargo, esto no quiere decir que en edades posteriores se mantengan las mismas condiciones dado que, los niños son consumidores de bebidas azucaradas, además tienen una glándula adrenal inmadura lo que podría afectar la respuesta al estrés en edades posteriores. Nuestro análisis es relevante para entender la participación de la corticosterona en procesos metabólicos y prevenir durante la infancia para disminuir la vulnerabilidad de los desórdenes relacionados con el estrés en edad adulta.

9. CONCLUSIONES

Los resultados muestran que el estrés y el consumo elevado de sacarosa provocan alteraciones histológicas en la glándula adrenal, mientras el tiempo de exposición al estrés, no fue suficiente para aumentar los niveles de corticosterona, aun con el consumo de sacarosa, esto indica que el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal no se afectó, por lo que se sugiere que la corticosterona no participa en el desarrollo del síndrome metabólico. Sin embargo, ambos estímulos provocan que la asimetría adrenal sea más evidente.

10. PERSPECTIVAS

En relación a nuestros resultados, sería importante medir los diferentes parámetros metabólicos implicados en el desarrollo del síndrome metabólico, como los niveles de leptina, insulina, colesterol, triglicéridos, así como la presión arterial.

Con respecto a los resultados obtenidos del estrés, sería importante realizar inmunohistoquímicas para evaluar la presencia de estrés oxidativo, y confirmar si efectivamente la acumulación de eritrocitos está relacionado con el estrés oxidativo, pudiendo afectar aún más la histología de la glándula adrenal. También sería interesante determinar el porcentaje de proliferación y apoptosis celular por medio de inmunohistoquímicas, para corroborar la hiperplasia celular del estrés y de la dieta más el estrés en ambas glándulas.

Aunado a esto, hace falta evaluar las hormonas que se sintetizan en la zona glomerular y reticular, y las catecolaminas de la médula adrenal, ya que podrían estar aumentadas correlacionándose con la hipertrofia medular y glandular.

Sería interesante seguir estudiando a la glándula adrenal en edades más avanzadas, para ver cómo se va modificando su estructura y función, y ver si de esta manera se alteran las concentraciones de corticosterona.

11. REFERENCIAS

Adam TC and Epel ES. 2007. Stress, eating and the reward system. *Physiology and Behavior* 91: 449-458.

Aguilera G, Kiss A, Lu A and Camacho C. 1996. Regulation of adrenal steroidogenesis during chronic stress. *Endocrinology Research* 22: 433-443.

Alexander AA, Hernández DG, Lara BM, Angulo G and Oliart RR. 2004. Effects of fish oil on hypertension, plasma lipids and tumor necrosis factor- α in rats with sucrose-induced metabolic syndrome. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 15: 350-357.

Amin KA, Kamel HH and Abd Eltawab MA. 2011. Protective effect of Garcinia against renal oxidative stress and biomarkers induced by high fat and sucrose diet. *Lipids in Health and disease* 10: 1-13.

Altuna ME, Lelli SM, San Martín de Viale LC and Damasco MC. 2006. Effects of stress on hepatic 11β -hydroxysteroid dehydrogenase activity and its influence on carbohydrate metabolism. *Canadian Journal de la fisiología y la farmacología* 84: 977-984.

Arnaldi G, Scandali VM, Trementino L, Cardinaletti M, Appolloni G and Boscaro M. 2010. Pathophysiology of dyslipidemia in Cushing's syndrome. *Neuroendocrinology* 92: 86-90.

Bali A and Jaggi AS. 2015. Preclinical experimental stress studies: Protocols, assessment and comparison. *European Journal of Pharmacology* 746: 282-292.

Björntorp P and Rosmod R. 2000. Obesity and Cortisol. *Nutrition* 16: 924-936.

Bleisch VR, Mayer J and 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.

Bloss EB, Janssen WG, McEwen BS and Morrison JH. 2010. Interactive effects of stress and aging on structural plasticity in the prefrontal cortex. *The Journal of Neuroscience* 30: 6726-6731.

Bordbar MR, Taj-Aldini R, Karamizadeh Z, Haghpanah S, Karimi M and Omrani GH. 2012. Thyroid function and stress hormones in children with stress hyperglycemia. *Endocrine* 42: 653-657.

Brousset Hernández-Jáuregui DM, Galindo MF, Valdez PRA, Romano PM and 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 and Rabinowe SL. 1989. Adrenal medullary fibrosis in IDDM of long duration. *Diabetes Care* 12: 494-497.

Bruder-Nascimento T, Campos DH, Alves C, Thomaz S, Cicogna AC and Cordellini S. 2013. Effects of chronic stress and high-fat diet on metabolic and nutritional parameters in Wistar rats. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia* 57: 642-649.

Challis JR, Sloboda D, Matthews SG, Holloway A, Alfaidy N, Patel FA, Whittle W, Fraser M, Moss TJ and Newnham J. 2001. The fetal placental hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis, parturition and postnatal health. *Molecular and Cellular Endocrinology* 185:135-144.

Chandramouli C, Sheau T Y, Yi LL, So HT and Abdul KK. 2011. Glycyrrhizic Acid Improves Lipid and Glucose Metabolism in High-Sucrose-Fed Rats. *Journal of endocrinology and metabolism* 1: 125-141.

Charmandari E, Kino T, Souvatzoglou E and Chrousos GP. 2003. Pediatric stress: hormonal mediators and human development. *Hormone Research* 59: 161-179.

Corona-Pérez A, Díaz M, Soto I, Cuevas E, Martínez-Gómez M, Castelán F, Rodríguez-Antolín J and Nicolás Toledo L. 2015. High sucrose intake ameliorates the accumulation of hepatic triacylglycerol promoted by restraint stress in young rats. (En revisión).

Dallman MF, Akana SF, Laugero KD, Gómez F, Manalo S, Campana ME and Bhatnagar S. 2003. A spoonful of sugar: feedback signals of energy stores and corticosterone regulate responses to chronic stress. *Physiology and Behavior* 79:3-12.

Dallman MF, la Fleur SE, Pecoraro NC, Gómez F, Houshyar H and Akana SF. 2004. Minireview: Glucocorticoids-Food Intake, Abdominal Obesity, and Wealthy Nations in 2004. *Endocrinology* 145: 2633-2638.

D'Angelo S, Ingrosso D, Perfetto B, Baroni A, M Zappia , Lobianco LL , Tufano MA and Galletti P. 2001. UVA irradiation induces l-isoaspartyl formation in melanoma cell proteins. *Free Radical Biology and Medicine* 31: 1-9.

D'Angelo S, Ingrosso D, Migliardi V, Sorrentino A, Donnarumma G, Baroni A, Masella L, Tufano MA, Zappia M and P Galletti. 2005. Hydroxytyrosol, a natural antioxidant from olive oil, prevents protein damage induced by long-wave ultraviolet radiation in melanoma cells. *Free Radical Biology and Medicine* 38: 908-919.

de Oliveira C, Scarabelot VL, de Souza A, de Oliveira CM, Medeiros LF, de Macedo IC, Marques Filho PR, Cioato SG, Caumo W and IL Torres. 2014. Obesity and chronic stress are able to desynchronize the temporal pattern of serum levels of leptin and triglycerides. *Peptides* 51: 46-53.

de Koning L, Malik VS, Kellogg MD, Rimm EB, Willet WC and Hu FB. 2012. Sweetened Beverage Consumption, Incident Coronary Heart Disease, and Biomarkers of Risk in Men. *Epidemiology and Prevention* 125: 1735-1741.

Díaz-Aguila Y. Consumo de sacarosa más estrés: relación entre leptina, corticosterona y alteraciones histológicas en la glándula adrenal en ratas machos. Tesis de doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Díaz-Aguila Y, Castelán F, Cuevas E, Zambrano E, Martínez-Gómez M, Muñoz A, Rodríguez-Antolín J and Nicolás Toledo L. 2015. Consumption of sucrose from infancy increases the visceral fat accumulation, concentration of triglycerides, insulin and leptin, and generates abnormalities in the adrenal gland. *Anatomical Science International* DOI 10.1007/s12565-015-0279-9.4.

De Silva DC and Wijesiriwardene B. 2007. The adrenal glands and their functions. *The medical journal Ceylon* 52: 95-100.

Epel E, Lapidus R, McEwen B and Brownell K. 2001. Stress may add bite to appetite in women: a laboratory study of stress-induced cortisol and eating behavior. *Psychoneuroendocrinology* 26: 37-49.

Epel E, Jimenez S, Brownell K, Stroud L, Stoney C and Niaura R. 2004. Are stress eaters at risk for the metabolic syndrome?. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1032: 208-210.

El Hafidi M and Baños G. 1997. In vivo plasma lipid oxidation in sugar-induced rat hipertrigliceridemia and hypertension. *Hypertension* 30: 624-628.

El Hafidi M, Valdez R and 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, Ramírez J and 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 and 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 and Baños G. 2006. Effect of sex hormones on non-esterified fatty acids, intra-abdominal fat accumulation, and hypertension induced by sucrose diet in male rats. *Clinical Experimental Hipertension* 28: 669-668.

Fâchin A, Silva RK, Noschang CG, Pettenuzzo L, Bertinetti L, Billodre MN, Peres W, Busnello F and Dalmaz C. 2008. Stress effects on rats chronically receiving a highly palatable diet are sex-specific. *Appetite* 51: 592-598.

Fernando HA, Chin HF, Ton SH and Abdul Kadir K. 2013. Stress and Its Effects on Glucose Metabolism and 11 β -HSD Activities in Rats Fed on a Combination of High-Fat and High-Sucrose Diet with Glycyrrhizic Acid. *Journal of Diabetes Research* 2013: 1-18.

Fuente-Martín E, García-Cáceres C, Granado M, Sánchez-Garrido MA and Tena-Sempere M. 2012. Early postnatal overnutrition increases adipose tissue accrual in response to a sucrose-enriched diet. *American Journal Physiology Endocrinology and Metabolism* 302: 1586-1598.

Gerendai I and Hala'sz B. 1997. Neuroendocrine asymmetry. *Frontiers Neuroendocrinology* 18: 354-381.

Gotohda T, Tokunaga I and Kubo S. 2005. Toluene inhalation-induced adrenocortical hypertrophy and endocrinological changes in rat. *Life Sciences* 76: 1929-1937.

Henry JP, Liu YY, Nadra WE, Qian CG, Mormede P, Lemaire V, Ely D and Hendley ED. 1993. Psychosocial stress can induce chronic hypertension in normotensive strains of rats. *Hypertension* 21: 714-723.

Janeway Jr. CA, Travers P, Walport M and Sholmchilk MJ. 2003. Immunobiología: El sistema inmunitario en condiciones de salud y enfermedad. Editorial *Masson*. 619-620.

Johnson A and DiPietro LA. 2013. Apoptosis and angiogenesis; an evolving mechanism for fibrosis. *The FASEB Journal* 27: 3893-3901.

Kahn BB and Flier JS. 2000. Obesity and insulin resistance. *The journal of clinical investigation* 106: 473-481.

Kawasaki T, Igarashi K, Koeda T, Sugimoto K, Nakagawa K, Hayashi S, Yamaji R, Inui H, Fukusato T and Yamanouchi T. 2009. Rats fed fructose-enriched diets have characteristics of nonalcoholic hepatic steatosis. *The Journal of Nutrition and Disease* 139: 2067-2071.

Keegan CE and Hammer GD. 2002. Recent insights into organogenesis of the adrenal cortex. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 13: 200-208.

Krolow R, Noschang C, Arcego DM, Huffell AP, Marcolin ML, Benitz AN, Lampert C, Fitarelli RD and Dalmaz C. 2013. Sex-specific effects of isolation stress and consumption of palatable diet during the prepubertal period on metabolic parameters. *Metabolism* 62: 1268-1278.

Kyrou I, Chrousos GP and Tsigos C. 2006. Stress, visceral obesity and metabolic complications. *Annals of the New York Academy Science* 1083: 77-110.

Lalli E. 2010. Adrenal cortex ontogenesis. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism* 24: 853-864.

Lashansky G, Saenger P, Dimartino-Nardi J, Gautier T, Mayes D, Berg G and Reiter E. 1992. Normative data for the steroidogenic response of mineralocorticoids and their precursors to adrenocorticotropin in a healthy pediatric population. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 75: 1491-1496.

Laugero KD, Campana ME, Bhatnagar S, L Soriano and Dallman MF. 2001. Sucrose Ingestion Normalizes Central Expression of Corticotropin-Releasing-Factor Messenger Ribonucleic Acid and Energy Balance in Adrenalectomized Rats: A glucocorticoid-Metabolic-Brain Axis. *Endocrinology* 142: 2796-2804.

Levin BE, Richard D, Michel C, Servatius R. 2000. Differential stress responsivity in diet-induced obese and resistant rats. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative Company Physiology* 279: 1357-1364.

London E and Castonguay WT. 2009. Diet and the role of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase-1 on obesity. *Journal of Nutritional Biochemistry* 20: 485-493.

Macedo IC, Medeiros LF, Oliveira C, Oliveira CM, Rozisky JR, Scarabelot VL, Souza A, Silva FR, Santos VS, Cioato SG, Caumo W and Torres IL. 2012. Cafeteria diet-induced obesity plus chronic stress alter serum leptin levels. *Peptides* 38: 189-196.

Malendowicz LK, Tortorella C, Nowak KW, Nussdorfer GG, Hochól A and Majchrzak M. 2000. Leptin prolonged administration inhibits the growth and glucocorticoid secretion of rat adrenal cortex. *Endocrine Research* 2: 141-152.

Mantha L, Palacios E and Deshaies Y. 1999. Modulation of triglyceride metabolism by glucocorticoids in diet-induced obesity. *The American Journal of Physiology* 277: 455-464.

Mantha L and Deshaies Y. 2000. Energy intake-independent modulation of triglyceride metabolism by glucocorticoids in the rat. *The American Journal of Physiology* 278: 1424-1432.

Marti A, Martínez-González MA and Martínez JA. 2008. Interaction between genes and lifestyle factors on obesity. *Proceedings of the Nutrition Society* 67: 1-8.

Martínez Calejman C, Di Gruccio JM , Mercau ME , Repetto EM , Astort F , Sánchez R , Pandolfi M , Berg T , Schreier L , Arias P and Cymeryng CB. 2012. Insulin sensitization with a peroxisome proliferator-activated receptor α agonist prevents adrenocortical lipid infiltration and secretory changes induced by a high-sucrose diet. *The Journal of endocrinology* 214: 267-276.

Meikle AW, Kushnir MM, Rockwood AL et al. 2007. Adrenal steroid concentrations in children seven to 17 years of age. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism* 20: 1281-1291.

Michel C, Duclos M, Cabanac M and Richard D. 2005. Chronic stress reduces body fat content in both obesity-prone and obesity-resistant strains of mice. *Hormones and Behavior* 48: 172-179.

Minor TR and Saade S. 1997. Poststress glucose mitigates behavioral impairment in rats in the "learned helplessness" model of psychopathology. *Biology Psychiatry* 42: 324-334.

Miyamoto H, Mitani F, Mukai K, Suematsu M and Ishimura Y. 1999. Studies on cytochrome in adult rat adrenal cortex: circadian and zonal variations and their modulation by adrenocorticotrophic hormone. *Journal of Biochemistry* 6: 1175-1183.

Mouritsen A, Johansen ML, Wohlfahrt-Veje C et al. 2014. Determination of adrenal volume by MRI in healthy children: associations to age, body size, pubertal stage and serum levels of adrenal androgens. *Clinical Endocrinology* 81: 183-189.

Naska A, Orfanos P, Trichopoulou A, May AM, Overvad K, Jakobsen MU, et al. 2011. Eating out, weight and weight gain. A cross-sectional and prospective analysis in the context of the EPIC-PANACEA study. *International Journal of Obesity* 35: 416-426.

Ohashi A, Yamada Y, Sakaguchi K, Inoue T, Kubo M, et al. 2001. A natural history of adrenocorticotropin-independent bilateral adrenal macronodular hyperplasia (AIMAH) from preclinical to clinically overt cushing's syndrome. *Endocrine Journal* 48: 677-683.

Opherk C, Tronche F, Kellendonk C, Kohlmüller D, Schulze A, Schmid W and 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.

Oron-Herman M, Kamari Y, Grossman E, Yeger G, Peleg E, Shabtay Z, Shamiss A and Sharabi Y. 2008. Metabolic syndrome: comparison of the two commonly used animal models. *American Journal of Hypertension* 21: 1018-1022.

Pacák K and Palkovits M. 2001. Stressor Specificity of Central Neuroendocrine Responses: Implications for Stress-Related Disorders. *Endocrinology* 22: 502-548.

Palmert MR, Hayden DL, Mansfield MJ, Crigler JF Jr, Crowley WF Jr, Chandler WD and Boepple PA. 2001. The longitudinal study of adrenal maturation during gonadal suppression: evidence that adrenarche is a gradual process. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86: 4536-4542.

Passos MC, Ramos CF and Moura EG. 2000. Long term effects of malnutrition in rats during lactation on the body weight of offspring. *Nutrition Research* 20: 1603-1612.

Passos MC, Vicente LL, Lisboa PC and de Moura EG. 2004. Absence of anorectic effect to acute peripheral leptin treatment in adult rats whose mothers were malnourished during lactation. *Hormone Metabolic Research* 36: 625-629.

Pecoraro N, Reyes F, Gomez F, Bhargava A and Dallman MF. 2004. Chronic stress promotes palatable feeding, which reduces signs of stress: feedforward and feedback effects of chronic stress. *Endocrinology* 145: 3754-3762.

Perello M and Spinedi E. 2004. Neuroendocrine aspects of obesity. *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. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Pérez-Torres I, Roque P, El Hafidi M, Diaz-Diaz E and 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.

Pervanidou P and Chrousos GP 2012. Metabolic consequences of stress during childhood and adolescence. *Metabolism* 61: 611-619.

Perry RJ, Zhang XM, Zhang D et al. 2014. Leptin reverses diabetes by suppression of the hypothalamic–pituitary–adrenal axis. *Nature Medicine* 20: 759-763.

Ricart-Jané D, Rodríguez-Sureda V, Benavides A, Peinado-Onsurbe J, López-Tejero MD and Llobera M. 2002. Immobilization stress alters intermediate metabolism and circulating lipoproteins in the rat. *Metabolism* 51: 925-931.

Ritchie EJ and Balasubramanian S. 2011. Anatomy of the pituitary, thyroid, parathyroid and adrenal glands. *Basic Sciences* 29: 403-440.

Roberge C, Carpentier AC, Langlois MF, Baillargeon JP, Ardilouze JL, Maheux P and Gallo-Payet N. 2007. Adrenocortical dysregulation as a major player in insulin resistance and onset of obesity. *American Journal Physiology and Endocrinology Metabolic* 293: 1465-1478.

Rodes J, Pierre-Benhamou J, Bircher J, McIntyre N and Rizzetto M. 2001. Tratado de Hepatología Clínica. 2da edición editorial Masson tomo II: 1993-1994.

Rojas J, Bermúdez V, Leal E, Aparicio D, Peña G, Acosta L, Finol F, Urdaneta A, Colmenares C, Almarza J, Linares S, Carrillo M and Bustamante M. 2008. Origen étnico y enfermedad cardiovascular. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica* 27: 41-58.

Roncal-Jimenez CA, Lanaspa MA, Rivard CJ, Nakagawa T, Sánchez Lozada-LG, Jalal D, Andrés Hernando-A, Tanabe K, M Madero, Li N, Cicerchi C, Mc Fann K, Sautin YY and Johnson RJ. 2011. Sucrose induces fatty liver and pancreatic inflammation in male breeder

rats independent of excess energy intake. *Metabolism clinical and experimental* 60: 1259-1270.

Roubos EW, Dahmen M, Kozicz T and Xu L. 2012. Leptin and the hypothalamo-pituitary-adrenal stress axis. *General and Comparative Endocrinology* 177: 28-36.

Sapolsky MR, Romero LM and 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 and Leibel LR. 2003. Is the Energy Homeostasis System Inherently Biased Toward Weight Gain?. *Diabetes* 52: 232-238.

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

Serrano-García 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.

Silveira PP, Xavier MH, Souza FH, Manoli LP, Rosat RM, Ferreira MB, et al. 2000. Interaction between repeated restraint stress and concomitant midazolam administration on sweet food ingestion in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 33: 1343-1350.

Smith AW, Baum A and Wing RR. 2005. Stress and weight gain in parents of cancer patients. *International of Journal Obesity* 29: 244-250.

Stimson RH and Walker BR. 2007. Glucocorticoids and 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 in obesity and the metabolic syndrome. *Minerva Endocrinology* 32: 141-159.

Stone AA and Brownell KD. 1994. The stress eating paradox: multiple daily measurements in adult males and females. *Psychology Health* 9: 425-436.

Strack AM, Akana SF, Horsley CJ and Dallman MF. 1997. A hypercaloric load induces thermogenesis but inhibits stress responses in the SNS and HPA system. *The American Journal of Physiology* 272: 840-848.

Sullivan RM and Gratton A. 1999. Lateralized effects of medial prefrontal cortex lesions on neuroendocrine and autonomic stress responses in rats. *The Journal Neuroscience* 19: 2834-2840.

Szigethy E, Conwell Y, Forbes NT, Cox C and Caine ED. 1994. Adrenal weight and morphology in victims of completed suicide. *Biological Psychiatry* 36: 374-380.

Teixeira C, Passos M, Ramos C, Dutra S and Moura E. 2002. Leptin serum concentration, food intake and body weight in rats whose mothers were exposed to malnutrition during lactation. *Journal of Nutrition Biochemistry* 13: 493-498.

Torres IL, Gamaro GD, Silveira-Cucco SN, Michalowski MB, Correa JB, Perry ML and Dalmaz C. 2001. Effect of acute and repeated restraint stress on glucose oxidation to CO₂ in hippocampal and cerebral cortex slices. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 34: 111-116.

Torres JS and Nowson AC. 2007. Relationship between stress, eating behavior, and obesity. *Nutrition* 23: 887-894.

Ulrich-Lai YM, Figueiredo HF, Ostrander MM, Choi DC, Engeland WC and Herman JP. 2006. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 291: 965-973.

Vanaelst B, De Vriendt T, Huybrechts I, Rinaldi S and De Henauw S. 2012. Epidemiological approaches to measure childhood stress. *Pediatric and Perinatal Epidemiology* 26: 280-297.

Vegiopoulos A and Herzig S. 2007. Glucocorticoids, metabolism and metabolic diseases. *Molecular and Cellular Endocrinology* 275: 43-61.

Vylitova M, Miks I and Pácha J. 1998. Metabolism of Corticosterone in Mammalian and Avian Intestine. *General and Comparative Endocrinology* 109: 315-324.

12. GLOSARIO

Síndrome metabólico: condición que incluye diversas alteraciones fisiológico-metabólicas (intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina, presión arterial, obesidad y dislipidemias) consideradas factores de riesgo de enfermedades cardiovasculares que generan un alto riesgo de mortalidad.

Lipogénesis: formación de ácidos grasos a partir de glucosa y triglicéridos que vienen de la circulación para formar ácidos grasos en el tejido adiposo a través de la hormona lipoproteína lipasa (LPL).

Lipolisis: proceso metabólico mediante el cual los triglicéridos son hidrolizados para convertirse en ácidos grasos y posteriormente dirigirse al hígado para formar nueva glucosa.

Gluconeogénesis: formación de glucosa a partir de otros sustratos no glucosídicos como aminoácidos, lípidos, lactato, glicerol, entre otros.

Hiperglucemia: elevación de la glucosa sanguínea por encima de los valores normales.

Esteatosis hepática: patología caracterizada por la acumulación de triglicéridos en el hígado.

Hipertrofia: crecimiento anormal y excesivo de un órgano debido a un aumento en el tamaño de sus células.

Hiperplasia: aumento anormal de tamaño que sufre un órgano debido al incremento del número de células normales que lo forman.

CRH: hormona liberadora de corticotropina, hormona peptídica neurotransmisor involucrado en la respuesta al estrés.

ACTH: hormona polipeptídica producida por la hipófisis y que estimula a las glándulas suprarrenales. Ejerce su acción sobre la corteza suprarrenal estimulando la esteroidogénesis, estimula el crecimiento de la corteza suprarrenal y la secreción de corticosteroides.

PEPCK: enzima fosfoenolpiruvato carboxiquinasa de la familia de las liasas que participa en la ruta metabólica de la gluconeogénesis.

Andrógenos: hormona que provoca la aparición de caracteres secundarios masculinos, como la barba o el tono de la voz.

Catecolaminas: son neurotransmisores que se vierten al torrente sanguíneo. Son un grupo de sustancias que incluyen la adrenalina, la noradrenalina y la dopamina, las cuales son sintetizadas a partir del aminoácido tirosina.

Presión arterial: es la fuerza que ejerce la sangre contra las paredes de las arterias.

13. ANEXOS

13.1 Deshidratación de la glándula adrenal

1. Después de la disección, mantener el tejido en Bouin por 24 horas.
2. Sacar el tejido del Bouin 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. 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	20 min.
10	Xileno	20 min.
11	Xileno	20 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 Tinción 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 amoniacal	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
Montaje		Cytoseal TM 60	

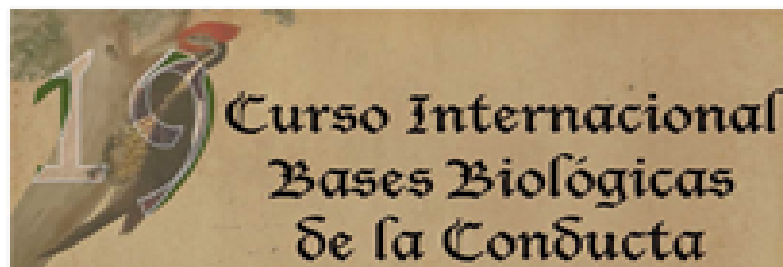
- En cada canastilla caben 32 portaobjetos.
- En caso de meter más de dos trenes el tren 3 y 4 darles más tiempo en el paso 12 y 14.
- Revisar al salir el tren en la hematoxilina, eosina, alcohol ácido y alcohol amoniacal un porta en el microscopio para ver cómo se tiñe.
- En caso de que a la hora de montar con el cytoseal queden burbujas regresar el porta al Xileno para volver a montar.

13.3 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

14. PUBLICACIONES



Cambios histológicos en la glándula adrenal inducido por el consumo de sacarosa y estrés en ratas machos

Kenia Arenal Juárez ¹, Ida Soto Rodríguez ², Francisco Castelin ³, Margarita Martínez-Gómez ^{2, 4}, Estela Cuevas ², Jorge Rodríguez-Antolín ², Leticia Nicolás-Tolado ²

¹Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, ²Facultad de Biociencias, Universidad Veracruzana, ³Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, ⁴Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM.

Resumen

Los glucocorticoides secretados por las glándulas adrenales, juegan un papel crítico en el metabolismo de carbohidratos y lípidos. Estos se han asociado con el desarrollo del síndrome metabólico. Sin embargo, en pacientes obesos y en ratas adultas con dieta alta en sacarosa, los niveles de glucocorticoides son normales o incluso bajos. En modelos animales adrenalectomizados, se revierte el efecto de la glucosa, insulina y triglicéridos alterados provocado por el consumo de dieta rica en grasas-sacarosa. Recientemente, hemos mostrado que el consumo de sacarosa al 30%, al dextro durante tres meses, modifica la histología de la glándula adrenal, sin afectar la concentración de corticosterona. En modelos animales se ha mostrado, que el estrés combinado con dieta hipercalórica, incrementa el peso de la glándula adrenal, alterando o no la concentración de corticosterona. Sin embargo, no se ha hecho un análisis histológico de la glándula adrenal. Objetivo: el objetivo del trabajo es determinar el efecto del consumo de sacarosa más el estrés sobre las características histológicas de la glándula adrenal. Metodología: ratas macho Wistar (n=32) fueron divididas en cuatro grupos (8/grupo) experimentales: ratas que consumen agua simple (C), agua ~~hipercalórica~~ (E), agua azucarada 30% (A30) y agua ~~azucarada~~ (A30+E). Para someter a los animales a estrés, se colocaron en tubos de plástico, fijados con cinta adhesiva en el exterior, un extremo se mantiene abierto para que la rata pueda respirar y son expuestas a 1hr diaria de estrés por la mañana (entre 9:00 y 12:00) durante los 5 días de la semana y durante el último mes (3er mes) del consumo de agua (sin estrés los fines de semana). Al sacrificio se extrae la glándula adrenal, y fue fijada en Bouin, y deshidratada en alcohol de manera ascendente, aclarada en xilol e incluida en Paraplast. Los cortes histológicos de 7 μ m fueron teñidos con Hematoxilina-Eosina (H-E) y Tricrómica de Masson. Resultados: Se observa que en el grupo estresado, el tamaño de la médula adrenal fue afectado de manera diferente, la médula derecha es de menor tamaño mientras que la médula izquierda es de mayor tamaño. El grupo A30 presenta más espacios sinusoidales y células globosas en la zona reticular y en la médula hay espacios sinusoidales grandes con infiltración de colágeno, mientras que en la izquierda, las células cromafines son más compactas con pocos espacios y con la presencia de tejido conectivo dentro de la médula. El grupo A30+E muestra espacios sinusoidales en la zona reticular y el tamaño de la médula es mayor comparado con los demás grupos, además se observa a las células cromafines más compactas con la presencia de vasos sanguíneos grandes pero con una excesiva acumulación de eritrocitos, lo que podría estar ocasionando una congestión y la interrupción del flujo sanguíneo en ambas médulas a pesar de la presencia de los vasos sanguíneos grandes, mostrando así el impacto que tiene el estrés más el consumo de sacarosa sobre la histomorfología. Hasta el momento, el análisis del grosor de la zona fascicular de la glándula derecha muestra que la sacarosa disminuye el grosor de esta capa comparado con el grupo C sin diferencias en el porcentaje de células, por el contrario, en la glándula izquierda no se encuentran diferencias en el grosor pero disminuye el porcentaje de células grandes en el grupo A30. Conclusión: El consumo elevado de sacarosa se correlaciona con una organización diferente de la glándula adrenal. Mientras que la combinación de la dieta y el estrés provocan el aumento en el tamaño de vasos sanguíneos, lo que probablemente pudiera estar ocasionando una congestión por la acumulación de eritrocitos interrumpiendo así el flujo sanguíneo en ambas médulas, lo que probablemente pudiera afectar su funcionalidad y la respuesta a la capacidad de responder ante un estímulo estresante. Financiamiento: CONACYT a AJK (553887).



Consumo de sacarosa más estrés al destete afecta la glándula adrenal

Díaz-Aguila Yadira (Estudiante de posgrado)¹, Rodríguez-Antolín Jorge², Castelán Francisco², Atonal Juárez Kenia³, Díaz-Muñoz Mauricio⁴ y Nicolás-Toledo Leócia².

¹Doctorado en Ciencias Biológicas, UATx,

²Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx,

³Maestría en Ciencias Biológicas, UATx,

⁴Instituto de Neurobiología, Campus UNAM-Juriquilla.

Resumen

Recientemente, hemos mostrado que el consumo de sacarosa al 30%, al destete durante tres meses, incrementa la adiposidad visceral y altera la histología de la glándula adrenal, sin modificar las concentraciones de corticosterona en suero. En modelos animales se ha mostrado, que el estrés combinado con dieta hipercalórica, incrementa el peso de la glándula adrenal, alterando o no la concentración de corticosterona, sin embargo, estos resultados son dependientes de la intensidad, frecuencia y duración del estrés y la dieta. Ahora estamos interesados en evaluar la función de la glándula adrenal ante una situación de estrés. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto del consumo de sacarosa más el estrés al destete sobre las características histológicas de la glándula adrenal y la concentración de corticosterona. Para ello, utilizamos ratas macho Wistar de 21 días de edad (n=32). Las ratas fueron divididas en cuatro grupos (8/grupo) experimentales: ratas que consumen agua simple (C), agua simple+estrés (E), agua azucarada 30% (A30) y agua azucarada+estrés (A30+E). Los animales fueron sometidos a estrés crónico mediante inmovilización durante cuatro semanas. Al sacrificio se extrajo la glándula adrenal, fue fijada en Bouin, deshidratada en alcoholes ascendentes, aclarado en xilol e incluido en paraplast. Los cortes histológicos fueron teñidos con Tricrómica de Masson. La concentración de corticosterona se midió por el método de ELISA. Los resultados fueron analizados con ANOVA de dos vías y Newman Keuls como post-hoc. Encontramos, que el estrés incrementa los niveles de corticosterona contrario a lo sucedido en los animales A30, sin embargo, el peso de la glándula adrenal derecha se ve alterado con ambos estímulos; el estrés, la dieta y la interacción entre estos factores modifican las variables histológicas de la glándula. Al parecer el consumo de sacarosa revierte los daños ocasionados por el estrés. Financiamiento: CONACYT a YDA (366801); CONACYT INFR-2014-01-I010/188/2014; CONACYT C-122/2014-I010/1632014; CAYPI-UATX-2014.