



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**  
FACULTAD DE MEDICINA

# **TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO CIRUJANO**

## **TÍTULO:**

**“ASOCIACIÓN ENTRE SINDROME METABÓLICO Y  
ALTERACIÓN DEL EJE HIPOTALÁMICO HIPÓFISO  
TIROIDEO EN UN ENSAYO PRE-CLÍNICO DE RATAS  
MACHO SPRAGUE-DAWLEY”**

## **INVESTIGADORA PRINCIPAL:**

**THALÍA ALMENDRA MILAGROS COLMENARES ARCE**

## **ASESORA:**

**DRA. FRINE SAMALVIDES CUBA**

2017

## RESUMEN

*Introducción:* el síndrome metabólico es una constelación de entidades metabólicas y neuroendocrinas<sup>1</sup> que contribuye a la constitución de estados crónicos pro-inflamatorios e hipercoagulantes. Por ello, el papel de la termogénesis, el cual se encarga de mantener la homeostasis de la energía liberada, es sumamente importante en este contexto. Siendo estas últimas las encargadas de controlar los cambios del metabolismo, ¿cuál es la asociación entre el síndrome metabólico y la alteración del eje hipotalámico hipofiso tiroideo en ratas macho *Sprague-Dawley*?

*Objetivos:* evaluar la asociación entre el síndrome metabólico y la alteración del eje hipotálamo hipofiso tiroideo en ratas macho Sprague Dawley. Además, determinar las variables clínicas del síndrome metabólico.

*Material y métodos:* se trabajó con 49 ratas Sprague-Dawley de 7 semanas divididas en dos grupos (control (n = 10) y experimental (n = 39))<sup>26</sup>. Cada grupo tuvo su propia dieta (dieta hipograsa y grasa-hipercarbohidratada) que se administraron durante 28 semanas antes de que comenzara la fase experimental.

*Resultados:* el 62% de las ratas experimentales fueron expuestas a normoxia exclusiva (n=17/27); la tasa de supervivencia fue del 55%. El total de las obesas, fue 17% (n=3), todas estas inicialmente normotensas. Además, el 100% cumplió con la definición de síndrome metabólico. Las ratas hipertensas ganaron  $322 \pm 103,66$  g; las normotensas,  $331 \pm 108,28$  g y los controles,  $272 \pm 5,97$  g. Además, n = 3/13 eran normales, n = 1/13 tuvo hipotiroidismo franco, n = 4/14 tenían hipotiroidismo primario, n = 3/13 tenían hipotiroidismo subclínico y en n = 2/13 la conclusión fue incompleta. De las ratas normotensas y los controles, no hubo asociación con alteraciones del eje tiroideo.

*Conclusiones:* El síndrome metabólico, según este estudio, no tiene una asociación contundente con la alteración del eje hipotalámico hipofiso tiroideo. El aumento del peso fue estadísticamente significativo para las ratas controles y las alimentadas con dieta grasa hipercarbohidratada durante la fase de inducción, mientras que, en la fase experimental sólo se mantuvo esta tendencia para las ratas controles. La variación de presión arterial sistólica y diastólica fue congruente con la variación del peso en los grupos de ratas con las que se trabajó.

**MeSH:** Síndrome metabólico, hormonas tiroideas, Sprague-Dawley

## ABSTRACT

*Introduction:* Metabolic syndrome is a constellation of metabolic and neuroendocrine entities that contribute to the constitution of chronic pro-inflammatory and hypercoagulant states. Therefore, the role of thermogenesis, which is responsible for the maintenance of homeostasis of the energy released, is extremely important in this context. Also, the latter are responsible for metabolic changes. This said, what is the association between the metabolic syndrome and the alteration of the hypothalamic pituitary thyroid axis in male *Sprague-Dawley* rats?

*Objectives:* Evaluate the association between metabolic syndrome and the alteration of the hypothalamic pituitary thyroid axis in male *Sprague-Dawley* rats. In addition, determine the clinical variables of the metabolic syndrome and the composition of the diet<sup>27</sup>.

*Materials & Methods:* We worked with 49 5-week-old male *Sprague-Dawley* rats divided into two groups (control (n=10) and experimental group (n=39)). Each group had its own diet (hypoglycemic and fat-hypercarbohydrate diet) that were given for 28 weeks once the experimental phase began. Next, the blood pressure and heart rate were measured. This procedure was repeated 28 days later. Finally, the rats were killed by heart puncture 24 hours later.

*Results:* 62% of the experimental rats were exposed to exclusive normoxia (n = 17/27); the survival rate was 55%. The total number of obese women was 17% (n = 3), all of whom were initially normotensive. In addition, 100% met the definition of metabolic syndrome. Hypertensive rats gained  $322 \pm 103.66$  g; normotensive,  $331 \pm 108.28$  g and controls,  $272 \pm 5.97$  g. Also, n = 3/13 were normal, n = 1/13 had frank hypothyroidism, n = 4/14 had primary hypothyroidism, n = 3/13 had subclinical hypothyroidism, and when n = 2/13 the conclusion was incomplete. Of the normotensive rats and controls, there was no association with thyroid axis alterations.

*Conclusions:* The metabolic syndrome, according to this study, doesn't seem to have a strong association with the alteration of the hypothalamic pituitary thyroid axis. The weight increase was statistically significant for both groups of rats during the induction phase; however, during the experimental phase, only the control rats maintained this tendency. The variation of the pressure was consistent with the weight variation seen in both groups.

**Key Words:** Metabolic Syndrome, thyroid hormone, *Sprague-Dawley*

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>PÁGINA</b>
INTRODUCCIÓN	1
I. OBJETIVOS	4
II. MATERIALES Y MÉTODOS	4
III. RESULTADOS	9
i. Efecto de la dieta en la inducción del síndrome metabólico	9
ii. Análisis de otros parámetros asociados al síndrome metabólico inducido por la dieta	10
iii. Análisis de los parámetros asociados al eje hipotalámico hipofisario tiroideo en los grupos control y experimental, así como su asociación al síndrome metabólico inducido por la dieta	11
IV. DISCUSIÓN	11
V. FORTALEZAS Y LIMITACIONES	21
VI. CONCLUSIONES	21
VII. ANEXOS	23
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

## INTRODUCCIÓN

El Síndrome Metabólico (SM) está conformado por una amplia gama de entidades metabólicas y neuroendocrinas<sup>1</sup>, proinflamatorias e hipercoagulables generadoras de daño endotelial crónico al presentarse en conjunto<sup>2,3</sup>. Ocurren en un individuo con cierta predisposición genética, cuyo fenotipo manifiesta resistencia a la insulina, adiposidad visceral y dislipidemia. Asimismo, favorece la expresión de anormalidades cardiovasculares<sup>28</sup> y diabetes mellitus tipo 2<sup>3</sup>. De esta manera, existe mayor probabilidad de que ocurran en conjunto pues se genera un efecto de sinergia<sup>4</sup>. Con ello, actualmente los pacientes que la padecen presentan mayor morbi-mortalidad<sup>5</sup>.

Los antecedentes genéticos y el *modus vivendi* interaccionan entre sí, modelando su instauración y desarrollo<sup>6,7</sup>, junto con su etiología que sigue siendo controversial. Esta falta de unidad fisiopatológica ha llevado a que las diversas instituciones internacionales establezcan numerosos criterios diagnósticos en los cuales, hasta ahora, no se ha establecido un consenso<sup>8</sup>. Es irónico que, a pesar del incremento en información al respecto y de ser una patología con carácter preventivo, la incidencia y prevalencia, a nivel mundial, haya aumentado en los últimos años<sup>48</sup>.

Por otro lado, el hecho de estudiar la termogénesis, la cual se encarga de mantener la homeostasis de la energía liberada, es sumamente importante en este contexto por la implicancia que tienen las hormonas tiroideas a nivel sistémico. Estas pueden estimular más calor aumentando el recambio de ATP y reduciendo la eficiencia termodinámica de esta molécula. El eje hipotalámico hipofisario tiroideo, a su vez, aumenta el gasto energético por estimulación de receptores beta-adrenérgicos y elevación de hormonas tiroideas con el objetivo de mantener el equilibrio metabólico<sup>9,10,12</sup>. En el hipometabolismo, como ocurre en el síndrome metabólico, hay una disminución del gasto energético, con aumento de peso y de niveles de colesterol. Adicionalmente, hay una disminución de la lipólisis y gluconeogénesis. Estas hormonas influyen en las vías metabólicas clave de distintos órganos que controlan el balance energético, regulando el ingreso y salida de la misma<sup>20</sup>.

El hipotiroidismo se asocia consistentemente a un aumento en el colesterol total y lipoproteínas de baja densidad que mejoran la sustitución de tiroxina. Es importante mencionar que este último también es un factor de riesgo para enfermedad cardiovascular

y aterosclerosis<sup>11</sup>. La alteración de este eje y su relación con la fisiopatología del SM, no se conocen del todo.

Para estudiar la dinámica del eje hipotalámico hipófiso tiroideo se emplea hormona estimulante de tiroides (TSH) en conjunto con la tetrayodotironina (T4L), la cual se emplea para evaluar, específicamente hipotiroidismo o hipertiroidismo según sus concentraciones séricas<sup>46</sup>. A pesar de que hay distintos resultados, Gutch y col (2017) han observado que, al estudiar los parámetros en sangre del síndrome metabólico y del eje hipotalámico hipófiso tiroideo, existe una correlación en humanos. En este caso, los triglicéridos, colesterol total, LDL, HDL y VLDL están en concentraciones más altas que en los controles<sup>45</sup>. Este descubrimiento permite que estas entidades, así como sus efectos, sean evaluados en conjunto.

Los trabajos experimentales sobre el tema, realizados en modelos animales, inducen el síndrome metabólico a través distintas vías, siendo la dieta híper calórica la que más se asemeja al estilo de vida en humanos<sup>13</sup>. Al emplear modelos animales, se puede reproducir con alta precisión los fenómenos biológicos que ocurren en humanos. A pesar que la principal limitación que poseen es la incapacidad de reproducir con exactitud dichos fenómenos<sup>47</sup>, su utilización permite aclarar el panorama sobre su fisiopatología, así como futuras medidas terapéuticas.

Ahondando en los criterios diagnósticos del SM la resistencia a la insulina se encuentra en la base de la pirámide. El índice de evaluación de modelo de homeostasis para la resistencia a la insulina (HOMA-IR por sus siglas en inglés) es un método matemático, empleado para evaluar su presencia en humanos. A pesar de que su aplicabilidad es cuestionada en varias especies animales por la escasa data para ser validada, es interesante evaluarla como una forma práctica y rápida de medición en el marco de un trabajo pre-clínico. Se ha observado que la cepa *Sprague-Dawley* es sensible a las dietas grasas hipercarbohidratadas, motivo que favorece su selección para inducir esta entidad y que expresen la enfermedad sin dificultades<sup>23</sup>. A nivel nacional, no se ha realizado, hasta el momento, algún modelo de SM o de la alteración del eje hipotalámico hipófiso tiroideo en esta cepa. Este hecho impulsa su estudio para comprender ambas entidades en pequeña escala dentro de nuestro contexto.

Las razones expuestas motivaron a plantearnos los objetivos presentados en este proyecto de investigación, evaluando así la asociación entre síndrome metabólico y la

alteración del eje hipotalámico hipófiso tiroideo en un modelo experimental de ratas macho *Sprague-Dawley*.

## I. OBJETIVOS

### Objetivos Principales:

Evaluar la asociación entre Síndrome Metabólico y alteración del eje hipotalámico hipofiso tiroideo en ratas macho *Sprague-Dawley*.

### Objetivos Específicos:

1. Determinar la diferencia de peso semanalmente durante el proceso de inducción de síndrome metabólico.
2. Evaluar la diferencia de presión arterial y frecuencia cardíaca de manera no invasiva finalizada la fase de inducción del SM.
3. Determinar el perfil lipídico mediante colesterol total y triglicéridos, el índice HOMA-IR mediante la medición de insulina basal y el perfil tiroideo mediante la medición de TSH y T4L.
4. Evaluar el impacto en el peso, frecuencia cardíaca, presión arterial y pruebas séricas mencionadas por las dietas empleadas en ambos grupos de roedores.

## II. MATERIAL Y MÉTODO

### **Diseño y lugar del estudio:**

Estudio experimental, pre-clínico, en animales de laboratorio realizado en el bioterio correspondiente al Laboratorio de Neurofisiología y Comportamiento ubicado en el Laboratorio de Investigación y Desarrollo, (LID). Se trabajó con ratas macho de la cepa *Spague-Dawley* obtenidos del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia<sup>29</sup> (UPCH).

### **Población del estudio, tamaño muestral y unidad de análisis:**

*Población de estudio:*

**Universo:** ratas macho *Sprague-Dawley*.

### **Criterios de inclusión:**

1. Ratas macho de 7 semanas de vida.
2. Ratas sin evidencia clínica de algún cuadro fisiopatológico.

**Criterios de eliminación:** ratas que hayan presentado clínica de algún cuadro fisiopatológico en algún momento del trabajo experimental.

*Muestra:* 49 ratas macho *Sprague-Dawley*<sup>13</sup> obtenidas del bioterio de la UPCH<sup>24</sup>. Para el cálculo de la muestra, se empleó el programa Epiinfo 6.0. Se utilizó una curva de 2 colas con un 95% de confianza y considerando 39 ratas en el grupo experimental y 10 en el grupo control, se obtuvo un poder del 82.47%.

*Unidad de análisis:* rata macho de la cepa *Sprague-Dawley* que iniciaron con 5 semanas de vida del bioterio de la UPCH.

#### **Definición operacional de variables:**

*Peso.* Fuerza con la cual la tierra atrae a un cuerpo cuya unidad de medida es el gramo según el Sistema Internacional de Unidades. Para cuantificarla, se empleó la balanza calibrada. Variable cuantitativa continua, de razón.

*Diferencia de peso:* Es la resta del peso obtenido entre una semana y otra. Variable cuantitativa continua, de razón.

*Síndrome Metabólico.* Resistencia a la insulina asociada a 2/5 entidades: hipertensión arterial, hiperglucemia, obesidad o hipertrigliceridemia. Para ello, se emplearon las variables del peso, presión arterial y pruebas séricas mencionadas. Variable dicotómica.

*Resistencia a la insulina.* Aumento en la secreción de insulina del grupo experimental a comparación del grupo control. Se utilizó el índice HOMA-IR como método indirecto de cuantificación:  $[\text{Glucosa (mg/dl)} \times \text{Insulina (Uuml)}] / 405$ . Variable cualitativa discreta, de razón.

*Colesterolemia:* Concentración sérica del colesterol total. Se considera normal 2.1 g/l. La obtención de la muestra de sangre para la medición correspondiente fue post-punción cardiaca. Variable cuantitativa continua, de razón.

*Hipercolesterolemia:* Concentración sérica del colesterol total moderadamente elevados 2.0 a 2.39 g/l y elevados 2.4 g/l. La obtención de la muestra de sangre para la medición correspondiente fue post-punción cardiaca. Variable cuantitativa continua, de razón.

*Trigliceridemia:* Concentración sérica de triglicéridos. Se considera normal <1.5 g/l. La obtención de la muestra de sangre para la medición correspondiente fue post-punción cardiaca. Variable cuantitativa continua, de razón.

*Hipertrigliceridemia:* Concentración sérica de triglicéridos moderadamente elevados a elevados 1.5-1.99 g/l, elevados 2.0-4.99 g/l y muy elevados  $\geq 5$  g/l. La obtención de la muestra de sangre para la medición correspondiente fue post-punción cardiaca. Variable cuantitativa continua, de razón.

*Presión arterial.* Fuerza con la que la sangre golpea la superficie de los vasos durante su recorrido una vez expulsada del corazón. Medido a través de un sensor de cola, dispositivo capaz de identificar la presión arterial proveniente de la arteria caudal. Variable cuantitativa continua, de razón.

*Hipertensión arterial.* Punto de corte: 130 mmHg de presión arterial sistólica. El grupo experimental, a su vez fue dividido en dos grupos, según el resultado de la presión arterial (ver 1.6 medición de presión arterial). Variable cuantitativa continua, de razón.

*Glicemia:* Concentración normal de glucosa en sangre con punto de corte máximo de 106 g/l. Se midió la glucosa basal post-punción cardiaca. Variable cuantitativa continua, de razón.

*Hiperglucemia.* Aumento del nivel de glucemia basal sérico en el grupo de ratas experimentales (normal hasta 106 g/l). Se midió la glucosa basal post-punción cardiaca. Variable cuantitativa continua, de razón.

*Alteración del eje hipotálamo hipófiso tiroideo.* Se cuantificó el TSH y T4L post-punción cardiaca y se calcularon percentiles con los resultados obtenidos:  $<P_{10}$  bajo,  $P_{10-50}$  normal,  $P_{50-90}$  alto,  $>P_{90}$  muy alto según los resultados obtenidos. Variable cuantitativa continua, de razón.

*Meta crónico:* término adjudicado en el presente trabajo de investigación para describir el tiempo de exposición de las ratas a la dieta. *Crónico* se emplea para un tiempo de exposición de 90 días. En este trabajo se expuso a las ratas por 33 semanas a la dieta.

### **Procedimientos y técnicas:**

El protocolo fue aprobado por el Comité Institucional de Ética en Investigación para Animales de la UPCH.

*Animales de experimentación:* se trabajó con 49 ratas macho de la línea no consanguínea *Sprague-Dawley* de 7 semanas de vida, del bioterio de la UPCH. Fueron divididas en 2 grupos: grupo experimental (39) y el grupo control (10). El grupo de ratas experimentales se dividió en dos subgrupos según la presión que

obtuvieron: normotensas (9) e hipertensas (18).

*Mantenimiento:* Los animales fueron sometidos a un régimen oscuridad-luz invertidos de 12 h (7 am - 7 pm); dispusieron de alimento preparado diariamente<sup>15</sup> y agua, *ad libitum*. Se contó con control sanitario y, además, se cambió el lecho 3 veces a la semana. Además, el bioterio era limpiado 2 veces por semana. La humedad ambiental se reguló mediante sílica-gel (3 unidades) y cambiadas 4-6 semanas aprox. Se evitó el uso de perfumes y desodorante durante la crianza de las ratas<sup>16</sup>.

*Dieta:* Tanto la dieta control como la experimental fueron preparadas artesanalmente, a partir de la utilizada por Panchal et al (2010)<sup>19</sup>. Las ratas controles recibieron una dieta hipograsa, basada en almidón de maíz, un carbohidrato de digestión lenta y de bajo índice glicémico. La dieta de las ratas experimentales fue grasa-hipercarbohidratada. Esta contuvo fructosa y glucosa como carbohidratos principales. Ambos grupos fueron alimentados meta-crónicamente. El tiempo de exposición fue 8 meses 1 semana, que equivale a casi 2.5 veces el tiempo establecido como *crónico*. Finalmente, cabe recalcar que, la ingesta de comida se pesó diariamente Las dietas utilizadas fueron aprobadas por el Comité de Ética de la UPCH.

*Peso:* Fue medido semanalmente.

*Medición de presión arterial*<sup>17</sup>: se empleó un sensor de cola, instrumento no invasivo, el cual mesura la variación de presión sobre su superficie táctil al ser colocado sobre la arteria caudal de la rata. Este procedimiento se aplicó a ambos grupos de ratas.

Es importante mencionar que, se hizo la distinción entre las ratas normotensas e hipertensas, en vista que, dadas las condiciones controladas del experimento, la primera medición la desviación estándar salió muy dispersa. Al tomar como punto de referencia 130 mmHg, estudio de van Vliet y Montani (2008)<sup>21</sup>, estos valores se hicieron más homogéneos

*Sacrificio mediante exanguinación por punción cardiaca:* 24 horas posteriores a la medición final de la presión a las ratas, se procedió al sacrificio de las mismas mediante la técnica de punción cardiaca. Para ello, primero se sedó a los roedores con una solución anestesia de ketamina (75g/kg) (ET-A-100®) y xilacina (4g/kg) (Dormi-Xil®). La comida fue retirada de

las jaulas (30 x 20 x 20 cm, capaces de albergar hasta 5 ratas cada una) 06 horas antes del procedimiento, dejándolas exclusivamente con agua. Se empleó una jeringa de 10 cc y aguja N°21 embebida con 0.2 ml de heparina de 25 000 UI (WUHAN UNI-PHARMA, China®). El volumen de heparina fue eyectado previamente al procedimiento.

La incisión fue abdominal, por capas y en dirección cefálica. Se cortó el tórax, la parrilla costal y el diafragma, con intención de exponer al corazón. Se colocaron dos pinzas, una en cada costilla, con intención de abrir el campo y exponer, con mayor, facilidad el corazón. Se atravesó el ventrículo izquierdo, y se aspiró toda la sangre posible con la jeringa. El volumen de sangre se vertió lentamente, sobre las paredes del tubo con activador de coágulo (Tubo BD Vacutainer®, México) y luego se agitó de la misma forma. Cada tubo se colocó inmediatamente en refrigeración por 20 minutos.

*Toma de muestras:* Los tubos se colocaron en una centrifugadora (Eppendorf) a 4400 RPM a contrapeso, en dos rondas de 10 minutos, para separar el suero de los cuerpos celulares. Con micropipetas, se separó el suero y luego, éste fue colocado en dos o tres eppendorf®, cada uno con el código y la fecha. Dichas muestras se mantuvieron refrigeradas a -20°C hasta su posterior procesamiento.

*Procesamiento de las muestras de sangre:* se mandó el análisis de las pruebas sanguíneas de glucosa basal, colesterol total, triglicéridos séricos, insulina, TSH y T4L<sup>30</sup>. Fueron realizados en el Laboratorio de Control de Calidad de la UPCH.

*Eutanasia:* Se sacrificó a ratas que enfermaron en el transcurso del experimento (n=4). Se aplicó 1 ml de ketamina y 0.5 ml de xilacina<sup>18</sup>.

*Procesamiento de muestras séricas:* Se contó con el apoyo del Laboratorio de Calidad del LIC para el procesamiento de las muestras obtenidas.

### **Análisis de resultados:**

Se empleó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar la distribución de la data con un 95% de confianza. Si esta tuvo una distribución que se ajustara a la distribución normal, se emplearon pruebas paramétricas el análisis de los resultados. De no tener distribución normal, los datos fueron analizados con pruebas no

paramétricas.

Además, se aplicó la tasa de crecimiento por periodo y tasa de crecimiento acumulado para evaluar la variación observada en el seguimiento de los pesos obtenidos semanalmente, mientras que la segunda evalúa la variación acumulada desde el inicio hasta el final del periodo evaluado. Se aplicó, además, la prueba de inferencia de diferencia de medias con la intención de evaluar si el efecto de la variable a analizar en el tiempo, tuvo o no un impacto significativo. El estadístico calculado se compara con las regiones de aceptación o rechazo y tuvo un nivel de confianza de 95%.

Finalmente, se analizaron las correlaciones para poder evaluar el comportamiento entre las pruebas séricas obtenidas de manera interna para cada grupo.

### **Aspectos éticos:**

#### *Animales*

- Las ratas tuvieron agua y comida a disposición ad libitum
- Se cambió el lecho 3 veces a la semana
- No se realizó procedimientos que les ejerza dolor adrede o que sean innecesarios
- Mantenimiento del bioterio en óptimas condiciones 2 veces/ semana.

El trabajo fue aprobado, así como también se obtuvo la actualización por parte del Comité Institucional de Ética para animales (CIEA) de la UPCH para la preservación de la ética de los animales de experimentación.

### **Financiamiento:**

Este proyecto de investigación, en el año 2014 fue ganador del fondo de apoyo a la investigación de la Facultad de Medicina Alberto Hurtado. Además, recibió una donación de la Familia Colmenares Arce.

### **Conflictos de interés:**

Los autores del presente artículo niegan conflicto de interés alguno.

## **III. RESULTADOS**

### **i. Efecto de la dieta en la inducción del síndrome metabólico**

La tasa sobrevivida de las ratas alimentadas con la dieta grasa-hipercarbohidratada en el presente estudio fue de 55% para la semana 33 de vida, mientras que para las

ratas controles llegó al 100%. Se realizó el seguimiento de la variación del peso por semana y se encontró una diferencia significativa entre lo obtenido por las ratas normotensas e hipertensas al compararlo con las ratas controles (ver Anexos: Gráfica 1). Además, se aplicó la tasa de crecimiento por periodo y la tasa de crecimiento compuesta para evaluar las diferencias (ver Anexos: Tabla 2).

Se obtuvo del 62% de las ratas experimentales finales expuestas a normoxia exclusivamente (n=17/27). El total de ratas obesas fue 17% (n=3), siendo todas estas, inicialmente normotensas. De las que sobrevivieron para el final de la inducción, todas (n=13/13 inicialmente hipertensas y n=18/18 inicialmente normotensas) cumplieron con la definición de síndrome metabólico. No pudo realizarse el mismo análisis con las ratas controles ni normotensas obesas solo expuestas a normoxia por su pequeño número, con el objetivo de compararlo con los puntos de corte de los percentiles obtenidos.

Las ratas fueron expuestas a las dietas durante 32 semanas experimentales, siendo 2.5 veces el tiempo establecido como crónico (meta-crónico). Además, se evidenció que, durante este periodo, 5 ratas fallecieron con una pérdida de peso súbita y progresiva. El peso llegó hasta 2/3 del mismo en una semana, aunado a un patrón reiterativo de lesiones dérmicas (ver Anexos: Fotos 1-7).

Además, se realizó el cálculo de las dietas administradas a los roedores considerando que éstas fueron realizadas de manera artesanal (ver Anexos: Tabla 1).

ii. Análisis de otros parámetros asociados al síndrome metabólico inducido por la dieta

El resultado de la presión arterial de las ratas controles estuvo por debajo de 130 mmHg en ambas oportunidades. En el caso de las experimentales, estas se dividieron en dos subgrupos: ratas normotensas y ratas hipertensas luego de la primera medición por la gran dispersión de los resultados. En el caso de las ratas normotensas el 75% (n=4) se hizo hipertenso en la segunda medición. Las ratas hipertensas se mantuvieron hipertensas, aunque, de las trece del subgrupo final, una sola presentó una presión ligeramente menor (ver Anexos: Gráfica 2).

Asimismo, se calculó las correlaciones y covarianzas entre cada una de las

muestras séricas evaluadas. Con ello, se halló que, en el caso de las ratas controles, la correlación entre la glucosa y la TSH fue elevada y positiva, a diferencia de la correspondiente a triglicéridos y TSH, la cual fue moderadamente alta y negativa (ver Anexos: Tabla 5).

El valor de los triglicéridos, en promedio, se encontró que, en las ratas controles, normotensas e hipertensas obtuvieron valores de triglicéridos en rango elevado: el promedio de las ratas controles fue  $2.48 \pm 14$  g/l. Por otro lado, el promedio de las ratas hipertensas fue de  $326 \pm 16$  g/l y  $329 \pm 14$  g/l de las hipertensas (ver Anexos: Gráfica 3).

Se calculó el índice HOMA-IR<sup>18</sup> y se obtuvo que el valor para las ratas controles fue  $2.062 \pm 0.361$ . Las ratas normotensas obtuvieron  $1.686 \pm 0.707$  y las hipertensas,  $1.611 \pm 0.47$  (ver Anexos: Tabla 3).

- iii. Análisis de los parámetros asociados al eje hipotalámico hipofisario tiroideo en los grupos control y experimental, así como su asociación al síndrome metabólico inducido por la dieta

Se calculó los percentiles de los valores obtenidos pertenecientes a las hormonas TSH y T4L. Se encontró que, en el caso de las ratas controles, ninguna tuvo alguna alteración en el eje hipotalámico hipofisario tiroideo. Lo mismo sucedió con las ratas obesas y normotensas; sin embargo, con respecto a las ratas hipertensas (n=3/13), se obtuvo niveles de T4L y TSH dentro de percentiles P10-50, lo que indica que no padecieron problema alguno en dicho eje. Además, (n=3/13) obtuvieron niveles de T4L y TSH en percentiles compatibles con hipotiroidismo subclínico. Una rata presentó hipotiroidismo franco y (n=4/13) presentaron hipotiroidismo primario. Finalmente, no se pudo concluir los resultados de dos ratas porque se requirió del valor de T3 y esto no se encontró en los objetivos del presente estudio (ver Anexos: Tabla 5).

#### **IV. DISCUSIÓN**

En la gráfica 1 (ver anexo) se observa las tendencias crecientes de los promedios de los pesos obtenidos semanalmente de las ratas controles, normotensas e hipertensas durante el periodo de inducción de síndrome metabólico. Se observa que el comportamiento de las tres curvas es distinto entre sí, empezando a ser

marcadamente diferente desde la semana 2 en los 3 casos; sin embargo, las curvas de las ratas normotensas e hipertensas se asemejan mucho hasta la semana 18. El 23% (n=3) de las ratas no obesas hipertensas presentaron *hipotiroxinemia*, mientras que el 25% (n=1) de las ratas obesas no hipertensas también presentó dicha condición. En la tesis de Gianini (2006)<sup>25</sup>, el promedio de la hipotiroxinemia producida por metimazol fue de 0.788 ng/mL, casi el mismo resultado al obtenido en el presente trabajo, empleando la misma cepa, mientras que el del TSH fue de 2.48 ng/mL, siendo el nuestro mayor.

En la tabla 2 (ver anexo), se observan las tasas de crecimiento por periodo de los tres grupos de ratas durante el periodo de inducción, así como la tasa de crecimiento compuesta para el final del mismo. La tendencia en líneas generales es creciente para los tres subgrupos, aunque se puede observar que, durante las primeras semanas, este crecimiento es mayor y luego decae espontáneamente en algunas semanas y sigue su propia tendencia para cada uno de los grupos; sin embargo, esto luego se soluciona.

Se estima que la pérdida de ganancia ponderal en el tiempo se debió a una suma de factores, entre los que destacan la alteración del estado metabólico basal, junto con la producción de radicales libres<sup>32</sup>, y las co-infecciones. Ello explica que, en el tiempo, hasta la semana 28, como se muestra en esta tabla, y luego, en las Gráficas 1,2 y 3, la tasa de crecimiento por periodo difiera de lo esperado con la diferencia de peso ganado hasta el final del experimento. La tasa de crecimiento por periodo y tasa de crecimiento compuesta son dos herramientas económicas que se emplean para evaluar los cambios en el tiempo de ganancia o disminución. El segundo utiliza el periodo completo<sup>35</sup>.

La tasa sobrevivida del presente estudio fue de 55% en la semana 33 de vida. Esto corresponde, para ratas, a la semana 104 de edad, según el estudio realizado por Keenan y colaboradores (1994)<sup>22</sup>. Con ello, las infecciones virales, dependiendo del estado inmunológico, pueden perpetuarse. Además, el Coronavirus de ratas puede generar sepsis punto de partida urinaria, lo que explicaría la disminución del peso y los cambios en la orina como se evidenció en dos ratas; sin embargo, hay que tener en cuenta que esto suele suceder en ratas inmunosuprimidas. Incluso, en estas ratas, la orina se convierte en un medio de transmisión<sup>34</sup>. Por su parte, se conoce que la cepa empleada en este

trabajo, tiende a desarrollar cardiomiopatía y nefropatía crónica en la adultez, lo que reduce el tiempo de vida<sup>7</sup>. Aunque esto se ha observado a partir de la semana 102 de vida, el estado meta-inflamatorio producido por la dieta grasa-hipercarbohidratada genera un envejecimiento acelerado del organismo<sup>22</sup>.

Es interesante mencionar que las ratas controles ganaron mayor peso durante todo el experimento que las ratas alimentadas con la dieta grasa-hipercarbohidratada (ver gráfica 2, anexo). Aunque parezca contradictorio, era de esperarse. Los efectos generados a nivel metabólico y la producción de citoquinas pro-inflamatorias, además de la coexistencia de enfermedades infecciosas, y posibles cancerígenas a descartar, favorecieron la menor ganancia ponderal. Las ratas hipertensas perdieron la 1/2 del peso ganado por las ratas controles, mientras que las normotensas llegaron a perder la 1/3 parte del peso ganado por los controles durante ambas mediciones. La frecuencia cardíaca disminuyó en los tres grupos. En los dos primeros grupos, es posible que la pérdida de peso haya sido suficiente como para alterar la frecuencia cardíaca; sin embargo, en el grupo control, puede que haya, además, influenciado, la técnica de medición arterial.

Por otro lado, el tiempo empleado, para inducir el síndrome metabólico, varía según la dieta y cepa; entre 8 a 40 semanas<sup>36</sup>. La toxicidad crónica por algún elemento, según el tiempo estandarizado, es de 90 días<sup>37</sup>. Además, la variación de peso por semana es de  $\pm 20\%$ <sup>38</sup>. Esto difiere en lo obtenido en nuestro estudio, donde el tiempo de inducción del modelo fue 2.25 veces el tiempo establecido y la tasa de crecimiento por periodo, durante las primeras semanas, fue mayor dicho punto de corte para los tres sub-grupos. La concentración y la dosis-tiempo son las variables empleadas en el efecto tóxico de una sustancia.

El efecto evidenciado, sería producto de la continuidad en su uso, desde las 7 semanas hasta las 33 semanas de vida. La cantidad de alimento consumido por las ratas controles, en promedio por día, fue ligeramente mayor que lo consumido por las ratas alimentadas con la dieta grasa-hipercarbohidratada. La dieta hipograsa empleó almidón de maíz como carbohidrato principal, mientras que la dieta grasa-hipercarbohidratada utilizó glucosa y fructosa. El índice glicémico de los alimentos, depende de la susceptibilidad de las enzimas digestivas por digerir y absorber

dichos carbohidratos. El estado físico, a su vez, está determinado por el tamaño de las partículas, el proceso de elaboración del mismo y los demás nutrientes. Los alimentos ricos en fibra tienen menor IG, y limita el grado y la velocidad de digestión<sup>39</sup>.

La dieta hipograsa contenía mayor cantidad de agua, almidón de maíz y cantidad de fibra relativa, a comparación de la dieta grasa-hipercarbohidratada. Así, se genera una disminución en la absorción de glucosa y suprime la gluconeogénesis hepática estimulada por la insulina a nivel hepático. Esto desarrolla una hiperinsulinemia, resistencia a la insulina e hiperglicemia. Además, altera el eje hipotalámico hipofiso adrenal basal y estrés inducido en ratas; la elevación de los glucocorticoides puede llevar a un aumento de la trigliceridemia, secundario a la disminución de los niveles de lipoprotein lipasa. Los alimentos de bajo índice glicémico reducen el hambre y generan una menor ingesta de energía que al final lleva a un manejo adecuado del peso<sup>49</sup>. Por el contrario, la comida altamente calórica es extremadamente deliciosa al paladar y genera menos saciedad por efecto de las grasas. Estos alimentos generan hiperfagia, aumento de peso y adiposidad<sup>40</sup>.

Los lípidos que recubren las membranas de las neuronas son fácilmente oxidables, por lo que la disfunción mitocondrial sería otro mecanismo central asociado y que explicaría la fisiopatología de la pérdida de la regulación del apetito. Además, por el hecho que la serotonina modula inhibitoriamente al GABA, a nivel de inter-neuronas, está involucrado con las interacciones serotonina-glutamato en el aprendizaje, memoria, nocicepción y control motor<sup>40</sup>. Podría incluso ser un factor contribuyente a que la comida sea vista como un medio de liberación de ansiedad, al estimular las vías mesocorticolímbicas y darle un valor agregado a la comida. Como se sabe, hasta el momento la vía implicada es la dopaminérgica<sup>41</sup>. La administración intermitente de azúcar genera adicción, al generar cambios en la expresión o disponibilidad de los receptores de la dopamina en el Núcleo Accumbens<sup>42</sup>. por lo que el síndrome metabólico es una entidad sumamente compleja.

El síndrome metabólico refleja la capacidad de adaptación de tiene el organismo ante las condiciones del medio ante condiciones de “abundancia calórica”. Para mantener una adecuada homeostasis energética, el eje hipotálamo hipofiso

tiroideo, tratará de contrarrestar las alteraciones instauradas mediante cambios que busquen ser fisiológicamente compensatorios<sup>20</sup>.

En la tabla 1 (ver Anexos) se observa la composición de la dieta empleada por el grupo control y el grupo experimental. La información se obtuvo a través de la tabla nutricional de los insumos, sacando la cantidad de gramos de cada uno de ellos en 100 g. de alimento. En el caso de la dieta de las ratas controles, se observa que la proporción de carbohidratos fue mayor, pero hay que tener en cuenta el tipo y la preparación. Además, contuvo mayor cantidad de agua a comparación de la dieta grasa.

Por otro lado, la dieta grasa contiene mayor cantidad de grasas, a predominio de grasas saturadas, fibra y menor cantidad de agua. En ambos casos, la mezcla de sales Hubbell, Mendel y Wakeman tiene una baja proporción de zinc y manganeso. La relación de calcio y fósforo está invertida.

La dieta con la que se trabajó en este proyecto presentó menor cantidad de grasa que el protocolo de Ghibaudi (2010)<sup>23</sup> et al (10% vs. 1%) para los controles y la proporción de los carbohidratos (70% vs. 58.6%). A diferencia de ello, las ratas experimentales de Ghibaudi et al vs. Colmenares y Samalvides varió en (45% vs. 24.4%) de grasa y (35% vs. 45.5%) de carbohidratos, respectivamente. Asimismo, las proteínas también adquirieron otra proporción (20% vs. 2.8%).

Finalmente, la esteatohepatitis no alcohólica es parte de la enfermedad hepática grasa no alcohólica observada como parte de la clínica del síndrome metabólico y que en la actualidad está tomando mayor importancia. La enfermedad hepática grasa no alcohólica está caracterizada por un continuum de entidades que resultan de la acumulación grasa macrovesicular hepática. Puede ser simple o puede estar acompañada de signos de lesión en el hepatocito. La esteatohepatitis no alcohólica se manifiesta como un infiltrado mixto de células inflamatorias y fibrosis hepática de grado variable y distribución pericelular, que puede conducir a la cirrosis y al carcinoma hepatocelular<sup>1,43</sup>.

Al exponer, a las ratas, meta-crónicamente a la dieta, es posible que las ratas hayan desarrollado daño hepático (Anexos: Fotos 1-7). Dentro de los mecanismos implicados, se encuentran la formación de los productos avanzados de la glicosilación, la fuente principal de radicales libres para la formación de

superóxidos, grupos hidroxilo y peróxido de hidrógeno<sup>31</sup>. Es posible que, además, se haya instaurado de un estado hiperosmolar y acidosis metabólica, una nefropatía, o incluso, a la expresión de una depresión secundaria al déficit de algunos micronutrientes.

El estado hiperosmolar ocurre en la diabetes mal controlada. Aquel, es el aumento sustancial de la glicemia, secundario a un desbalance que tiene dos vertientes. Por un lado, una deficiencia en la secreción de la insulina y, por el otro, la alteración en la acción de las hormonas contra-reguladoras, las cuales están sobre-estimuladas. Ello genera un estado de hiperglucemia secundaria al aumento de la gluconeogénesis hepática, una glucogenólisis acelerada y la inadecuada utilización de la glucosa a nivel periférico. En efecto, aumenta la osmolaridad, lo que genera un gradiente osmolar sérica que deshidrata a las células y aumenta la filtración glomerular. En otras palabras, la pérdida de peso. En este caso, sería producto al aumento de la glucosuria y la diuresis osmótica. Se sabe que todo ello conlleva a la hipovolemia y empeoramiento de la hiperglucemia; sin embargo, hay que tener en cuenta que también se produce un aumento en la secreción de interleucinas pro-inflamatorias, que a su vez intensifican el estado hipercatabólico y contribuyen con la caquexia<sup>12</sup>.

Como mecanismo de compensación, el organismo trata de utilizar los buffers del medio interno para mantener el pH a condiciones fisiológicas, pero al ser tan abundante la producción de hidrogeniones, se genera un estado de acidemia. En las ratas del presente trabajo de investigación, esto se evidenció clínicamente, a través del cambio en el patrón respiratorio; sin embargo, esto no fue parte de los objetivos, por lo que solo queda como una hipótesis que podría ser corroborado en futuros estudios.

Luego de analizar los resultados obtenidos, se obtuvo 9 ratas normotensas y 18 hipertensas. Las primeras presentaron mayor peso que las segundas. Todas las ratas alimentadas con dieta grasa-hipercarbohidratada presentaron diabetes. Con respecto al índice HOMA-IR, el de las ratas controles salió mayor, pero se plantea la hipótesis a que esto se deba porque las ratas alimentadas con la dieta grasa-hipercarbohidratada han perdido mayor cantidad de población de células beta-pancreáticas. En cambio, las ratas controles estuvieron en valores normales. Con ello, se puede plantear que las ratas alimentadas con dieta grasa-

hipercarbohidratada sí desarrollaron síndrome metabólico, incluso, una manifestación de síndrome metabólico con presión normal. Este hecho, hasta el momento no ha sido mencionado en ningún otro trabajo de investigación de ciencias básicas encontrado; sin embargo, esto solo queda como una hipótesis pues el estudio histológico no fue parte de los objetivos del presente trabajo.

Lasheen (2015) realizó un estudio en ratas Wistar hembras divididas en dos grupos, alimentadas con dieta regular y un grupo con dieta alta en sal. A las 8 semanas se les sacrificó y se obtuvo muestras de sangre para diversos exámenes séricos, además de estudios de histopatología. Lo importante es que el índice HOMA-IR de los controles vs. El grupo experimental ( $0.357 \pm 0.032$   $\mu\text{U}/\text{mL}$  vs.  $0.375 \pm 0.044$   $\mu\text{U}/\text{mL}$ ), sin ser estadísticamente significativos. Cuando se evidenciaron los cambios microscópicos, se encontró atrofia a nivel de los acinos con células cuyos núcleos eran picnócíticos, además de mayor ducto interlobular. Finalmente, los islotes de langherhans estaban atrofiados y con cambios degenerativos. Con todo esto, se entiende que a las 8 semanas ya hay en esta cepa cambios histopatológicos por la dieta utilizada<sup>33</sup>.

En el presente estudio, el índice de HOMA-IR fue mayor; sin embargo, se puede plantear que el método de sacrificio generó una activación simpática sin contra-regulación, favoreciendo de aumento de la glicemia al momento de realizar la punción cardiaca. Es posible que el resultado obtenido no sea el real, pero nos acerca a un valor aproximado con el cual se pueden sacar conclusiones tentativas. Asimismo, se observa que el resultado de este índice fue ligeramente menor en las ratas hipertensas a pesar que las normotensas tuvieron mayor peso en promedio ganado durante las semanas de inducción. Esto se explica con los diversos procesos infecciosos que tuvieron las ratas.

A diferencia del estudio citado, las ratas empleadas en la presente investigación fueron sometidas al experimento hasta las 33 semanas de vida. Se plantea, al evaluar las tasas de crecimiento por periodo, la posibilidad de que las ratas se hayan infectado en el transcurso del experimento. En el caso de las alimentadas con la dieta grasa-hipercarbohidratada, las tasas de crecimiento por periodo, durante las semanas 5, 13, 18 y 23, fueron menores en comparación a las del resto de las semanas y también a las de los controles. Dentro de los agentes infecciosos más frecuentes que afectan a las ratas de laboratorio, se encuentran

el coronavirus de ratas, Sendai virus, *Streptococcus pneumoniae* y *Mycoplasma pulmonis*. La infección por coronavirus genera distintos cuadros clínicos<sup>23</sup>.

Es interesante observar que, en la tabla 4 (ver anexo), respecto a las tendencias de las ratas controles, la Glucosa-Insulina tiene una covarianza positiva con una correlación positiva y moderada, lo que indica que el efecto evidenciado entre la Glucosa-Insulina ha dependido de algunos factores, pero principalmente de ellos dos. Es posible que, entre los factores asociados, esté también el estrés generado durante el sacrificio. De igual manera, la covarianza y la correlación de la Glucosa-Colesterol son positivas y siguen la misma tendencia que el caso anterior.

La Glucosa-Triglicéridos, en cambio, adquirieron una covarianza negativa, al igual que una correlación negativa, y muy baja. La relación Glucosa-TSH, tienen una correlación moderada. La Glucosa-T4L tiene la mayor correlación alta en normoxia. La tendencia de los Triglicéridos-TSH se mantuvo, a pesar que varió ligeramente la correlación, de la misma manera que la de los Triglicéridos-T4L. La Insulina-Colesterol tuvo una covarianza y correlación, ambas positivas, la segunda baja, a diferencia de la Insulina-Triglicéridos donde varió tanto la tendencia de la covarianza como de la correlación, y su magnitud. La insulina-TSH mantuvo su tendencia y la magnitud de la correlación, la cual fue moderada. El Colesterol-Triglicéridos en normoxia invirtió la tendencia de ambos estadísticos. Lo interesante es que, en el caso del segundo, la correlación fue baja, al igual que con el TSH-Colesterol. El Colesterol-T4L, tuvo una correlación moderada\*.

Hay que recordar que cuando se dice que hay correlación entre dos variables, hay asociación entre ellas sin importar el orden; sin embargo, normalmente se emplea el orden de *variable explicativa-variable respuesta*. En el caso de la regresión lineal, el objetivo es la realización de la predicción del valor de la *variable-respuesta* según la *variable-explicativa* empleando la función  $y=f(x)$ . Con ello, se entiende el comportamiento de  $y$  al conocer el comportamiento de  $x$  en un momento dado, todo ello en función del signo y si se acerca o aleja de la unidad<sup>33</sup>. La unidad implica que tanto  $x$  como  $y$  son independientes entre sí, entonces, a mayor valor de la correlación, mayor

intensidad de independencia. Por otro lado, al ir aumentando o disminuyendo este, se puede conocer si es que depende de otros factores o no. Mientras más cerca se encuentra de la unidad, quiere decir que más independientes y menos factores de interferencia hay en el resultado.

El análisis estadístico arrojó una correlación negativa y moderada. Esto nos indica que la sensibilidad de la insulina mejoró, como se ha obtenido en estudios anteriores. La correlación de insulina-TSH, de este grupo, fue positiva y baja, a diferencia de los otros dos grupos de ratas; sin embargo, la correlación entre triglicéridos-TSH es negativa y moderada, al igual que en el caso de las ratas hipertensas. La presión arterial de este grupo de ratas. Por otro lado, sí tuvo un impacto importante en la presión arterial, al igual que en el caso de las ratas hipertensas. Eso se debe a que hubo una disminución en el peso; sin embargo, mayor fue el impacto en el grupo de ratas hipertensas. Una posibilidad es que los triglicéridos, en este grupo, se vieron más comprometidos.

La correlación del análisis estadístico de la relación triglicéridos séricos – TSH, para las ratas hipertensas y controles salió moderada y negativa, mientras que en las ratas normotensas ésta fue positiva y alta. Con ello, se deduce que, la concentración sérica de triglicéridos influye en la secreción de esta hormona; sin embargo, más que los triglicéridos en sí, en este trabajo postulamos que es el efecto que genera la meta-inflamación secundaria a la producción de interleucinas pro-inflamatorias por los macrófagos en el tejido adiposo aumentar la concentración de triglicéridos<sup>49</sup>.

Silva (2006) explica que la termogénesis implica, en los seres homeotermos, la capacidad para mantener un rango *ad hoc* de la temperatura corporal y así realizar los procesos celulares óptimamente. Ello depende de los canales de  $Ca^{+2}$  SERCA que se encuentran en los músculos y son capaces de producir un desacoplamiento en las reacciones para producir calor; sin embargo, este no es suficiente para mantenerla. A nivel mitocondrial también se lleva a cabo estas reacciones de desacoplamiento. Las hormonas tiroideas tienen un papel regulador en este proceso y se ha observado que las ratas hipotiroideas tienen menor energía que las ratas eutiroideas e hipertiroideas. A mayor concentración de triglicéridos, cuando hay una mayor cantidad de TSH, como lo observado en nuestro trabajo de investigación, genera alteraciones en la membrana mitocondrial producto de la acción de los radicales libres. Esto

explicaría además el hecho que, si bien es cierto, el panículo adiposo actúa como un aislante térmico, la acción del hipotiroidismo sería el enfriamiento corporal<sup>29</sup>.

Lo novedoso de nuestro trabajo es el enfoque a nivel central. los lípidos que recubren las membranas de las neuronas son fácilmente oxidables, por lo que la disfunción mitocondrial sería otro mecanismo central asociado y que explicaría la fisiopatología de la pérdida de la regulación del apetito. Además, por el hecho que la serotonina modula inhibitoriamente al GABA, sobre todo a nivel de las interneuronas, y éste último está involucrado junto con las interacciones serotonina-glutamato en el aprendizaje y memoria, nocicepción y control motor<sup>40</sup>. Podría ser un factor contribuyente a que la comida sea vista como un medio de liberación de ansiedad, al estimular las vías mesocorticolímbicas y darle un valor agregado a la comida. Como se sabe, hasta el momento la vía implicada es la dopaminérgica<sup>41</sup>. Además de todo lo mencionado, hay que tener en cuenta que la administración intermitente de azúcar genera adicción, al generar cambios en la expresión o disponibilidad de los receptores de la dopamina en el Núcleo Accumbens<sup>42</sup>, por lo que el síndrome metabólico es una entidad sumamente compleja. Posiblemente la explicación molecular sea también a nivel de los canales de calcio los cuales, al dañarse la membrana celular y del retículo endoplasmático, generaría la liberación a nivel del citoplasma estimulando la liberación de la TSH, la cual se encuentra en sus vacuolas respectivas.

Con respecto a los límites de los percentiles 10, 50 y 90 para TSH y T4L de los tres subgrupos empleados (ver Anexos: Gráfica 5). Es importante mencionar que debido al n empleado en los subgrupos de controles y de obesas normotensas, estas no llegaron a adecuarse a los percentiles; sin embargo, al identificarse en qué percentil se encontraban los resultados de las ratas hipertensas, se buscó identificar qué ratas presentaron conjuntamente alguna alteración del eje hipotalámico hipófiso tiroideo, junto con el síndrome metabólico.

Con ello, se obtuvo la siguiente información: n=3/13 ratas (23%) terminó con valores de TSH P10-50 y de T4L P10-50. Esto significa que las ratas resultaron normales. Una rata (7.69%) obtuvo valores de TSH P>90 y de T4L P<10, lo que significa que terminó francamente hipotiroidea. Además, (n=4/13) (30.76%) terminaron con valores TSH P>90 y de T4L P<10, lo que significa que terminaron con hipotiroidismo primario. Hipotiroidismo subclínico fue el resultado de (n=3/13)

con valores de TSH  $P > 90$  y de T4LP10-50<sup>34</sup>. Finalmente, se obtuvo dos ratas en los que se requirió de estudiar el valor de T3 para llegar a una conclusión más concreta; sin embargo, este no fue el objetivo del presente estudio. Es importante agregar que, según lo encontrado por Alemán y col (1997), la hiperplasia focal de células C, como patología tiroidea reportada presente naturalmente en ratas *Sprague-Dawley*, se presenta con una frecuencia de 2/200 (1%) dentro de las semanas 18-32 de vida; antes de eso no se ha registrado<sup>44</sup>. Con esto, se podría plantear que, en este trabajo de investigación, el modelo haya favorecido a la expresión de patologías tiroideas; sin embargo, ello debería de corroborarse mediante estudios histopatológicos.

## V. FORTALEZAS Y LIMITACIONES

Las principales fortalezas del presente trabajo de investigación fueron dos. En primer lugar, la investigadora principal participó en cada uno de procedimientos descritos y se encargó de la supervisión de los mismos. Esto permitió disminuir la variabilidad interna del trabajo. En segundo lugar, el tamaño muestral permitió que el presupuesto sea costo-efectivo y las conclusiones obtenidas sean confiables.

Por otro lado, la principal limitación que presentó, fue la posible presencia de infecciones que pudiesen alterar los resultados del modelo, para lo cual no se realizó ningún procedimiento (cultivos de secreciones o pruebas séricas) con el fin de demostrar este hecho. Otra limitación fue la alta viscosidad de la dieta, la cual impidió su preparación a nivel industrial y exigió realizarla de manera artesanal. Esto redujo la homogeneidad de la mezcla y aumentó la variabilidad de resultados obtenidos. Finalmente, en este estudio no se hizo la separación física de las ratas en las jaulas, a nivel del mar, entre normotensas e hipertensas. Con ello, no se cuantificó la comida que cada una recibió de manera exacta.

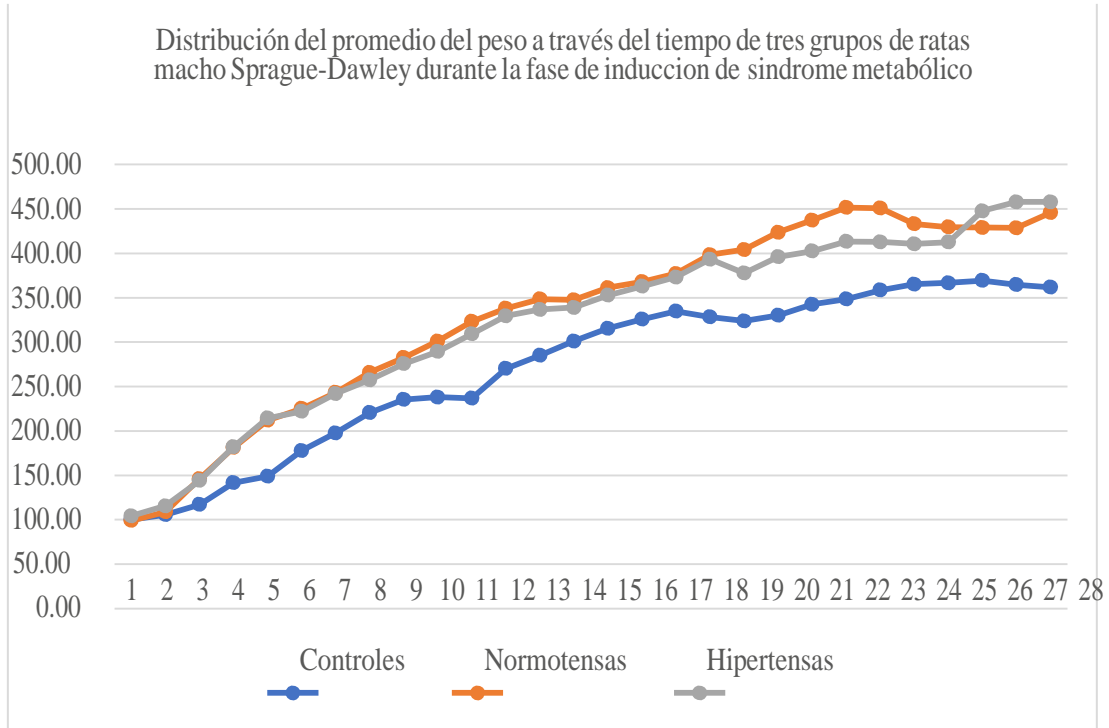
## VI. CONCLUSIONES

El síndrome metabólico, según este estudio, no tiene una asociación contundente con la alteración del eje hipotalámico hipofiso tiroideo. El aumento del peso fue estadísticamente significativo para las ratas controles y las alimentadas con dieta grasa hipercarbohidratada durante la fase de inducción, mientras que,

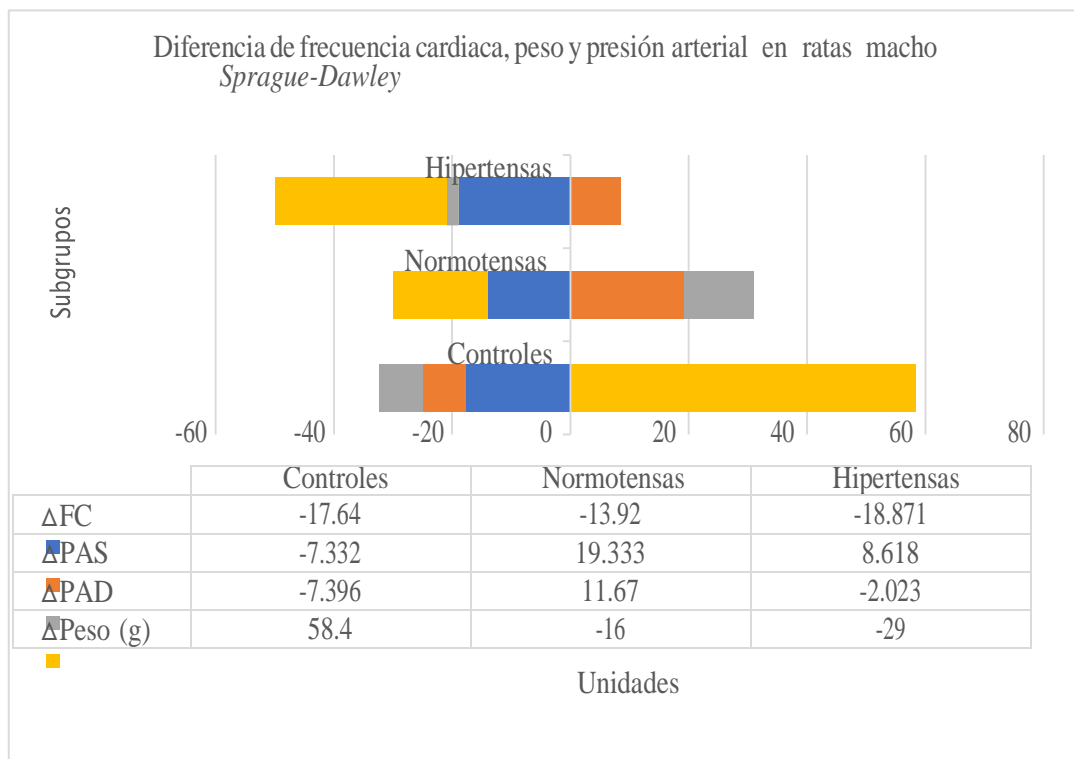
en la fase experimental sólo se mantuvo esta tendencia para las ratas controles. La variación de presión arterial sistólica y diastólica fue congruente con la variación del peso en los grupos de ratas con las que se trabajó. Finalmente, la dieta empleada, meta-crónicamente, en el grupo experimental logró desarrollar síndrome metabólico.

## VII. ANEXOS

Gráfica 1. Distribución del promedio del peso a través del tiempo de tres grupos de ratas macho Sprague-Dawley durante la fase de inducción de síndrome metabólico



Gráfica 2. Resultados de diferencia de presión arterial, frecuencia cardiaca y peso en ratas macho Sprague-Dawley



Unidades: Frecuencia cardiaca (latidos/min) y presión arterial (mmHg)

\* $p < .05$  en todas las variables de las ratas controles en normoxia. Con respecto a las alimentadas con la dieta grasa-hipercarbohidratada, todas las variables fueron estadísticamente significativas.

*Tabla 1. Composición de las dietas empleadas en el trabajo*

Dieta	g/100 g de dieta						
	Agua	Mezcla de Sales*	Fibra	Carbohidratos	Grasas	Proteínas	Kilocalorías
Dieta Hipoglucémica	25.0	2.5	10.2	58.6	1.0	2.8	671
Dieta Hipercalórica	5.0	2.5	16.9	45.5	24.4	5.8	1912

En esta tabla se observa la composición de la dieta empleada por el grupo control y el grupo experimental. La mezcla de sales Hubell, Mendel y Wakeman tiene una baja proporción de zinc y manganeso. Además, la relación de calcio y fósforo está invertida.

*Tabla 2. Tasa de crecimiento por periodo y tasa de crecimiento compuesto de promedios de pesos de ratas controles, normotensas e hipertensas durante el periodo de inducción de síndrome metabólico.*

Numero semanas experimentales	INDUCCIÓN SÍNDROME METABÓLICO													
	S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13
Peso promedio controles	100.20	105.60	117.10	141.70	148.80	177.90	197.70	220.50	235.30	238.10	236.80	270.30	285.00	301.20
Peso promedio normotensas	99.11	108.89	146.22	181.33	211.89	225.22	243.22	265.89	282.56	301.11	323.22	338.11	348.56	347.67
Peso promedio hipertensas	104.39	115.56	144.11	182.17	214.44	222.06	241.94	257.50	275.78	289.50	309.17	329.56	336.78	339.00
Tasa crecimiento por semana ratas controles		5.39%	10.89%	21.01%	5.01%	19.56%	11.13%	11.53%	6.71%	1.19%	-0.55%	14.15%	5.44%	5.68%
Tasa crecimiento por semana ratas normotensas		9.87%	34.29%	24.01%	16.85%	6.29%	7.99%	9.32%	6.27%	6.57%	7.34%	4.61%	3.09%	-0.26%
Tasa crecimiento por periodo ratas hipertensas		10.70%	24.71%	26.41%	17.72%	3.55%	8.96%	6.43%	7.10%	4.98%	6.79%	6.59%	2.19%	0.66%
Tasa crecimiento compuesta ratas controles														
Tasa crecimiento compuesta ratas normotensas														
Tasa crecimiento compuesta ratas hipertensas														

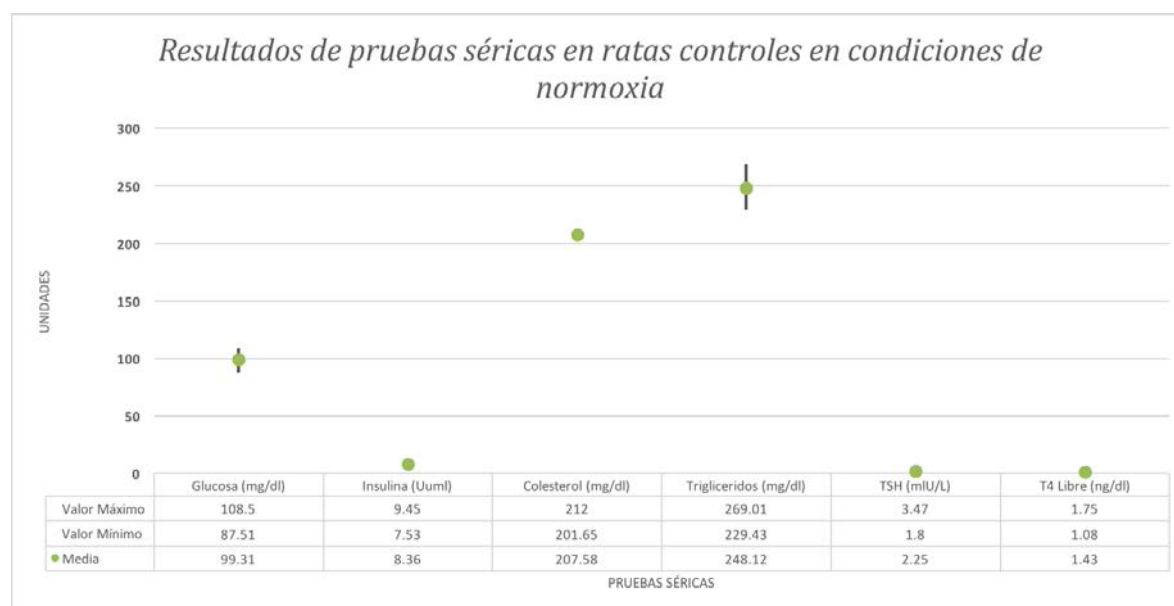
...continuación

Numero semanas experimentales	S14	S15	S16	S17	S18	S19	S20	S21	S22	S23	S24	S25	S26	S27
Peso promedio controles	315.60	325.80	334.80	328.40	323.90	330.20	342.60	348.60	358.60	365.30	366.80	369.50	364.80	361.80
Peso promedio normotensas	361.33	367.89	377.22	398.44	404.29	423.71	437.43	451.50	450.83	433.22	429.56	429.11	428.78	445.78
Peso promedio hipertensas	352.89	362.89	373.28	393.33	377.69	396.15	402.54	413.37	412.87	410.75	412.75	447.83	457.94	457.83
Tasa crecimiento por semana ratas controles	4.78%	3.23%	2.76%	-1.91%	-1.37%	1.95%	3.76%	1.75%	2.87%	1.87%	0.41%	0.74%	-1.27%	-0.82%
Tasa crecimiento por semana ratas normotensas	3.93%	1.81%	2.54%	5.63%	1.47%	4.81%	3.24%	3.22%	-0.15%	-3.91%	-0.85%	-0.10%	-0.08%	3.96%
Tasa crecimiento por periodo ratas hipertensas	4.10%	2.83%	2.86%	5.37%	-3.98%	4.89%	1.61%	2.69%	-0.12%	-0.51%	0.49%	8.50%	2.26%	-0.02%
Tasa crecimiento compuesta ratas controles														4.87%
Tasa crecimiento compuesta ratas normotensas														5.73%
Tasa crecimiento compuesta ratas hipertensas														5.63%

Tabla 3. Resultados de HOMA-IR en los tres sub-grupos de ratas controles, normotensas e hipertensas en condiciones de normoxia

	<b>Ratas controles</b>	<b>Ratas Normotensas</b>	<b>Ratas Hipertensas</b>
<i>HOMA-IR</i>	2.062 ± 0.361	1.686 ±	1.611 ±
( $\mu$ U/mL)		0.707	0.479

Gráfica 3. Resultados de pruebas séricas en ratas controles en condiciones de normoxia



\*p<.05 todas las variables salieron estadísticamente significativas.

Tabla 4. *Tabla de correlaciones de pruebas séricas de las ratas controles expuestas a normoxia exclusivamente.*

Subgrupo de ratas	Estadístico	Glucosa (mg/dl)-Insulina (Uuml)	Glucosa (mg/dl)-Colesterol (mg/dl)	Glucosa (mg/dl)-Triglicéridos (mg/dl)	Glucosa (mg/dl)-TSH (mIU/L)	Glucosa (mg/dl)-T <sub>4</sub> L (Uuml)	Triglicéridos (mg/dl)-TSH (mIU/L)	Triglicéridos (mg/dl)-T <sub>4</sub> L (Uuml)
Controles	Covarianza	4.437	15.277	-11.576	3.255	1.393	-5.019	-0.613
	Correlación	0.631	0.472	-0.103	0.604	0.745	-0.503	-0.177
Subgrupo de ratas	Estadístico	Insulina (Uuml)-colesterol (mg/dl)	Insulina (Uuml)-triglicéridos (mg/dl)	Insulina (Uuml)-TSH (mIU/L)	Insulina (Uuml)-T <sub>4</sub> L (Uuml)	Colesterol (mg/dl)-triglicéridos (mg/dl)	Colesterol (mg/dl)-TSH (mIU/L)	Colesterol (mg/dl)-T <sub>4</sub> L (Uuml)
Controles	Covarianza	1.256	-2.817	0.321	0.095	-6.441	0.438	0.444
	Correlación	0.335	-0.216	0.514	0.438	-0.108	0.153	0.445

Tabla 5. *Tabla de promedio y percentiles de ratas controles, normotensas e hipertensas de TSH y T<sub>4</sub>L expuestos exclusivamente a normoxia*

Ratas	Controles	Normotensas	Hipertensas
Promedio			
TSH (mIU/L)	2.25	1.85	2.24
Promedio T <sub>4</sub> Libre (ng/dl)	1.43	1.23	1.27
P10 % TSH	2.13	1.47	1.04
P10 % T <sub>4</sub> Libre	1.41	0.89	1.28
P50 % TSH	2.20	3.00	1.33
P50% T <sub>4</sub> Libre	1.82	1.76	1.73
P90 % TSH	6.37	4.15	4.24
P90 % T <sub>4</sub> Libre	2.91	1.52	2.13

Foto 1. *Lesiones costrosas en lacrimales*



Se observa opacidad en escleras y hematoma en oreja izquierda (a). Lesiones costrosas en lacrimales y nariz (a y b). Fotos tomadas post mortem.

Foto 2. *Anatomía Patológica*



(e) **Pulmones:** Señalado por la pinza. Superficie granulomatosa, rosa pálido, confluyente en los bordes. Patrón

característico de infección por *Mycoplasma pulmonalis*. (f) **Hígado:** Abajo de los pulmones. Textura micronodular que recubre toda la superficie del parénquima hepático. Patrón que sugiere cirrosis temprana.

Foto 3. *Lesiones costrosas en la nariz*



Se observan costras alrededor de la nariz de dos ratas distintas (c y d). Fotos tomadas post mortem.

Foto 4. *Equimosis en cola*



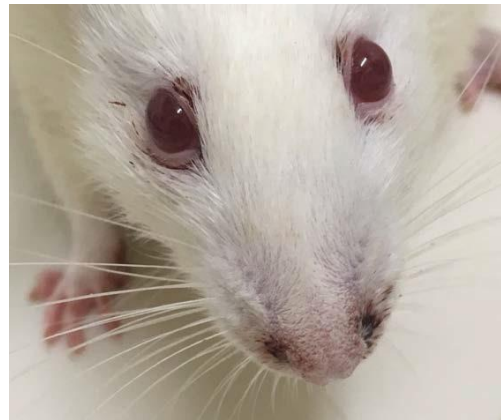
Se observa equimosis en base de cola que correspondería a alteraciones en la coagulación por insuficiencia hepática producto del daño generado en las ratas. Esto se corrobora con las equimosis en las orejas observadas en foto 1(a).

Foto 5. *Lesiones costrosas en muñecas.*



Se observan lesiones costrosas características (**g** y **h**). Fotos tomadas post mortem.

Foto 6. *Conjuntivas eritematosas y costras en las fosas nasales.*



Se observa cambio de coloración marcado en la coloración de las conjuntivas de esta rata. Patrón característico de cuando las ratas empezaban a bajar de peso de manera súbita y constante.

Foto 7. *Secresiones en la nariz.*



Se observa secreción amarillenta en la nariz de esta rata, con un color de conjuntiva más acercado al normal

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- <sup>1</sup> Oxengruk G. Metabolic syndrome, age-associated neuroendocrine disorders, and dysregulation of tryptophan—kynurenine metabolism. *Ann. N.y. Acad. Sci.* [Internet] 2010 [citado 2017 Nov 27]; (1199): 1–14. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20633104>
- <sup>2</sup> Lizarzaburu-Robles JC. Síndrome metabólico: concepto y aplicación práctica. *An fac med.* [Internet] 2013 [citado 2017 Nov 27]; 74(4): 315-20
- <sup>3</sup> Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol res and pract.* 2014; ( ): 21.
- <sup>4</sup> González Rivas Juan Pablo. Síndrome metabólico: ¿Queda espacio para este concepto?. *Rev. Venez. Endocrinol. Metab.* [Internet]. 2012 Feb [citado 2017 Nov 27] ; 10( 1 ): 20-27. Disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-31102012000100003&lng=es](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102012000100003&lng=es).
- <sup>5</sup> Ayala I y col. Modelos animales experimentales de enfermedad de hígado graso y síndrome metabólico. *An. Vet.* [Internet] 2008 [citado 2017 Nov 27]; (24): 5-16. Disponible en: <http://revistas.um.es/analesvet/article/view/68991>
- <sup>6</sup> Damaso B et al. Prevalencia del síndrome metabólico en trabajadores activos en la red asistencial de salud en Huánuco. [Internet] 2007 [citado 2017 Nov 27]. *Rev. Med hered* 22 (2), 2011. Disponible en: <http://www.upch.edu.pe/vrinve/dugic/revistas/index.php/RMH/article/view/1103/1094>
- <sup>7</sup> Vicente MB, Sánchez JF, Llaguno GA, Costa M. Efecto del ejercicio físico en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. En: *Iii congreso regional de medicina familiar Wonca Iberoamericana-CIMF.* Cuba; 2012.
- <sup>8</sup> Lizarzaburu-Robles JC. Síndrome metabólico: concepto y aplicación práctica. *An fac med.* [Internet] 2013 [citado 2017 Nov 27]; 74(4): 315-20. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v74n4/a09v74n4.pdf>
- <sup>9</sup> Qinghua H et al. Altered dynamics between neural systems sub-serving decisions for unhealthy food. *Front. Neurosci.* [Internet]: 2016 [citado 2017 Nov 27]; 8(31):1-10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc4220120/pdf/fnins-08-00350.pdf>
- <sup>10</sup> Hoerman R, Midgley J, Larisch R, Dietrich J. Homeostatic control of the thyroid–pituitary axis: perspectives for diagnosis and treatment. *Front Endocrinol.* [Internet]: 2015 [citado 2017 Nov 27]; 6 (177): 2-17. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4653296/>
- <sup>11</sup> Hak AE, Pols HA, Visser TJ, et al. Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the rotterdam study. *Ann Intern Med.* [Internet] 2000 [citado 2017 Nov 27]; 132 (4): 270-278. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10681281>
- <sup>13</sup> Bernhart FW, Tomarelli M. A salt mixture supplying the national research council estimates of the mineral requirements of the rat. *J nutr.* [Internet] 1966 [citado 2017 Nov 27]; 89(): 495-500. Disponible en: <http://jn.nutrition.org/content/89/4/495.extract>
- <sup>13</sup> Yokohoma. Biological referencia data on cd(sd) IGS rats. Japón: BEST PRINTING; 1998 [fecha de acceso 2017 Nov 27]. URL Pp. 21. Disponible en: [http://www.crj.co.jp/cms/pdf/info\\_common/44/425525/Biological%20Reference%20Data%20on%20CD%28SD%29%20Rats%201998.pdf](http://www.crj.co.jp/cms/pdf/info_common/44/425525/Biological%20Reference%20Data%20on%20CD%28SD%29%20Rats%201998.pdf)
- <sup>15</sup> Perez de Heredia, Garaulet, Puy Portillo, Zamora. Resistance to dietary obesity in rats given different high-energy diets. *Int J Vitam Nutr Res.* [Internet] 2013 [citado 2017 Nov 27]; 76 (5): 271-9. Disponible en: <http://econtent.hogrefe.com/doi/pdf/10.1024/0300-9831.76.5.271>
- <sup>16</sup> Koolhaas J. The laboratory rat. The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals: eighth edition. Oxford: Wiley-Blackwell; 2010. [fecha de acceso 2017 Nov 27]. URL. Disponible en: <http://www.rug.nl/research/portal/files/2554075/2010ufawhandbookkoolhaas.pdf>
- <sup>17</sup> Potenza et al. Egcg, a green tea polyphenol, improves endothelial function and insulin sensitivity, reduces blood pressure, and protects against myocardial i/r injury in shr.
- <sup>18</sup> Leary et al. AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition. Illinois: American Veterinary Medical Association; 2013. [fecha de acceso 2017 Nov 27]. URL. Disponible en: <https://www.avma.org/KB/Polices/Documents/euthanasia.pdf>
- <sup>18</sup> Anza C. Efecto de la exposición crónica a hipoxia hipobárica sobre el manejo de la glicemia y la composición corporal en un modelo murino de obesidad. [Tesis de Bachiller]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2013.

- <sup>19</sup> Panchal J, et al. High-carbohydrate High-fat Diet-induced Metabolic Syndrome and Cardiovascular Remodeling in Rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. [Internet]: 2011 [citado 2017 Nov 27]; 57 (1): 51-64. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20966763>
- <sup>20</sup> Silva J. Thermogenic Mechanisms and Their Hormonal Regulation. *Physiol Rev*. [Internet] 2006 [citado 2017 Nov 27]; 86: 435-464. doi:10.1152/physrev.00009.2005. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16601266>
- <sup>21</sup> van Vliet BN, Montani JP. The time course of salt-induced hypertension, and why it matters. *International Journal of Obesity*. [Internet]: 2008 [citado 2017 Nov 27]; 32: 35-47. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/ijo2008205>
- <sup>22</sup> Keenan et al. The Effects of Overfeeding and Dietary Restriction on Sprague-Dawley Rat Survival and Early Pathology Biomarkers of Aging. *Toxicologic Patholog*. [Internet] 1994 [citado 2017 Nov 27]; 22 (3): 300-15. Disponible en: <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/019262339402200308>
- <sup>23</sup> Ghibaudi L, Cook J, van Heek M, Hwa JJ. Fat Intake Affects Adiposity, Comorbidity Factors, and Energy Metabolism of Sprague-Dawley Rats. *Obes Res*. [Internet] 2002 [citado 2017 Nov 27]; 10 (9): 956-63. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12226145>
- <sup>24</sup> Pérez-Capistrán T, Manuel-Apolinar L, Castillo-Hernández C, Ruiz-Rivera A, Guevara-Balcazar G. Asociación entre envejecimiento vascular y estrés oxidativo en la aorta de la rata. *Revista de la conferencia científica anual sobre síndrome metabólico*. [Internet]: 2015 [citado 2017 Nov 27]; 2 (1): 30-1. Disponible en: [https://issuu.com/ccassindromemetabolico/docs/revista\\_sm\\_v2\\_n1](https://issuu.com/ccassindromemetabolico/docs/revista_sm_v2_n1)
- <sup>25</sup> Gianini A. Hipotiroxinemia materna en ratas Sprague-Dawley: Secuelas en la sinapsis glutamatérgica de la progenie. [Tesis doctoral] Santiago: Universidad de Chile; 2006.
- <sup>26</sup> Romero N. Estabilidad y propiocepción del atletismo. [Tesis doctoral]. Andalucía: Universidad de Jaen; 2013.
- <sup>27</sup> Carroll K. Experimental Evidence of Dietary Factors and Hormone-dependent Cancers. *Cancer Res*. [Internet]: 1975 [citado 2017 Nov 27]; 35 (11): 3374-83. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1104150>
- <sup>28</sup> Valdivia-Flores A y col. Parámetros metabólicos y niveles de leptina alterados en pacientes con obesidad. *Revista de la conferencia científica anual sobre síndrome metabólico*. *Revista de la conferencia científica anual sobre síndrome metabólico*. [Internet]: 2015 [citado 2017 Nov 27]; 2 (1): 123-6
- <sup>29</sup> Flores C et al. Niveles de dienos conjugados y malondialdehído en hígado de ratas con síndrome metabólico experimental. *Gaceta de Ciencias Veterinarias*. [Internet] 2016 [citado 2017 Nov 27]; 21 (1): 11-6. Disponible en: <http://www.ucla.edu/ve/dveterin/departamentos/CienciasBasicas/gcv/2530int2530er2530no/articulos/documasp/~amwmdepz.pdf>
- <sup>30</sup> Pastor T., C. (2017). Centro de especialidades médicas. [Internet] [Centrospecialidadestrinidadpastor.blogspot.pe](http://centroespecialidadestrinidadpastor.blogspot.pe). Available at: <http://centroespecialidadestrinidadpastor.blogspot.pe/search/label/hipotiroidismo%20subclinico> [citado 2017 Ago 28].
- <sup>31</sup> Bacon BR, Tavill AS, Brittenham GM, Park CH, Recknagel RO. Hepatic lipid peroxidation in vivo in rats with chronic iron overload. *J clin invest*. [Internet] 1983 [citado 2017 Nov 27]; 71(3):429-39. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC436890/>
- <sup>32</sup> Davidson E, et al. Effect of Treatment of Sprague Dawley Rats with AVE7688, Enalapril, or Candoxatril on Diet-Induced Obesity. *Journal of Obesity* [Internet]: 2011 [citado 2017 Nov 27]; 2011 ( ): 1-9
- <sup>33</sup> Levin et al. Estadística para administración y economía. Séptima edición [en línea]. México: Pearson; 2004. Disponible en: <https://wwwyyy.files.wordpress.com/2014/09/estadc3adstica-para-administrac3b3n-y-economc3ada-7ma-edic3b3n-richard-i-levin.pdf>
- <sup>34</sup> Grüters A, Krude H. Detection and treatment of congenital hypothyroidism. *Nat Rev Endocrinol*. [Internet] 2011 [citado 2017 Nov 27]; 8(2):104-13. doi: 10.1038/nrendo.2011.160. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22009163>
- <sup>35</sup> Interamerican Development Bank. La economía en el largo plazo. [en línea]. Fecha de acceso: 1 de setiembre del 2017. Disponible en: <http://www.iadb.org/res/laresnetwork/files/pr238finaldraft.pdf>

- <sup>36</sup> Wong SK, Chin KY, Suhaimi FH, Fairus A, Ima-Nirwana S. Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutr & Metab.* [Internet] 2016 [citado 2017 Nov 27]; 13 (65): 1-12. Disponible en: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5050917/pdf/12986\\_2016\\_Article\\_123.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5050917/pdf/12986_2016_Article_123.pdf)
- <sup>37</sup> OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Section 4: Health Effects. Repeated Dose 90-day Oral Toxicity Study in Rodents (408). [Internet] 1998 [citado 2017 Nov 27]; 1-10. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1787/9789264070707-en>
- <sup>38</sup> Esquivel-Solís V, Gómez-Salas G. Implicaciones metabólicas del consumo excesivo de fructosa. *AMC.* [Internet] 2007 [citado 2017 Nov 27]; 49 (4): 198-202. Disponible en: <http://www.scielo.sa.cr/pdf/amc/v49n4/3543.pdf>
- <sup>39</sup> Badui-Dergal S. Química de los alimentos. Cuarta edición. Mexico: Pearson; 2006. [fecha de acceso 2017 Set 13]. URL Disponible en: <https://deymerg.files.wordpress.com/2013/07/quc3admicadelosalimentossalvadorbaduiderga1.pdf>
- <sup>40</sup> Ciranna L. Serotonin as a modulator of glutamate- and gaba-mediated neurotransmission: implications in physiological functions and in pathology. *Curr Neuropharmacol.* [Internet]: 2006 [citado 2017 Nov 27]; 4(2): 101-14. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2430669/>
- <sup>41</sup> van der Klaauw A, Farooqi S. The Hunger Genes: Pathways to Obesity. *Cell* [Internet] 2015 [citado 2017 Nov 27]; 161 (26): 119-32. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25815990>
- <sup>42</sup> Avena N, Rada P, Hoebel B. Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neurosci Biobehav Rev.* [Internet] 2008 [citado 2017 Nov 27]; 32 (1): 20–39. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17617461>
- <sup>43</sup> Ong JP<sup>1</sup>, Younossi ZM. Epidemiology and natural history of NAFLD and NASH. *Clin Liver Dis.* [Internet] 2007 [citado 2017 Nov 27]; 11(1):1-16. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17544968>
- <sup>44</sup> Alemán CL y col. Reference database of the main physiological parameters in Sprague-Dawley rats from 6 to 32 months. *Laboratory Animals* [Internet]: 1998 [citado 2017 Nov 27]; 32 (): 457-66. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9807760>
- <sup>45</sup> Gutch M y col. Thyroid functions and serum lipid profile in metabolic síndrome. *Science Direct* [Internet]: 2017 [citado 2017 Nov 30]; 40 (3): 147-53. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S231941701730152X?via%3DiHub>
- <sup>46</sup> Mullur R, Liu YY, Brent G. Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiol Rev.* [Internet]: 2014 [citado 2017 Nov 30]; 94 (2): 355-82. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4044302/>
- <sup>47</sup> Yunta E. Ética en la investigación en modelos animales de enfermedades humanas. *Acta Bioethica.* [Internet] 2007 [citado 2017 Nov 30]; 13 (1): 1-16. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/abioeth/v13n1/art04.pdf>
- <sup>48</sup> Moreira G, Cipullo JP, Souza LA, Bernardi C, Vilela-Martin JF. Prevalence of metabolic síndrome: association with risk factors and cardiovascular complications in an urban population. *LoS One.* [Internet]: 2014 [citado 2017 Nov 30]; 9 (9): 1-10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4152120/pdf/pone.0105056.pdf>