



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS
"Francisco García Salinas"

Unidad Académica de Ciencias Químicas
Maestría en Ciencia y Tecnología Química

TESIS

**"Evaluación de una dieta libre de hidratos de carbono sobre
parámetros morfométricos, bioquímicos e histopatológicos en un
modelo murino de síndrome metabólico"**

Para Obtener el Grado de
Maestro en Ciencia y Tecnología Química

Presenta:

Q.F.B. Diana Alejandra Lares Gutiérrez

Director (as):

Dra. en C. Blanca Patricia Lazalde Ramos

Dra. en C. Marisol Galván Valencia

Junio 2022

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Farmacología en Biomedicina Molecular y el Laboratorio de Neuropatología y Productos Naturales de la Unidad Académica de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas, contando con el apoyo financiero otorgados por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través de la beca de maestría con registro No. 780397.

Deseo extender mi más sincero agradecimiento a la Dra. Blanca Patricia Lazalde Ramos y la Dra. Marisol Galván Valencia por compartir sus conocimientos y enseñanzas a lo largo de este proyecto, ofreciéndome una visión profunda del estudio.

También, me gustaría agradecer a los miembros del comité de evaluación, Dra. María Argelia López Luna, Dr. Alberto Rafael Cervantes Villagrana, Dr. Juan Armando Flores de la Torre, por sus brillantes comentarios y sugerencias.

De igual forma, agradezco a la Biól. Irene Jazmín Flores Baza por su ayuda en el desarrollo y finalización del trabajo de laboratorio.

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos, por su continuo apoyo,
paciencia y comprensión en la realización de esta etapa.
Sus oraciones por mí fueron las que me sostuvieron hasta aquí.

ÍNDICE GENERAL

I. ÍNDICE DE TABLAS	viii
II. ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
III. ABREVIATURAS	xvii
IV. RESUMEN	xix
V. ABSTRACT	xx
1. ANTECEDENTES	1
1.1. Síndrome Metabólico	1
1.1.1. Epidemiología del Síndrome Metabólico	1
1.1.2. Fisiopatología del Síndrome Metabólico.....	2
1.1.2.1. Resistencia a la Insulina	3
1.1.2.2. Obesidad e Inflamación.....	8
1.1.2.3. Estrés Oxidativo	9
1.1.3. Tratamiento del Síndrome Metabólico	11
1.1.3.1. Dietas Bajas y libres en Carbohidratos.....	12
1.1.3.1.1. Cetosis nutricional inducida por dietas bajas y libres en carbohidratos	21
1.1.3.1.2. Impacto de las dietas bajas en carbohidratos sobre el metabolismo de los lípidos	23
1.1.3.1.3. Efecto de las dietas bajas en carbohidratos sobre la ingesta y el gasto energético y el peso corporal	23
1.1.3.1.2. Efectos de las dietas bajas en carbohidratos sobre el metabolismo de la glucosa, la insulina y la sensibilidad a la insulina.....	24
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	25
3. JUSTIFICACIÓN	26
4. HIPÓTESIS	27
5. OBJETIVOS	28
5.1. Objetivo General	28
5.2. Objetivos Específicos.....	28
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
6.1. Tipo de investigación.....	29
6.2. Diseño experimental	29

6.2.1. Etapa I: Formulación de las dietas a evaluar y generación del modelo de síndrome metabólico en ratas macho de la cepa Wistar	29
6.2.2. Etapa II: Determinación de los efectos de la dieta libre en carbohidratos sobre parámetros morfométricos en ratas macho con síndrome metabólico	30
6.2.3. Etapa III: Evaluación de los efectos de la dieta libre en carbohidratos sobre parámetros bioquímicos e histopatológicos en ratas macho con síndrome metabólico	30
6.3. Metodología.....	32
6.3.1. Animales de experimentación.....	32
6.3.2. Grupos de estudio	32
6.3.3. Formulación de las dietas a evaluar	33
6.3.4. Índice de Lee.....	34
6.3.5. Curva de tolerancia a la glucosa.....	34
6.3.6. Obtención de sangre total y tejidos	34
6.3.7. Determinación cuantitativa de glucosa	35
6.3.8. Determinación cuantitativa de colesterol total.....	35
6.3.9. Determinación cuantitativa de triglicéridos	35
6.3.10. Determinación cuantitativa de colesterol HDL	36
6.3.11. Determinación cuantitativa de colesterol LDL	36
6.3.12. Determinación cuantitativa de urea	37
6.3.13. Determinación cuantitativa de creatinina.....	37
6.3.14. Determinación cuantitativa de β -hidroxibutirato	37
6.3.15. Determinación cuantitativa de alanina aminotransferasa (ALT)	38
6.3.16. Determinación de aspartato aminotransferasa (AST).....	38
6.3.17. Determinación cuantitativa de insulina	39
6.3.18. Cálculo de índices HOMA1-IR y QUICKI	39
6.3.19. Determinación semicuantitativa de proteína C reactiva	40
6.3.20. Determinación cuantitativa de MDA	40
6.3.21. Determinación de glucógeno en hígado y músculo esquelético	41
6.3.22. Técnica histológica	41
6.3.22.1. Páncreas	41
6.3.22.2. Hígado	42
6.3.22.3. Riñón	43
6.3.22.4. Tejido adiposo visceral	44

6.3.22.5.	Aorta	45
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
7.1.	Formulación de las dietas a evaluar y generación de síndrome metabólico en ratas macho de la cepa Wistar	49
7.1.1.	Formulación de la dieta para síndrome metabólico y dieta libre de carbohidratos	49
7.1.2.	Generación del síndrome metabólico en ratas macho de la cepa Wistar y evaluación de la dieta libre de carbohidratos sobre parámetros morfométricos, bioquímicos e histopatológicos	51
8.	CONCLUSIONES	153
9.	CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	155
VI.	REFERENCIAS	156
VII.	ANEXOS	181

I. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Impacto de la restricción de consumo de carbohidratos en la salud metabólica.	14
Tabla 2. Impacto de la restricción total de consumo de carbohidratos en la salud metabólica	19
Tabla 3. Composición bromatológica requerida para un alimento de ratas de laboratorio.	34
Tabla 4. Escala del grado de esteatosis del NASH Clinical Research Group.	43
Tabla 5. Escala del grado de fibrosis del NASH Clinical Research Group.....	43
Tabla 6. Escala del grado de degradación balonizante del NASH Clinical Research Group...	43
Tabla 7. Resumen de la descripción de los parámetros evaluados en la metodología.	46
Tabla 8. Proporción bromatológica de la dieta para síndrome metabólico.	49
Tabla 9. Proporción bromatológica de la dieta libre de carbohidratos.	49
Tabla 10. Composición bromatológica y energética de las dietas evaluadas.	50
Tabla 11. Composición bromatológica y especificación del tipo de grasas en las dietas evaluadas.	51
Tabla 12. Ingesta calórica por grupo durante el tiempo de experimentación.	52
Tabla 13. Consumo de kilocalorías por animal en los grupos de estudio durante 40 semanas de experimentación.....	55
Tabla 14. Peso corporal de los grupos de estudio a diferentes tiempos de experimentación. ..	58
Tabla 15. Peso corporal de los grupos de estudio a los diferentes tiempos de experimentación.	60
Tabla 16. Índice de Lee en los grupos de estudio a diferentes tiempos de evaluación.	62
Tabla 17. Índice de Lee en los grupos de estudio durante 40 semanas de experimentación....	64
Tabla 18. Concentraciones de glucosa de la curva de tolerancia a las 20 semanas de experimentación.....	67
Tabla 19. Glucosa sérica en los grupos de estudio.	68
Tabla 20. Glucosa en los grupos de estudio.	70

Tabla 21. Insulina sérica en los grupos de estudio.	72
Tabla 22. Insulina en los grupos de estudio.....	74
Tabla 23. Índice HOMA1-IR en los grupos de estudio.	76
Tabla 24. Índice HOMA1-IR en los grupos de estudio.	77
Tabla 25. Índice QUICKI en los grupos de estudio.	79
Tabla 26. Índice QUICKI en los grupos de estudio.	80
Tabla 27. Perfil lipídico en los grupos de estudio.	82
Tabla 28. Perfil lipídico en los grupos de estudio.	84
Tabla 29. Proteína C reactiva de los grupos de estudio.	88
Tabla 30. Proteína C reactiva de los grupos de estudio.	89
Tabla 31. Función hepática de los grupos de estudio.	91
Tabla 32. Función hepática de los grupos de estudio.	93
Tabla 33. Glucógeno hepático y muscular en los grupos de estudio.....	95
Tabla 34. Glucógeno hepático y muscular de los grupos de estudio.....	97
Tabla 35. Función renal de los grupos de estudio.	99
Tabla 36. Función renal de los grupos de estudio.	101
Tabla 37. Cuerpos cetónicos de los grupos de estudio.	103
Tabla 38. Cuerpos cetónicos de los grupos de estudio.	105
Tabla 39. Concentración de MDA de los grupos de estudio.	107
Tabla 40. Concentración de MDA de los grupos de estudio.	109
Tabla 41. Porcentaje de esteatosis hepática en los grupos de estudio.	113
Tabla 42. Porcentaje de esteatosis hepática en los grupos de estudio.	117
Tabla 43. Porcentaje de degradación balonizante hepatocelular en los grupos de estudio. ...	118
Tabla 44. Porcentaje de glomerulomegalia y sinequias periféricas polares en los grupos de estudio.....	123

Tabla 45. Glomerulomegalia y sinequias periféricas polares en riñón en los grupos de estudio.	126
Tabla 46. Número de islotes de Langerhans por campo observado en los grupos de estudio.	131
Tabla 47. Número de islotes de Langerhans por campo observado en los grupos de estudio.	134
Tabla 48. Número de adipocitos infiltrados en páncreas por campo observado en los grupos de estudio.	135
Tabla 49. Área de adipocitos de tejido adiposo visceral en los grupos de estudio.	140
Tabla 50. Área de adipocitos en tejido adiposo visceral en los grupos de estudio.	145

II. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fisiopatología general y efectos bioquímicos del síndrome metabólico.....	3
Figura 2. Cascada de señalización de la insulina en músculo esquelético.	5
Figura 3. Consecuencias funcionales de la resistencia a la insulina.....	6
Figura 4. Esquema de las alteraciones metabólicas que se producen en la resistencia a la insulina.....	7
Figura 5. Esquema de las alteraciones metabólicas que se producen en el tejido adiposo como fisiopatología del síndrome metabólico.	9
Figura 6. Descripción general de la desintoxicación enzimática y antioxidante de EROs.	11
Figura 7. Vías de la cetosis o cetogénesis en el hígado.	22
Figura 8. Transporte de cuerpos cetónicos desde el hígado y vías de utilización y oxidación en tejidos extrahepáticos.....	23
Figura 9. Diseño experimental.....	31
Figura 10. Ingesta calórica de los animales de acuerdo con el grupo y tiempo de experimentación.....	53
Figura 11. Ingesta calórica en los grupos de estudio a lo largo de 40 semanas de experimentación.....	56
Figura 12. Peso corporal de los grupos de estudio a lo largo de 20 semanas de experimentación.....	58
Figura 13. Peso corporal de los grupos de estudio a lo largo de 40 semanas de experimentación.....	61
Figura 14. Índice de Lee de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación.	63
Figura 15. Índice de Lee de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación.	65

Figura 16. Curva de tolerancia a la glucosa en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación.....	67
Figura 17. Concentración de glucosa de los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación.....	69
Figura 18. Concentración de glucosa de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.....	71
Figura 19. Concentración de insulina en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación.....	73
Figura 20. Concentración de insulina de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.....	74
Figura 21. Índice HOMA1-IR de los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación.....	76
Figura 22. Índice HOMA1-IR de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.....	78
Figura 23. Índice QUICKI de los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación.....	79
Figura 24. Índice QUICKI de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.....	81
Figura 25. Perfil lipídico de los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación.....	83
Figura 26. Perfil lipídico de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.....	85
Figura 27. Concentración de proteína C reactiva en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación.....	88
Figura 28. Concentración de proteína C reactiva en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.....	90
Figura 29. Función hepática de los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación.....	92

Figura 30. Función hepática de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.....	94
Figura 31. Concentración de glucógeno en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación.....	96
Figura 32. Concentración de glucógeno en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.....	98
Figura 33. Función renal de los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación.	100
Figura 34. Función renal de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.	102
Figura 35. Concentración de cuerpos cetónicos (β-hidroxibutirato) en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación.	104
Figura 36. Concentración de cuerpos cetónicos (β-hidroxibutirato) en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.	105
Figura 37. Valores de MDA en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación.	108
Figura 38. Valores de MDA en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.	110
Figura 39. Cortes histológicos de hígado de los grupos a las 20 semanas de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina.	113
Figura 40. Esteatosis hepática en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. S	114
Figura 41. Cortes histológicos de hígado de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción tricrómica de Masson, aumento 20X.....	115
Figura 42. Cortes histológicos de hígado de los grupos de experimentación a las 40 de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina.	116

Figura 43. Esteatosis hepática en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.....	117
Figura 44. Corte histológico de hígado del grupo de estudio SM+DLC a las 40 semanas de experimentación. Tinción con Hematoxilina y Eosina.	119
Figura 45. Degradación balonizante hepatocelular en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.	118
Figura 46. Correlación entre esteatosis y MDA hepático, ALT y glucógeno hepático en el grupo de SM con 40 semanas de experimentación.	120
Figura 47. Histología de hígado en los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Tinción tricrómica de Masson, aumento 20X.....	121
Figura 48. Cortes histológicos de riñón de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina.	122
Figura 49. Glomerulomegalia y sinequias periféricas polares en riñón en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación.	123
Figura 50. Cortes histológicos de riñón en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción tricrómica de Masson, aumento 40X.....	124
Figura 51. Cortes histológicos de riñón de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina.	125
Figura 52. Cortes histológicos de riñón del grupo de SM a las 40 semanas de experimentación. Tinción con Hematoxilina y Eosina.	126
Figura 53. Glomerulomegalia y sinequias periféricas polares en riñón en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.	127
Figura 54. Correlación entre glomerulomegalia y sinequias periféricas renales con peso corporal, colesterol total y MDA renal en el grupo de SM con 40 semanas de experimentación.....	127
Figura 55. Histología de riñón en los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación.....	129

Figura 56. Cortes histológicos de páncreas de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina.	130
Figura 57. Número de islotes de Langerhans por campo observado en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación.	131
Figura 58. Cortes histológicos de páncreas de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina.	133
Figura 59. Número de islotes de Langerhans por campo observado en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.	134
Figura 60. Número adipocitos infiltrados en páncreas por campo observado en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.	136
Figura 61. Correlación entre el número de islotes pancreáticos/campo y el peso corporal, colesterol total y c-LDL en el grupo de SM con 40 semanas de experimentación.....	137
Figura 62. Correlación entre el número de islotes pancreáticos/campo, el área de adipocitos y el número de adipocitos infiltrados en páncreas/campo en el grupo de SM+DLC con 40 semanas de experimentación.....	138
Figura 63. Correlación entre el número de adipocitos infiltrados en páncreas/campo, la glucosa sérica, la insulina y el peso corporal en el grupo de SM+DLC con 40 semanas de experimentación.....	139
Figura 64. Cortes histológicos de tejido adiposo visceral de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción hematoxilina y eosina.	140
Figura 65. Tamaño de adipocitos en tejido adiposo visceral en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación.	141
Figura 66. Cortes histológicos de tejido adiposo visceral de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción con rojo de picrosirius.....	142
Figura 67. Cortes histológicos de tejido adiposo visceral de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina.	144
Figura 68. Número adipocitos infiltrados en páncreas por campo observado en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación.	145

Figura 69. Cortes histológicos de tejido adiposo visceral de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Tinción con rojo de picrosirius.....	146
Figura 70. Correlación entre el tamaño de adipocitos, la concentración de glucosa sérica y el peso corporal en el grupo de SM+DLC con 40 semanas de experimentación.	147
Figura 71. Cortes histológicos de aorta de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción de Verhoeff van Geison.	149
Figura 72. Cortes histológicos de aorta de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Tinción de Verhoeff van Geison.	151

III. ABREVIATURAS

11 β -HSD1:	11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 1.
AACE:	Asociación Americana de Endocrinología Clínica.
ALT:	Alanina aminotransferasa.
AST:	Aspartato aminotransferasa.
AVP:	Vasopresina arginina.
CAT:	Catalasa.
CHO:	Carbohidratos.
CMD:	Cuerpos de Mallory-Denk.
CoA:	Coenzima A.
CRH:	Hormona liberadora de corticotropina.
DMT2:	Diabetes mellitus tipo 2.
DNA:	Ácido Desoxirribonucleico.
ECV:	Enfermedad cardiovascular.
EGIR:	Grupo Europeo para el Estudio de la Resistencia a la Insulina.
EHGNA:	Enfermedad de hígado graso no alcohólico.
ELISA:	Ensayo de inmunoadsorción unido a enzimas.
eNOS:	Óxido nítrico sintasa endotelial.
ENSANUT:	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.
EROs:	Especies reactivas de oxígeno.
FEDNA:	Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal.
FFA:	Ácidos grasos libres no esterificados.
GE:	Gasto energético.
GPx:	Glutación peroxidasa.
HDL:	Lipoproteína de alta densidad.
HMG-CoA:	3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A
HTN:	Hipertensión.
Eje HPA:	Eje hipotalámico pituitario adrenal.

IDF:	Federación Internacional de Diabetes.
IL-6:	Interleucina 6.
INEGI:	Instituto Nacional de Estadística y Geografía.
INSP:	Instituto Nacional de Salud Pública.
IR:	Resistencia a la insulina.
IRS:	Sustratos del receptor de insulina.
Kcal:	Kilocalorías.
LDL:	Lipoproteínas de baja densidad.
LDL-C:	Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad.
M1:	Macrófagos proinflamatorios.
M2:	Macrófagos antiinflamatorios.
MAP:	Proteína quinasa activada por proteínas.
MDA:	Malondialdehído.
Micro-RNA:	Micro ácido ribonucleico.
NADP:	Nicotinamida adenina dinucleótico.
NADPH:	Nicotinamida adenina dinucleótico fosfato.
NCEP:ATP III:	Panel III de Tratamiento de Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol.
OMS:	Organización Mundial de la Salud.
OxLDL:	Lipoproteína de baja densidad oxidada.
PDK1:	Proteína quinasa 1.
PI3K:	Fosfoinositol 3-quinasa.
RNS:	Especies reactivas de nitrógeno.
SOD:	Superóxido dismutasa.
TBA:	Ácido tiobarbitúrico.
TNF α :	Factor de necrosis tumoral alfa.
VLDL:	Lipoproteínas de muy baja densidad.

IV. RESUMEN

Introducción: El síndrome metabólico (SM) se define como un conjunto de alteraciones que incluyen dislipidemia, hipertensión, hiperglucemia, así como obesidad y resistencia a la insulina. Estilos de vida poco saludables se asocian con el desarrollo del SM. La restricción del contenido de carbohidratos de la dieta ha atraído interés creciente debido a su eficacia en la pérdida de peso, el control glucémico, la sensibilidad a la insulina y el manejo de los factores de riesgo cardiovascular. Sin embargo, las dietas libres en carbohidratos han sido menos estudiadas, particularmente, su efecto sobre el SM.

Objetivo: Evaluar el efecto de una dieta libre de hidratos de carbono sobre parámetros bioquímicos, morfométricos e histopatológicos en un modelo murino de SM.

Materiales y métodos: Se formuló una dieta libre en carbohidratos (DLC) en base a los datos de la Federación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA). Se utilizaron 50 ratas macho de la cepa Wistar recién destetadas divididas en 5 grupos de estudio. Grupo de dieta normal (DN) ($n=10$): animales expuestos a una DN durante 20 semanas. Grupo de SM ($n=10$): animales alimentados con una dieta formulada (DF) y solución de glucosa (25%) durante 20 semanas. Ambos grupos se utilizaron para demostrar la generación del modelo de SM. Grupo de DN ($n=10$): animales alimentados con DN durante 40 semanas. Grupo de SM ($n=10$): animales alimentados con DF y solución glucosada (25%) durante 40 semanas. Grupo SM+DLC ($n=10$): animales alimentados con la DF y solución glucosada (25%) durante 20 semanas y, posteriormente, con una DLC durante 20 semanas. A todos los animales se les midió el peso, la talla y la glucosa capilar cada mes. Al término de la experimentación, los animales fueron sacrificados para la obtención de sangre total y órganos de interés, para la evaluación de parámetros bioquímicos e histopatológicos.

Resultados: Se formuló la DLC con un 52.95%kcal proveniente de grasas y 47.05%kcal de proteínas. Se demostró la generación del modelo de SM a las 20 semanas mediante cambios en los niveles de glucosa, colesterol, triglicéridos, c-HDL, c-LDL, c-VLDL, PCR, MDA sérico y hepático, y almacenamiento de grasa visceral, así como disminución en las concentraciones de insulina, c-HDL, enzimas hepáticas y glucógeno. De igual forma, la esteatosis hepática, daño renal y la hipertrofia de adipocitos. Los animales con SM expuestos a la DLC mostraron una disminución en la ingesta calórica, un decremento en el peso corporal e índice de Lee, de igual manera, normalizó los niveles de MDA sérico y hepático, insulina, lípidos, ALT, glucógeno hepático, creatinina, decrementó el estado inflamatorio e incremento la concentración de cuerpos cetónicos y urea. A nivel histopatológico la DLC disminuyó el estado de glomerulomegalia e inflamación renal; incrementó el número de islotes de Langerhans y disminuyó la deposición de grasa en páncreas; decrementó la hipertrofia de adipocitos e incremento el patrón lobular del tejido adiposo; redujo el ensanchamiento de la pared de la túnica media en aorta y, a nivel de hígado, produjo degradación balonizante e inflamación.

Conclusiones: La dieta alta en glucosa genera SM en las ratas macho Wistar. El cambio hacia una DLC revierte las alteraciones metabólicas generadas por el SM, con excepción de la glucemia, probablemente, debido a la alta tasa de gluconeogénesis.

V. ABSTRACT

Introduction: Metabolic syndrome (MS) is defined as a set of alterations that include dyslipidemia, hypertension, hyperglycemia, as well as obesity and insulin resistance. Unhealthy lifestyles are associated with the development of MS. Restriction of the carbohydrate content of the diet is of growing interest due to its efficacy in weight loss, glycemic control, insulin sensitivity and management of cardiovascular risk factors. However, carbohydrate-free diets (CFD) have been less studied, particularly their effect on MS.

Objective: Evaluate the effect of a CFD on biochemical, morphometric, and histopathological parameters in a murine model of MS.

Materials and methods: A CFD were formulated based on data from the Spanish Federation for the Development of Animal Nutrition (FEDNA). 50 recently weaned male Wistar rats, divided into 5 study groups were used. Normal diet (ND) group ($n=10$): animals exposed to a ND for 20 weeks. MS group ($n=10$): animals fed a formulated diet (FD) and glucose solution (25%) for 20 weeks. Both groups were used to demonstrate the generation of the MS model. ND group ($n=10$): animals fed with ND for 40 weeks. MS group ($n=10$): animals fed with FD and glucose solution (25%) for 40 weeks. SM+DLC group ($n=10$): animals fed with FD and glucose solution (25%) for 20 weeks and, subsequently, with a CFD for 20 weeks. All animals were measured for weight, height, and capillary glucose monthly. At the end of the experimentation, the animals were sacrificed to obtain whole blood and organs of interest, for the evaluation of biochemical and histopathological parameters.

Results: The CFD was formulated with 52.95% kcal from fat and 47.05% kcal from protein. The generation of the MS model at 20 weeks was demonstrated by changes in the levels of glucose, cholesterol, triglycerides, LDL-c, VLDL-c, CRP, serum and hepatic MDA, and visceral fat storage, as well as a decrease in insulin, HDL-c, liver enzymes, and glycogen concentrations. Similarly, hepatic steatosis, kidney damage and adipocyte hypertrophy. Animals with MS exposed to CFD showed a decrease in caloric intake, body weight and Lee's index, in the same way, the CFD normalized levels of serum and liver MDA, insulin, lipids, ALT, liver glycogen, creatinine, decrease the inflammatory state and increased the concentration of ketone bodies and urea. At the histopathological level, the CFD decreased the state of glomerulomegaly and renal inflammation; increased the number of islets of Langerhans and decreased fat deposition in pancreas; decreased adipocyte hypertrophy and increased the lobular pattern of adipose tissue; reduced the widening of the tunica media in the aorta and, at the level of the liver, it produced ballooning degradation and inflammation.

Conclusions: The high glucose diet generates MS in male Wistar rats. The change towards a CFD reverses the metabolic alterations produced by MS, except for glycemia, probably due to the high rate of gluconeogenesis.

1. ANTECEDENTES

1.1. Síndrome Metabólico

El síndrome metabólico (SM) se define como un conjunto de alteraciones que incluyen dislipidemia (triglicéridos elevados, lipoproteínas que contienen apolipoproteína B y lipoproteínas de alta densidad), elevación de la presión arterial y homeostasis de glucosa desregulada, siendo las principales manifestaciones la obesidad y la resistencia a la insulina (Rochlani *et al.*, 2017). Se asocia con aterosclerosis acelerada en respuesta a inflamación crónica, confiriendo un mayor riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular (ECV) y diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (McCracken *et al.*, 2017).

La definición del SM ha sido modificada numerosas veces desde su descripción original. Los criterios para su establecimiento han sido desarrollados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), el Grupo Europeo para el Estudio de la Resistencia a la Insulina (EGIR, por sus siglas en inglés) y el Panel III de Tratamiento de Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (NCEP ATP III, por sus siglas en inglés) (Nilsson *et al.*, 2019; Saklayen, 2018).

De acuerdo con el NCEP:ATP III, el SM está presente si se cumplen tres o más de los siguientes cinco criterios: circunferencia de la cintura de más de 40 pulgadas (102 centímetros) en hombres o 35 pulgadas (88 centímetros) en mujeres, presión arterial de más de 130/85 mm Hg, triglicéridos en ayunas con un nivel superior a 150 mg/dL, nivel de colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL) en ayunas inferior a 40 mg/dL (hombres) o 50 mg/dL (mujeres) y glucosa en sangre en ayuno superior a 100 mg/dL (National Cholesterol Education Program (NCEP), 2005).

1.1.1. Epidemiología del Síndrome Metabólico

La prevalencia del SM varía según la definición utilizada, así como otros factores tales como la edad, el sexo, el nivel socioeconómico y el origen étnico de los estudios analizados. Sin embargo, a partir de investigaciones realizadas en la última década, se sabe que entre un tercio y un cuarto de los adultos de la población mundial cumplen con los criterios de diagnóstico del SM (Samson & Garber, 2014; H. H. Wang *et al.*, 2020).

La incidencia del SM a menudo es paralela a la incidencia de la obesidad y la incidencia de la DM2 (Elabbassi & Haddad, 2005).

En México, se reportó que la prevalencia del SM en hombres era del 39.9% y 59.9% en mujeres, con base en el criterio del Panel III de Tratamiento de Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (NCEP:ATP III) (Wacher-Rodarte, 2009)

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT, 2018), realizada por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en conjunto con el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), en México, el 40% de las muertes se deben a alguna enfermedad relacionada con el SM: diabetes mellitus (15%), enfermedades isquémicas del corazón (13.4%), enfermedades del hígado (5.4%) y eventos cerebrovasculares (5.2%) (INEGI, 2019).

1.1.2. Fisiopatología del Síndrome Metabólico

La patogenia del SM involucra tanto factores genéticos como adquiridos (Kassi *et al.*, 2011). Debido a la amplia variación en la distribución geográfica del SM, se ha enfatizado la importancia de los factores ambientales y de estilo de vida, tales como el consumo de calorías en exceso y la falta de actividad física, como los principales contribuyentes del desarrollo de SM (Smith & Ryckman, 2015; H. Xu *et al.*, 2019). El acceso a dietas más baratas con la incorporación de altos contenidos de grasas y carbohidratos ha contribuido al crecimiento de la obesidad y, con ello, al aumento en la prevalencia del SM (A. M. L. Chan *et al.*, 2021; Rodríguez-Monforte *et al.*, 2016).

Entre los diversos mecanismos hipotéticos que explican la fisiopatología del SM, la resistencia a la insulina es la más aceptada, en conjunto con la obesidad visceral que conduce, no sólo a la resistencia a la insulina, sino también a la liberación de ácidos grasos libres no esterificados (FFA, por sus siglas en inglés), promoviendo la acumulación ectópica en sitios como el hígado, páncreas, músculo esquelético y riñón, predisponiendo un estado de dislipidemia y resistencia a la insulina. Otros mecanismos incluyen la inflamación crónica de bajo grado y el estrés oxidativo (figura 1) (Swarup *et al.*, 2021; Yaribeygi *et al.*, 2018).

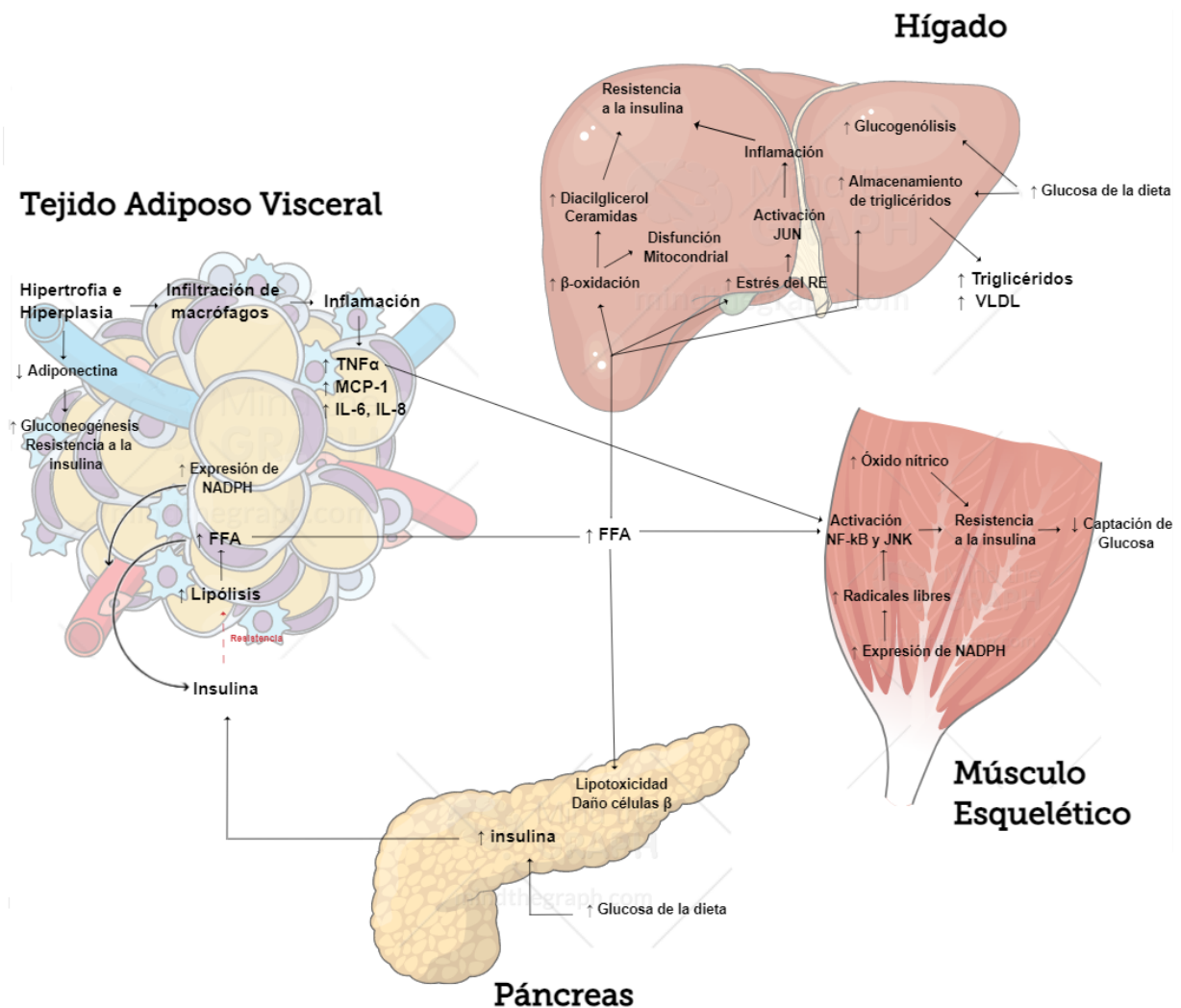


Figura 1. Fisiopatología general y efectos bioquímicos del síndrome metabólico. FFA: ácidos grasos libres; IL-6: interleucina 6; IL-8: interleucina 8; JNK: quinasa jun n-terminal; MCP-1: proteína quimiotáctica de monocitos 1; NADPH: nicotinamida adenina dinucleótido fosfato; NF-κB: factor nuclear kappa B; RE: retículo endoplásmico; TNFα: factor de necrosis tumoral alfa; VLDL: lipoproteína de muy baja densidad.

1.1.2.1. Resistencia a la Insulina

Diversas organizaciones consideran, en sus definiciones, a la resistencia a la insulina como el factor central de la fisiopatología del SM (McCracken *et al.*, 2017). La resistencia a la insulina consiste en la disminución de la capacidad de la hormona para actuar de manera efectiva sobre los tejidos blanco, en particular el músculo, el hígado y el tejido adiposo (Gerard, 2019; Taylor *et al.*, 2019).

La insulina es producida por el páncreas en respuesta a concentraciones elevadas de glucosa en sangre, y estimula la captación de esta en varios tejidos tales como el músculo esquelético, el hígado y el tejido adiposo. En el músculo esquelético y el tejido adiposo, la insulina estimula la captación de glucosa mediante la translocación del transportador de glucosa GLUT4 a la superficie celular. En el músculo esquelético y el hígado, la insulina estimula la síntesis de glucógeno a partir de glucosa e inhibe la glucogenólisis (M. C. Petersen & Shulman, 2018).

En el hígado, la insulina también disminuye la gluconeogénesis hepática, evitando la entrada de más glucosa en el torrente sanguíneo. En el tejido adiposo, la insulina inhibe la lipólisis y estimula la absorción de glucosa. El efecto neto de todos estos cambios es aumentar la absorción de glucosa, reducir los niveles de glucosa circulante y aumentar la conversión de glucosa en moléculas de almacenamiento, como el glucógeno o la grasa (Huang, 2009; Kassi *et al.*, 2011).

La señalización celular de la insulina se produce tras la unión de ésta al receptor de insulina (IRS, por sus siglas en inglés) de tipo tirosina quinasa activada por ligando. Esta unión da como resultado la fosforilación del receptor en los sustratos posteriores y la activación de dos vías paralelas: la vía de la fosfoinositol 3-quinasa (PI3K, por sus siglas en inglés) y la vía de la proteína quinasa activada por mitocondrias (MAP, por sus siglas en inglés). La activación de la vía de la PI3K produce una posterior activación de la proteína quinasa 1 (PDK1, por sus siglas en inglés) dependiente de 3 fosfoinositol y la quinasa Akt. La vía PI3K-Akt es responsable de muchos de los efectos metabólicos posteriores de la insulina (Huang, 2009). En las células endoteliales vasculares, la quinasa Akt fosforila y activa la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS). En el músculo esquelético y el tejido adiposo, la Akt quinasa estimula la translocación del transportador de glucosa GLUT4 que responde a la insulina, en la superficie celular, lo que aumenta la captación de glucosa (Figura 2) (Bevilacqua & Bizzarri, 2018; De Meyts, 2016).

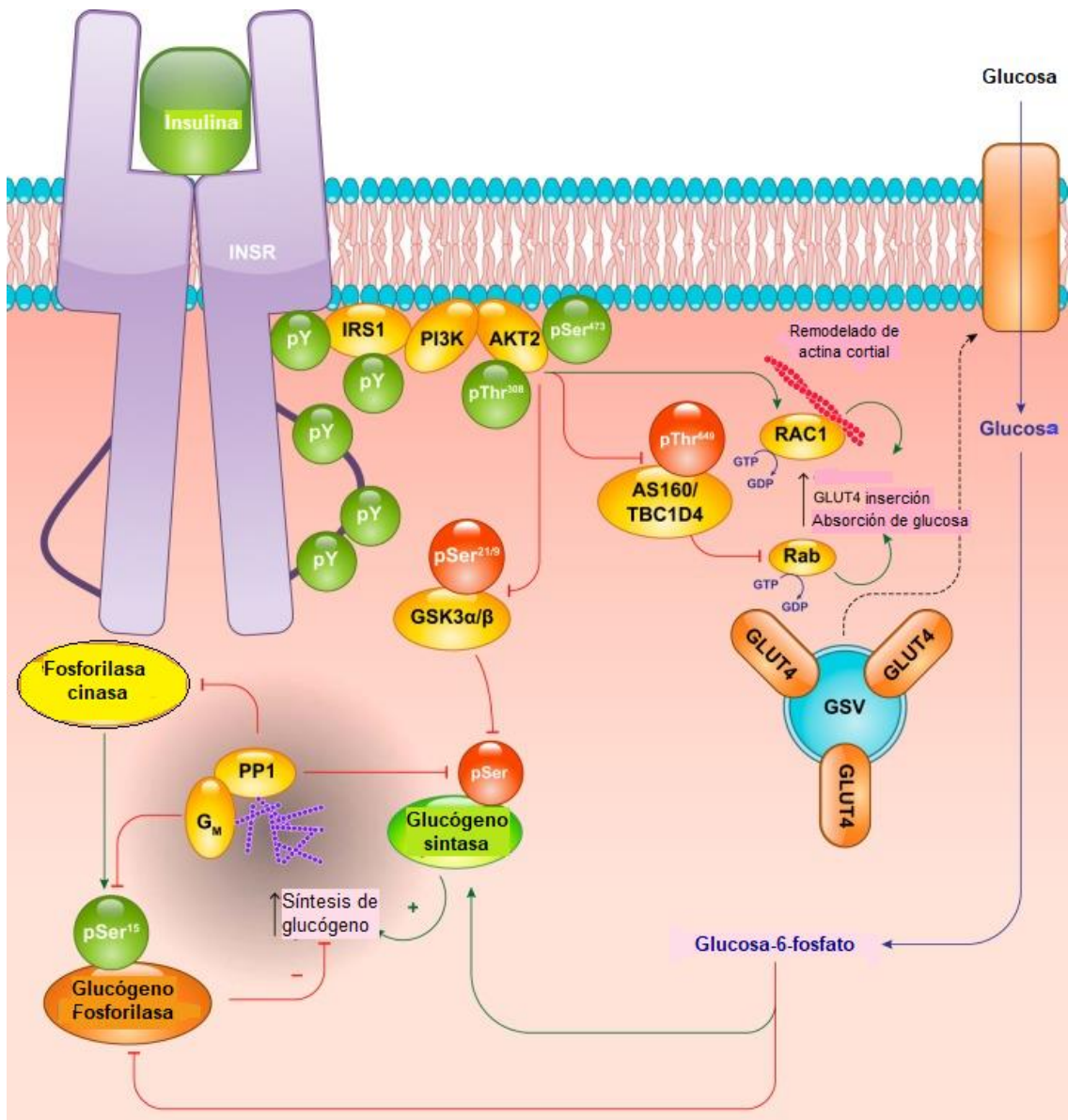


Figura 2. Cascada de señalización de la insulina en músculo esquelético. Tomado y modificado de “Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance”, por M. C. Petersen y G. I. Shulman, 2018, *Physiol Rev*, 98(4), p. 2136.

En la resistencia a la insulina, la vía PI3K-Akt se ve afectada, mientras que la vía MAP quinasa se mantiene intacta. La inhibición de la vía PI3K-Akt conduce a una reducción en la producción de óxido nítrico (NO) endotelial, lo que produce disfunción endotelial y una reducción en la translocación de GLUT4, resultando en una disminución de la captación de glucosa en el músculo esquelético y tejido adiposo (figuras 3 y 4) (Elabbassi & Haddad, 2005; Huang, 2009; Kassi *et al.*, 2011).

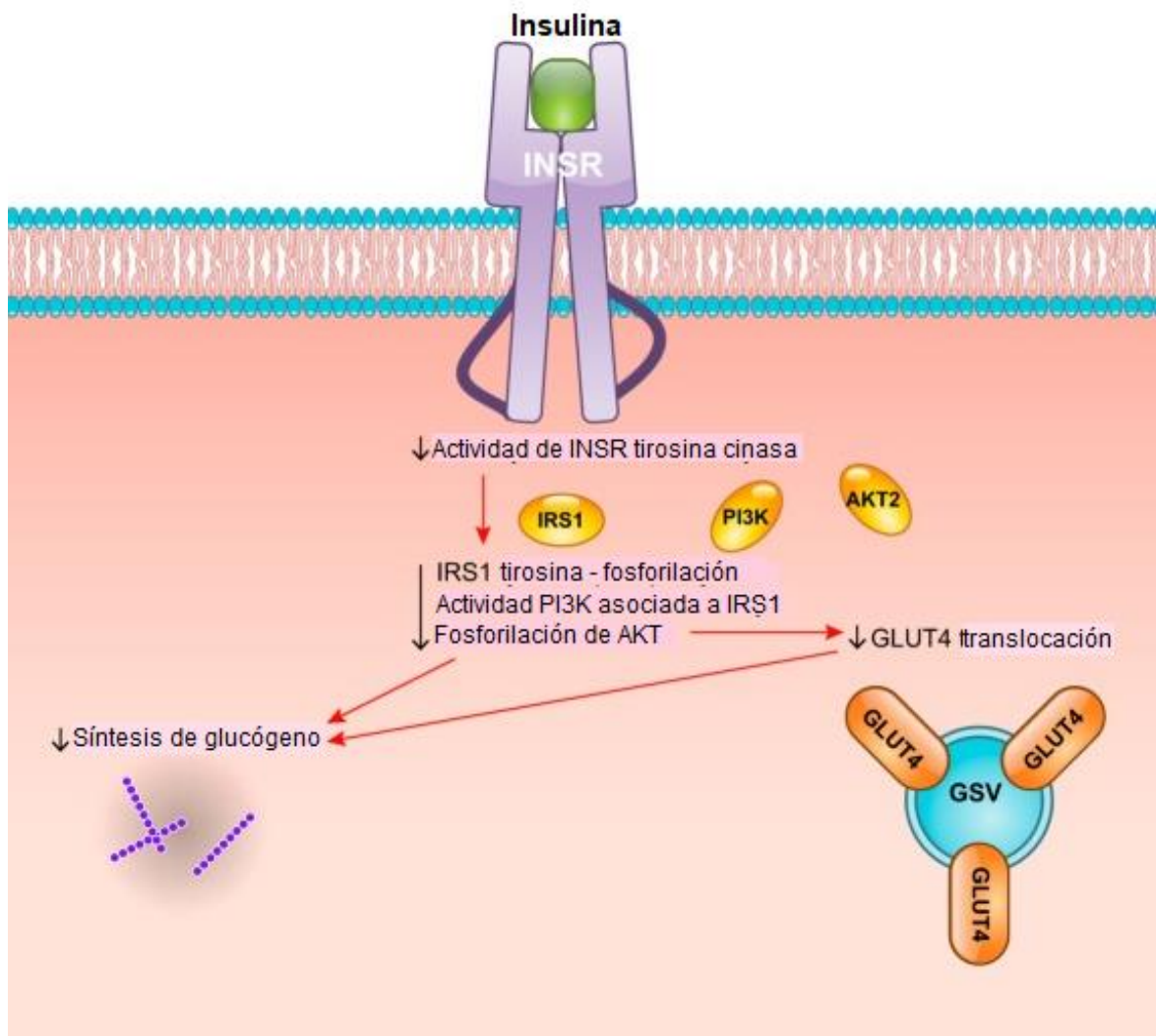


Figura 3. Consecuencias funcionales de la resistencia a la insulina. Tomado y modificado de “Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance”, por M. C. Petersen y G. I. Shulman, 2018, *Physiol Rev*, 98(4), p. 2145.

El desencadenante primario del desarrollo de resistencia a la insulina es el aumento en la obesidad visceral, relacionada con un aumento en el consumo de dietas ricas en grasas y azúcares por períodos prolongados (Rodríguez-Monforte *et al.*, 2016). En el estado de resistencia a la insulina, el hígado produce glucosa continuamente, generando un aumento en la concentración plasmática de ésta y desencadenando una mayor producción de insulina. Además, la acumulación de grasa en el hígado provoca un flujo constante de FFA capaces de depositarse en diversos tejidos. Se sabe que los FFA disminuyen la producción aguda de insulina, lo que

eventualmente provoca un aumento de los niveles de glucosa posprandial. A su vez, este proceso daría como resultado una mayor tendencia a almacenar el exceso de carbohidratos como grasa visceral y hepática. Estos procesos continuarían hasta un punto en el que las células β se vuelvan incapaces de producir suficiente insulina para compensar la resistencia a la misma, lo que resultaría en el desarrollo de diabetes (McCracken *et al.*, 2017; Taylor *et al.*, 2019).

La resistencia a la insulina produce una pérdida del efecto vasodilatador de ésta, en conjunto con la vasoconstricción causada por los FFA se predispone al desarrollo de hipertensión. Los mecanismos involucrados incluyen una mayor activación simpática y reabsorción de sodio en los riñones. De igual manera, la resistencia a la insulina provoca un aumento en la viscosidad sérica, la inducción de un estado protrombótico y la liberación de citocinas proinflamatorias del tejido adiposo que contribuyen a un mayor riesgo de enfermedad coronaria (Rochlani *et al.*, 2017).

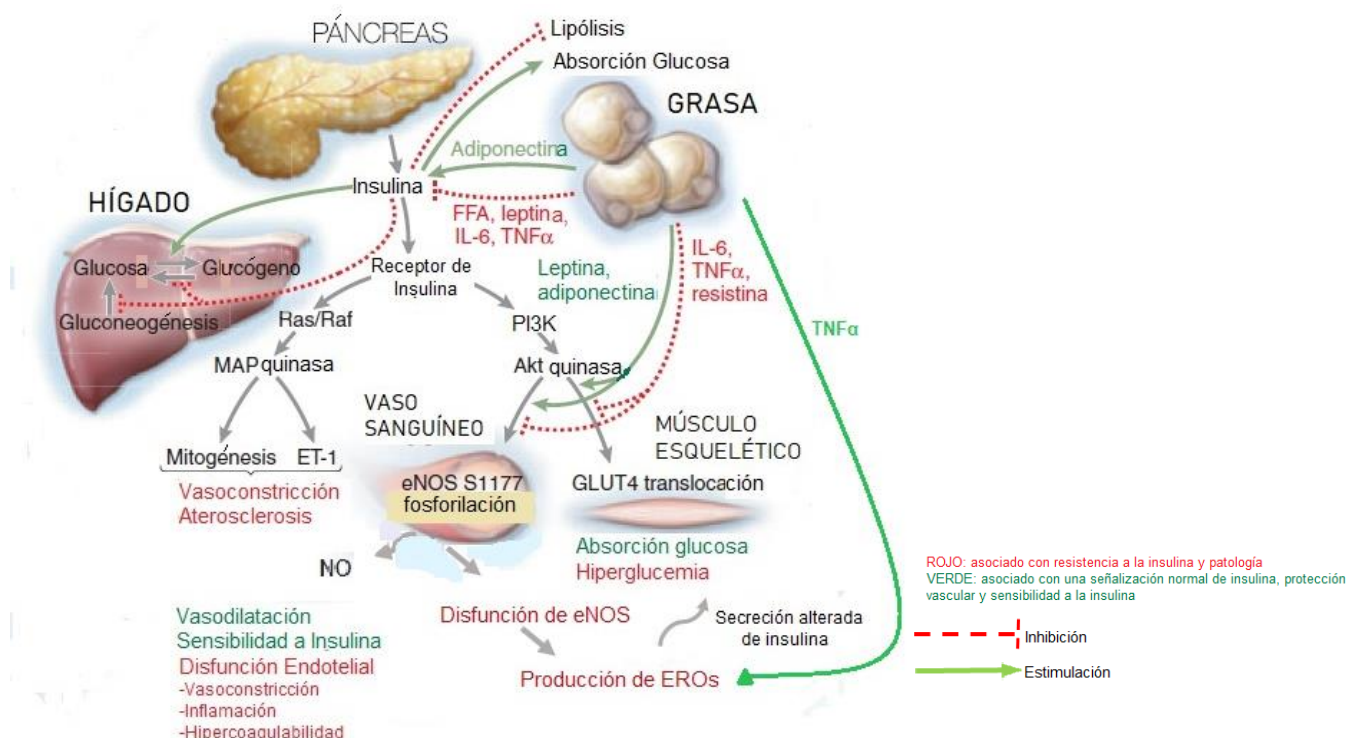


Figura 4. Esquema de las alteraciones metabólicas que se producen en la resistencia a la insulina. Tomado y modificado de “A comprehensive definition for metabolic syndrome”, por P. L. Huang, 2009, *Disease Models & Mechanisms*, 2, p. 232.

1.1.2.2. Obesidad e Inflamación

Se ha demostrado una relación entre el estado de obesidad y la inflamación con el desarrollo de SM. Un balance de energía positivo entre el consumo y el gasto energético tiene como resultado la ganancia de peso y obesidad. Este exceso en el balance se almacena en forma de grasa, la cual no sólo es un depósito inerte de almacenamiento de energía, sino que, además, los adipocitos son metabólicamente activos y secretan más de una docena de hormonas que afectan el apetito, la saciedad y el metabolismo energético del cuerpo (Elabbassi & Haddad, 2005; Longo *et al.*, 2019). Los depósitos de tejido adiposo no son metabólicamente iguales. La grasa visceral, en comparación con la grasa subcutánea, tiene patrones de expresión génica distintos y se asocia con mayor resistencia a la insulina (Kassi *et al.*, 2011; Samson & Garber, 2014).

El almacenamiento de grasa visceral produce una disminución en la captación de glucosa mediada por insulina, relacionándose directamente con la resistencia a la insulina. Los mecanismos involucran la secreción de adipocinas proinflamatorias producidas por el tejido adiposo, como el factor de necrosis tumoral α (TNF α), interleucina-6 (IL-6), leptina, resistina y angiotensina II que contribuyen a la resistencia a la insulina y la disfunción vascular (figura 5) (Ashraf *et al.*, 2018; Kang *et al.*, 2016). Por otra parte, la adipocina llamada adiponectina ejerce un papel protector contra el desarrollo de DM2, hipertensión, inflamación y enfermedades vasculares ateroscleróticas; ésta se encuentra disminuida en individuos con acumulación de grasa visceral, relacionándose con el desarrollo de SM (Elabbassi & Haddad, 2005; Huang, 2009; Kassi *et al.*, 2011).

Otras sustancias relacionadas con el tejido adiposo, posiblemente implicadas en la patogenia del SM, son los ácidos grasos libres no esterificados (FFA, por sus siglas en inglés). En el estado de resistencia a la insulina, el proceso de movilización de los FFA a partir de triglicéridos almacenados se acelera. El flujo de FFA en torrente sanguíneo da como resultado un aumento en la producción de glucosa y triglicéridos en hígado, así como la secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, por sus siglas en inglés) (figura 3). De igual forma, los FFA también reducen la sensibilidad a la insulina en el músculo esquelético al inhibir la captación de glucosa mediada por insulina y aumentan la producción de fibrinógeno (Saklayen, 2018; Suiter *et al.*, 2018).



Figura 5. Esquema de las alteraciones metabólicas que se producen en el tejido adiposo como fisiopatología del síndrome metabólico. Tomado y modificado de “A comprehensive definition for metabolic syndrome”, por P. L. Huang, 2009, *Disease Models & Mechanisms*, 2, p. 232.

Los macrófagos que residen en el tejido adiposo son dos subtipos principales, los macrófagos proinflamatorios (M1) y los macrófagos activados asociados con un perfil antiinflamatorio (M2). En individuos sanos, el tejido adiposo presenta un fenotipo M2, los cuales contribuyen a mantener la sensibilidad a la insulina e inhibir la desregulación e inflamación en el tejido. En el estado de obesidad, las células hipertróficas del tejido adiposo presentan anomalías de tipo necrótico promoviendo la entrada masiva de monocitos, los cuales se diferencian a macrófagos M1 proinflamatorios secretores de citocinas inflamatorias que desempeñan un papel importante en el desarrollo de inflamación local y sistémica, así como a la resistencia a la insulina (Longo *et al.*, 2019; Poitou *et al.*, 2013).

1.1.2.3. Estrés Oxidativo

Las especies reactivas de oxígeno (EROs) son derivados ubicuos, altamente reactivos y de corta duración del metabolismo del oxígeno, reaccionan con las moléculas circundantes en el sitio de formación y son producidos en todos los sistemas biológicos (Avelar *et al.*, 2015).

Estas especies incluyen el radical superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo ($OH^\cdot$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), así como las especies reactivas de nitrógeno, como el óxido nítrico (NO) y el radical peroxinitrico ($ONOO^\cdot$) (Roberts & Sindhu, 2009).

El estrés oxidativo se define como una disparidad en la producción y la degradación de EROs (Rani *et al.*, 2016). El estrés oxidativo, en conjunto con la inflamación sistémica juegan un papel importante en la fisiopatología del SM. El aumento de la producción de EROs en numerosos tejidos, incluidos el músculo esquelético y los tejidos cardiovasculares, se ha asociado con la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona que, a su vez, participa en el desarrollo de hipertensión y resistencia a la insulina (Lasker *et al.*, 2019).

En estudios en humanos y animales se ha observado una correlación positiva entre la acumulación de grasa ectópica en diferentes tejidos y la generación de estrés oxidativo con la producción de EROs, así como una disminución de la expresión de enzimas antioxidantes y una mayor expresión de NADPH oxidasa (McCracken *et al.*, 2017). De igual forma, se ha demostrado que el proceso oxidativo puede modificar LDL en LDL oxidada (OxLDL) debido a la condición oxidativa prevalente durante el trastorno metabólico como la glucoxidación, la producción de EROs, especies reactivas de nitrógeno (RNS, por sus siglas en inglés) y la activación de varias oxidasas y oxigenasas junto con una disminución de la actividad del sistema antioxidante celular (Rani *et al.*, 2016).

Las principales enzimas que participan en el proceso de reducción del estrés oxidativo son: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx). La función de SOD es catalizar la dismutación de aniones O_2^- en H_2O_2 , que es menos reactivo que la especie anterior. El H_2O_2 también tiene capacidad oxidante y se difunde fácilmente a través de las membranas celulares y el citosol. Para reducir esta acción se requiere la presencia de enzimas CAT y GPx, que son capaces de neutralizar esta especie reactiva, produciendo agua y oxígeno molecular (figura 6) (Avelar *et al.*, 2015).

Si los sistemas antioxidantes celulares no inactivan las EROs, éstas pueden reaccionar con macromoléculas celulares e iniciar el proceso de peroxidación de lípidos, causar daño al DNA y/o inducir modificaciones de proteínas y ácidos nucleicos (Roberts & Sindhu, 2009).

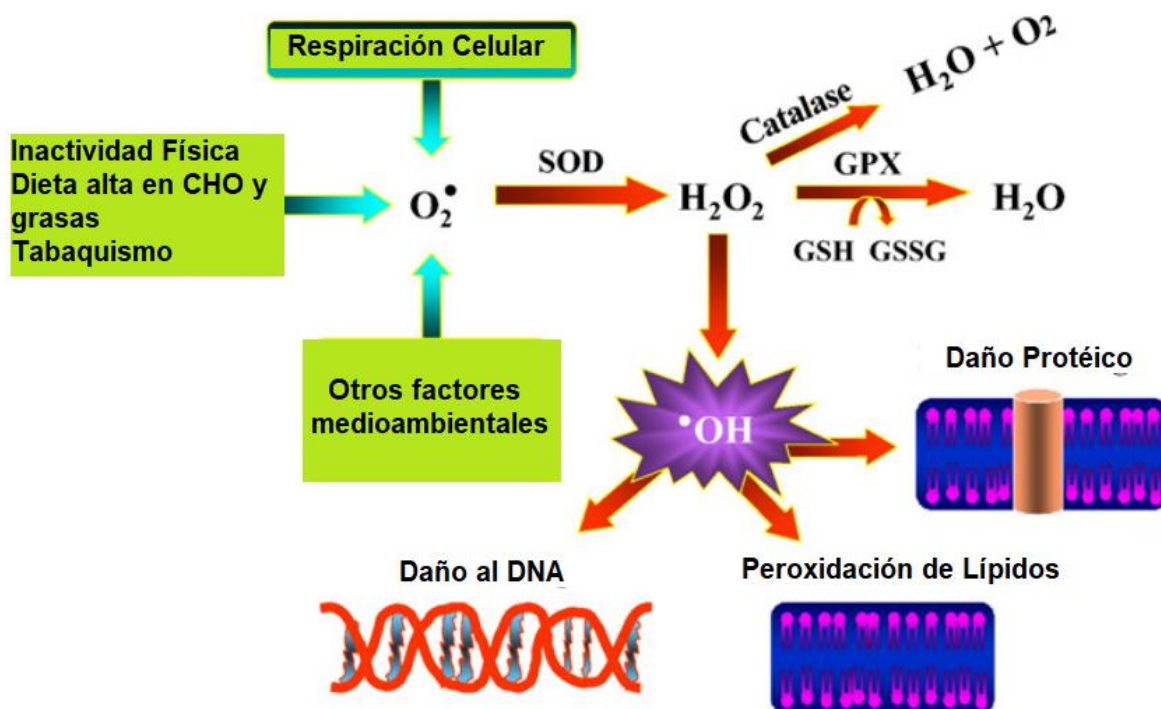


Figura 6. Descripción general de la desintoxicación enzimática y antioxidante de EROs. Tomado y modificado de “Oxidative stress and metabolic syndrome”, por C. K. Roberts, 2009, *Life Sciences* 84, p. 706.

1.1.3. Tratamiento del Síndrome Metabólico

El tratamiento del SM implica un enfoque dual que combina cambios en el estilo de vida e intervenciones farmacológicas, en un esfuerzo por disminuir las comorbilidades que se presentan a partir del desarrollo del SM (Rochlani *et al.*, 2017).

Las principales intervenciones farmacológicas incluyen el manejo de la dislipidemia con estatinas, la disminución del riesgo protrombótico con fármacos antiplaquetarios y el uso de sensibilizadores a la insulina para disminuir el riesgo de diabetes (Binesh Marvasti & Adeli, 2010; Rask Larsen *et al.*, 2018). Sin embargo, no existe un tratamiento farmacológico único para el SM, por lo que la farmacoterapia y las comorbilidades asociadas requieren el uso prolongado de múltiples medicamentos, representando un desafío para los pacientes debido a la polifarmacia y el posible incumplimiento de la terapia (Kassi *et al.*, 2011; Rochlani *et al.*, 2017). Además, la disfunción de las células β pancreáticas ha demostrado ser menos susceptible de tratamiento. Se ha identificado que, en el momento del diagnóstico, la función de las células β

ha disminuido aproximadamente el 50% de lo normal, y continúa disminuyendo de forma progresiva, independientemente del tratamiento farmacológico (Taylor *et al.*, 2019).

Los cambios en el estilo de vida son esenciales en el manejo de los factores de riesgo del SM. Se sabe que una reducción en el peso corporal por medio de modificaciones en la alimentación es una de las estrategias preventivas y de tratamiento de los componentes del SM (McCracken *et al.*, 2017).

De acuerdo con la Guía de Práctica Clínica de SM de la Asociación Latinoamericana de Diabetes, limitar la ingesta de carbohidratos simples es una de las estrategias iniciales de manejo en los pacientes con sobrepeso y factores de riesgo para presentar SM, o en aquellos que presentan alteraciones bioquímicas asociadas a éste (Elizondo-Argueta *et al.*, 2019).

La restricción calórica muestra un efecto benéfico sobre la prevención y el tratamiento del SM, mejorando algunos marcadores como la presión arterial, la glucosa sanguínea y el colesterol plasmático. La restricción calórica mediante la manipulación del contenido de carbohidratos de la dieta ha atraído interés creciente debido a su eficacia en la pérdida de peso, el control glucémico, la sensibilidad a la insulina y el manejo de los factores de riesgo cardiovascular. Sin embargo, existe poco consenso sobre el grado de restricción de carbohidratos en la dieta para obtener un resultado óptimo en el control de los parámetros (Chen *et al.*, 2015).

1.1.3.1. Dietas Bajas y libres en Carbohidratos

De acuerdo con la creciente evidencia generada en las últimas décadas, las dietas bajas en carbohidratos tienen un papel terapéutico importante en numerosas enfermedades, siendo de interés particular por el efecto que presentan con respecto a la pérdida de peso y la disminución de la dependencia farmacológica en enfermedades metabólicas (Sainsbury *et al.*, 2018). Por tal razón, la investigación en el campo de las intervenciones nutricionales es importante, debido a que traería beneficios significativos desde un punto de vista económico y social, así como del cumplimiento por parte del paciente (Paoli *et al.*, 2013).

Una dieta baja en carbohidratos generalmente restringe el total de éstos a menos de 130 gramos por día (<26% kcal), mientras que una dieta muy baja en carbohidratos o cetogénica

limita la ingesta de carbohidratos totales a menos de 20 a 50 gramos por día (<10%) (Kelly *et al.*, 2020).

El consumo de proteínas generalmente no cambia con respecto a una dieta estándar (alrededor del 20% de la ingesta total), y las necesidades energéticas restantes se cubren con grasa de la dieta o de las reservas de grasa corporal movilizadas. Las fuentes de carbohidratos son principalmente vegetales sin almidón, así como nueces, lácteos y fruta de forma limitada (Hallberg *et al.*, 2019; Unwin *et al.*, 2019).

La ausencia de carbohidratos en la dieta mantiene la insulinemia baja y la oxidación de lípidos aumenta a expensas del depósito visceral, de tal manera que las necesidades energéticas del sistema nervioso y el sistema cardiovascular se ven cubiertas por medio de la gluconeogénesis y cetogénesis (Mirhashemi *et al.*, 2008).

En la tabla 1 se describen los estudios clínicos y básicos reportados de las dietas bajas en carbohidratos y en la tabla 2 se muestra los reportes del impacto de la restricción total de consumo de carbohidratos en la salud metabólica.

Tabla 1. Impacto de la restricción de consumo de carbohidratos en la salud metabólica.

Referencia	Modelo de Investigación	Población de Estudio	Duración	Restricción Calórica	Porcentaje de Calorías de Macronutrientes	Resultados Principales
Meckling <i>et al.</i> , 2004	Estudio clínico	Adultos obesos (n=40)	10 semanas	Dieta baja en carbohidratos	15% Carbohidratos	Normalización de los niveles de glucosa e insulina en ayuno, mejora de la sensibilidad a la insulina. Disminución significativa de peso.
Sharman & Volek, 2004	Estudio clínico	Hombres adultos con sobrepeso (n=15)	12 semanas	Dieta muy baja en carbohidratos	<10% Carbohidratos 60% Grasas 30% Proteínas	Reducción de citocinas proinflamatorias, quimiocinas y moléculas de adhesión.
Petersen <i>et al.</i> , 2005	Estudio clínico	Adultos obesos con diabetes mellitus tipo 2 (n=8)	16 semanas	Dieta baja en carbohidratos	<25% Carbohidratos	Disminución de los niveles de grasa hepática, normalización de sensibilidad a insulina en hígado, disminución de glucosa plasmática en ayuno, incremento de GLP-1.
Yancy <i>et al.</i> , 2005	Estudio clínico	Adultos con sobrepeso (n=28)	24 semanas	Dieta muy baja en carbohidratos	14% Carbohidratos 44% Grasas 42% Proteínas	Disminución de hemoglobina glucosilada (HbA1c).

Blouet <i>et al.</i> , 2006	Estudio básico	Ratas Wistar macho (<i>n</i> =30)	8 semanas	Dieta baja en carbohidratos	33% Carbohidratos 14% Grasas 53% Proteínas	Hipoplasia de tejido adiposo, disminución del peso corporal, aumento de la sensibilidad a la insulina, mejora de la homeostasis de la glucosa.
Kamuren <i>et al.</i> , 2006	Estudio básico	Ratas Sprague-Dawley diabéticas (<i>n</i> =92)	4 semanas	Dieta muy baja en carbohidratos	5% Carbohidratos 68% Grasas 27% Proteínas	Mejoras en niveles de glucosa plasmática, HbA1c y glutionato peroxidasa.
Koide <i>et al.</i> , 2007	Estudio básico	Ratas OLETF macho (<i>n</i> =18)	8 semanas	Dieta baja en carbohidratos	30% Carbohidratos 40% Grasas 30% Proteínas	Aumento de la sensibilidad de la insulina, disminución de los niveles de insulina plasmática, colesterol total y triglicéridos. Disminución de la grasa visceral. Aumento de la actividad de leptina.
Al-Khalifa <i>et al.</i> , 2009	Estudio básico	Ratas Wistar macho diabéticas (<i>n</i> =63)	8 semanas	Dieta baja en carbohidratos	10% Carbohidratos 60% Grasas 30% Proteínas	Disminución de glucemia, mejora en la función de las células β pancreáticas, disminución de estrés oxidativo.
Caton <i>et al.</i> , 2009	Estudio básico	Ratas Wistar macho obesas (<i>n</i> =48)	4 semanas	Dieta muy baja en carbohidratos	1.3% Carbohidratos 94% Grasas 4.2% Proteínas	Disminución del peso corporal y el gasto de energía.

Volek <i>et al.</i> , 2009	Estudio clínico	Adultos obesos con dislipidemia aterogénica (n=40)	12 semanas	Dieta muy baja en carbohidratos	10% Carbohidratos 60% Grasas 30% Proteínas	Pérdida de peso, reducción de glucemia e insulinemia, disminución de la adiposidad visceral.
Axen & Axen, 2010	Estudio básico	Ratas Sprague-Dawley macho, obesas (n=74)	16 semanas	Dieta muy baja en carbohidratos	5% Carbohidratos 60% Grasas 35% Proteínas	Disminución del peso corporal.
de Luis <i>et al.</i> , 2012	Estudio clínico	Adultos obesos (n=305)	12 semanas	Dieta baja en carbohidratos	38% Carbohidratos 36% Grasas 26% Proteínas	Disminución de los depósitos de grasa, pérdida de peso.
Bielohuby <i>et al.</i> , 2013	Estudio básico	Ratas Wistar macho (n=15)	4 semanas	Dieta muy baja en carbohidratos	2.2% Carbohidratos 78.7% Grasas 19.1% Proteínas	Disminución de glucosa plasmática y niveles de insulina.
Prince <i>et al.</i> , 2013	Estudio básico	Ratas Wistar macho (n=8)	3 semanas	Dieta muy baja en carbohidratos	0.1% Carbohidratos 89.5% Grasas 10.4% Proteínas	Aumento de los niveles de consumo de oxígeno y disminución de los niveles de producción de dióxido de carbono, aumento en oxidación de grasas.
Ruth <i>et al.</i> , 2013	Estudio clínico	Adultos obesos (n=29)	12 semanas	Dieta muy baja en carbohidratos	5% Carbohidratos 60% Grasas 35% Proteínas	Disminución de niveles plasmáticos de lípidos, mejoras en la inflamación sistémica y el peso corporal.

Jonasson <i>et al.</i> , 2014	Estudio clínico	Adultos con diabetes mellitus tipo 2 (<i>n</i> =59)	24 semanas	Dieta baja en carbohidratos	20% Carbohidratos 39% Grasas 19% Proteínas	Disminución de estrés oxidativo, reducción de niveles de leptina e interleucina-6, sensibilización de la insulina.
Arimura <i>et al.</i> , 2017	Estudio básico	Ratones macho <i>db</i> diabéticos (<i>n</i> =24)	15 días	Dieta baja en carbohidratos	59% Carbohidratos 17% Grasas 24% Proteínas	Deterioro de la condición diabética por insuficiencia en la secreción de insulina.
Chen <i>et al.</i> , 2015	Estudio básico	Ratas Wistar macho (<i>n</i> =36)	12 semanas	Dieta baja en carbohidratos	40% Carbohidratos 26% Grasas 34% Proteínas	Disminución en niveles de triglicéridos, aumento de la expresión génica de adiponectina y PPAR γ en tejido adiposo.
Monteiro <i>et al.</i> , 2016	Estudio básico	Ratas Wistar hembra (<i>n</i> =20)	8 semanas	Dieta baja en carbohidratos	8.7% Carbohidratos 31.7% Grasas 59.4% Proteínas	Lesión celular en hígado, elevación plasmática de transaminasas.
Kurosaka <i>et al.</i> , 2017	Estudio básico	Ratas Sprague-Dawley macho	12 semanas	Dieta baja en carbohidratos	20% Carbohidratos 60% Grasas 20% Proteínas	Alteraciones estructurales en las mitocondrias hepáticas, interrupción de la β -oxidación, desarrollo de hígado graso.
Winwood-Smith <i>et al.</i> , 2017	Estudio básico	Moscas hembra <i>Drosophila melanogaster</i>	9 días	Dieta baja en carbohidratos	<20% Carbohidratos	Pérdida de peso por reducción de reservas de glucógeno.

Ma <i>et al.</i> , 2018	Estudio básico	Ratones macho C57BL/6J (n=35)	8 semanas	Dieta muy baja en carbohidratos	3.5% Carbohidratos 8.9% Grasas 76.1% Proteínas	Disminución del peso corporal.
Hallberg <i>et al.</i> , 2019	Estudio clínico	Adultos con diabetes mellitus tipo 2 (n=349)	1 año	Dieta baja en carbohidratos	15% Carbohidratos	Mejoras en el control glucémico, reducción de medicación.
Sahagun <i>et al.</i> , 2019	Estudio básico	Ratas Long Evans (n=70)	3 semanas	Dieta muy baja en carbohidratos	5% Carbohidratos 80% Grasas 15% Proteínas	Protección contra el estrés crónico, especialmente en hembras.
Fukazawa <i>et al.</i> , 2020	Estudio básico	Ratas Sprague-Dawley (n=21)	8 semanas	Dieta baja en carbohidratos	18% Carbohidratos 66% Grasas 16% Proteínas	Aumento en la utilización de cuerpos cetónicos en músculo esquelético, disminución en la ingesta energética, disminución del peso corporal.

Tabla 2. Impacto de la restricción total de consumo de carbohidratos en la salud metabólica

Referencia	Modelo de Investigación	Población de Estudio	Duración	Restricción Calórica	Porcentaje de Calorías de Macronutrientes	Resultados Principales
Azzout <i>et al.</i> , 1984	Estudio básico	Ratas Wistar macho (n=52), sanas	24 y 48 horas	Alta en proteínas y libre de carbohidratos	30% Grasas 70% Proteínas	Estimulación de la gluconeogénesis, aumento del gasto energético.
Marsset-Baglieri <i>et al.</i> , 2004	Estudio básico	Ratas Wistar macho (n=18), obesas y ratas Sprague-Dawley macho (n=84), obesas	80 días	Dieta alta en proteínas y libre de carbohidratos	30% Grasas 70% Proteínas	No hubo cambios en el peso y la composición corporal.
Brito <i>et al.</i> , 2005	Estudio básico	Ratas Wistar macho, sanas	2 semanas	Alta en proteínas y libre de carbohidratos	20.2% Grasas 79.8% Proteínas	Reducción de la síntesis de ácidos grasos en el tejido adiposo, disminución de la actividad de las enzimas implicadas en la lipogénesis.
Pichon <i>et al.</i> , 2006	Estudio básico	Ratas Wistar macho (n=60), sanas	62 días	Alta en grasas, alta en proteínas y libre de carbohidratos	45% Grasas 55% Proteínas	Disminución de: peso corporal, masa grasa corporal, tamaño y número total de adipocitos, y actividad sintasa de los ácidos grasos.
Jürgens <i>et al.</i> , 2007	Estudio básico	Ratones NZO macho, ratones	22 semanas	Alta en grasas y libre de carbohidratos	88% Grasas 12% Proteínas	Prevención de la destrucción de células β pancreáticas.

		C57BL/6J, obesos y con resistencia a la insulina				
Mirhashemi <i>et al.</i> , 2008	Estudio básico	Ratones <i>db/db</i> macho, obesos y susceptibles a diabetes (<i>n</i> =25)	22 semanas	Alta en grasas y libre de carbohidratos	72.2% Grasas 27.8% Proteínas	Disminución de la hiperglucemia, prevención de la destrucción de células β pancreáticas y de la manifestación de glucosuria.
Veldhorst <i>et al.</i> , 2009	Estudio clínico	Adultos sanos (<i>n</i> =10)	1.5 días	Alta en grasas, alta en proteínas y libre de carbohidratos	70% Grasas 30% Proteínas	Disminución en la producción de glucosa endógena en comparación con dieta estándar, aumento de la gluconeogénesis y en el gasto energético.

1.1.3.1.1. Cetosis nutricional inducida por dietas bajas y libres en carbohidratos

Las dietas bajas en carbohidratos generan producción de glucosa a partir de la gluconeogénesis, sin embargo, cuando dicha producción se vuelve insuficiente para satisfacer las necesidades del sistema nervioso central, se promueve la movilización de los ácidos grasos como fuente de energía. A través de la cetogénesis, los ácidos grasos se oxidan a cuerpos cetónicos en las mitocondrias del hígado, posteriormente, se distribuyen a través de la sangre a otros órganos para utilizarse como combustible energético. El β -hidroxibutirato es el cuerpo cetónico encontrado en mayor concentración en la sangre (figura 7) (Chimienti *et al.*, 2021; Fukazawa *et al.*, 2020).

La cetosis se define típicamente como un nivel en sangre de β -hidroxibutirato ≥ 0.3 mmol/L. Los cuerpos cetónicos se usan como fuente de energía en el músculo esquelético, cardíaco y sistema nervioso, donde el acetoacetato se activa a acetoacetil-CoA por la succinil-CoA-acetoacetato-CoA transferasa, luego una tiolasa divide la acetoacetil-CoA formando dos moléculas de acetil-CoA, para luego oxidarse en el ciclo del ácido cítrico para la formación de ATP (figura 8) (Kirkpatrick *et al.*, 2019; Rodwell *et al.*, 2016).

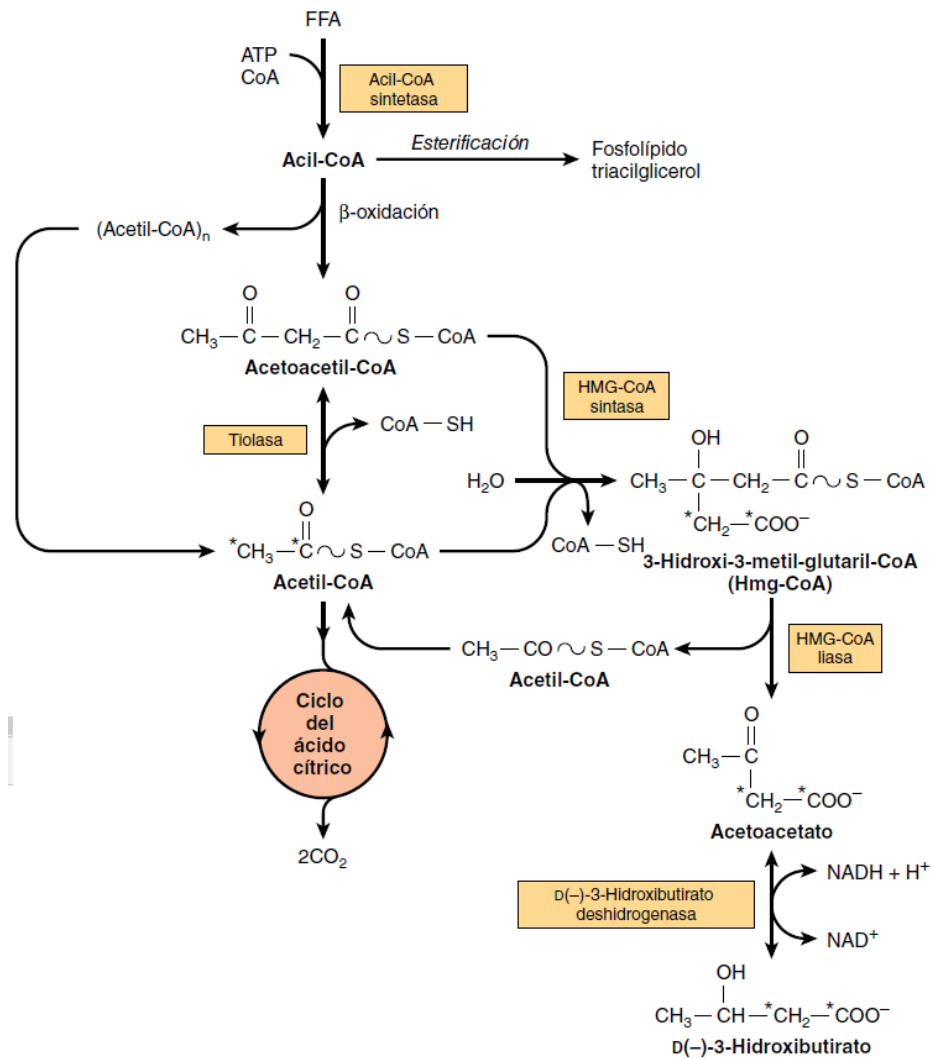


Figura 7. Vías de la cetosis o cetogénesis en el hígado. Tomado de “Oxidación de ácidos grasos: la cetogénesis”, por K. M. Botham y P. A. Mayes, 2018, *Harper: Bioquímica ilustrada*, p. 212.

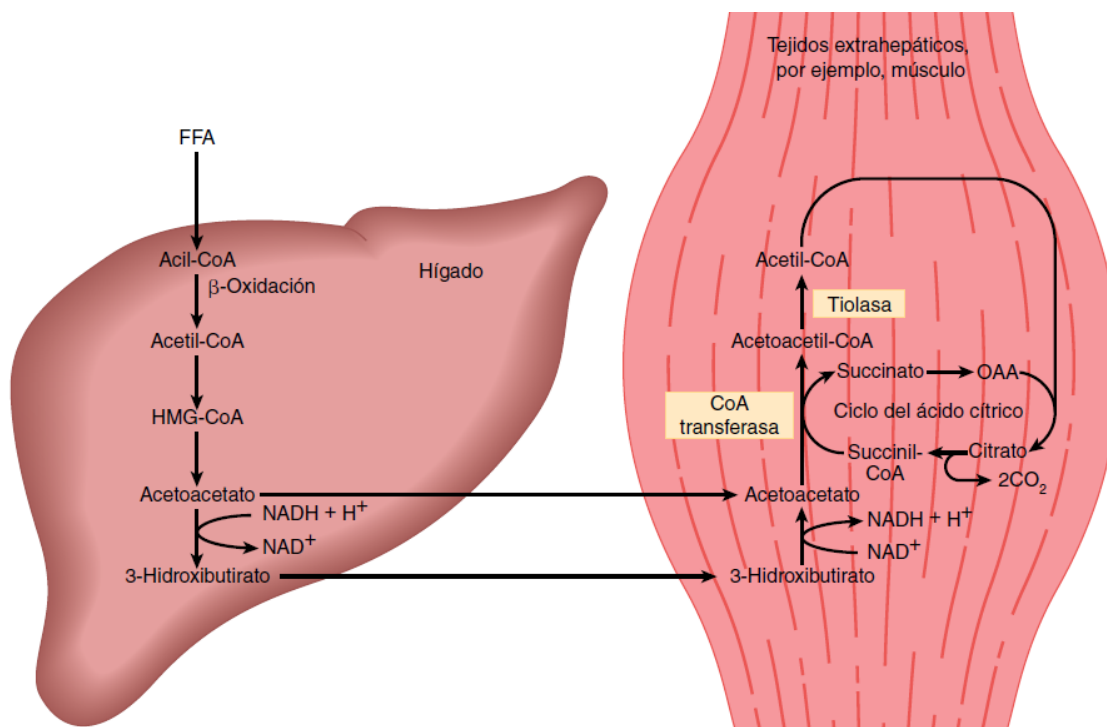


Figura 8. Transporte de cuerpos cetónicos desde el hígado y vías de utilización y oxidación en tejidos extrahepáticos. Tomado de “Oxidación de ácidos grasos: la cetogénesis”, por K. M. Botham y P. A. Mayes, 2018, *Harper: Bioquímica ilustrada*, p. 213.

1.1.3.1.2. Impacto de las dietas bajas en carbohidratos sobre el metabolismo de los lípidos

La restricción de carbohidratos en la dieta disminuye la síntesis de lípidos en hígado, lipogénesis *de novo*, por lo que la incorporación de grasas en triglicéridos, que luego se secretan en la sangre como partículas VLDL se ve disminuida de igual forma (Macedo *et al.*, 2020). Asimismo, la disminución en los niveles de insulina causada por las dietas bajas en carbohidratos promueven la inhibición de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa, disminuyendo así la síntesis de colesterol hepático (Chen *et al.*, 2015; Kamuren *et al.*, 2006).

1.1.3.1.3. Efecto de las dietas bajas en carbohidratos sobre la ingesta y el gasto energético y el peso corporal

Las dietas que restringen la cantidad de carbohidratos tienen efectos sobre la ingesta y el gasto energético. Se ha demostrado que la incorporación de grasas como sustituyentes

de los carbohidratos tiene como resultado una menor ingesta energética y un mayor gasto energético (Kirkpatrick et al., 2019; Ma *et al.*, 2018).

La reducción del apetito que producen las dietas bajas en carbohidratos demuestra la disminución de la ingesta calórica, contribuyendo a la pérdida de peso. Este tipo de dietas pueden reducir el hambre al influir en los niveles circulantes de hormonas que afectan el control del hambre y el apetito, incluidas la grelina, la leptina y la colecistoquinina (Kirkpatrick *et al.*, 2019; Kurosaka *et al.*, 2017).

Otros posibles efectos sobre la ingesta y el gasto energético, así como en el peso corporal son: (1) los efectos diuréticos de la cetosis y la disminución en la concentración de insulina; (2) aumento de la lipólisis del tejido adiposo; (3) mayor proporción de grasa oxidada para la obtención de energía; (4) aumento de los costos metabólicos de la gluconeogénesis y el efecto térmico de las proteínas (Hyde *et al.*, 2019; Prince *et al.*, 2013).

1.1.3.1.2. Efectos de las dietas bajas en carbohidratos sobre el metabolismo de la glucosa, la insulina y la sensibilidad a la insulina

En el estado de resistencia a la insulina, una gran proporción de carbohidratos se desvía hacia el hígado para convertirse en grasa por medio de la lipogénesis *de novo*. Cuando los carbohidratos de la dieta se restringen a un nivel por debajo del cual no se convierten significativamente en grasa, los signos y síntomas de la resistencia a la insulina mejoran o, a menudo, desaparecen por completo (Kirkpatrick et al., 2019; Paoli et al., 2013).

Uno de los principales efectos fisiológicos de las dietas restringidas en carbohidratos es la reducción de los niveles de insulina sérica. Se ha demostrado que este tipo de dietas promueven la disminución en la demanda de glucosa y la proteólisis del músculo esquelético, una vez que se establece la movilización de los ácidos grasos para la generación de cuerpos cetónicos para los requerimientos energéticos del cuerpo (Macedo *et al.*, 2020).

Algunas investigaciones han señalado mejoras en marcadores de riesgo de desarrollo de DM2 en la exposición a dietas bajas en carbohidratos. Además, el control de la glucosa mejora no sólo porque se ingiere menos cantidad de carbohidratos, sino también porque la sensibilidad a la insulina sistémica también mejora (Paoli et al., 2013; Volek & Feinman, 2005).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El SM es uno de los principales factores de riesgo para desarrollar DM2 y enfermedad cardiovascular, además, su prevalencia ha ido en aumento a nivel mundial (Elizondo-Argueta *et al.*, 2019; Saklayen, 2018). Se sabe que el estilo de vida occidental promueve el consumo excesivo de grasas y carbohidratos en la dieta, en conjunto con el creciente sedentarismo, provocan un aumento en la incidencia del SM.

La búsqueda por mejorar la fisiopatología del SM se enfoca en el establecimiento de tratamientos tanto farmacológicos como en el cambio de estilo de vida para disminuir la carga de la enfermedad metabólica y sus complicaciones (McCracken *et al.*, 2017). Se ha demostrado que el seguimiento de un patrón de alimentación saludable disminuye de manera significativa el riesgo de desarrollar SM, así como del control del mismo (Samson & Garber, 2014; Volek & Feinman, 2005); siendo una de las principales recomendaciones la disminución de la ingesta calórica en la dieta, la cual puede ser por medio de una reducción en el contenido de carbohidratos.

Las dietas que restringen el consumo de carbohidratos han demostrado efectividad para reducir el peso corporal y mejorar los factores de riesgo metabólicos, como el colesterol LDL, triglicéridos y glucosa, por sobre las dietas que restringen la cantidad de grasas (O'Neill, 2020). Además, algunos estudios demuestran que la implementación de una dieta baja en carbohidratos ayuda a disminuir la medicación, reduciendo así los riesgos relacionados con la polifarmacia que suelen adoptar individuos con SM (Hallberg *et al.*, 2019), pudiendo ser esta la principal estrategia terapéutica en el control de las alteraciones que dan origen al SM, así como en la prevención de sus comorbilidades.

Existen reportes en los cuales ha evaluado el efecto de las dietas completamente libres de carbohidratos sobre la adiposidad, el peso corporal y la ingesta energética por separado, sin embargo, no existe evidencia en donde se evalúen en forma conjunta los parámetros que conforman el SM, tales como el estrés oxidativo, la resistencia a la insulina, la obesidad y los cambios estructurales a nivel celular en los tejidos que se ven afectados, principalmente, hígado, riñón, páncreas, tejido adiposo y músculo esquelético.

3. JUSTIFICACIÓN

El estilo de vida actual promueve el consumo excesivo de grasas y carbohidratos en la dieta, aunado al creciente sedentarismo, provocan un aumento en la incidencia del SM. El conjunto de trastornos que conforman el SM ha llevado a la adopción de una polifarmacia como parte del tratamiento para aminorar los efectos producidos por dichos trastornos, sin embargo, estos tratamientos también conllevan a la generación de efectos adversos. El cambio en el estilo de vida podría ser la mejor opción en estos pacientes ya que existen reportes en los cuales el decremento en la ingesta de carbohidratos ha demostrado tener ventajas sobre el control del peso, la resistencia a la insulina, niveles plasmáticos de colesterol, triglicéridos y glucosa. Sin embargo, no existen estudios previos que evalúen las dietas libres de carbohidratos sobre parámetros morfométricos, bioquímicos e histopatológicos en un modelo animal de alteraciones metabólicas importantes de forma conjunto, por lo tanto, el presente estudio contribuirá en el conocimiento del efecto de este tipo de dietas sobre dichos parámetros, determinando así las ventajas y/o desventajas de éstas para la salud, así como tratar de desmitificar el papel del consumo de grasas en ausencia de carbohidratos sobre las alteraciones metabólicas antes descritas. De esta forma se contribuirá a ampliar el conocimiento en el campo de las intervenciones médicas sobre condiciones clínicas importantes, como el SM.

4. HIPÓTESIS

La eliminación total de los hidratos de carbono de la dieta en el modelo murino de síndrome metabólico normaliza los parámetros bioquímicos, morfométricos e histopatológicos evaluados.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

Evaluar los efectos de una dieta libre de hidratos de carbono sobre parámetros morfométricos, bioquímicos e histopatológicos en un modelo murino de síndrome metabólico.

5.2. Objetivos Específicos

1. Formular una dieta libre en carbohidratos ajustando la cantidad de grasas y proteínas, y formular una dieta para generar síndrome metabólico.
2. Generar el modelo de síndrome metabólico en ratas macho de la cepa Wistar.
3. Determinar el efecto de la dieta libre en hidratos de carbono sobre los parámetros morfométricos en el modelo murino de síndrome metabólico.
4. Evaluar el efecto de la dieta libre de carbohidratos sobre parámetros bioquímicos en el modelo murino de síndrome metabólico.
5. Identificar los cambios histopatológicos asociados al efecto de la dieta libre en carbohidratos en el modelo murino de síndrome metabólico.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Tipo de investigación

Estudio experimental, transversal, prospectivo y comparativo.

6.2. Diseño experimental

Para cumplir con los objetivos planteados en este trabajo experimental, los procedimientos se dividieron en tres etapas: Etapa I: formulación de una dieta libre de carbohidratos y generación del modelo de SM en ratas macho de la cepa Wistar; Etapa II: determinación de los efectos de la dieta libre de carbohidratos sobre parámetros morfométricos en ratas macho de la cepa Wistar con SM y Etapa III: evaluación de los efectos de la dieta libre en carbohidratos sobre parámetros bioquímicos e histopatológicos en ratas macho con SM.

6.2.1. Etapa I: Formulación de las dietas a evaluar y generación del modelo de síndrome metabólico en ratas macho de la cepa Wistar

La dieta libre de carbohidratos, así como la dieta para la generación de SM se elaboraron en base a los datos publicados por la Fundación Española Para el Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA).

El modelo de SM se generó en ratas Wistar macho después de ser destetadas a los 21 días de edad y ser sometidas a una dieta formulada con 16.006% de kcal de grasas, 33.087% de kcal de proteína y 50.907% de kcal de carbohidratos, y una solución glucosada al 25% durante 20 semanas *ad libitum*.

Para establecer el modelo se evaluó la obesidad mediante el índice de Lee (peso y longitud boca-ano), la resistencia a la insulina mediante curvas de tolerancia a la glucosa y parámetros bioquímicos.

6.2.2. Etapa II: Determinación de los efectos de la dieta libre en carbohidratos sobre parámetros morfométricos en ratas macho con síndrome metabólico

Se evaluó la ingesta calórica, el peso corporal y el índice de Lee (peso, longitud boca-anal) cada mes en cada uno de los grupos de estudio durante el tiempo de experimentación, y se compararon los resultados entre los diferentes grupos.

6.2.3. Etapa III: Evaluación de los efectos de la dieta libre en carbohidratos sobre parámetros bioquímicos e histopatológicos en ratas macho con síndrome metabólico

Se evaluaron los siguientes parámetros bioquímicos en los diferentes grupos de experimentación una vez finalizado el período de exposición a las diferentes dietas:

- *Perfil lipídico*: Niveles de triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y colesterol VLDL.
- *Perfil hepático*: Niveles de glucógeno hepático, alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST).
- *Perfil renal*: Niveles de urea y creatinina.
- *Estrés oxidativo*: Concentración de malondialdehído a nivel hepático, renal, páncreas y suero sanguíneo.
- *Resistencia a la insulina*: niveles de glucosa e insulina.
- *Cuerpos cetónicos*: niveles de β -hidroxibutirato.
- *Inflamación*: proteína C reactiva.
- *Histopatológicos*: cortes histológicos de hígado, riñón, páncreas, tejido adiposo visceral y aorta.

La descripción gráfica del diseño experimental se puede observar en la figura 9.

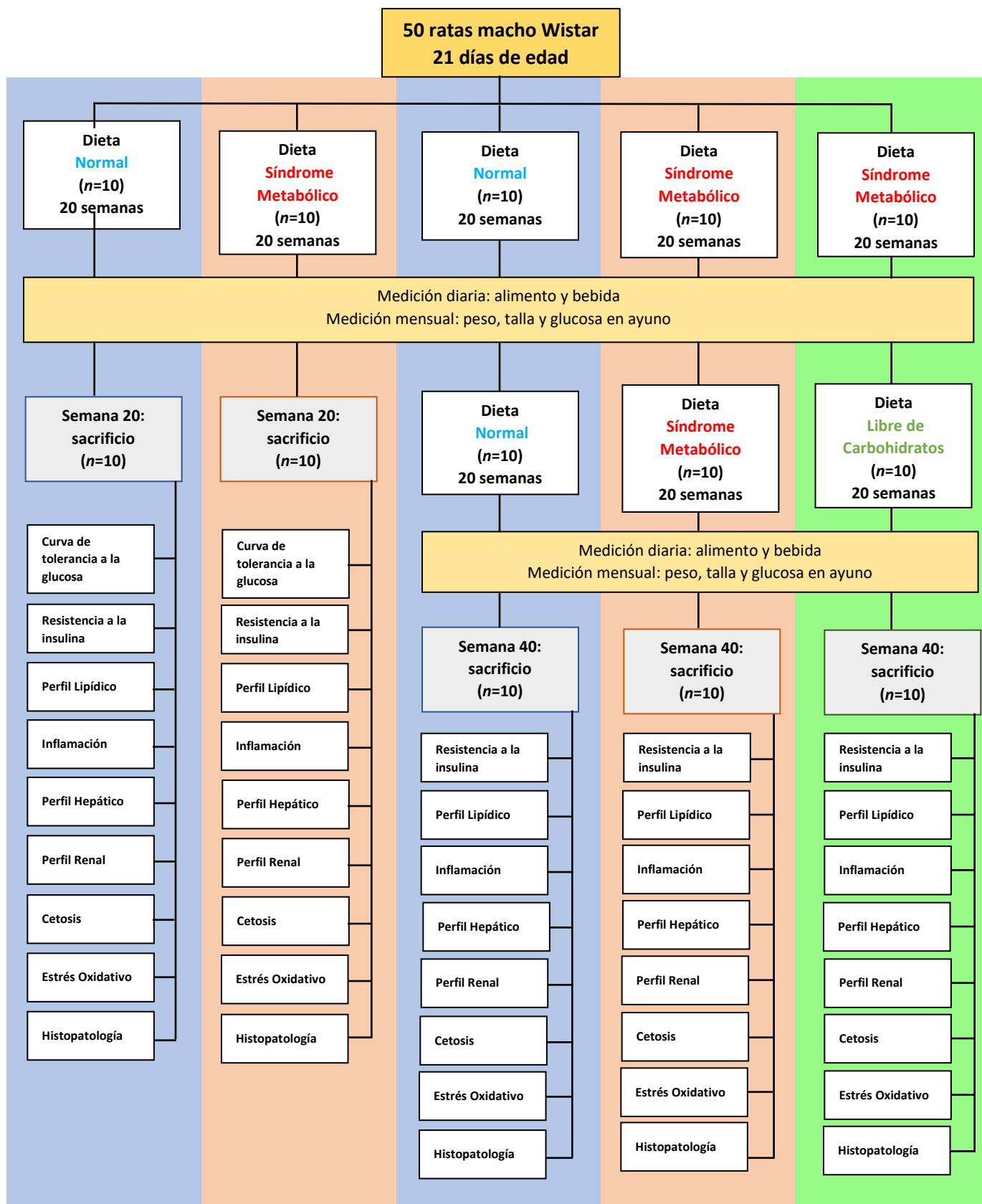


Figura 9. Diseño experimental.

6.3. Metodología

6.3.1. Animales de experimentación

Se utilizaron 50 ratas macho, de la cepa Wistar destetadas a los 21 días de edad, con un peso promedio de 62.78 ± 17.07 gramos (proporcionadas por el Bioterio “Claude Bernard” del Área de Ciencias de la Salud, de la Universidad Autónoma de Zacatecas, UAZ-Siglo XXI), alojadas en jaulas de policarbonato con alimento y agua *ad libitum*, con ciclos de iluminación diurna y nocturna de 12 horas, temperatura controlada de 22°C y 50% de humedad. Todos los procedimientos realizados en los animales se hicieron bajo la aprobación del Comité de Ética en Investigación del Área de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma de Zacatecas, con folio “004/CEI-ACS-UAZ/2022”.

6.3.2. Grupos de estudio

Los animales se asignaron al azar en cinco grupos experimentales:

Grupo 1 (grupo de SM, $n = 10$), ratas a las cuales, después del destete, fueron alimentadas con una dieta formulada con 16% de Kcal de grasas, 33% de Kcal de proteína y 51% de Kcal de carbohidratos, y solución glucosada al 25% durante 20 semanas *ad libitum* para evaluar la generación del SM.

Grupo 2 (control negativo, grupo de DN, $n = 10$) ratas a las cuales, después del destete, recibieron agua y alimento *ad libitum* de la marca Harlan Teklad Lab Blocks durante las 20 semanas de duración de la generación del SM, la cual contiene la composición bromatológica requerida para un alimento de roedores de laboratorio.

Grupo 3 (grupo de SM+DLC, $n = 10$), ratas a las cuales, después del destete, fueron alimentadas con una dieta formulada con 16% de Kcal de grasas, 33% de Kcal de proteína y 51% de Kcal de carbohidratos, y solución glucosada al 25% durante 20 semanas *ad libitum*, posteriormente se realizó un cambio a una dieta libre de carbohidratos *ad libitum* durante 20 semanas, para lo cual se dio una semana de adaptación en la que sólo se cambió la solución glucosada por agua potable y se dejó con la dieta formulada; se evaluó el comportamiento, aspecto físico, peso corporal y características del entorno de los animales. Después de la semana de adaptación, se realizó el cambio del alimento sólido por el alimento sólido libre

de carbohidratos, de igual forma, se realizó la evaluación diaria de los parámetros antes mencionados.

Grupo 4 (control positivo, grupo de SM, $n = 10$), ratas a las cuales, después del destete, fueron alimentadas con una dieta formulada con 16% de Kcal de grasas, 33% de Kcal de proteína y 51% de Kcal de carbohidratos, y solución glucosada al 25% *ad libitum* durante las 40 semanas de duración del estudio.

Grupo 5 (control negativo, grupo de DN, $n = 10$) ratas a las cuales, después del destete, recibieron agua y alimento *ad libitum* de la marca Harlan Teklad Lab Blocks durante las 40 semanas de duración del estudio, la cual contiene la composición bromatológica requerida para un alimento de roedores de laboratorio.

A todos los grupos de estudio se les realizaron mediciones diarias de consumo de alimento y agua o solución glucosada, así como mediciones mensuales de glucosa sanguínea, peso corporal y talla (distancia boca-ano). Posteriormente al tratamiento, los animales fueron sacrificados para la obtención de sangre total y los órganos a evaluar, según sea el caso.

6.3.3. Formulación de las dietas a evaluar

La dieta formulada con 16% de Kcal de grasas, 33% de Kcal de proteína y 51% de Kcal de carbohidratos se elaboró con granos de origen natural, respetando los porcentajes nutricionales para el crecimiento normal de los roedores. La dieta libre de carbohidratos así como la dieta antes mencionada se elaboraron en base a los datos publicados de la Fundación Española Para El Desarrollo de la Nutrición Animal (FEDNA) (<http://www.fundacionfedna.org/>), en la cual se encuentran los datos nutricionales con el contenido calórico correspondiente de los diferentes granos que se pueden utilizar cumpliendo con los requisitos de nutrientes y de energía para el crecimiento y desarrollo de las ratas, establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (tabla 3).

Tabla 3. Composición bromatológica requerida para un alimento de ratas de laboratorio.

Animal	Proteína cruda %	Grasa cruda %	Fibra cruda %	Cenizas %
Rata	12-24	4-11	3-6	6-8

6.3.4. Índice de Lee

Se realizaron mediciones mensuales de peso corporal en gramos y talla en centímetros (distancia boca-ano) para la determinación del nivel de obesidad en los animales por medio del cálculo del índice de Lee, el cual se define como la raíz cúbica del peso corporal (g) dividido por la longitud boca-ano (cm) (ecuación 1). Valores superiores a 0.310 se consideran como un indicador de obesidad (Hariri & Thibault, 2010).

Ecuación 1. Cálculo del índice de Lee.

$$\text{Índice de Lee} = \frac{\sqrt[3]{\text{Peso corporal (g)}}}{\text{Longitud boca - ano (cm)}}$$

6.3.5. Curva de tolerancia a la glucosa

A los animales del grupo 1 y 2, después de las 20 semanas sometidas a su respectiva dieta se les realizó curvas de tolerancia a la glucosa, para lo cual, se administró mediante cánula esofágica, un volumen de solución de glucosa (83% peso/volumen) de 2 g/Kg de peso y se realizaron mediciones de glucosa sanguínea mediante punción de la vena de la cola de las ratas a los 0, 30, 60 y 120 minutos (Bielohuby *et al.*, 2013; Kowalski *et al.*, 2016; Ruth *et al.*, 2013). Se graficaron los resultados comparando las medias y las desviaciones estándar a los diferentes tiempos entre los dos grupos.

6.3.6. Obtención de sangre total y tejidos

El sacrificio de los grupos de animales se realizó previa anestesia en cámara de éter etílico, cerciorándose de que éstos no presentaran estímulos dolorosos, en base a la norma NOM-062-ZOO-1999. Posteriormente, se realizó la apertura de la cavidad abdominal y torácica, obteniendo la sangre total por medio de una punción cardíaca en la cavidad ventricular, la sangre se depositó en tubos con tapa roja, libres de anticoagulante. Asimismo, se diseccionó el hígado, riñones, tejido adiposo visceral, aorta y páncreas para la evaluación

histopatológica y cuantificación de malondialdehído (MDA), así como hígado y músculo esquelético para la determinación de glucógeno.

6.3.7. Determinación cuantitativa de glucosa

Para la determinación de glucosa, se realizó la separación del suero sanguíneo del coágulo y se colocó en tubos Eppendorf. Se ajustó el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada a 505 nm de longitud de onda, y se pipeteó en una cubeta de 1 cm de paso de luz una de tres soluciones: blanco, patrón y muestra. El blanco consistió en 1 mL de reactivo de trabajo, para lo cual se disolvió el contenido del vial de las enzimas en el vial del tampón; el patrón contenía 1 mL de reactivo de trabajo y 10 μ L del reactivo patrón; la muestra se preparó colocando 1 mL del reactivo de trabajo y 10 μ L de muestra. Las tres soluciones se mezclaron perfectamente y se incubaron por 10 minutos a 37°C. La intensidad de color formado fue proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra ensayada. Por último, se leyó la absorbancia del patrón y la muestra, frente al blanco de reactivo. El kit utilizado fue de la marca Spinreact (Kaplan *et al.*, 1984).

6.3.8. Determinación cuantitativa de colesterol total

La cuantificación de colesterol de la muestra de suero sanguíneo previamente separado del coágulo se realizó por medio del ensayo enzimático colorimétrico de la marca Spinreact. Se ajustó el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada a 505 nm de longitud de onda. Se pipeteó en una cubeta de 1 cm de paso de luz una de las tres soluciones: blanco, patrón y muestra. El blanco contenía 1 mL del reactivo de trabajo, contenido en el kit, listo para su uso; el patrón se preparó mezclando 1 mL del reactivo de trabajo con 10 μ L del reactivo patrón; la muestra consistió en 1 mL del reactivo de trabajo y 10 μ L de la muestra de suero. Se mezclaron hasta homogenizarse y se incubaron durante 5 minutos a 37°C. La intensidad de color formado fue proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra ensayada. Por último, se leyó la absorbancia del patrón y la muestra, frente al blanco de reactivo (Naito & David, 1984).

6.3.9. Determinación cuantitativa de triglicéridos

La cuantificación de triglicéridos de la muestra de suero sanguíneo se realizó por medio del método enzimático colorimétrico de la marca Spinreact. Se ajustó el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada a 505 nm de longitud de onda. Se pipeteó en

una cubeta de 1 cm de paso de luz una de las tres soluciones: blanco, patrón y muestra. El blanco de reactivo contenía 1 mL del reactivo de trabajo, que se preparó diluyendo el contenido del vial de enzimas en el frasco del tampón; el patrón se preparó mezclando 1 mL del reactivo de trabajo con 10 μ L del reactivo patrón; la muestra consistió en 1 mL del reactivo de trabajo y 10 μ L de la muestra de suero. Se mezcló hasta obtener soluciones homogéneas y se incubaron durante 5 minutos a 37°C. La intensidad del color formado fue proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada. Por último, se leyó la absorbancia de la muestra y el patrón, frente al blanco de reactivo (Bucolo *et al.*, 1975).

6.3.10. Determinación cuantitativa de colesterol HDL

La cuantificación de colesterol HDL de la muestra de suero sanguíneo se realizó por medio de precipitación y posterior ensayo enzimático colorimétrico. Se dosificó en un tubo de ensayo 100 μ L del reactivo precipitante y 1 mL de la muestra de suero, se mezclaron y se dejaron reposar 10 minutos a temperatura ambiente, en seguida, se centrifugaron durante 20 minutos a 4,000 r.p.m. Se recogió el sobrenadante y se procesó de acuerdo a las especificaciones del fabricante del kit para la cuantificación de colesterol total de la marca Spinreact (Naito & David, 1984).

6.3.11. Determinación cuantitativa de colesterol LDL

La cuantificación de colesterol LDL de la muestra de suero sanguíneo se realizó por medio de un método enzimático colorimétrico de la marca Spinreact, sin necesidad de previa precipitación de la muestra. Se ajustó el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada a 600 nm de longitud de onda. Se pipeteó en una cubeta de 1 cm de paso de luz una de las tres soluciones: blanco, patrón y muestra. El blanco de reactivo contenía 300 μ L del reactivo 1; el patrón se preparó mezclando 300 μ L del reactivo 1 con 4 μ L del reactivo patrón, que se preparó reconstituyendo el contenido del vial con 1 mL de agua destilada; la muestra consistió en 300 μ L del reactivo de trabajo y 4 μ L de la muestra de suero. Se mezcló hasta obtener soluciones homogéneas y se incubaron por 5 minutos a 37°C. En seguida, se añadieron 100 μ L del reactivo 2 a los tres tubos (blanco, patrón y muestra), se mezcló cuidadosamente y se incubó durante 5 minutos a 37°C. La intensidad del color formado fue proporcional a la concentración de triglicéridos presentes en la muestra ensayada. Por último,

se leyó la absorbancia de la muestra y el patrón, frente al blanco de reactivo (Naito *et al.*, 1995).

6.3.12. Determinación cuantitativa de urea

La cuantificación de urea de la muestra de suero sanguíneo se realizó por medio del método enzimático colorimétrico de la marca Spinreact. Se ajustó el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada a 510 nm de longitud de onda. Se pipeteó en una cubeta de 1 cm de paso de luz una de las tres soluciones: blanco, patrón y muestra. El blanco contenía 1 mL del reactivo 1 del kit (*o*-ftalaldehído); el patrón se preparó mezclando 1 mL del reactivo 1 y 50 μ L del reactivo patrón; la muestra consistió en 1 mL del reactivo 1 y 50 μ L de la muestra de suero sanguíneo. Se mezcló y se incubó un minuto a 37°C, para después añadir a cada una de las soluciones 1 mL del reactivo 2 del kit, se mezcló y se incubó a 37°C, las mediciones de absorbancia se realizaron al minuto 1 y 2 (Kaplan *et al.*, 1984).

6.3.13. Determinación cuantitativa de creatinina

La cuantificación de creatinina de la muestra de suero sanguíneo se realizó por medio del método enzimático colorimétrico. Se ajustó el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada a 492 nm de longitud de onda. Se pipeteó en una cubeta de 1 cm de paso de luz una de las tres soluciones: blanco, patrón y muestra. El blanco contenía 1 mL del reactivo de trabajo, el cual se preparó mezclando en volúmenes iguales el reactivo 1 y reactivo 2 del kit; el patrón se preparó mezclando 1 mL del reactivo de trabajo y 100 μ L del reactivo patrón; la muestra contenía 1 mL de reactivo de trabajo y 100 μ L de la muestra de suero sanguíneo. Se mezclaron y se puso en marcha el cronómetro, para después leer la absorbancia del patrón y la muestra frente al blanco de reactivo a los 30 segundos y 90 segundos (Schultz & Kaplan, 1984).

6.3.14. Determinación cuantitativa de β -hidroxibutirato

La determinación de β -hidroxibutirato de la muestra de sangre capilar se realizó a través de tiras reactivas de la marca FreeStyle Optium β -Ketone en el medidor de la marca FreeStyle Optium Neo. La medición se basa en la tecnología de biosensores electroquímicos que utiliza la enzima de la β -hidroxibutirato deshidrogenasa para catalizar una serie de reacciones enzimáticas que crean una corriente eléctrica, la magnitud de ésta fue proporcional a la cantidad de β -hidroxibutirato presente en la muestra. Se colocó la tira reactiva en el

medidor, en seguida se realizó una punción por medio de lanceta en la cola de los animales para obtener una gota de sangre capilar, la cual se recolectó en la punta de la tira reactiva. El resultado se emitió en la pantalla del medidor (American Diabetes Association, 2015).

6.3.15. Determinación cuantitativa de alanina aminotransferasa (ALT)

La determinación de alanina aminotransferasa en la muestra de suero sanguíneo se llevó a cabo por medio de un ensayo enzimático de la marca Spinreact, en donde la velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinado fotométricamente, fue proporcional a la concentración catalítica de ALT en la muestra ensayada. Se preparó el reactivo de trabajo mezclando 4 volúmenes de reactivo 1 tampón y un volumen del reactivo 2 substrato. Se ajustó el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada a 340 nm de longitud de onda. Se pipeteó en una cubeta de 1 cm de paso de luz 1 mL del reactivo de trabajo previamente preparado y 100 μ L de la muestra de suero, se mezcló y se incubó durante 1 minuto a temperatura ambiente. En seguida, se leyó la absorbancia inicial de la muestra, se puso en marcha el cronómetro y se leyó la absorbancia cada minuto durante 3 minutos (Murray & Kaplan, 1984).

6.3.16. Determinación de aspartato aminotransferasa (AST)

La cuantificación de AST en suero sanguíneo se determinó por medio de un ensayo enzimático de la marca Spinreact, donde la velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinada fotométricamente, fue proporcional a la concentración catalítica de AST en la muestra ensayada. El reactivo de trabajo se preparó mezclando 4 volúmenes del reactivo 1 tampón y un volumen del reactivo 2 substrato. Se ajustó el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada a 340 nm de longitud de onda. Se pipeteó en una cubeta de 1 cm de paso de luz 1 mL del reactivo de trabajo y 100 μ L de muestra, se mezcló y se incubó durante un minuto a temperatura ambiente. Después se leyó la absorbancia inicial de la muestra, se puso en marcha el cronómetro y se leyó la absorbancia de la muestra cada minuto, durante los próximos 3 minutos (Murray & Kaplan, 1984).

6.3.17. Determinación cuantitativa de insulina

La cuantificación de la insulina en la muestra de suero sanguíneo se realizó por medio de un ensayo en fase sólida de inmunoabsorción unido a enzimas (ELISA), basado en el principio de sándwich de la marca Cayman Chemical. Todos los reactivos y número de tiras se colocaron a temperatura ambiente antes de su uso. Se dispensaron 25 µL de cada estándar, control y muestra en los pocillos adecuados. En seguida, se dispensaron 25 µL del conjugado de enzimas en cada pocillo, se mezclaron durante 10 segundos y se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se agitó energéticamente el contenido de los pocillos, para posteriormente lavar con la solución de lavado tres veces (400 µL por pocillo), se adicionaron 50 µL del complejo enzimático a cada pocillo, se incubaron durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se agitó el contenido de los pocillos y se realizaron nuevamente los tres lavados con la solución de lavado (400 µL por pocillo). Después se adicionaron 50 µL de la solución del sustrato a cada pocillo, se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. En seguida, se preparó la reacción enzimática mediante la adición de 50 µL de la solución de paro a cada pocillo. Se leyó la densidad óptica a 450 nm con un lector de microplacas dentro de los 10 minutos después de la adición de la solución de paro (Starr *et al.*, 1978).

6.3.18. Cálculo de índices HOMA1-IR y QUICKI

El cálculo del modelo homeostático para la evaluación de la resistencia a la insulina (HOMA1-IR, por sus siglas en inglés) se realizó mediante una ecuación (ecuación 2) (Añez *et al.*, 2016).

Ecuación 2. Cálculo del índice HOMA1-IR.

$$HOMA1 - IR = \frac{Glucosa\ sérica\ en\ ayuno\ \left(\frac{mg}{dL}\right) * Insulina\ sérica\ en\ ayuno\ \left(\frac{mUI}{L}\right)}{405}$$

El cálculo del índice cuantitativo de verificación de la sensibilidad a la insulina (QUICKI, por sus siglas en inglés) se realizó transformando los datos de glucosa e insulina plasmáticos en ayuno tomando tanto el logaritmo como el recíproco del producto glucosa-insulina (ecuación 3) (Gutch *et al.*, 2015; Reyes-Muñoz *et al.*, 2017).

Ecuación 3. Cálculo del índice QUICKI.

$$\text{Índice QUICKI} = \frac{1}{(\log \text{Insulina en ayuno } (\frac{mU}{L}) + \log \text{Glucosa en ayuno } (\frac{mg}{dL}))}$$

6.3.19. Determinación semicuantitativa de proteína C reactiva

La determinación semicuantitativa de proteína C reactiva se realizó por medio de la técnica de aglutinación con látex de la marca Spinreact. Los reactivos se atemperaron a 37°C antes de su uso, se pipeteó 50 µL de muestra sobre un portaobjetos, en seguida se realizaron diluciones dobles de la misma muestra con solución salina (9 g/L), colocándose la misma cantidad sobre el portaobjetos. Se añadió 50 µL del reactivo de látex contenido en el kit, se mezcló correctamente extendiendo la muestra sobre el portaobjetos. Las muestras se agitaron durante 2 minutos con un movimiento rotatorio. Se examinaron las muestras a través del microscopio para determinar la presencia o ausencia de aglutinación. Se definió el título como la dilución mayor que dio resultado positivo (Lars-Olof, 1996).

6.3.20. Determinación cuantitativa de MDA

Para la cuantificación de MDA en hígado, riñón y páncreas se realizó un homogenizado de cada uno de los tejidos al 10% con cloruro de potasio (KCl) a 1.15% de concentración, es decir, por 0.5 g de tejido, se agregaron 5 mL de solución de KCl, se tomó una alícuota de 0.5 mL y se colocó en un tubo criovial, para añadir posteriormente 3 mL de ácido fosfórico (H₃PO₄) al 1% y 0.3 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) al 0.3%. Después, el tubo se colocó en baño de agua en ebullición durante 45 minutos, pasado este período de tiempo se dejó enfriar, se agregaron 1.3 mL de 1-butanol y se mezclaron durante 20 minutos por agitación angular, en seguida, el criovial se centrifugó a 3,000 r.p.m. durante 10 minutos para separar y obtener la fase orgánica, ésta se leyó espectrofotométricamente a 534 nm de longitud de onda. Se preparó una curva de calibración a partir de una solución madre de MDA, para llevar a cabo la determinación de la concentración de malondialdehído (Uchiyama & Mihara, 1978).

6.3.21. Determinación de glucógeno en hígado y músculo esquelético

Para la cuantificación de glucógeno en hígado y músculo esquelético se realizó un hidrolizado con hidróxido de potasio (KOH) al 30% en una relación 1:3 (p/v), el cual se colocó en ebullición durante 10 minutos, mezclándose cuidadosamente. Después se realizó una dilución tomando 30 μ L del hidrolizado y 270 μ L de agua destilada. De dicha dilución se pipetearon 24 μ L y se depositaron en un tubo de ensayo, para posteriormente adicionar 976 μ L de agua destilada, se mezclaron por vórtex y se colocaron en un baño de hielo. Una vez que la solución se enfrió, se adicionaron 2 mL de antrona (200 mg de antrona por 100 mL de H₂SO₄), se agitó y después el tubo se colocó en ebullición en baño de agua durante 10 minutos. Posteriormente, los tubos fueron colocados en baño de hielo durante 5 minutos y se leyeron por espectrofotometría a 620 nm de longitud de onda. Para poder llevar a cabo la determinación de la concentración de glucógeno se preparó una curva de calibración con una solución madre de glucosa al 50% (Fong *et al.*, 1953).

6.3.22. Técnica histológica

El análisis histopatológico de los cortes de los diferentes órganos se realizó bajo el asesoramiento y la aprobación de la M. en C. Lorena Troncoso Vazquez. Las especificaciones técnicas de los cortes realizados y las tinciones específicas se mencionan en los apartados de cada órgano.

6.3.22.1. Páncreas

Una vez diseccionado el órgano completo, éste se fijó en solución tamponada de formaldehído al 10%, posteriormente la muestra se lavó y se deshidrató en una serie de soluciones alcohólicas de concentración creciente hasta alcanzar alcohol al 100%. Después se realizó el aclarado con xileno, para extraer el alcohol antes de la infiltración de la muestra en parafina fundida. Una vez que la parafina se ha enfriado y endurecido, el bloque formado se colocó en un microtomo para realizar cortes en rebanadas finas con una cuchilla de acero, los cortes se realizaron de la región de la cola del páncreas, donde se encuentra la mayor cantidad de islotes de Langerhans en las ratas. Por último, los cortes se montaron sobre portaobjetos de vidrio utilizando un medio de montaje como pineno o resinas de acrílico como adhesivo. Para realizar la tinción, la parafina se disolvió y se extrajo con xileno, con una posterior rehidratación mediante el uso de soluciones de alcohol de concentración

decreciente. Después, el tejido sobre el portaobjetos se tiñó con hematoxilina en agua, la muestra se volvió a deshidratar a través de una serie de soluciones alcohólicas de concentración creciente, para después teñir con eosina en alcohol. Para montar la muestra, ésta se pasó por xileno y se le colocó un medio de montaje, poniendo, por último, un cubreobjetos sobre la muestra.

Para el estudio histopatológico se utilizó un microscopio de campo claro y se evaluaron los tipos de lesiones presentes en el páncreas endócrino, se cuantificó del número de los islotes de Langerhans, eligiéndose campos al azar utilizando un aumento de 10X y se realizó el conteo de adipocitos infiltrados en el tejido por campo en un aumento de 10X (Cubillos *et al.*, 2008; Pawlina, 2001).

6.3.22.2. Hígado

Se realizó un corte histológico que fuera representativo del hígado, utilizando la técnica de “rebanada de pastel”, éste se fijó en solución tamponada de formaldehído al 10%, posteriormente, la muestra se lavó y se deshidrató en una serie de soluciones alcohólicas de concentración creciente hasta alcanzar alcohol al 100%. Después se realizó el aclarado con xileno, para extraer el alcohol antes de la infiltración de la muestra en parafina fundida. Una vez que la parafina se ha enfriado y endurecido, el bloque formado se colocó en un microtomo para realizar cortes en rebanadas finas con una cuchilla de acero. Por último, los cortes se montaron sobre portaobjetos de vidrio utilizando un medio de montaje como pineno o resinas de acrílico como adhesivo. Para realizar la tinción, la parafina se disolvió y se extrajo con xileno, con una posterior rehidratación mediante el uso de soluciones de alcohol de concentración decreciente. Después, el tejido sobre el portaobjetos se tiñó con hematoxilina y eosina y tinción tricrómica de Masson. Para montar la muestra, ésta se hizo pasar por xileno y se le adicionó un medio de montaje, colocando, por último, un cubreobjetos sobre la muestra.

El estudio histopatológico se realizó mediante microscopia de campo claro determinándose el grado de esteatosis de acuerdo al porcentaje de hepatocitos con infiltraciones de grasa, así como fibrosis y degradación balonizante hepatocelular, mediante el conteo de 100 células al azar. Se empleó como referencia las escalas establecidas por el NASH Clinical Research Group (tabla 4-6) (Pawlina, 2001; Rosas C. *et al.*, 2010).

Tabla 4. Escala del grado de esteatosis del NASH Clinical Research Group.

Escala NASH Clinical Research Group	
Porcentaje de Esteatosis	Grado
< 5%	0
5-33%	1
34-66%	2
>66%	3

Tabla 5. Escala del grado de fibrosis del NASH Clinical Research Group.

Escala NASH Clinical Research Group	
Grado	Definición
0	Ninguna
1	Zona 3, perisinusoidal focal o extensa
2	Anterior y fibrosis periportal focal o extensa
3	Puentes de fibrosis
4	Cirrosis, probable o definitiva

Tabla 6. Escala del grado de degradación balonizante del NASH Clinical Research Group.

Escala NASH Clinical Research Group	
Degradación Balonizante	Grado
Mínimo, zona 3	1
Presente, zona 3	2
Marcada, predominante zona 3	3

6.3.22.3. Riñón

El órgano diseccionado se fijó en solución tamponada de formaldehído al 10%, seleccionando previamente la parte central del riñón, haciendo cortes laterales. Después, la muestra se lavó y se deshidrató en una serie de soluciones alcohólicas de concentración creciente hasta alcanzar alcohol al 100%. Después se realizó el aclarado con xileno, para extraer el alcohol antes de la infiltración de la muestra en parafina fundida. Una vez que la

parafina se ha enfriado y endurecido, el bloque formado se colocó en un microtomo para realizar cortes en rebanadas finas con una cuchilla de acero. Por último, los cortes se montaron sobre portaobjetos de vidrio utilizando un medio de montaje como pineno o resinas de acrílico como adhesivo. Para realizar la tinción, la parafina se disolvió y se extrajo con xileno, con una posterior rehidratación mediante el uso de soluciones de alcohol de concentración decreciente. Después, el tejido sobre el portaobjetos se tiñó con hematoxilina y eosina y tinción tricrómica de Masson. Para montar la muestra, ésta se hizo pasar por xileno y se le adicionó un medio de montaje, colocando, por último, un cubreobjetos sobre la muestra.

Para el estudio histopatológico se utilizó un microscopio de campo claro, la evaluación del daño celular en túbulos proximales y distales, intersticio y vasos sanguíneos se realizó en 10 campos al azar utilizando un aumento de 10X. El daño glomerular se determinó mediante el promedio de glomerulomegalia y sinequias periféricas polares (Cabrera A. & García C., 2009; Pawlina, 2001).

6.3.22.4. Tejido adiposo visceral

El tejido adiposo se seleccionó de la zona visceral (100-500 mg), tratando de remover tejido no adiposo asociado, se colocó en solución tamponada de formaldehído al 10% a 4°C, posteriormente fue procesado, para lo cual, se cambió la solución a etanol al 70% en el mismo volumen utilizado, durante 48 horas. En seguida, una parte de la muestra se lavó y se deshidrató en una serie de soluciones alcohólicas de concentración creciente hasta alcanzar alcohol al 100%. Después se realizó el aclarado con xileno, para extraer el alcohol antes de la infiltración de la muestra en parafina fundida. Una vez que la parafina se ha enfriado y endurecido, el bloque formado se colocó en un microtomo para realizar cortes en rebanadas finas con una cuchilla de acero. De igual forma, otra parte de la muestra se trató con solución tamponada de glucosa al 30% durante 48 horas para el manejo del espécimen en fresco, colocando medio de congelación a la muestra y procediendo a realizar cortes finos en criostato. Por último, los cortes se montaron sobre portaobjetos de vidrio utilizando un medio de montaje como pineno o resinas de acrílico como adhesivo. Para realizar la tinción, la parafina se disolvió y se extrajo con xileno, con una posterior rehidratación mediante el uso de soluciones de alcohol de concentración decreciente. Después, el tejido sobre el

portaobjetos se tiñó con hematoxilina y eosina, en el caso de la muestra tratada en parafina, así como tinción con rojo de picrosirius para la muestra procesada en fresco. Para montar la muestra, ésta se pasó por xileno y se le adicionó un medio de montaje, colocando, por último, un cubreobjetos sobre la muestra.

Para el estudio histopatológico se utilizó un microscopio de campo claro, la evaluación de la adiposidad se realizó mediante la cuantificando del área de 100 adipocitos al azar utilizando el software ImageJ ®, así como el grado de fibrosis y patrón lobular (Fox *et al.*, 1985; Pawlina, 2001).

6.3.22.5. Aorta

El vaso sanguíneo diseccionado se fijó en solución tamponada de formaldehído al 10% a 4°C. Posteriormente, se colocó en solución tamponada de glucosa al 30% durante 48 horas en refrigeración. En seguida, el tejido fue cubierto por un medio de congelación soluble en agua, la muestra se colocó en congelación a -20°C hasta la formación de un bloque, el cual fue situado en un criostato para realizar cortes en rebanadas finas de la aorta en forma transversal. Los cortes fueron transferidos a un portaobjetos, para después ser tratados con alcohol absoluto durante unos minutos. En seguida se realizó la tinción de Verhoeff van Geison, las muestras se hicieron pasar por xileno y se le adicionó un medio de montaje, colocando, por último, un cubreobjetos.

Para el estudio histopatológico se utilizó un microscopio de campo claro, la evaluación de la integridad estructural de las bandas de elastina del vaso sanguíneo se realizó utilizando un aumento de 10X sobre toda la estructura de la aorta (Pawlina, 2001; Robbins *et al.*, 2014).

La descripción resumida de los parámetros evaluados se encuentra en la tabla 7.

Tabla 7. Resumen de la descripción de los parámetros evaluados en la metodología.

Perfil Evaluado	Variable	Grupo	Frecuencia	Descripción
Consumo de alimentos	Alimento sólido	Todos	Diario	Variable cuantitativa continua. Se mide el peso de alimento mediante balanza granataria, la diferencia de gramos consumidos por día se promedia por animal.
	Bebida	Todos	Diario	Variable cuantitativa continua. Se mide la cantidad de agua o solución glucosada mediante probeta volumétrica, la diferencia de volumen consumido por día se promedia por animal.
	Ingesta calórica	Todos	Diario	Variable cuantitativa continua. Se calcula la cantidad de kilocalorías consumidas por animal por día, por medio del peso y volumen consumidos de agua y alimento, cuya densidad energética se describe en la tabla #.
Parámetros morfométricos	Peso corporal	Todos	Mensual	Variable cuantitativa continua. Los animales se pesan por medio de balanza granataria.
	Talla	Todos	Mensual	Variable cuantitativa continua. Se mide la longitud hocico-ano de los animales mediante una cinta métrica.
	Índice de Lee	Todos	Mensual	Variable cuantitativa continua. Se calcula utilizando los valores de peso corporal y talla, sustituyéndolos en la fórmula antes descrita.
Resistencia a la insulina	Glucosa en ayuno	Todos	Mensual	Variable cuantitativa continua. Se realiza una punción en la cola de los animales y se recoge la muestra de sangre capilar por medio de tiras reactivas y glucómetro de la marca Accu-Chek Performa.
	Curva de tolerancia a la glucosa	DN y SM	Semana 20	Después de ayuno de 16 horas, se toma una muestra basal de sangre capilar de la cola de los animales y se administra una solución glucosada (3 g/kg) por medio de cánula esofágica, en seguida, se realiza la medición de glucemia a los 15, 30, 60, 90, 120, 150 y 180 minutos con tiras reactivas y glucómetro. Los valores se grafican como medias y desviaciones estándar.
	Glucosa sérica	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Mediante un ensayo enzimático colorimétrico se determina la concentración de glucosa en la muestra con relación al patrón de concentración conocida proporcionado en el kit de la marca Spinreact. La muestra, el patrón y el blanco de reactivo se preparan de acuerdo con las especificaciones del inserto.
	Insulina	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Mediante un ensayo de ELISA basado en el principio de sándwich se determina la concentración de insulina a partir de una curva de calibración de estándar de concentración conocida proporcionado en el kit de la marca Cayman Chem.
	HOMA2-IR	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Se calcula el porcentaje de sensibilidad a la insulina y de la función de células β pancreáticas, y la resistencia a la insulina por medio del software HOMA2-IR Calculator utilizando los valores de glucosa e insulina. Además, se calcula el índice HOMA1-IR y QUICKI para establecer la resistencia a la insulina.
Perfil lipídico	Triglicéridos	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Mediante un ensayo enzimático colorimétrico se determina la concentración de triglicéridos en la muestra con relación al patrón de concentración conocida proporcionado en el kit de la marca Spinreact. La muestra, el patrón y el blanco de reactivo se preparan de acuerdo con las especificaciones del inserto.
	Colesterol	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Mediante un ensayo enzimático colorimétrico se determina la concentración de colesterol en la muestra con relación al patrón de

				concentración conocida proporcionado en el kit de la marca Spinreact. La muestra, el patrón y el blanco de reactivo se preparan de acuerdo con las especificaciones del inserto.
	Colesterol HDL	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Mediante un ensayo de precipitación y un enzimático colorimétrico se determina la concentración de c-HDL en la muestra con relación al patrón de concentración conocida proporcionado en el kit de la marca Spinreact. La muestra, el patrón y el blanco de reactivo se preparan de acuerdo con las especificaciones del inserto.
	Colesterol LDL	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Mediante un ensayo enzimático colorimétrico se determina la concentración de c-LDL en la muestra con relación al patrón de concentración conocida proporcionado en el kit de la marca Spinreact. La muestra, el patrón y el blanco de reactivo se preparan de acuerdo con las especificaciones del inserto.
	Colesterol VLDL	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Se calcula la concentración de c-VLDL dividiendo el nivel de triglicéridos entre cinco, utilizando como unidades mg/dL.
Inflamación	Proteína C reactiva	Todos	Semana 20 y 40	Variable semicuantitativa discreta. Mediante un ensayo de aglutinación se determina cualitativamente la presencia de proteína C reactiva en la muestra. Tras la presencia de aglutinación se determina una concentración >6 mg/dL, posteriormente se realizan una serie de diluciones para determinar la concentración pertinente.
Perfil hepático	ALT	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Mediante un ensayo enzimático se determina la actividad catalítica de ALT, por medio de la disminución de NADH del medio. La preparación de la muestra se realiza siguiendo las especificaciones del inserto de la marca Spinreact.
	AST	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Mediante un ensayo enzimático se determina la actividad catalítica de AST, por medio de la disminución de NADH del medio. La preparación de la muestra se realiza siguiendo las especificaciones del inserto de la marca Spinreact.
	Glucógeno hepático y muscular	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Se realiza un hidrolizado de hígado y músculo esquelético en KOH (30%) en una relación 1:3 (p/v), la adición de solución de antrona permite la coloración de la muestra, la cual se mide fotométricamente a 620 nm de longitud de onda. La concentración de glucógeno se determina por medio de una curva de calibración de glucosa (50%) (Fong <i>et al.</i> , 1953).
Perfil renal	Urea	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Mediante un ensayo enzimático colorimétrico se determina la concentración de urea en la muestra con relación al patrón de concentración conocida proporcionado en el kit de la marca Spinreact. La muestra, el patrón y el blanco de reactivo se preparan de acuerdo con las especificaciones del inserto.
	Creatinina	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Mediante un ensayo enzimático colorimétrico se determina la concentración de creatinina en la muestra con relación al patrón de concentración conocida proporcionado en el kit de la marca Spinreact. La muestra, el patrón y el blanco de reactivo se preparan de acuerdo con las especificaciones del inserto.
Cetosis	β -hidroxibutirato	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Mediante una punción en la vena de la cola del animal, se recolecta una gota de sangre capilar en una tira reactiva y medidor de la marca FreeStyle Optium. La medición se basa en la tecnología de

				biosensores electroquímicos que utiliza la enzima de la β -hidroxibutirato deshidrogenasa para catalizar una serie de reacciones enzimáticas que crean una corriente eléctrica, la magnitud de ésta es proporcional a la cantidad de β -hidroxibutirato presente en la muestra.
Estrés oxidativo	MDA	Todos	Semana 20 y 40	Variable cuantitativa continua. Mediante un método colorimétrico se determina la concentración de MDA en suero, hígado, riñón y páncreas. Se realiza un homogenizado al 10% de los tejidos en KCl (1.15%), y el suero sanguíneo en H_2SO_4 (12 N), la adición de TBA (0.3%) crea compuestos coloridos que se miden fotométricamente a 534 nm de longitud de onda. La curva de calibración de MDA de concentración conocida permite la determinación de los niveles de MDA en las muestras (Uchiyama & Mihara, 1978).
Histología	Hígado	Todos	Semana 20 y 40	Variable cualitativa nominal politómica. Un corte representativo del tejido se fija en solución tamponada de formaldehído (10%), la posterior inclusión en parafina permite realizar cortes de 5-10 μm de grosor, la muestra se tiñe con hematoxilina y eosina, se monta en portaobjetos y se cubre. En la evaluación microscópica se determina el diámetro medio del hepatocito y el núcleo, observando 100 células en campos aleatorios (Pawlina, 2001; Rosas C. <i>et al.</i> , 2010).
	Riñón	Todos	Semana 20 y 40	Variable cualitativa nominal politómica. Un corte representativo del tejido se fija en solución tamponada de formaldehído (10%), la posterior inclusión en parafina permite realizar cortes de 5-10 μm de grosor de la parte central del órgano, la muestra se tiñe con hematoxilina y eosina, se monta en portaobjetos y se cubre. En la evaluación microscópica se determina el daño celular en glomérulo y túbulos distales y proximales en campos elegidos aleatoriamente (Cabrera A. & García C., 2009; Pawlina, 2001).
	Páncreas	Todos	Semana 20 y 40	Variable cualitativa nominal politómica. El órgano diseccionado se fija en solución tamponada de formaldehído (10%), la posterior inclusión en parafina permite realizar cortes de 5-10 μm de grosor de la parte de la cola del órgano donde se encuentra una mayor cantidad de islotes de Langerhan. La muestra se tiñe con hematoxilina y eosina, se monta en portaobjetos y se cubre. En la evaluación microscópica se determina el daño celular en la región endócrina, así como el número de islotes de Langerhans en campos elegidos al azar (Cubillos <i>et al.</i> , 2008; Pawlina, 2001).
	Tejido adiposo visceral	Todos	Semana 20 y 40	Variable cualitativa nominal politómica. Un corte diseccionado del tejido se fija en solución tamponada de formaldehído (10%), la posterior inclusión en parafina permite realizar cortes de 5-10 μm de grosor. La muestra se tiñe con hematoxilina y eosina, se monta en portaobjetos y se cubre. En la evaluación microscópica se determina el número y tamaño de adipocitos en campos elegidos aleatoriamente (Fox <i>et al.</i> , 1985; Pawlina, 2001).
	Aorta	Todos	Semana 20 y 40	Variable cualitativa nominal politómica. Un corte diseccionado del tejido se fija en solución tamponada de formaldehído (10%), la posterior aplicación de medio de congelación permite realizar cortes de 5-10 μm de grosor. La muestra se tiñe con tinción de Verhoeff van Gieson, se monta en portaobjetos y se cubre. En la evaluación microscópica se determina la integridad estructural de las bandas de elastina del vaso sanguíneo (Pawlina, 2001; Robbins <i>et al.</i> , 2014).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Formulación de las dietas a evaluar y generación de síndrome metabólico en ratas macho de la cepa Wistar

7.1.1. Formulación de la dieta para síndrome metabólico y dieta libre de carbohidratos

La formulación de las dietas evaluadas se realizó con base en los datos establecidos y reportados por la FEDNA. Los ingredientes utilizados de la dieta para la generación del SM y la dieta libre de carbohidratos (DLC), así como su correspondencia bromatológica, se encuentran reportados en las tablas 8 y 9.

Tabla 8. Proporción bromatológica de la dieta para síndrome metabólico.

Ingredientes	Ingredientes (%)	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Fibra (%)	Cenizas (%)	Carbohidratos (%)
Harina de pescado	25.00%	1.75	17.5	2.37	0.2	3.125	0
Arroz	15.33%	1.96	1.15	0.15	0.38	0.15	11.28
Avena	34.00%	3.23	3.37	1.5	10.51	0.95	12.78
Maíz	10.00%	1.36	0.73	0.3	0.90	0.11	6.45
Bentonita	5.00%	0	0	0	0	0	0
Aceite de coco	0.35%	0	0	0.35	0	0	0
Trigo	10.00%	1.09	1.12	0.14	1.06	0.16	6.19
Manteca de cerdo	0.32%	0	0	0.32	0	0	0
TOTAL	100.00%	9.39	23.86	5.13	13.05	4.5	36.71
NOM-062-ZOO-1999.			12-24	4-12	3-6	6-8	

Tabla 9. Proporción bromatológica de la dieta libre de carbohidratos.

Ingredientes	Ingredientes (%)	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Fibra (%)	Cenizas (%)	Carbohidratos (%)
Harina de pescado	45.00%	3.15	31.5	4.275	0.36	5.625	0
Caseína	20.00%	1.8	17.4	0.16	0	0.52	0
Bentonita	5.00%	0	0	0	0	0	0
Cascarilla de arroz	10.00%	0.93	0.26	0.15	7.21	1.34	0
Manteca de cerdo	20.00%	0	0	20	0	0	0
TOTAL	100.00%	5.88	49.16	24.585	7.57	7.485	0
NOM-062-ZOO-1999.			12-24	4-12	3-6	6-8	

Para la generación del SM se formuló una dieta con una densidad energética de 2.8845 kcal/g, el porcentaje de kilocalorías de los macronutrientes fue del 16% de grasas, 33.087% de proteína y 50.907% de carbohidratos (tabla 10).

De acuerdo con la composición de la dieta normal (Harlan Teklad Lab Blocks), la densidad energética reportada es de 2.984 kcal/g (tabla 10), considerándose isocalórica con respecto a la dieta para SM (2.8845 kcal/g), por lo cual, a los animales de los grupos de SM (1 y 4) se les adicionó una solución glucosada al 25%, *ad libitum*, en base a lo reportado por Korkmaz *et al.*, (2019) y Kubacka *et al.*, (2019) proporcionando a la formulación 1 kcal/mL, siendo entonces una dieta hipercalórica con respecto a la dieta normal.

Las dietas altas en carbohidratos simples incrementan la activación de vías metabólicas sustrato de éstos (Rodríguez-Correa *et al.*, 2020). Existe evidencia de la relación entre el alto consumo de carbohidratos simples y la desregulación de las vías metabólicas de los lípidos y la glucosa, provocando estados de dislipidemia, hiperglucemia, resistencia a la insulina, adiposidad visceral, hígado graso y enfermedad cardiovascular (Lim *et al.*, 2010; Stanhope, 2016).

Tabla 10. Composición bromatológica y energética de las dietas evaluadas.

	Dieta Normal			Dieta para Síndrome Metabólico			Dieta Libre de Carbohidratos		
	Gramos%	%kcal	Densidad Energética (kcal/g)	Gramos%	%kcal	Densidad Energética (kcal/g)	Gramos%	%kcal	Densidad Energética (kcal/g)
Grasas	4.4	13.271	0.396	5.13	16.006	0.4617	24.585	52.946	2.2127
Proteína	25.2	33.78	1.008	23.86	33.087	0.9544	49.16	47.054	1.9664
Carbohidratos	39.5	52.949	1.58	36.71	50.907	1.4684	0		
Fibra	10.0			13.05			7.57		
Cenizas	9.9			4.5			7.485		
Humedad	-			9.39			5.88		
Solución Glucosada (25%)						1.0 kcal/ml			
TOTAL		100	2.984 kcal/g		100	2.8845 kcal/g + 1.0 kcal/ml = 3.8845 kcal/g/mL		100	4.1791 kcal/g

La DLC formulada se caracterizó por una densidad energética de 4.1791 kcal/g, mientras que el porcentaje de kilocalorías de los macronutrientes fue del 52.946% de grasas y 47.054% de proteínas (tabla 10).

La descripción detallada acerca del tipo de grasas presentes en las tres dietas evaluadas se presenta en la tabla 11.

Tabla 11. Composición bromatológica y especificación del tipo de grasas en las dietas evaluadas.

	Dieta Normal	Dieta Alta en Carbohidratos	Dieta Libre de Carbohidratos
	Gramos%	Gramos%	Gramos%
Grasas	4.4	5.11	24.12
Grasas Saturadas	1.1	0.96	8.32
Grasas Monoinsaturadas	1.4	0.7	0.95
Grasas Poliinsaturadas	0.9	0.09	2.12
Grasas no Especificadas	1.0	3.36	12.73
Proteína	25.2	23.86	49.16
Carbohidratos	39.5	36.81	0
Fibra	3.3	5.06	4.77
Cenizas	9.9	4.5	7.48
Humedad	-	9.39	5.88

Como se puede observar en la tabla 10, la DLCes la dieta que contiene el mayor porcentaje de grasas, de acuerdo con el panel de expertos del British Medical Journal, cuando las grasas saturadas, monoinsaturadas o poliinsaturadas reemplazan a los carbohidratos en este tipo de dietas, existen beneficios sobre la salud cardiometabólica (Forouhi *et al.*, 2018).

De acuerdo con Azzout *et al.*, (1984) y Veldhorst *et al.*, (2009) las dietas altas en proteínas y libres de carbohidratos, producen un aumento en la tasa de gluconeogénesis hepática. Debido a que la gluconeogénesis es una vía energéticamente costosa del metabolismo de las proteínas, este proceso contribuye al aumento del gasto energético después de la exposición a la dieta alta en proteínas y libre de carbohidratos (Judge & Dodd, 2020; Rodwell *et al.*, 2016). La alta dependencia energética de la vía de gluconeogénesis requiere un flujo constante de ATP proporcionado por el aumento de la oxidación de los ácidos grasos, explicando así la pérdida de peso que promueve el aumento en la gluconeogénesis (Sukkar *et al.*, 2019).

7.1.2. Generación del síndrome metabólico en ratas macho de la cepa Wistar y evaluación de la dieta libre de carbohidratos sobre parámetros morfométricos, bioquímicos e histopatológicos

El consumo de dietas ricas en carbohidratos conduce a efectos metabólicos nocivos en los roedores, los reportes previos en los que se utilizaron dietas para la generación de SM

con una densidad energética similar a la utilizada en este estudio demostraron cambios en la homeostasis de la glucosa e insulina, así como desequilibrio oxidativo, inflamación de bajo grado y dislipidemia plasmática (Korkmaz *et al.*, 2019; Kubacka *et al.*, 2019).

Los criterios diagnósticos de SM no se han establecido claramente para los modelos animales, sin embargo, de acuerdo con la revisión de Preguiça *et al.*, (2020) los parámetros metabólicos usados para determinar la presencia de esta condición clínica en modelos de roedores pueden ser tres de los cinco siguientes: incremento glucosa en ayuno, obesidad, aumento en la concentración de triglicéridos, disminución en la concentración de c-HDL e incremento de la presión sanguínea sistólica.

7.1.2.1. Consumo de alimentos: *ingesta calórica*

La evaluación de la ingesta calórica permite medir la cantidad de calorías consumidas por los animales, siendo el exceso en el consumo de éstas un factor importante en el desarrollo de complicaciones metabólicas para el establecimiento del SM (Preguiça *et al.*, 2020).

Los resultados del **consumo de kilocalorías** por animal de los grupos de estudio durante 20 semanas de experimentación se encuentran reportados en la tabla 12 y figura 10.

Tabla 12. Ingesta calórica por grupo durante el tiempo de experimentación.

Semana	DN	SM	Valor de <i>p</i>
	kcal/animal ($\bar{x} \pm DS$)		
1	36.15 $\pm$ 7.3	63.78 $\pm$ 11.62	0.099
2	49.59 $\pm$ 7.79	91.46 $\pm$ 11.83	0.002
3	66.98 $\pm$ 25.64	85.76 $\pm$ 11.53	0.525
4	78.18 $\pm$ 56.92	73.91 $\pm$ 12.71	0.999
8	96.94 $\pm$ 22.35	75.43 $\pm$ 8.28	0.347
12	88.58 $\pm$ 19.65	75.63 $\pm$ 8.73	0.887
16	84.11 $\pm$ 29.89	84.02 $\pm$ 9.37	0.999
20	80.42 $\pm$ 5.11	92.12 $\pm$ 8.17	0.933

Los datos se presentan como media $\pm$ desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Sidak para comparaciones múltiples *post hoc*. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; kcal: kilocalorías.

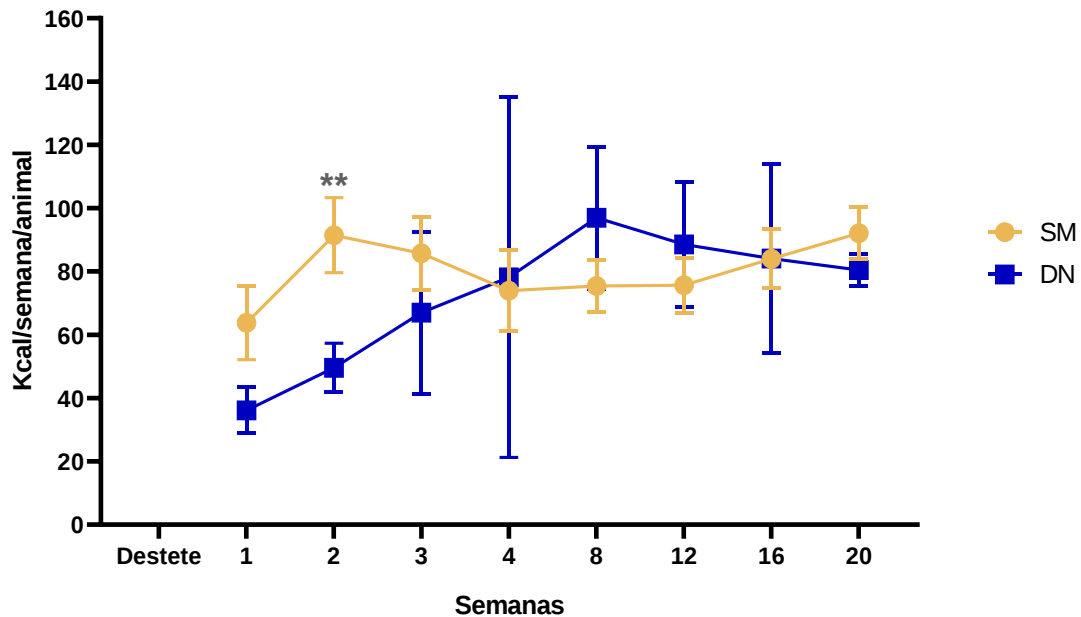


Figura 10. Ingesta calórica de los animales de acuerdo con el grupo y tiempo de experimentación. Los datos se muestran como medias $\pm$ desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Sidak para comparaciones múltiples *post hoc*. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; kcal: kilocalorías.

En la figura 10 se muestra el comportamiento de la ingesta calórica de los grupos de estudio a las diferentes semanas de evaluación. Como se puede observar, el grupo de SM mostró un mayor consumo de kilocalorías en las primeras dos semanas de experimentación, sin embargo, a partir de la tercer semana y hasta el final de la exposición a la dieta alta en glucosa, no existieron diferencias significativas entre los grupos, coincidiendo con un decremento en el consumo de alimento sólido por parte del grupo de SM con respecto al grupo de DN.

Se ha demostrado que la adición de azúcares simples al agua de bebida de los animales provoca una disminución en el consumo de alimento sólido, sin embargo, la ingesta calórica suele aumentar en comparación con los animales que son alimentados con una dieta estándar (Rodríguez-Correa *et al.*, 2020).

Los resultados obtenidos son consistentes con reportes previos de exposición a dietas altas en carbohidratos, en donde la ingesta calórica de los grupos sometidos a las dietas

mostró una disminución significativa con respecto a los grupos control, a pesar de que el exceso en el consumo de calorías es un factor importante del desarrollo de SM, los animales mostraron alteraciones relacionadas con esta condición (Alwahsh *et al.*, 2017; R. Xu *et al.*, 2010). Estos resultados pueden explicarse con estudios epidemiológicos en donde se ha informado que el desarrollo de alteraciones metabólicas está correlacionado con la composición de macronutrientes y no con el consumo total de energía (R. Xu *et al.*, 2010). En esta investigación, el alto contenido de carbohidratos en la dieta tuvo un fuerte impacto sobre la generación de alteraciones del SM independientemente de la ingesta energética.

El **consumo de kilocalorías** por cada animal de los grupos de estudio durante las 40 semanas de experimentación se encuentra reportado en la tabla 13 y figura 11.

Tabla 13. Consumo de kilocalorías por animal en los grupos de estudio durante 40 semanas de experimentación.

Tiempo (semanas)	kcal/semana/animal			
	DN	SM	SM+DLC	Valor de <i>p</i>
1	36.15 ± 7.3	62.98 ± 7.73	41.86 ± 14.58	0.013 ¹ 0.815 ² 0.065 ³
2	49.59 ± 7.79	78.76 ± 17.24	54.83 ± 3.05	0.006 ¹ 0.842 ² 0.031 ³
3	66.98 ± 25.64	87.94 ± 18.42	75.95 ± 8.4	0.068 ¹ 0.606 ² 0.409 ³
4	78.18 ± 56.92	86.8 ± 8.55	64.34 ± 6.06	0.063 ¹ 0.305 ² 0.046 ³
8	96.94 ± 22.35	65.48 ± 21.71	78.54 ± 10.04	0.003 ¹ 0.124 ² 0.347 ³
12	88.58 ± 19.65	67.27 ± 27.05	76.89 ± 4.99	0.062 ¹ 0.427 ² 0.562 ³
16	84.11 ± 29.87	84.47 ± 10.30	84.64 ± 6.26	0.999 ¹ 0.998 ² 0.999 ³
20	80.42 ± 5.11	58.6 ± 8.26	91.03 ± 12.42	0.054 ¹ 0.497 ² 0.002 ³
24	74.08 ± 3.86	81.34 ± 9.92	61.63 ± 6.54	0.719 ¹ 0.382 ² 0.092 ³
28	79.12 ± 6.98	99.59 ± 23.93	50.38 ± 8.26	0.076 ¹ 0.007 ² 0.000 ³
32	78.95 ± 1.97	107.3 ± 16.11	54.77 ± 17.65	0.008 ¹ 0.029 ² 0.000 ³
36	75.96 ± 4.74	102.9 ± 16.67	65.36 ± 5.96	0.012 ¹ 0.497 ² 0.000 ³
40	74.17 ± 15.44	106.0 ± 33.57	51.72 ± 16.91	0.002 ¹ 0.046 ² 0.000 ³

Los datos se presentan como media ± desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Tukey para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos; kcal: kilocalorías.

Como se puede observar, la ingesta calórica en el grupo de DN incrementó hasta la semana 8 y, posteriormente, mostró en decremento lento hasta la semana 24, manteniéndose constante hasta el final de la experimentación. Por otra parte, el grupo de SM mostró un

incremento desde el destete hasta la semana 4, después, mostró picos de incremento-decremento hasta la semana 20, para posteriormente incrementar hasta la semana 40 (figura 11).

El grupo de SM+DLC mostró un incremento en el consumo de kcal hasta la semana 20, a partir de ese punto se realizó el cambio hacia la DLC, observándose un gran decremento en la ingesta calórica a la semana 24, manteniéndose un menor consumo de kcal que los grupos de SM y DN a la semana 40 (figura 11).

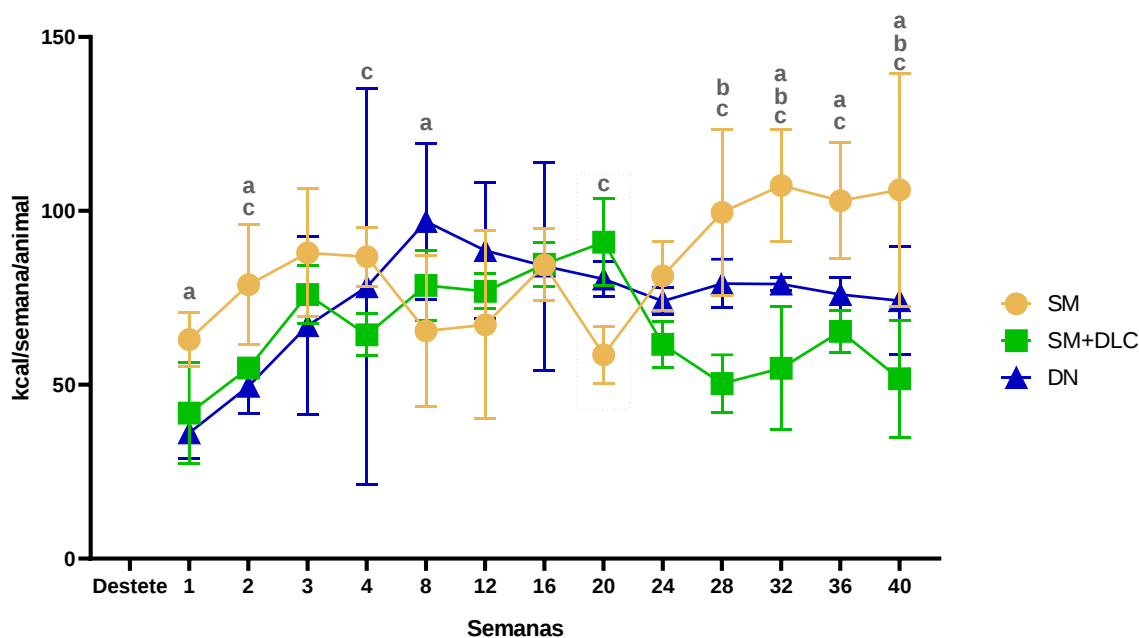


Figura 11. Ingesta calórica en los grupos de estudio a lo largo de 40 semanas de experimentación. Los datos se muestran como medias $\pm$ desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Tukey para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$, las diferencias estadísticas entre grupos se representan como: a: DN vs SM; b: DN vs SM+DLC; c: SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos; Kcal: kilocalorías.

La disminución en la ingesta calórica observada en el grupo de SM+DLC concuerda con lo reportado previamente por otros autores, en donde animales con libre acceso a una dieta alta en proteínas y alta grasas redujeron la ingesta energética en relación con los grupos control (Marsset-Baglieri *et al.*, 2004; Pichon *et al.*, 2006).

El decremento en la ingesta calórica y el consumo de alimentos se puede relacionar con la saciedad y el aumento en el gasto energético que producen las dietas altas en proteínas, tal como la DLC utilizada en este modelo. El incremento de la saciedad por la ingesta de proteínas se asocia con el aumento de la concentración de aminoácidos en sangre, las hormonas inhibitoras del hambre, la termogénesis inducida por la dieta, la gluconeogénesis y los niveles corporales de cetonas, promoviendo un balance de energía positivo (Moon & Koh, 2021).

7.1.2.2. Parámetros morfométricos

7.1.2.2.1. Peso corporal

La susceptibilidad de los animales al desarrollo de obesidad es muy heterogénea y depende, principalmente, de la raza, el género, la edad y la composición de la dieta (Kleinert *et al.*, 2018). Al no existir una definición exacta de obesidad en roedores, ésta se considera como cualquier incremento significativo en algún parámetro en relación con los animales control, tal como el peso corporal, índice de masa corporal (IMC), índice de Lee, circunferencia abdominal y depósitos de grasa visceral, siendo este último el más fuertemente relacionado con el desarrollo y progresión del SM (Lutz & Woods, 2012; Neeland *et al.*, 2013).

Estudios previos demuestran que las dietas altas en carbohidratos producen aumentos significativos en los depósitos de grasa visceral en ratas Wistar, independientemente de la composición de la dieta, utilizándose como marcadores importantes de obesidad (Bratoeva *et al.*, 2018; Ferreira-Santos *et al.*, 2020).

Los resultados de las mediciones de ***peso corporal*** de los grupos de estudio a lo largo de 20 semanas de experimentación se pueden apreciar en la tabla 14.

Tabla 14. Peso corporal de los grupos de estudio a diferentes tiempos de experimentación.

Grupo de Estudio	Peso Corporal (g)					
	Semanas					
	Destete	4	8	12	16	20
DN	64.6 ± 11.51	227.8 ± 29.23	321.2 ± 29.23	362.2 ± 36.83	391.3 ± 37.89	445.1 ± 42.75
SM	69.27 ± 14.51	193.1 ± 22.95	260.4 ± 30.84	327.6 ± 63.27	346.6 ± 68.4	386.8 ± 69.04
Valor de p	0.999	0.297	0.006	0.303	0.085	0.0096

Los datos se presentan como media ± desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Sidak para comparaciones múltiples *post hoc*. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Como se puede observar en la figura 12, los animales del grupo de DN mostraron un incremento no significativo en el peso corporal en relación con al grupo de SM en todo el periodo de investigación, excepto en las semanas 8 y 20, donde existió una significancia estadística. Sin embargo, al final de la experimentación, semana 20, los animales del grupo de SM mostraron una mayor deposición de grasa visceral que los animales del grupo de DN, demostrando con ello la generación de obesidad en los animales expuestos a la dieta alta en glucosa.

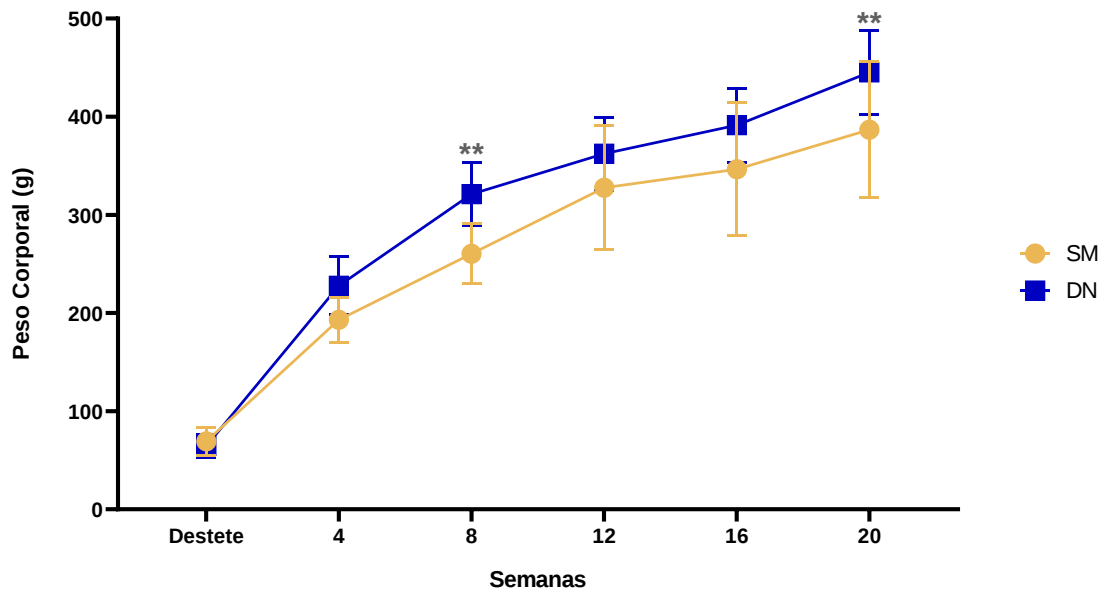


Figura 12. Peso corporal de los grupos de estudio a lo largo de 20 semanas de experimentación. Los datos se muestran como medias ± desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Sidak para comparaciones múltiples *post hoc*. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

De acuerdo con la revisión de Rodríguez-Correa *et al.*, (2020) en los modelos de SM inducido por medio de dietas hipercalóricas no siempre se observan incrementos significativos en el peso corporal de los animales en comparación con los grupos control, aun cuando éstos sí presentan alteraciones metabólicas importantes, coincidiendo con los resultados obtenidos en esta investigación.

De igual manera, Ferreira-Santos *et al.*, (2020) refirieron que la administración de una solución de fructosa al 20% en ratas de la cepa Wistar no generó diferencias significativas en el peso corporal de los animales, sin embargo, éstos mostraron una deposición de grasa visceral mayor que los animales sometidos a una DN.

Los mecanismos explicativos de este fenómeno no se conocen con exactitud, no obstante, la ausencia de cambios en el peso corporal entre los grupos podría justificarse debido a que no existieron diferencias en la ingesta calórica.

En la tabla 15 se muestran los resultados obtenidos de las mediciones del **peso corporal** en los grupos de estudio a lo largo de 40 semanas de experimentación.

Tabla 15. Peso corporal de los grupos de estudio a los diferentes tiempos de experimentación.

Tiempo (semanas)	Grupos			
	DN	SM	SM+DLC	Valor de <i>p</i>
	Peso corporal (g)			
Destete	64.6 ± 11.51	63.27 ± 16.05	57.67 ± 22.06	0.998 ¹ 0.951 ² 0.966 ³
4	227.8 ± 29.23	137.7 ± 16.13	169.2 ± 49.16	0.000 ¹ 0.030 ² 0.341 ³
8	321.2 ± 32.46	237.0 ± 34.59	252.3 ± 58.01	0.001 ¹ 0.008 ² 0.773 ³
12	362.2 ± 36.83	297.5 ± 42.69	316.5 ± 62.55	0.017 ¹ 0.116 ² 0.675 ³
16	391.3 ± 37.89	349.9 ± 47.89	369.4 ± 80.88	0.183 ¹ 0.608 ² 0.657 ³
20	445.1 ± 42.75	376.9 ± 49.01	383.0 ± 73.41	0.011 ¹ 0.020 ² 0.960 ³
24	433.8 ± 40.6	399.2 ± 57.09	352.3 ± 58.05	0.304 ¹ 0.001 ² 0.093 ³
28	444.6 ± 43.44	452.6 ± 74.81	352.9 ± 54.48	0.938 ¹ 0.000 ² 0.000 ³
32	450.7 ± 40.5	477.2 ± 87.10	359.7 ± 60.56	0.579 ¹ 0.000 ² 0.000 ³
36	455.6 ± 41.04	494.7 ± 80.89	366.2 ± 60.48	0.278 ¹ 0.000 ² 0.000 ³
40	452.6 ± 40.03	484.0 ± 85.11	359.6 ± 65.5	0.376 ¹ 0.000 ² 0.000 ³

Los datos se presentan como media ± desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Tukey para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Como se puede observar en la figura 13, el grupo de DN mostró un incremento del peso corporal desde el destete hasta la semana 20, a partir de la cual se mantuvo constante hasta el final de la experimentación. Por otra parte, el peso corporal del grupo de SM aumentó progresivamente durante las 40 semanas. El grupo de SM+DLC mostró un incremento continuo del peso corporal hasta la semana 20, luego del cambio hacia la DLC, se observó

una disminución en este parámetro, presentando el menor peso corporal en la semana 40, siendo esta diferencia estadísticamente significativa en comparación con los grupos DN y SM.

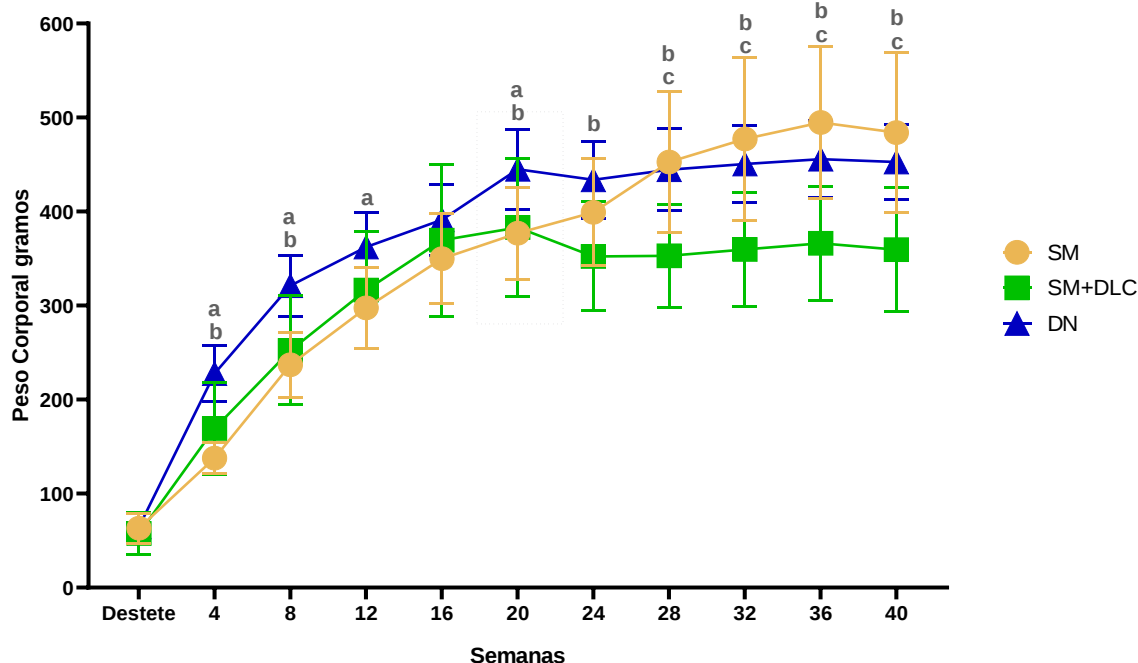


Figura 13. Peso corporal de los grupos de estudio a lo largo de 40 semanas de experimentación. Los datos se muestran como medias $\pm$ desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Tukey para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$, las diferencias estadísticas entre grupos se representan como: a: DN vs SM; b: DN vs SM+DLC; c: SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Los resultados obtenidos concuerdan con los reportados por Pichon *et al.*, (2006) los cuales observaron un decremento del peso corporal y la masa grasa después de la administración de una dieta alta en proteínas y grasas, y libre de carbohidratos durante 42 días en ratas de la cepa Wistar en relación con el grupo control. Este estudio correlaciona directamente el contenido de carbohidratos en la dieta con el incremento en el peso corporal y la adiposidad, debido a que los carbohidratos son el principal secretagogo de insulina, la cual estimula el almacenamiento de grasa. Con la eliminación total de carbohidratos en la dieta, la insulinemia permanece baja y la oxidación de los lípidos aumenta a expensas del depósito de estos.

Asimismo, se ha descrito que la proteína proveniente de la dieta decreta el peso corporal al incrementar la saciedad y el gasto de energético. El aumento de la saciedad por la ingesta de proteínas se asocia con la elevación en la concentración de aminoácidos en sangre, hormonas inhibidoras del hambre, termogénesis inducida por dieta y los niveles de cuerpos cetónicos (Moon & Koh, 2021).

El aumento en la gluconeogénesis debido al contenido proteico en la dieta es otro mecanismo de pérdida de peso. Con la dieta alta en proteína, los aminoácidos se involucran en una vía alternativa, la gluconeogénesis. El mayor uso de energía en esta vía metabólica aumenta el gasto energético al incrementar la oxidación de los ácidos grasos lo que contribuye a la pérdida de peso (Moon & Koh, 2021; Rodwell *et al.*, 2016).

7.1.2.2.2. Índice de Lee

El índice de Lee ha sido utilizado para la evaluación de la obesidad en roedores y es similar al IMC en humanos, se han encontrado correlaciones positivas entre el índice de Lee y el contenido de grasa corporal (Bernardis & Patterson, 1968; Hao *et al.*, 2015; Rogers & Webb, 1980).

En la tabla 16 se muestran los resultados obtenidos del **índice de Lee** desde el destete hasta las 20 semanas de la exposición a las distintas dietas.

Tabla 16. Índice de Lee en los grupos de estudio a diferentes tiempos de evaluación.

Grupo de Estudio	Índice de Lee					
	Semanas					
	Destete	4	8	12	16	20
DN	0.303 ± 0.022	0.350 ± 0.02	0.343 ± 0.011	0.339 ± 0.011	0.348 ± 0.011	0.355 ± 0.014
SM	0.376 ± 0.009	0.329 ± 0.020	0.324 ± 0.012	0.339 ± 0.012	0.341 ± 0.012	0.353 ± 0.013
Valor de p	0.000	0.003	0.010	0.999	0.745	0.999

Los datos se presentan como media ± desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Sidak para comparaciones múltiples *post hoc*. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Como se puede observar en la figura 14, al momento del destete el grupo de SM presentó los valores de índice de Lee mayores en comparación con el grupo de DN, sin embargo, este parámetro mostró un decremento significativo en las semanas 4 y 8, no mostrando diferencias estadísticamente significativas en las semanas posteriores y hasta el final de la experimentación en relación con el grupo de DN.

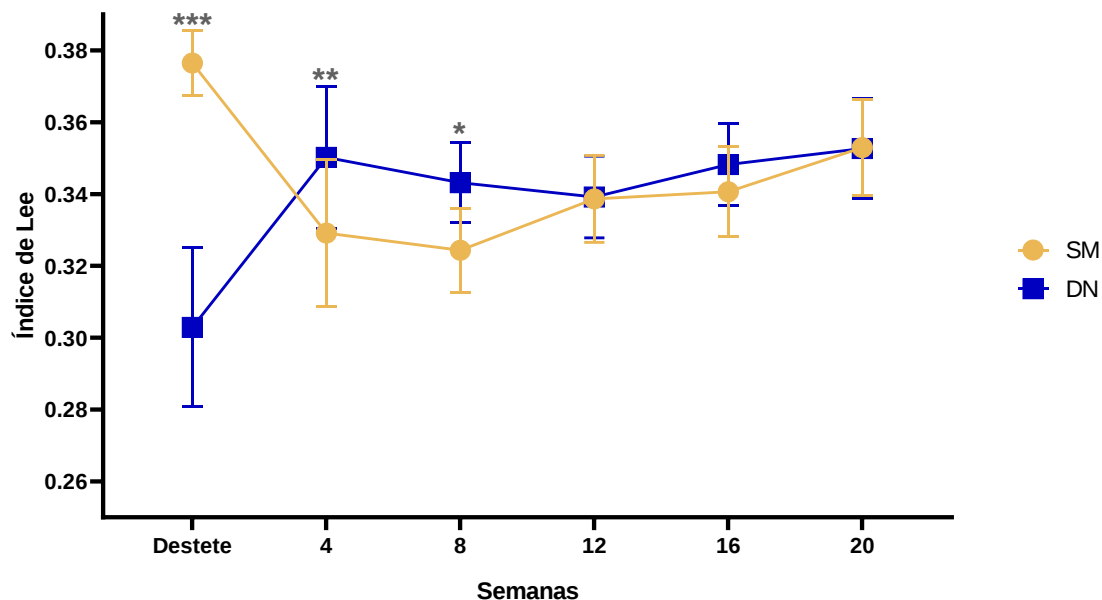


Figura 14. Índice de Lee de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Los datos se muestran como medias $\pm$ desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Sidak para comparaciones múltiples *post hoc*. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

En base a los resultados obtenidos, el peso corporal y el índice de Lee no reflejan en realidad el grado de adiposidad en los animales, por lo que estos parámetros no son indicativos exactos del estado de obesidad, concordando en que el marcador de obesidad deberá ser la deposición de grasa abdominal como lo establecen Rodríguez-Correa *et al.*, (2020).

Los resultados del *índice de Lee* en los grupos de estudio durante 40 semanas de experimentación se encuentran reportados en la tabla 17.

Tabla 17. Índice de Lee en los grupos de estudio durante 40 semanas de experimentación.

Tiempo (semanas)	Índice de Lee			
	DN	SM	SM+DLC	Valor de p
Destete	0.303 ± 0.022	0.334 ± 0.009	0.344 ± 0.021	0.000 ¹ 0.000 ² 0.221 ³
4	0.350 ± 0.02	0.298 ± 0.020	0.295 ± 0.025	0.000 ¹ 0.000 ² 0.892 ³
8	0.343 ± 0.011	0.313 ± 0.012	0.329 ± 0.015	0.000 ¹ 0.076 ² 0.131 ³
12	0.339 ± 0.011	0.331 ± 0.012	0.328 ± 0.010	0.552 ¹ 0.187 ² 0.781 ³
16	0.348 ± 0.011	0.340 ± 0.012	0.338 ± 0.012	0.533 ¹ 0.232 ² 0.851 ³
20	0.355 ± 0.014	0.342 ± 0.013	0.342 ± 0.010	0.214 ¹ 0.241 ² 0.989 ³
24	0.346 ± 0.011	0.345 ± 0.011	0.335 ± 0.008	0.999 ¹ 0.215 ² 0.207 ³
28	0.347 ± 0.012	0.356 ± 0.012	0.332 ± 0.013	0.357 ¹ 0.058 ² 0.000 ³
32	0.348 ± 0.011	0.360 ± 0.016	0.334 ± 0.012	0.163 ¹ 0.074 ² 0.000 ³
36	0.351 ± 0.012	0.365 ± 0.014	0.337 ± 0.011	0.085 ¹ 0.062 ² 0.000 ³
40	0.349 ± 0.011	0.364 ± 0.016	0.334 ± 0.012	0.043 ¹ 0.051 ² 0.000 ³

Los datos se presentan como media ± desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Tukey para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Al momento del destete, los animales de los grupos de SM y SM+DLC mostraron los niveles más altos de índice de Lee, posteriormente, se observó una disminución significativa en las semanas 4 y 8 en relación con el grupo de DN. A partir de la semana 20, el grupo de SM mostró un incremento progresivo de este parámetro hasta el final del periodo de

experimentación. Mientras que el grupo de SM+DLC presentó una disminución en las primeras cuatro semanas del cambio hacia la DLC, mostrando valores constantes de índice de Lee hasta la semana 40 (figura 15). Al final de la experimentación, el grupo de SM+DLC presentó un decremento estadísticamente significativo del índice de Lee en relación con el grupo de DN.

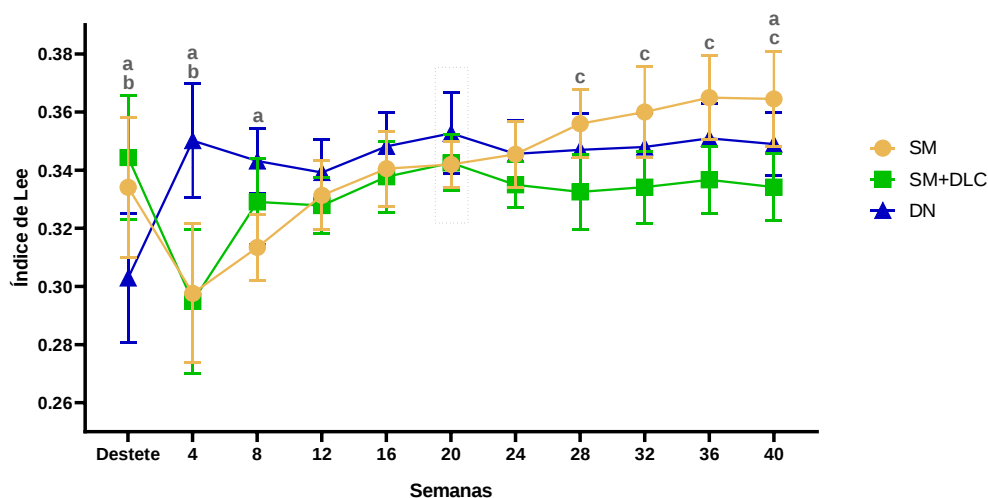


Figura 15. Índice de Lee de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Los datos se muestran como medias $\pm$ desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Tukey para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$, las diferencias estadísticas entre grupos se representan como: a: DN vs SM; b: DN vs SM+DLC; c: SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Los resultados del índice de Lee reflejan en gran medida los cambios en el peso corporal a lo largo de las 40 semanas, teniendo como punto de comparación las diferencias presentadas a partir de la semana 20, en donde se realizó el cambio hacia la DLC en el grupo SM+DLC, pudiendo observar una disminución en la obesidad con respecto al grupo de SM.

Sin embargo, como se mencionó anteriormente, el peso corporal y el índice de Lee no son los marcadores predilectos en el establecimiento de obesidad en los animales.

7.1.2.3. Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina es uno de los principales vínculos subyacentes entre el consumo excesivo de carbohidratos y el SM. Se han descrito diversas técnicas para la

evaluación de la sensibilidad a la insulina *in vivo*, entre los que destacan la prueba de curva de tolerancia a la glucosa oral, monitoreo de glucosa en ayuno, determinación de insulina en ayuno y los índices HOMA2-IR, HOMA1-IR y QUICKI (Roberts *et al.*, 2013).

7.1.2.3.1. Curva de tolerancia a la glucosa

La concentración de glucosa en plasma, medida después de un ayuno nocturno o una carga de glucosa, ha sido una de las herramientas principales para el diagnóstico de las alteraciones de la homeostasis de la glucosa (Jagannathan *et al.*, 2020; Olabi & Bhopal, 2009). De acuerdo con algunos estudios, el incremento en los niveles de glucosa de una hora durante la prueba de curva de tolerancia a la glucosa oral (CTGO) en combinación con los elementos del síndrome metabólico son útiles para predecir el riesgo futuro de diabetes tipo 2 (Lizarzaburu-Robles *et al.*, 2019).

La prueba de CTGO es sensible y específica para detectar la intolerancia a la glucosa, sin embargo, los niveles de glucosa en plasma a las 2 horas de la carga pueden no proporcionar la información completa sobre el comportamiento de ésta. El área bajo la curva (ABC) de la glucosa es un índice de la fluctuación de la glucosa total después de la carga, se ha empleado ampliamente para el cálculo del índice glucémico, proporcionando más información sobre la tolerancia a la glucosa (Sakaguchi *et al.*, 2016).

En la tabla 18 se reportan los resultados de la **curva de tolerancia a la glucosa oral** en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación.

Tabla 18. Concentraciones de glucosa de la curva de tolerancia a las 20 semanas de experimentación.

Tiempo (minutos)	Concentración de Glucosa (mg/dL)		Valor de <i>p</i>
	DN	SM	
0	68.14 ± 7.105	88.33 ± 26.27	0.977
15	166.6 ± 45.65	146.3 ± 37.63	0.976
30	167.0 ± 45.77	149.0 ± 34.69	0.989
60	139.9 ± 25.57	157.9 ± 73.06	0.989
90	126.1 ± 6.669	137.0 ± 86.94	0.999
120	127.7 ± 25.55	110.3 ± 42.23	0.992
150	103.3 ± 18.53	92.22 ± 13.60	0.999
180	97.14 ± 15.25	94.22 ± 26.20	0.999
210	110.0 ± 53.79	103.8 ± 37.07	0.999
240	86.57 ± 17.01	90.22 ± 12.43	0.999

Los datos se presentan como media ± desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Sidak para comparaciones múltiples *post hoc*. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Como se puede observar en los datos graficados (figura 16), los grupos de SM y DN presentan un comportamiento muy similar de la glucosa capilar a los diferentes tiempos después de la carga oral, no mostrando diferencias estadísticamente significativas.

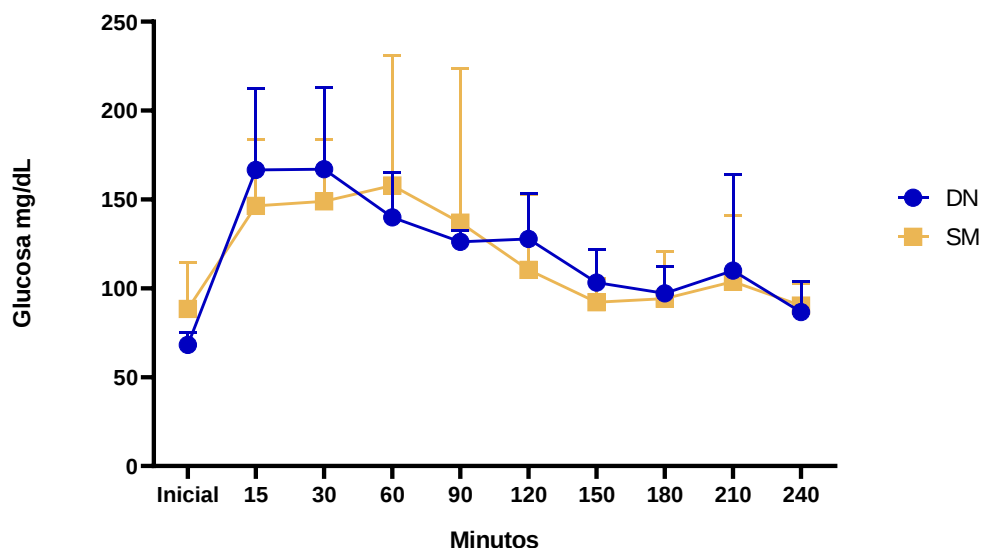


Figura 16. Curva de tolerancia a la glucosa en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Los datos se muestran como medias ± desviación estándar. La comparación entre grupos se realizó por medio de un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó la prueba de ajuste de Sidak para comparaciones múltiples *post hoc*. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Los resultados obtenidos son comparables a los reportados por Alwahsh *et al.*, (2017) en donde los autores no observaron diferencias significativas a los 60 minutos después de la carga de glucosa oral en el grupo de inducción de SM con relación al grupo control. Sin embargo, difieren a los reportados por Bratoeva *et al.*, (2018) y Ferreira-Santos *et al.*, (2020) los cuales encontraron diferencias significativas en las concentraciones de glucosa después de la carga oral entre los grupos de inducción de SM por medio de dieta alta en carbohidratos y los grupos control.

Esta discrepancia con los resultados obtenidos se puede deber a que la estimación de glucosa en sangre capilar y por medio de glucómetro puede no ser tan precisa como la determinación de glucosa en plasma venoso o sangre total venosa, tal como lo demostraron Chan *et al.*, (2012) los cuales determinaron que las concentraciones de glucosa en muestras de sangre obtenidas por medio de punción cardíaca eran más altas que las obtenidas por punción en la vena de la cola de ratones. Se estableció que, en condiciones basales del metabolismo de la glucosa, la concentración de ésta en las arterias es consistentemente más alta que en la vena. Asimismo, existe evidencia importante a cerca de la baja precisión diagnóstica en la utilización de glucómetros que emplean enzimas oxidorreductasas para la determinación de glucosa en sangre capilar (Bogdanet *et al.*, 2020; Y. K. Chan *et al.*, 2012).

7.1.2.3.2. Glucosa sérica

Los resultados obtenidos de la concentración de **glucosa sérica** en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación se muestran en la tabla 19 y figura 17.

Tabla 19. Glucosa sérica en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Glucosa (mg/dL)
DN	50.32 (40.51-75.95)
SM	159.2 (59.87-256.4)
Valor de <i>p</i>	0.016

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

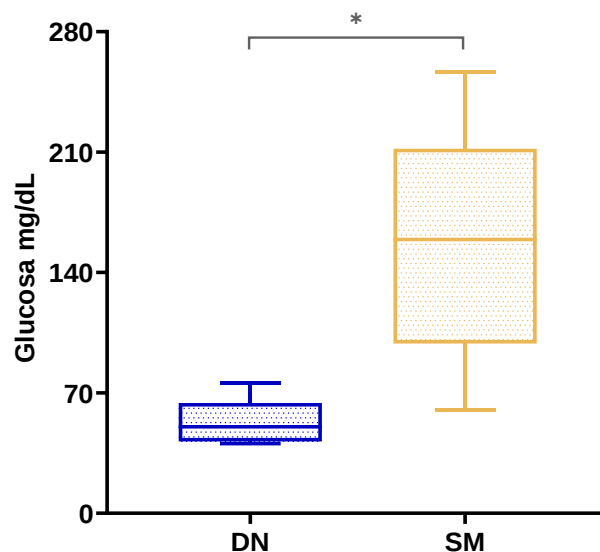


Figura 17. Concentración de glucosa de los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Como se puede observar en la figura 17, el grupo de SM mostró un incremento estadísticamente significativo en la concentración de glucosa con respecto al grupo de DN, a pesar de la alta variabilidad en los niveles de glucosa de los animales que integraban el grupo de SM.

Estos resultados concuerdan con estudios previos de inducción de SM mediante dietas hipercalóricas, en donde los niveles de glucosa sérica en ayuno son considerados como un parámetro importante en la generación del SM en modelos animales (Bratoeva *et al.*, 2018; Zemančíková & Török, 2016).

El alto contenido de glucosa en la solución administrada al grupo de SM durante 20 semanas promovió alteraciones en la homeostasis de la glucosa tanto directa como indirectamente. Directamente, la alta concentración de glucosa en la solución provocó una desregulación del metabolismo de los lípidos y los carbohidratos. Indirectamente, la glucosa promovió un equilibrio energético positivo y, con ello, un incremento en el almacenamiento de grasa visceral, la cual también provocó una desregulación del metabolismo de los lípidos y los carbohidratos, sobre todo la generación de resistencia a la insulina tanto hepática como

sistémica, conduciendo a un estado de hiperglucemia al no suprimir la producción de glucosa hepática (A. M. L. Chan *et al.*, 2021; Stanhope, 2016).

Los valores obtenidos de concentración de **glucosa sérica** de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación se encuentran reportados en la tabla 20.

Tabla 20. Glucosa en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Glucosa (mg/dL)
DN	60.33 (35.63-102.09)
SM	182.6 (69.08-322.71)
SM+DLC	120.3 (97.39-166.8)
Valor de p	0.0001 ¹ 0.004 ² 0.911 ³

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

El grupo de DN mostró los niveles más bajos de glucosa sérica en comparación con los grupos SM y SM+DLC (figura 18), siendo esta diferencia estadísticamente significativa debido a que el grupo de SM mostró un incremento del 202% en la concentración de glucosa con respecto al grupo DN, mientras que el grupo SM+DLC presentó un incremento del 99%.

Al comparar los grupos de SM y SM+DLC, se observa un decremento en la mediana del grupo de SM+DLC en relación con el grupo de SM, no siendo esta diferencia estadísticamente significativa.

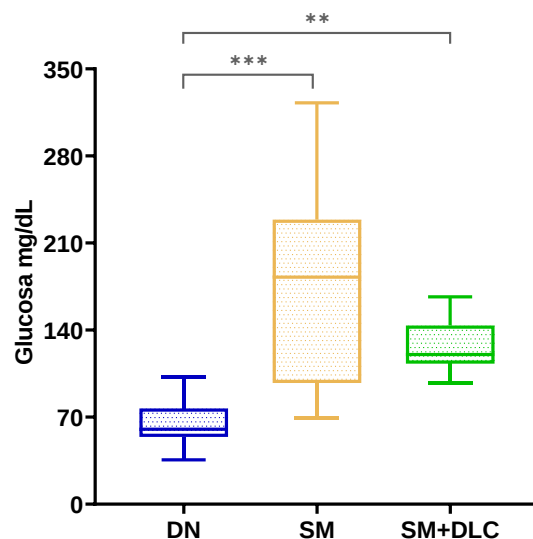


Figura 18. Concentración de glucosa de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Los resultados de la concentración de glucosa de los grupos de SM y DN a las 40 semanas son comparables con los obtenidos a las 20 semanas de experimentación, mostrándose una clara alteración en la homeostasis de la glucosa en los animales del grupo de SM.

Los resultados obtenidos de la concentración de glucosa en el grupo de SM+DLC son comparables a los obtenidos por Azzout *et al.*, (1984) los cuales reportaron un aumento significativo en la tasa de gluconeogénesis en animales sometidos a una DLC y alta en proteínas con respecto al grupo sometido a una dieta alta en carbohidratos (Azzout *et al.*, 1984). Dicho aumento podría reflejarse en el incremento de la concentración plasmática de glucosa en los animales del grupo SM+DLC en relación con el grupo de DN.

Se ha demostrado que la adaptación a una dieta alta en grasas y alta en proteínas produce cambios pronunciados en el metabolismo de los carbohidratos. La ausencia de glucosa en la dieta y el requerimiento estricto de la misma por el sistema nervioso central y otros tejidos, lleva a una activación marcada de la gluconeogénesis hepática en animales

sometidos a una dieta alta en proteínas y libre de carbohidratos (Brito *et al.*, 2005; Veldhorst *et al.*, 2009).

7.1.2.3.3. Insulina sérica

Las primeras observaciones acerca de la alteración en la homeostasis de la glucosa se basan en un estado de hiperglucemia acompañado de niveles elevados de insulina, esta sobreestimulación de la secreción de la hormona intenta contrarrestar la resistencia a la insulina hepática y periférica, sin embargo, a largo plazo, se presenta una disfunción progresiva de las células β pancreáticas resultando en un estado de hipoinsulinemia (Leonardi *et al.*, 2020; J. Yang *et al.*, 2018).

Los valores de **insulina sérica** en los animales de experimentación a las 20 semanas se muestran en la tabla 21.

Tabla 21. Insulina sérica en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Insulina (ng/mL)
DN	3.77 (3.51-4.36)
SM	1.6 (0.74-2.19)
Valor de p	0.0079

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. *DN*: dieta normal; *SM*: síndrome metabólico.

Los animales sometidos a la dieta alta en carbohidratos mostraron un decremento significativo en la concentración de insulina a las 20 semanas de experimentación, en relación con los animales de grupo de DN (figura 19).

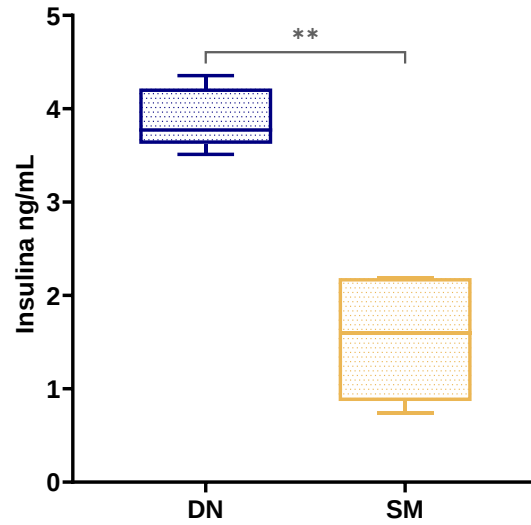


Figura 19. Concentración de insulina en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Los resultados observados en esta investigación no son consistentes con modelos animales de inducción de SM mediante la administración de soluciones altas en carbohidratos (20-35% de fructosa o glucosa) durante 12 o 16 semanas, en donde se muestran incrementos significativos de la concentración de insulina con respecto a los grupos control (Bratoeva *et al.*, 2018; Ferreira-Santos *et al.*, 2020). Esta discrepancia puede deberse a que el tiempo de administración de estas dietas fue menor al empleado en este modelo (20 semanas) para comprometer la secreción de insulina por parte de las células β pancreáticas.

Los elevados niveles de glucosa plasmática provocados por la alta disponibilidad de carbohidratos en la dieta y la alteración de la homeostasis de la glucosa provocaron una sobreestimulación de la liberación de insulina, la cual pudo causar alteraciones relacionadas con el estrés del retículo endoplásmico (RE), apoptosis, pérdida de la masa de células β pancreáticas y la consecuente disminución en la secreción de insulina (Melnik *et al.*, 2011; J. Yang *et al.*, 2018).

Pese a que la hiperinsulinemia se considera un predictor importante del desarrollo de SM, la pérdida de la capacidad de secreción de insulina es una fuerte evidencia del deterioro

de las células β pancreáticas ante los estímulos externos, como las altas concentraciones de glucosa por períodos prolongados (Thomas *et al.*, 2019). Por dicha razón, el decremento en la concentración de insulina en los animales de SM en relación con los animales de DN tiene un valor importante en la detección de SM en el grupo experimental.

Los resultados de la concentración de **insulina sérica** en los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación se muestran en la tabla 22 y figura 20.

Tabla 22. Insulina en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Insulina (ng/mL)
DN	3.49 (2.25-4.12)
SM	2.24 (0.15-2.98)
SM+DLC	3.73 (2.3-5.95)
Valor de <i>p</i>	0.023 ¹ 0.897 ² 0.000 ³

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

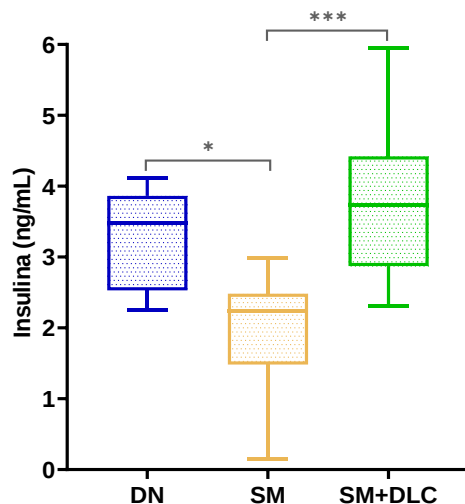


Figura 20. Concentración de insulina de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Los resultados obtenidos de los niveles de insulina en ayuno en los animales del grupo de SM+DLC mostraron un incremento con respecto al grupo de SM, teniendo valores comparables al grupo de DN. Al igual que en las 20 semanas de experimentación, el grupo de SM tuvo un decremento en la concentración de insulina respecto al grupo de DN (figura 20).

No se encontraron reportes previos de la utilización de DLC y su impacto sobre la secreción de insulina en modelos de SM, sin embargo, los resultados observados de la concentración de insulina en el grupo de SM+DLC son consistentes a los reportados por Al-Khalifa *et al.*, (2009) en donde se utilizó una dieta baja en carbohidratos (10% kcal) en ratas con diabetes inducida por estreptozotocina, los autores reportaron un mayor número de células β pancreáticas que los animales expuestos a una dieta alta en carbohidratos, demostrando el efecto de preservación de la masa de los islotes pancreáticos de la DLC.

Existen reportes acerca del papel que tienen las dietas restringidas en carbohidratos en la reducción del estrés oxidativo y las condiciones proinflamatorias, y el impacto positivo que se tiene sobre la integridad de las células β pancreáticas en estadios tempranos de diabetes mellitus tipo 2 en modelos animales (C. A. A. Locatelli & Mulvihill, 2020).

De igual forma, existen investigaciones en donde la exposición a una DLC durante 22 semanas previno la pérdida de células β pancreáticas en ratones con susceptibilidad a desarrollar diabetes y obesidad (Jürgens *et al.*, 2007; Mirhashemi *et al.*, 2008).

7.1.2.3.4. Índices HOMA1-IR y QUICKI

El modelo homeostático para la evaluación de la resistencia a la insulina (HOMA1-IR, por sus siglas en inglés) es un método basado en los niveles séricos de glucosa e insulina en ayuno, utilizado para definir la resistencia a la insulina y, de forma indirecta, la función de las células β pancreáticas por medio de un valor numérico (Añez *et al.*, 2016). Existen diversos reportes que han intentado identificar valores de HOMA1-IR que sugieran un estado de resistencia a la insulina, sin embargo, éstos son específicos para ciertas poblaciones. Por lo cual, se ha indicado de forma inespecífica que, valores más altos de HOMA1-IR, representan una resistencia a la insulina más grave (Diniz *et al.*, 2020; Shashaj *et al.*, 2016).

Los resultados del cálculo del **índice HOMA1-IR** de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación, se encuentran reportados en la tabla 23 y figura 21.

Tabla 23. Índice HOMA1-IR en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	HOMA1-IR
DN	11.62 (10.75-16.33)
SM	10.30 (7.18-34.27)
Valor de <i>p</i>	0.548

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: *dieta normal*; SM: *síndrome metabólico*.

De acuerdo con los resultados obtenidos, no se observa una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de DN y SM, sin embargo, existe una tendencia al decremento en el grupo del SM con respecto al grupo de DN (figura 21).

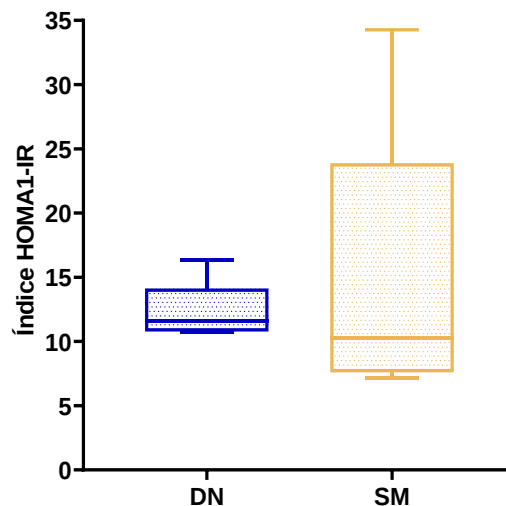


Figura 21. Índice HOMA1-IR de los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: *dieta normal*; SM: *síndrome metabólico*.

La aplicabilidad del índice HOMA1-IR en la investigación experimental es cuestionable por la falta de datos para la validación en la mayoría de las especies animales, (Antunes *et al.*, 2016; Gutch *et al.*, 2015). Sin embargo, un estudio llevado a cabo por Antunes *et al.*, (2016) demostró que el índice HOMA1-IR es preciso para detectar la

resistencia a la insulina en ratas Wistar sometidas a una dieta alta en grasas durante 19 semanas.

Los resultados obtenidos del índice HOMA1-IR coinciden con lo reportado por Moreno-Fernández *et al.*, (2018) los cuales, pese a los cambios observados en las concentraciones de glucosa e insulina en ayuno en animales con SM después de una dieta hipercalórica durante 20 semanas, no encontraron diferencias significativas en este parámetro.

Los resultados del **índice HOMA1-IR** en los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación se encuentran reportados en la tabla 24 y figura 22.

Tabla 24. Índice HOMA1-IR en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Índice HOMA1-IR
DN	11.37 (8.99-21.9)
SM	23.21 (2.81-38.57)
SM+DLC	26.85 (19.2-44.92)
Valor de p	0.210 ¹
	0.000 ²
	0.227 ³

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

El grupo de SM+DLC mostró un incremento estadísticamente significativo en el índice HOMA1-IR en relación con el grupo de DN y no significativo en comparación al grupo de SM. Mientras que el grupo de SM muestra una tendencia al incremento con respecto al grupo de DN (figura 22).

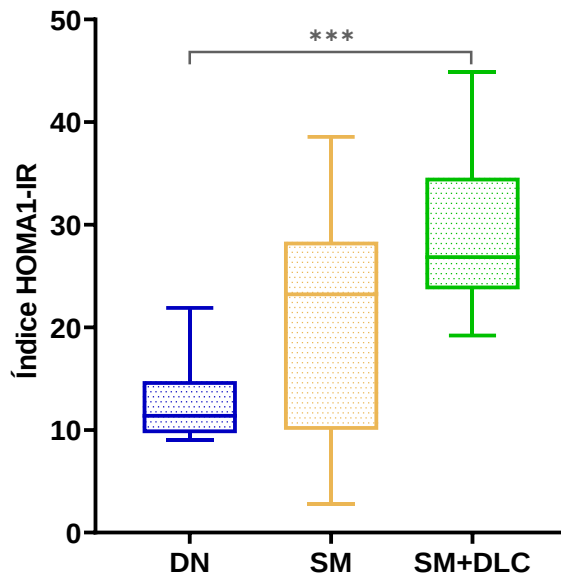


Figura 22. Índice HOMA1-IR de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

La restricción total de carbohidratos de la dieta en el grupo de SM+DLC, presumiblemente, provocó un aumento en la oxidación de los ácidos grasos para la producción de energía, necesaria en la vía de gluconeogénesis para la generación de moléculas de glucosa (Mirhashemi *et al.*, 2008). Por lo tanto, a pesar de que se eliminó la glucotoxicidad en las células β pancreáticas que produjo el exceso en la cantidad de carbohidratos en la dieta, no se puede excluir la posible lipotoxicidad en dichas células por el aumento en la oxidación de los ácidos grasos en páncreas, resultando en niveles elevados del índice HOMA1-IR.

No se encontraron reportes con los cuales comparar los resultados obtenidos.

El índice cuantitativo de verificación de la sensibilidad a la insulina (QUICKI, por sus siglas en inglés) es una variación de la ecuación de HOMA1-IR, proporciona un índice de sensibilidad a la insulina consistente y preciso, con un mejor poder predictivo en comparación con el índice HOMA1-IR en sujetos obesos y diabéticos. El índice QUICKI

transforma los datos de glucosa e insulina plasmáticos en ayuno tomando tanto el logaritmo como el recíproco del producto glucosa-insulina (Gutch *et al.*, 2015; Reyes-Muñoz *et al.*, 2017).

Los valores del cálculo del **índice QUICKI** en los grupos de experimentación a las 20 semanas, se incluyen en la tabla 25 y gráfica 23, en los cuales se observa una mediana idéntica, en donde sólo varía la desviación estándar, por lo cual, no se presentó diferencia significativa entre los grupos de experimentación.

Tabla 25. Índice QUICKI en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	QUICKI
DN	0.271 ± 0.005
SM	0.271 ± 0.019
Valor de <i>p</i>	0.934

Los datos se presentan como media ± desviación estándar. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de una prueba t no pareada para datos paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

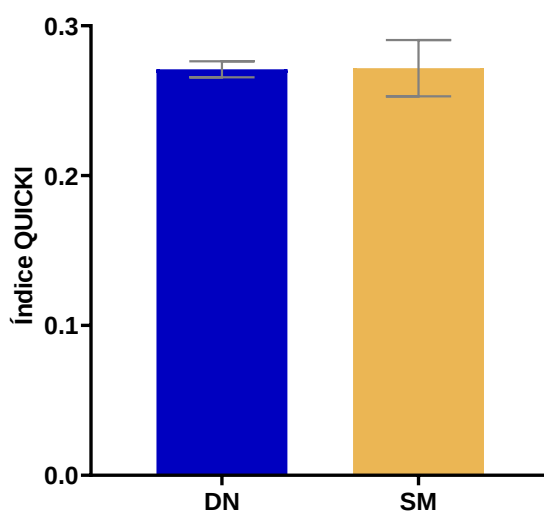


Figura 23. Índice QUICKI de los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de una prueba t no pareada para datos paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Los reportes acerca de la sensibilidad a la insulina por medio del índice de QUICKI en modelos animales de inducción de SM por medio de dieta son escasos (Alwahsh *et al.*,

2017; Homayounfar *et al.*, 2013; Kubant *et al.*, 2015), a pesar del valor diagnóstico que posee por sobre el índice HOMA1-IR al sesgar ligeramente la distribución de los valores de insulina en ayuno (Gutch *et al.*, 2015). Los resultados observados en esta investigación no coinciden con dichos reportes, en donde los animales con SM muestran valores más bajos del índice QUICKI que los grupos control. Esta discrepancia puede deberse al hecho de que estos modelos reportaron un estado de hiperinsulinemia e hiperglucemia, mientras que nuestros resultados muestran daño en la secreción de insulina por parte de las células β -pancreáticas, reflejándose en valores más bajos de insulina con respecto al grupo control.

Los resultados del **índice QUICKI** en los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación se pueden apreciar en la tabla 26 y figura 24.

Tabla 26. Índice QUICKI en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Índice QUICKI
DN	0.273 (0.253-0.281)
SM	0.252 (0.239-0.327)
SM+DLC	0.248 (0.235-0.257)
Valor de p	0.210 ¹
	0.000 ²
	0.227 ³

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

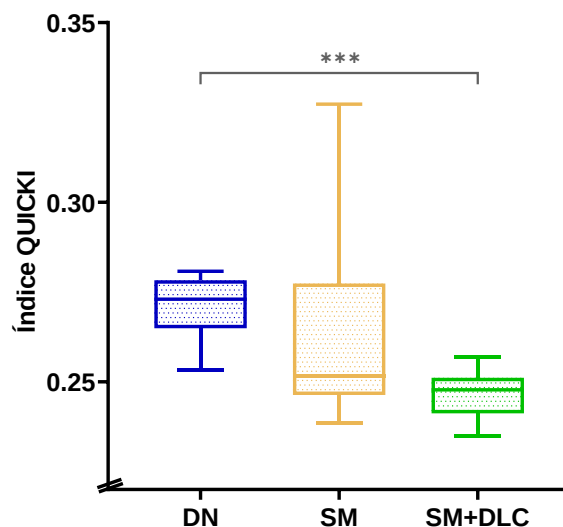


Figura 24. Índice QUICKI de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

El índice QUICKI en los diferentes grupos es consistente con los resultados obtenidos del índice HOMA1-IR, por lo cual, no se descarta la posibilidad del papel de la oxidación de los ácidos grasos en páncreas para la generación de energía y la resistencia a la insulina, así como los resultados de hipoinsulinemia e hiperglicemia que se encontraron en el grupo de SM, mientras que el grupo de SM+DLC mostró una normalización en la secreción de insulina, con una tendencia al decremento en la concentración de glucosa con respecto al grupo de SM. Sin embargo, no se encontraron estudios con los cuales contrastar nuestros resultados.

7.1.2.4. Perfil de lípidos

La dislipidemia es un componente integral del SM y la causa principal de desarrollo de enfermedad cardiovascular (Gierach *et al.*, 2016). La presencia de obesidad visceral y resistencia a la insulina se ha asociado con anomalías en el perfil lipídico, tales como niveles elevados de triglicéridos, c-LDL y ácidos grasos libres, así como niveles bajos de c-HDL (Haile *et al.*, 2021).

Los resultados del **perfil lipídico** en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación se encuentran reportados en la tabla 27.

Tabla 27. Perfil lipídico en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Triglicéridos (mg/dL)	Colesterol total (mg/dL)	c-HDL (mg/dL)	c-LDL (mg/dL)	c-VLDL (mg/dL)
DN	41.27 (25.40-60.32)	53.28 (51.09-58.39)	28.46 (22.63-31.12)	19.08 (15.04-19.78)	8.25 (5.08-12.06)
SM	127.8 (83.33-275.0)	150.5 (107.9-197.6)	21.58 (17.32-25.84)	91.38 (64.45-135.2)	25.56 (16.67-55.0)
Valor de p	0.009	0.009	0.027	0.009	0.009

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. *DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.*

El grupo de SM mostró cambios estadísticamente significativos en todos los parámetros del perfil lipídico en relación con el grupo de DN (figura 25).

El grupo de SM aumentó un 210% la concentración de triglicéridos, 182% el colesterol total, 379% el c-LDL y en un 210% el c-VLDL respecto al grupo de DN, de igual manera, se mostró un decremento del 24% en el c-HDL con relación al grupo de DN (figura 25).

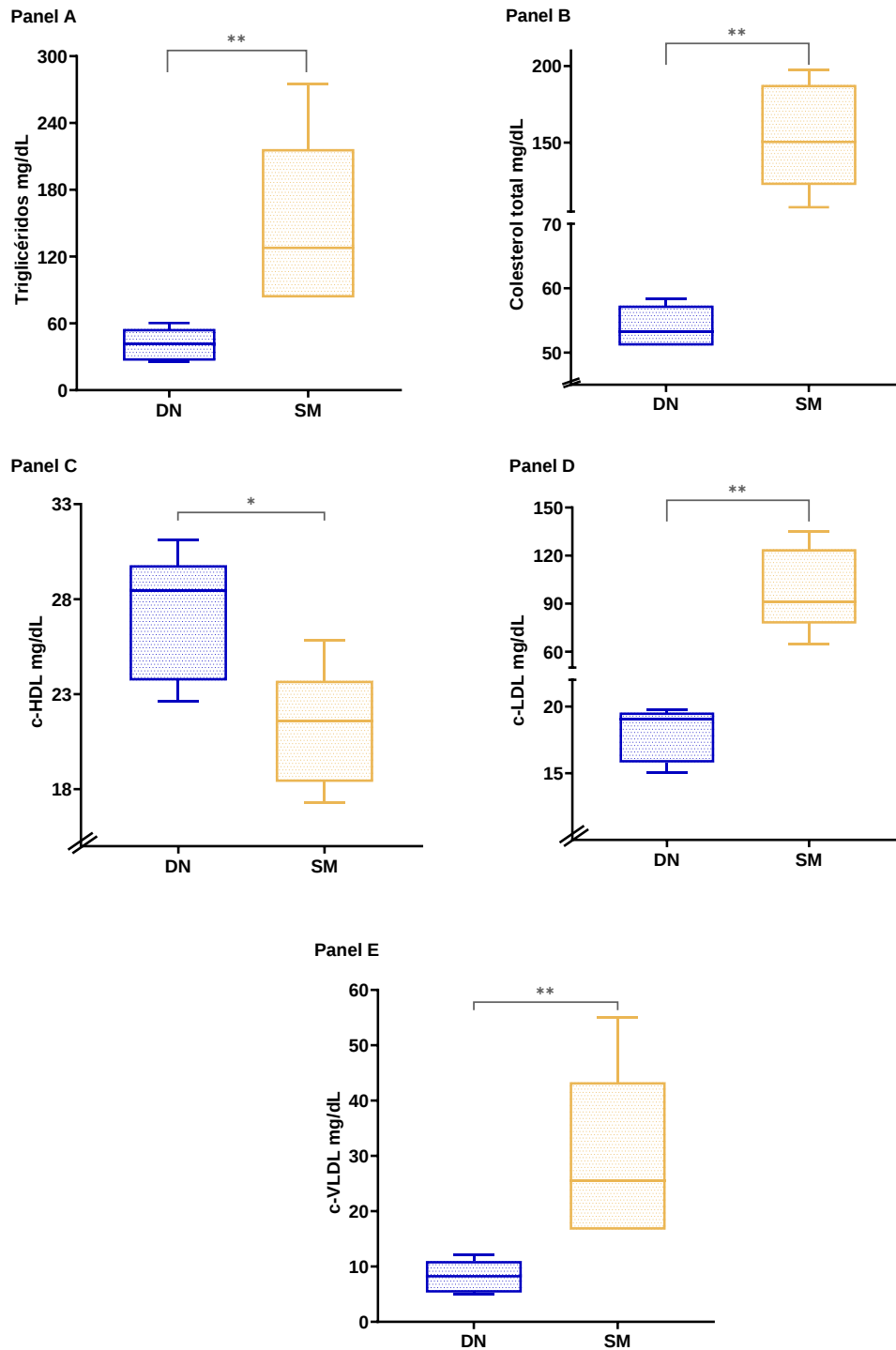


Figura 25. Perfil lipídico de los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Panel A: concentración de triglicéridos, Panel B: concentración de colesterol total, Panel C: concentración de c-HDL, Panel D: concentración de c-LDL, Panel E: concentración de c-VLDL. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: *dieta normal*; SM: *síndrome metabólico*.

Los resultados observados concuerdan con múltiples estudios en donde se administraron dietas alta en carbohidratos, reportando alteraciones en los niveles de lípidos en comparación con los grupos control, independientemente del tiempo de exposición y de la composición de la dieta evaluada (Ajiboye *et al.*, 2017; Ferreira-Santos *et al.*, 2020; Prabhakar *et al.*, 2015).

En este modelo, el exceso en la cantidad de carbohidratos en la dieta administrada al grupo de SM generó un aumento en el almacenamiento de grasas en tejido adiposo visceral, en conjunto con la resistencia a la insulina, se produjo un incremento en el flujo de FFA con la posterior estimulación de síntesis hepática de triglicéridos ocasionando hipertrigliceridemia (Gunawan *et al.*, 2021), además, se promovió el ensamblaje y la secreción de VLDL que contienen triglicéridos y el almacenamiento de grasas en órganos como hígado, riñones y páncreas. Asimismo, el estado de resistencia a la insulina conduce a una mayor producción de apo B, la principal proteína del c-LDL (Haile *et al.*, 2021; Kolovou *et al.*, 2005).

Los resultados del **perfil lipídico** (triglicéridos, colesterol total, c-HDL, c-LDL y c-VLDL) de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación se presentan en la tabla 28 y figura 26.

Tabla 28. Perfil lipídico en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Triglicéridos (mg/dL)	Colesterol total (mg/dL)	c-HDL (mg/dL)	c-LDL (mg/dL)	c-VLDL (mg/dL)
DN	42.04 (22.73-80.68)	77.61 (68.66-98.51)	51.49 (44.78-65.67)	16.32 (7.41-32.06)	8.41 (4.55-16.14)
SM	133.9 (89.29-284.09)	195.9 (159.5-230.77)	22.31 (19.61-28.46)	142.0 (98.56-182.54)	26.79 (17.86-56.82)
SM+DLC	32.93 (14.03-41.98)	100.8 (68.9-136.44)	47.94 (36.75-60.84)	45.32 (14.89-74.99)	6.59 (2.81-8.4)
Valor de p	0.007 ¹	0.000 ¹	0.000 ¹	0.000 ¹	0.007 ¹
	0.333 ²	0.171 ²	0.748 ²	0.064 ²	0.333 ²
	0.000 ³	0.004 ³	0.001 ³	0.008 ³	0.000 ³

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

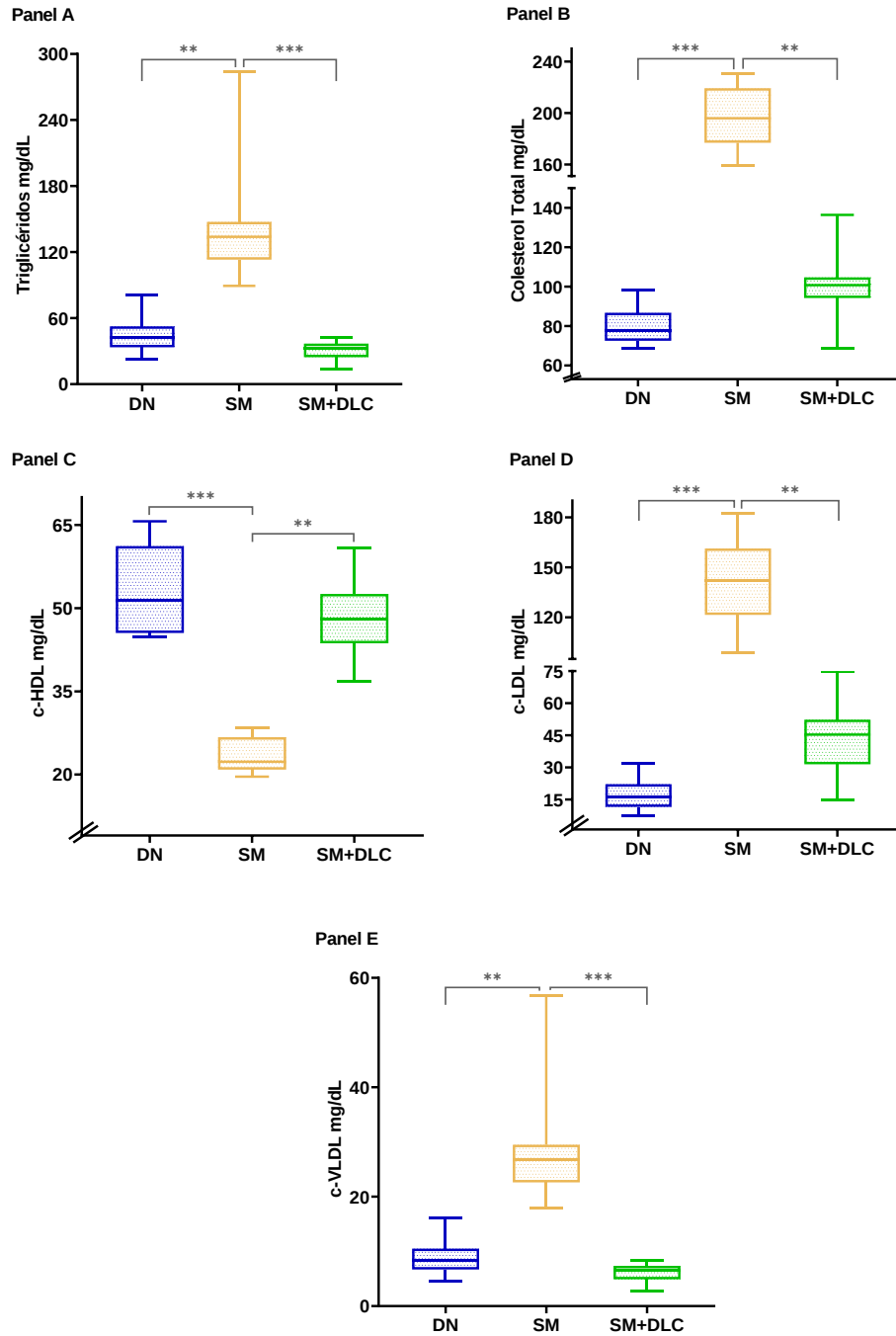


Figura 26. Perfil lipídico de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Panel A: concentración de triglicéridos, Panel B: concentración de colesterol total, Panel C: concentración de c-HDL, Panel D: concentración de c-LDL, Panel E: concentración de c-VLDL. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

El grupo de SM mostró diferencias estadísticamente significativas en todos los parámetros del perfil lipídico en comparación con el grupo DN. La concentración de triglicéridos en el grupo SM incrementó en un 218%, el colesterol total en un 152% y el colesterol de lipoproteínas correspondientes a las fracciones c-LDL y c-VLDL, mostraron un aumento >200% en comparación con el grupo de DN. Sólo la concentración de c-HDL decrementó en un 57% en relación con el grupo de DN.

El grupo de SM+DLC presentó diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo de SM en los parámetros del perfil lipídico. El grupo de SM+DLC mostró un decremento en las concentraciones de triglicéridos, colesterol total y los niveles de las fracciones de c-LDL y c-VLDL en un 75%, 49%, 68% y 75%, respectivamente, con relación al grupo de SM. En contraste, los niveles de c-HDL incrementaron en un 115% con relación al grupo de SM.

La comparación entre el grupo de DN y el grupo de SM+DLC no mostró diferencias estadísticamente significativas en todos los parámetros del perfil lipídico.

Los resultados obtenidos en los parámetros del perfil lipídico en los grupos de SM y DN a las 40 semanas de experimentación son comparables con los observados a las 20 semanas, mostrando dislipidemia en el grupo de SM.

Los resultados observados en el grupo SM+DLC muestran que la eliminación total de carbohidratos de la dieta normaliza los parámetros del perfil lipídico en el SM, a pesar del aumento en la cantidad de grasas en la DLC, por lo tanto, los carbohidratos juegan un papel importante en el metabolismo de los lípidos (Pichon *et al.*, 2006). De acuerdo con un panel de expertos del British Medical Journal encargados de abordar la incertidumbre y controversia acerca de la cantidad de grasas en la dieta y su papel en la salud cardiometabólica, los marcadores de lípidos (triglicéridos y c-HDL) mejoran cuando las grasas saturadas, monoinsaturadas o poliinsaturadas reemplazan a los carbohidratos (Forouhi *et al.*, 2018). De igual forma, se ha demostrado que las dietas bajas en carbohidratos en las que las grasas saturadas reemplazan a este macronutriente, han tenido efectos benéficos sobre el peso corporal y el metabolismo de la glucosa (Kelly *et al.*, 2020).

El papel de las grasas dentro de la dieta tiene una suposición errónea con respecto al aumento de peso, basándose en la densidad energética relativa de los macronutrientes: 9 kcal/g de grasa en comparación con 4 kcal/g de carbohidratos o proteínas. Sin embargo, se suele dejar de lado el papel de los macronutrientes en los estados de hambre y saciedad, y en las vías que regulan la generación de energía, el almacenamiento de grasa y el metabolismo de los ácidos grasos (Chiu *et al.*, 2014; Mansoor *et al.*, 2016).

El posible mecanismo implicado en los resultados observados es la utilización de los ácidos grasos almacenados y provenientes de la dieta como combustible principal en la generación de energía, en la ausencia de carbohidratos (Mirhashemi *et al.*, 2008). Teniendo una menor proporción de lípidos almacenados, reflejándose también en el peso corporal de los animales de estudio.

No se encontraron reportes previos del efecto de la restricción total de carbohidratos sobre el perfil lipídico.

7.1.2.5. Inflamación

La obesidad provoca un estado de hipoxia en los adipocitos, generando necrosis e infiltración de macrófagos en el tejido adiposo, lo cual conduce a una sobreproducción de citocinas proinflamatorias, dando como resultado inflamación sistémica general (Emanuela *et al.*, 2012; Reddy *et al.*, 2019). La proteína C reactiva plasmática (PCR) es un reactante de fase aguda producida por los hepatocitos en respuesta a la interleucina 6 (IL-6) y otras citocinas inflamatorias. La PCR es un biomarcador útil en la evaluación de enfermedades inflamatorias, niveles elevados se asocian con riesgo de hipertensión, ECV y diabetes. Se ha descrito una fuerte asociación entre la PCR plasmática y los componentes del síndrome metabólico (Jeong *et al.*, 2019).

En la tabla 29 y figura 27 se presentan los resultados correspondientes a las concentraciones de **proteína C reactiva** en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación.

Tabla 29. Proteína C reactiva de los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Proteína C Reactiva (mg/dL)
DN	0
SM	24.0 (6.0-0.24)
Valor de <i>p</i>	0.005

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

El grupo SM mostró un incremento estadísticamente significativo en la semicuantificación de proteína C reactiva en relación con el grupo de DN (figura 27).

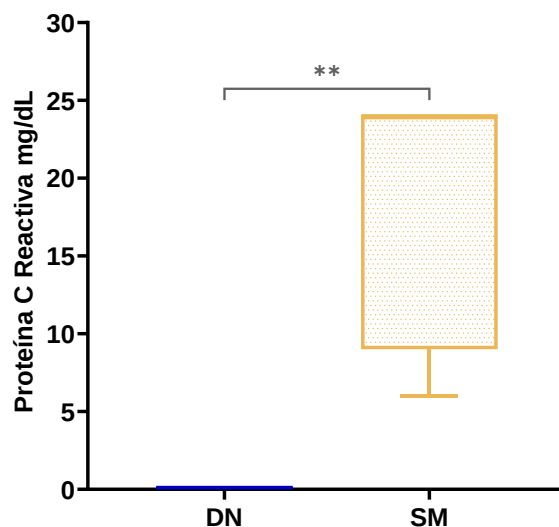


Figura 27. Concentración de proteína C reactiva en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por diversos autores, los cuales evaluaron la inducción de SM mediante dietas hipercalóricas, observando un aumento en los niveles plasmáticos de PCR en relación con los grupos control, independientemente de la composición de la dieta y del periodo de exposición a la misma (Bratoeva *et al.*, 2018; Panchal *et al.*, 2011; Poudyal *et al.*, 2010).

El estado inflamatorio que acompaña al SM se denomina inflamación crónica “de bajo grado”, debido a que la activación inflamatoria no es grande al no existir infección, signos de autoinmunidad ni lesión tisular masiva. La grasa visceral es un tejido muy activo desde el punto de vista metabólico y está asociado con una mayor producción de TNF- α , IL-6 y PCR. En este sentido, niveles elevados de PCR se han correlacionado directamente con obesidad, dislipidemia, hiperglucemia y resistencia a la insulina (Kwitek, 2019; R. Monteiro & Azevedo, 2010).

En la tabla 30 y figura 28 se reportan los resultados de la semicuantificación de **proteína C reactiva** en los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación.

Tabla 30. Proteína C reactiva de los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Proteína C Reactiva (mg/dL)
DN	0
SM	12.0 (6.0-0.48)
SM+DLC	6.0 (0-12.0)
<i>Valor de p</i>	0.000 ¹ 0.024 ² 0.094 ³

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Los grupos SM y SM+DLC mostraron un incremento estadísticamente significativo de proteína C reactiva en comparación con el grupo de DN. Sin embargo, el grupo de SM+DLC mostró un decremento no significativo de los valores de proteína C reactiva en relación con el grupo de SM (figura 28).

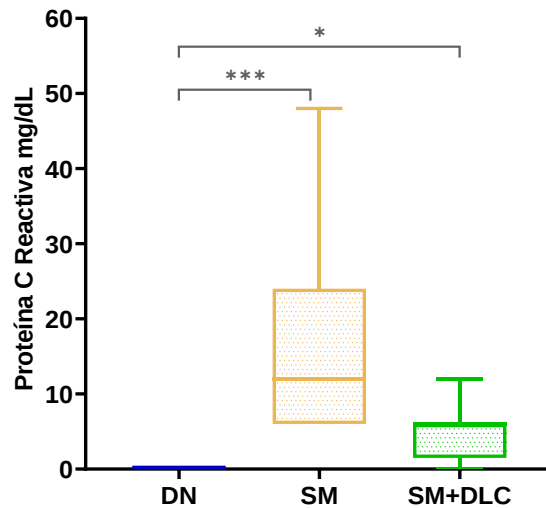


Figura 28. Concentración de proteína C reactiva en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Se ha descrito una relación directa entre la restricción de carbohidratos de la dieta y la mejora en el estado de inflamación. Existe una lista creciente de posibles objetivos de vías inflamatorias en las que interviene la restricción de carbohidratos, en la se incluyen niveles de adenosina, cuerpos cetónicos, vías mTOR, PPAR γ , inflammasoma NLRP3 y microbiota intestinal (Koh *et al.*, 2020).

La disminución en la concentración de PCR observada en el grupo SM+DLC con respecto al grupo de SM, indica una mejora en el estado de inflamación sistémico. De acuerdo con el proceso de regulación de la PCR, se puede inferir que los niveles de citocinas proinflamatorias (sobre todo, IL-6) que llegan al hígado a través de la circulación portal desde el tejido adiposo visceral, disminuyeron, indicando un decremento en la inflamación de este tejido. No se encontraron reportes previos del efecto de la restricción total de carbohidratos sobre la concentración de PCR.

7.1.2.6. Perfil hepático

7.1.2.6.1. Actividad enzimática de AST y ALT

El SM y en especial la obesidad, la resistencia a la insulina y la inflamación, se asocian con alteraciones en la función hepática, teniendo como consecuencia el desarrollo de la enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA) (Valle-Martos *et al.*, 2021). Existen diversos reportes que indican que la función hepática, particularmente, los niveles de bilirrubina total, alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) están estrechamente relacionados con la incidencia del SM, además de ser factores predictivos de esteatosis hepática y EHGNA (Hartman *et al.*, 2020; S. Wang *et al.*, 2017).

En la tabla 31 y figura 29 se muestran los resultados de la **función hepática** de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación.

Tabla 31. Función hepática de los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	AST (U/L)	ALT (u/L)
DN	114.3 (92.75-124.5)	61.25 (51.92-84.0)
SM	77.0 (58.91-103.8)	19.25 (15.75-21.0)
Valor de p	0.028	0.009

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

El grupo de SM mostró un decremento estadísticamente significativo en la concentración de las enzimas hepáticas AST y ALT en comparación con el grupo de DN (figura 29). La actividad enzimática de ALT y AST decrementó en un 69% y 33%, respectivamente, en relación con el grupo de DN.

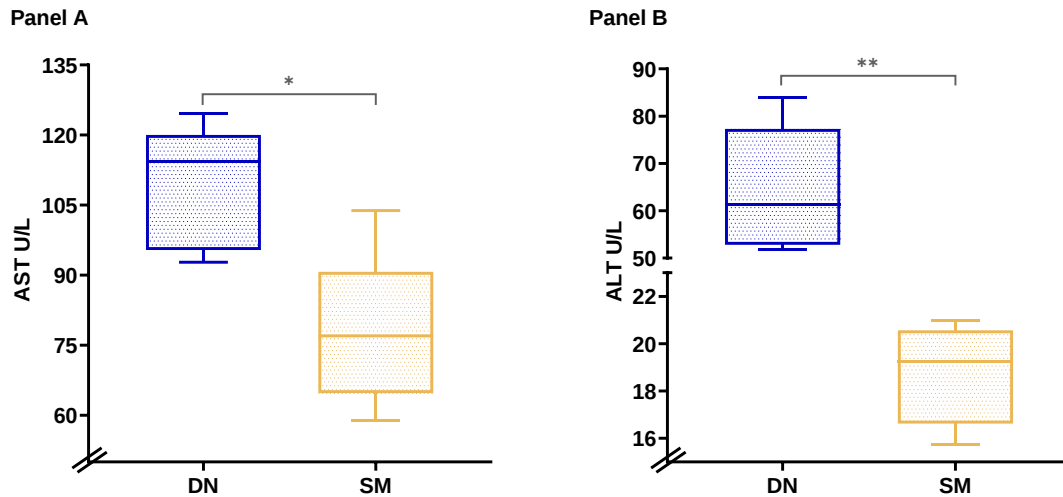


Figura 29. Función hepática de los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Panel A: concentración de AST, Panel B: concentración de ALT. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Las enzimas AST y ALT se distribuyen entre varios tejidos; la distribución de ALT se da principalmente en hígado, con una menor actividad en riñón, corazón y músculo esquelético. AST presenta una alta actividad en corazón, hígado, músculo esquelético, cerebro y riñón. Debido a esta amplia distribución tisular, es razonable implicar que la actividad sérica de ALT es consistentemente menor que la actividad sérica de AST (Sookoian & Pirola, 2015).

Los resultados obtenidos en relación a la enzima AST concuerdan con los reportados por otros autores, los cuales indujeron SM mediante dietas hipercalóricas, describiendo que la actividad de la enzima AST decrementó en relación con los grupos control (Fakhoury-Sayegh *et al.*, 2019; Panchal *et al.*, 2011).

Concentraciones bajas de las enzimas AST y ALT, tal como se observa en esta investigación, se asocian a uremia, enfermedades como diabetes y cetoacidosis en las que una alta concentración de lactato en sangre provoca un consumo rápido de nicotinamida adenina dinucleótido (NADH), de igual manera, esta deficiencia enzimática se ha asociado a estados de desnutrición, debido a la deficiencia de fosfato piridoxal (Lum, 1995).

En la tabla 32 se muestran los resultados de la **función hepática** de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación, en donde se incluye la actividad de las enzimas aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT).

Tabla 32. Función hepática de los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	AST (U/L)	ALT (U/L)
DN	84.29 (72.92-214.08)	49.88 (39.08-99.17)
SM	75.25 (54.83-155.75)	16.33 (13.42-24.50)
SM+DLC	44.63 (11.66-88.08)	31.79 (7.00-66.50)
Valor de p	0.999 ¹	0.000 ¹
	0.0008 ²	0.203 ²
	0.013 ³	0.021 ³

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Como se puede observar, el grupo SM+DLC mostró una disminución estadísticamente significativa en la concentración de AST en comparación con los grupos DN y SM (figura 30, panel A).

El grupo SM presentó los niveles más bajos de la enzima ALT con respecto a los grupos DN y SM+DLC. Este decremento fue mayor en relación con el grupo de DN (67%) que respecto al grupo de SM+DLC (48%). Asimismo, el grupo SM+DLC mostró una tendencia al decremento en la concentración de ALT en relación con el grupo DN, sin embargo, dicha diferencia no fue estadísticamente significativa (figura 30, panel B).

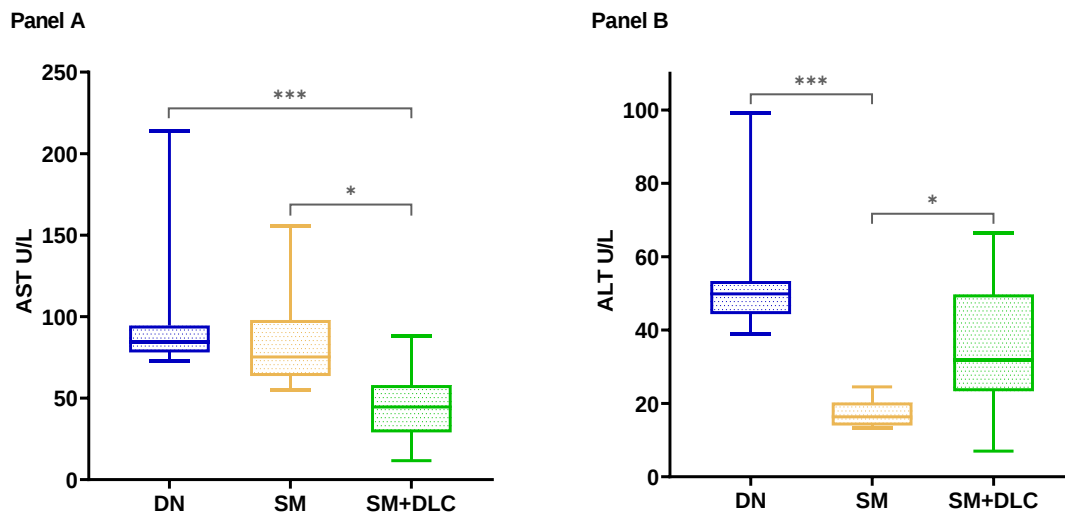


Figura 30. Función hepática de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Panel A: concentración de AST, Panel B: concentración de ALT. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Los resultados obtenidos no son consistentes con los descritos por Paoli *et al.*, (2013) y Walton *et al.*, (2019) los cuales describieron que la disminución de carbohidratos en la dieta en pacientes con diabetes y pacientes obesos no muestra cambios en las concentraciones de AST y ALT. De igual forma, un estudio clínico con pacientes con enfermedad de hígado graso no alcohólico, no mostró diferencias significativas en la actividad de las enzimas AST y ALT antes y después de una intervención con dieta baja en carbohidratos (Luukkonen *et al.*, 2020). Esto se puede deber a que en los pacientes en estudio se restringió de forma parcial la cantidad de carbohidratos, mientras que en nuestro modelo la restricción fue total, además, cabe mencionar que en los modelos animales se controlan las variables de estudio a diferencia de los estudios clínicos.

Los animales del grupo SM+DLC presentaron un estado de cetogénesis, como se menciona posteriormente, el estado de cetosis se asocia a un decremento en la actividad enzimática de AST y ALT, debido a que se presenta una alta concentración de lactato en sangre, lo cual provoca un consumo rápido de NADH (Lum, 1995).

7.1.2.6.2. Glucógeno hepático y muscular

El glucógeno es un polímero ramificado de glucosa que se almacena predominantemente en el hígado y músculo, actuando como reservorio de energía. El glucógeno hepático es el principal depósito que mantiene la homeostasis de la glucosa en sangre (Roach *et al.*, 2016). Su metabolismo está regulado por hormonas como la insulina, el glucagón y la adrenalina. La insulina promueve la síntesis y almacenamiento de glucógeno cuando existe un exceso de glucosa en sangre. Cuando existen momentos de alta demanda de energía o ayuno, el glucógeno se descompone en glucosa (glucogenólisis) para el mantenimiento de la homeostasis de glucosa (Kanungo *et al.*, 2018).

Los niveles de glucógeno hepático y muscular pueden verse significativamente alterados tras cambios en la homeostasis de la glucosa en el SM (P. Zhang, 2012).

En la tabla 33 y figura 31 se reportan los resultados de la **concentración de glucógeno a nivel hepático y de músculo esquelético** en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación.

Tabla 33. Glucógeno hepático y muscular en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Glucógeno Hepático (µg/mL)	Glucógeno Muscular (µg/mL)
DN	3.13 (2.41-4.41)	3.89 (2.62-5.3)
SM	1.53 (0.73-3.86)	2.19 (1.86-2.42)
Valor de p	0.095	0.009

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

A nivel hepático no se encontraron diferencias significativas en la concentración de glucógeno al comparar ambos grupos (figura 31, Panel A), sin embargo, se observa una tendencia al decremento en el grupo de SM en relación con el grupo de DN. En relación con glucógeno muscular, el grupo de SM mostró una disminución estadísticamente significativa con respecto al grupo DN (Figura 31, Panel B).

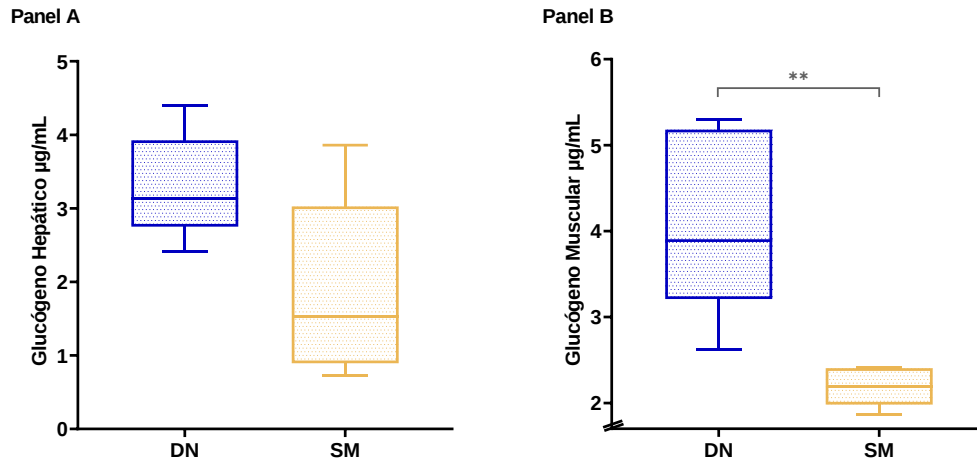


Figura 31. Concentración de glucógeno en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Panel A: glucógeno hepático, Panel B: glucógeno muscular. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Los resultados obtenidos de la concentración de glucógeno coinciden con los reportados por Hao *et al.*, (2015) en donde, después de la inducción de SM por medio de dieta hipercalórica, los animales de estudio mostraron una disminución en los niveles de glucógeno a nivel hepático en relación con el grupo control (Hao *et al.*, 2015).

En el estado de resistencia a la insulina, se ve disminuida la síntesis de glucógeno muscular. En este modelo, la alta cantidad de carbohidratos ingeridos en la dieta se desvió hacia el hígado, promoviendo la lipogénesis *de novo*, teniendo como resultado un aumento en la concentración de triglicéridos y VLDL (K. F. Petersen *et al.*, 2007). Esto demuestra que la resistencia a la insulina en músculo aumenta la síntesis hepática de grasas, lo que puede predisponer a esteatosis hepática (Choudhary *et al.*, 2012).

En la tabla 34 y figura 32 se muestran los resultados de la **concentración de glucógeno a nivel hepático y de músculo esquelético** en los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación.

Tabla 34. Glucógeno hepático y muscular de los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Glucógeno Hepático (µg/mL)	Glucógeno Muscular (µg/mL)
DN	1.22 (0.94-1.90)	1.76 (1.01-4.0)
SM	4.31 (1.79-14.88)	2.82 (1.23-3.83)
SM+DLC	2.1 (0.09-3.49)	1.9 (0.14-3.66)
Valor de p	0.000 ¹	0.259 ¹
	0.184 ²	0.999 ²
	0.064 ³	0.067 ³

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Como se puede observar en la figura 32, panel A, el grupo SM presentó los valores más altos de glucógeno hepático en comparación con los grupos DN y SM+DLC, siendo la diferencia con respecto al grupo de DN, estadísticamente significativa. El grupo SM+DLC tuvo un decremento no significativo del 51% con respecto al grupo SM a las 40 semanas de experimentación.

A nivel de músculo esquelético, el grupo de SM mostró una tendencia al incremento en relación con los grupos de DN y SM+DLC, sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (figura 32, panel B).

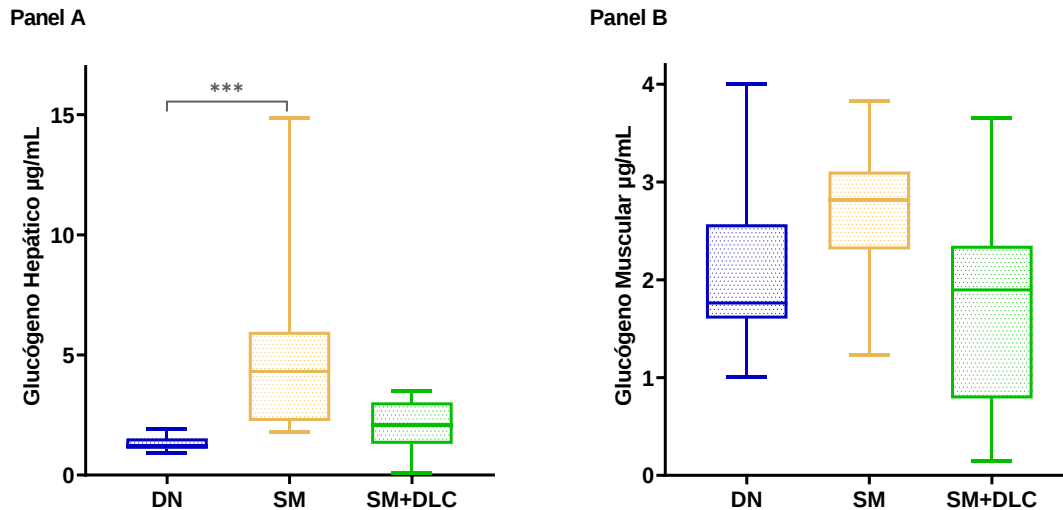


Figura 32. Concentración de glucógeno en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Panel A: glucógeno hepático, Panel B: glucógeno en músculo esquelético. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Los resultados de la concentración de glucógeno en los grupos de SM y DN a las 40 semanas de experimentación no son comparables con los observados a las 20 semanas. En el grupo de DN a las 40 semanas, hubo un decremento en los niveles de glucógeno hepático y muscular con respecto al período de 20 semanas. En cambio, el grupo de SM mostró un incremento en a las 40 semanas en relación con las 20 semanas.

La concentración de glucógeno a nivel hepático y muscular muestra los niveles más elevados en los animales durante el período nocturno, mientras que, durante el período diurno, exhiben los niveles más bajos. Azzout *et al.*, (1984) demostraron que, durante las primeras horas de la exposición a una DLC y alta en proteínas, la vía principal de generación de glucosa endógena es la glucogenólisis. Una vez que los niveles de glucógeno disminuyen, la vía de la gluconeogénesis se vuelve predominante.

La eliminación de los carbohidratos suministrados en la dieta del grupo SM+DLC indujo una disminución en el almacenaje de éstos en forma de glucógeno en hígado y músculo esquelético, en comparación con el grupo de SM. Así como una disminución en la

concentración a nivel hepático y muscular durante la activación de la glucogenólisis (Azzout *et al.*, 1984; Veldhorst *et al.*, 2009).

No se encontraron reportes previos que evaluaran la concentración de glucógeno a nivel hepático y de músculo esquelético en un modelo de SM expuesto a una DLC.

7.1.2.7. Perfil renal

El SM está asociado con un mayor riesgo de presentar anomalías renales, en particular, la enfermedad renal crónica (ERC) y microalbuminuria (Al-Daghri *et al.*, 2017). De acuerdo con algunos estudios, la hipertensión, hiperglucemia, dislipidemia y obesidad desempeñan un papel importante en la promoción del daño renal (Cheng *et al.*, 2012; F. Locatelli *et al.*, 2006).

La creatinina sérica es un biomarcador para la detección de cambios en la tasa de filtración glomerular, considerándose como un buen indicador de la ERC en estadios tempranos. Se ha reportado que las concentraciones elevadas de creatinina sérica se asocian con un mayor riesgo de ECV, obesidad e hipertensión (Srikanthan *et al.*, 2016).

La concentración de urea es, también, un importante marcador de la función renal y se ha asociado al incremento de EROs y a la resistencia a la insulina en modelos murinos (Li *et al.*, 2020).

Existen escasos reportes del uso de estos biomarcadores séricos para la detección de la patogénesis del SM, pese a su excelente valor predictivo de la ERC y del propio SM.

Los resultados de la **función renal** (urea y creatinina) en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación se pueden apreciar en la tabla 35 y figura 33.

Tabla 35. Función renal de los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Urea (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)
DN	38.39 (22.27-44.07)	0.67 (0.47-0.93)
SM	30.98 (27.07-36.58)	0.78 (0.71-0.91)
Valor de p	0.222	0.381

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Como se puede observar en la figura 33, no se presentaron diferencias significativas entre los grupos de estudio en los parámetros de urea y creatinina, observándose, además, una alta variabilidad en los resultados de ambos parámetros entre los animales del grupo de DN.

En relación con la concentración de urea, se puede observar que el grupo de SM presentó una tendencia a la disminución en la mediana en comparación al grupo de DN. En contraste, en relación con los niveles de creatinina, el grupo de SM presentó una mediana mayor que la del grupo de DN.

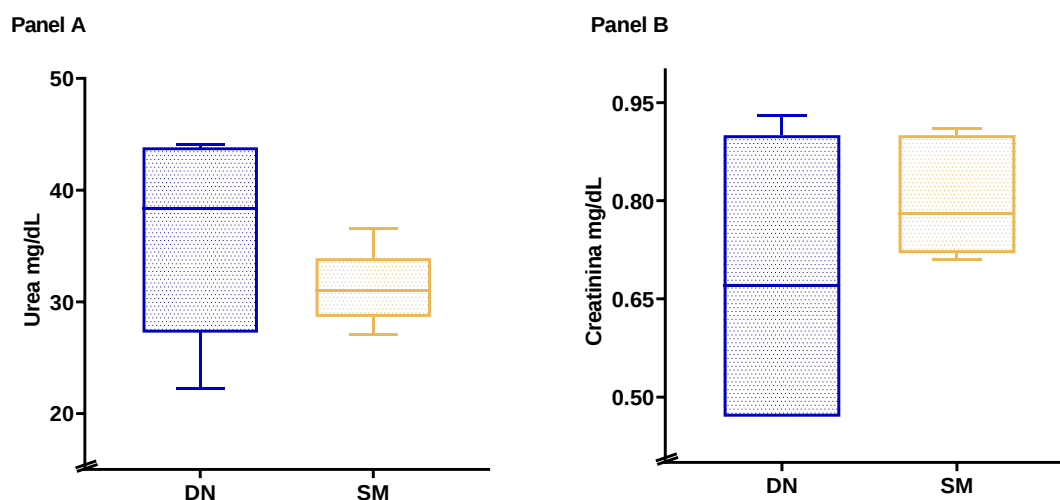


Figura 33. Función renal de los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Panel A: concentración de urea, Panel B: concentración de creatinina. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

El tiempo de inducción de SM por medio de la dieta hipercalórica puede ser considerado relativamente corto para la generación de daño renal, demostrándose en la ausencia de cambios significativos en las concentraciones de urea y creatinina en relación con el grupo de DN.

Los resultados obtenidos son consistentes con los reportados por otros autores, en donde la inducción de SM mediante dietas hipercalóricas no generó cambios en las concentraciones de urea y creatinina (El-Bassossy & Shaltout, 2015; Panchal *et al.*, 2011).

Al igual que en esta investigación, el tiempo de inducción empleado para la generación de SM en los reportes antes mencionados puede considerarse el factor predominante en la ausencia de resultados relacionados con alteraciones renales en el SM.

Los resultados de la **función renal** evaluada a las 40 semanas de experimentación en los grupos de estudio se reportan en la tabla 36 y figura 34, en donde se incluyen los valores de urea y creatinina.

Tabla 36. Función renal de los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Urea (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)
DN	42.83 (35.42-52.31)	1.16 (1.05-1.59)
SM	58.47 (26.85-126.27)	1.93 (0.85-3.86)
SM+DLC	61.08 (46.75-74.59)	0.91 (0.62-1.73)
Valor de p	0.085 ¹	0.173 ¹
	0.004 ²	0.124 ²
	0.976 ³	0.000 ³

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

El grupo de SM+DLC mostró un incremento estadísticamente significativo en la concentración de urea en comparación con el grupo de DN (figura 34, panel A), este incremento fue del 43%, mientras que la comparación entre el grupo de SM+DLC y el grupo de SM no mostró diferencias significativas en la concentración de urea.

El grupo SM expuso los niveles más elevados de creatinina, siendo estadísticamente significativo en relación con el grupo de SM+DLC (figura 34, panel B). El grupo SM+DLC presentó un decremento en la concentración de creatinina con respecto al grupo DN (21%), sin embargo, éste no fue estadísticamente significativo.

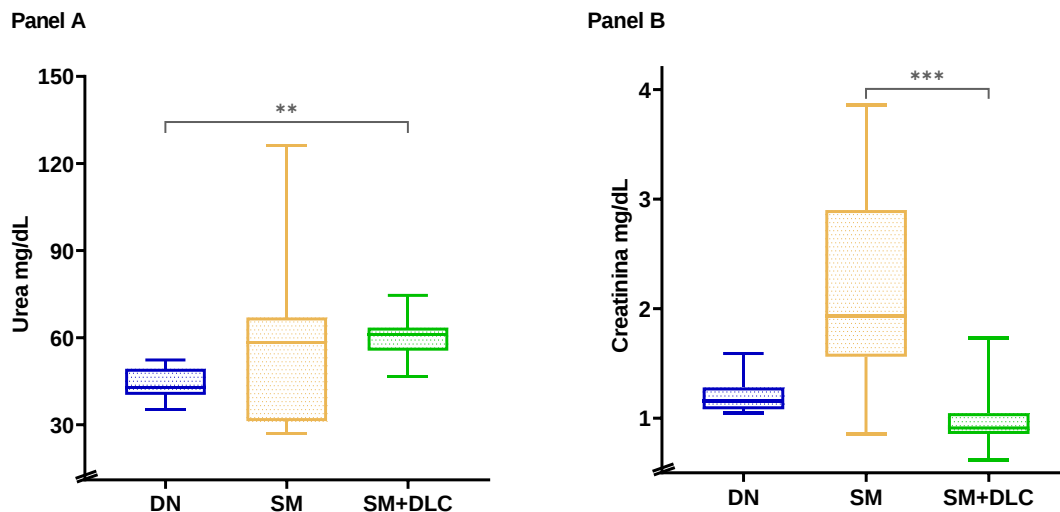


Figura 34. Función renal de los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Panel A: concentración de urea, Panel B: concentración de creatinina. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Los resultados observados de urea y creatinina en el grupo de SM a las 40 semanas de experimentación difieren de los reportados para el grupo de SM con 20 semanas de exposición a la dieta hipercalórica. El grupo de SM mostró niveles más elevados de ambos parámetros a las 40 semanas con relación al grupo de DN, demostrando así, que este período tiempo de exposición (40 semanas) a la dieta hipercalórica indujo alteraciones a nivel renal en mayor medida que el período más corto (20 semanas).

El riñón tiene un papel crucial en el metabolismo de aminoácidos y proteínas, incluida la descomposición y excreción de los metabolitos de las proteínas, por lo que la ingesta de proteínas en la DLC tiene un impacto fundamental sobre los procesos metabólicos regulados por los riñones y sobre la propia función renal (Ko *et al.*, 2017).

Se ha reportado que la tasa de filtración glomerular (TFG) aumenta después de un incremento en el consumo de proteínas, como en el modelo de DLC, siendo esta elevación perjudicial para el riñón a largo plazo. Además, como consecuencia de la ingesta elevada de

proteínas, se produce un aumento en la excreción de solutos, como la urea (Cuenca-Sánchez *et al.*, 2015), concordando con los resultados observados en esta investigación.

Ko *et al.*, (2017) evaluaron clínicamente el efecto de dietas altas en proteínas y bajas en carbohidratos sobre la función renal, no encontrando diferencias significativas en la concentración de creatinina en relación con una dieta normal, tal como se observa en esta investigación.

Los resultados de los niveles de creatinina observados en el grupo SM+DLC indican una mejora en la función renal con respecto al grupo de SM, concordando con lo establecido por Srikanthan *et al.*, (2016), en donde niveles elevados de creatinina se asocian con un mayor riesgo de ECV, obesidad e hipertensión.

7.1.2.8. Cetosis

Los cuerpos cetónicos son pequeños sustratos que pueden sustituir a la glucosa en condiciones de deficiencia de combustible y alimentos. El β -hidroxibutirato, el cuerpo cetónico encontrado en mayor concentración en sangre, conduce a la cetoacidosis en individuos con diabetes, sin embargo, en la última década se ha descrito su efecto benéfico sobre la salud, teniendo un papel importante en la inhibición provisional de la lipólisis, la inflamación y estados de aterosclerosis (Møller, 2020).

En la tabla 37 y figura 35 se pueden observar los resultados obtenidos de la concentración de **cuerpos cetónicos (β -hidroxibutirato)** en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación.

Tabla 37. Cuerpos cetónicos de los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Cuerpos Cetónicos (mmol/L)
DN	1.8 (1.2-2.2)
SM	1.4 (1.2-2.3)
Valor de p	0.643

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Los resultados obtenidos de la concentración de β -hidroxibutirato no mostraron diferencias significativas entre los grupos de SM y de DN, sin embargo, se observa una tendencia al decremento en el grupo de SM en relación con el grupo de DN (figura 35).

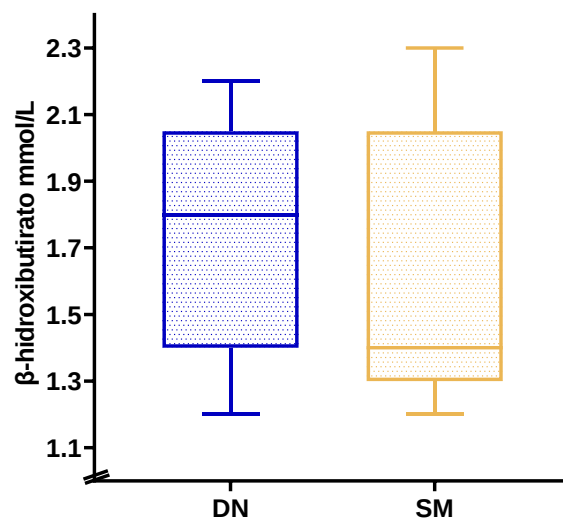


Figura 35. Concentración de cuerpos cetónicos (β -hidroxibutirato) en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

No se encontraron investigaciones en las que se incluya la determinación de cuerpos cetónicos en modelos animales de inducción de SM, sin embargo, se ha demostrado que el tratamiento con β -hidroxibutirato en ratones expuestos a una dieta alta en grasas mantiene a los animales metabólicamente sanos, al influir vías relacionadas con la homeostasis de la glucosa, la función mitocondrial y la obesidad (Newman & Verdin, 2014). La tendencia a la disminución en la concentración de β -hidroxibutirato en el grupo de SM con respecto al grupo de DN puede demostrar el estado de disfunción en los animales, reflejándose en niveles alterados de glucosa y presencia de estrés oxidativo y obesidad.

En la tabla 38 y figura 36 se reportan los resultados obtenidos de los valores de **cuerpos cetónicos (β -hidroxibutirato)** en los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. El grupo SM+DLC mostró los niveles más elevados de cuerpos cetónicos con respecto a los grupos de DN y SM, siendo la diferencia en relación con el grupo de SM estadísticamente significativa.

Tabla 38. Cuerpos cetónicos de los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Cuerpos Cetónicos (mM/L)
DN	1.2 (0.9-1.7)
SM	1.1 (0.6-1.8)
SM+DLC	1.5 (1.3-1.8)
Valor de <i>p</i>	0.692 ¹ 0.078 ² 0.001 ³

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

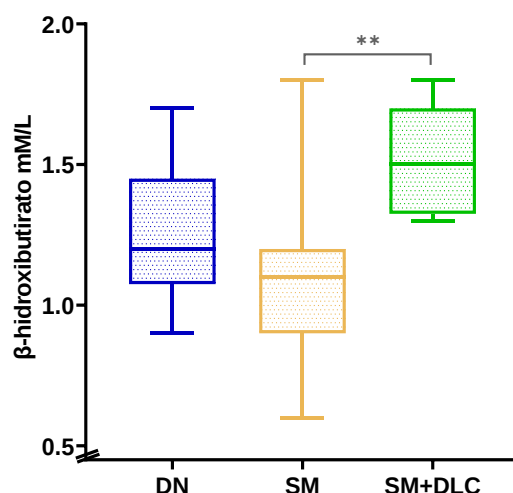


Figura 36. Concentración de cuerpos cetónicos (β -hidroxibutirato) en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Las dietas altas en proteínas y bajas en carbohidratos aumentan los niveles de β -hidroxibutirato en sangre en ayunas, en comparación con las dietas estándar. Se ha reportado que una concentración elevada de β -hidroxibutirato promueve la saciedad (Moon & Koh, 2021).

El β -hidroxibutirato actúa para preservar la proteína muscular durante estados de inflamación sistémica y como un componente importante en la defensa metabólica contra la

hipoglucemia (Møller, 2020). Una vez que los ácidos grasos son oxidados hacia cuerpos cetónicos, éstos se utilizan como la fuente de energía principal en ausencia de carbohidratos en la dieta, como se puede observar en el grupo SM+DLC (Rodwell *et al.*, 2016). No se encontraron reportes previos del efecto de la restricción total de carbohidratos sobre la concentración de cuerpos cetónicos.

Como se mencionó anteriormente, se ha demostrado que el tratamiento con β -hidroxiubutirato en ratones expuestos a una dieta alta en grasas mantiene a los animales metabólicamente sanos, al influir vías relacionadas con la homeostasis de la glucosa, la función mitocondrial y la obesidad (Newman & Verdin, 2014).

7.1.2.9. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo, cuya etiología es principalmente la disfunción mitocondrial, está relacionado con el desarrollo del SM (Onyango, 2021). Existen diversos reportes en los que se ha observado una menor actividad enzimática antioxidante en individuos con síndrome metabólico, junto con niveles elevados de marcadores de daño oxidativo, principalmente lipoperoxidación, en comparación con pacientes sanos. Este aumento en el estrés oxidativo contribuye a la patogenia del SM, provocando la aparición de inflamación, trombosis y aterosclerosis (Monserrat-Mesquida *et al.*, 2020). El malondialdehído (MDA) es un producto de la peroxidación de lípidos y un marcador de estrés oxidativo, un incremento en la producción de MDA es seguido por una respuesta inflamatoria y la activación de los hepatocitos, lo que conduce a fibrosis y daño hepático (Fakhoury-Sayegh *et al.*, 2019).

Los resultados de la concentración de **MDA** en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación se encuentran reportados en la tabla 39.

Tabla 39. Concentración de MDA de los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Lipoperoxidación sérica (nM/mL)	Lipoperoxidación Hepática (nM/g)	Lipoperoxidación Renal (nM/g)	Lipoperoxidación Pancreática (nM/g)
DN	0.382 (0.230-0.399)	7.727 (5.193-9.221)	12.88 (9.070-18.70)	5.025 (0.007-8.449)
SM	0.889 (0.495-1.222)	12.83 (8.197-37.02)	14.55 (11.26-32.32)	3.61 (3.165-5.371)
Valor de p	0.008	0.016	0.222	0.841

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. *DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; ns: no significativo.*

El grupo de SM mostró un incremento estadísticamente significativo en la concentración de MDA en suero e hígado en relación con el grupo de DN. Los niveles de MDA a nivel renal y pancreático no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos, sin embargo, la concentración de MDA a nivel renal en el grupo SM muestra una tendencia al incremento con respecto al grupo DN, mientras que en páncreas se observa una alta variabilidad entre los animales en el grupo DN en comparación con el grupo SM (figura 37).

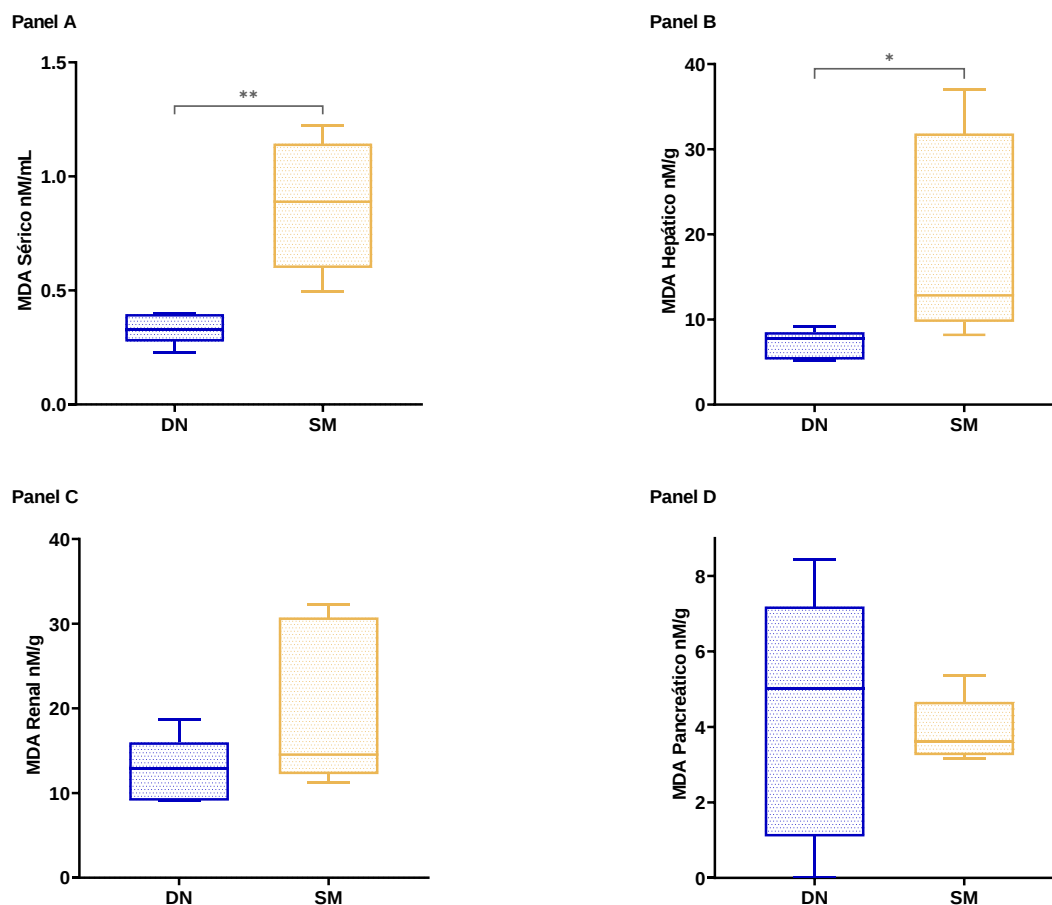


Figura 37. Valores de MDA en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Panel A: plasma, Panel B: hígado, Panel C: riñón, Panel D: páncreas. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

En este modelo, el aporte energético excesivo por parte de los carbohidratos condujo, probablemente, a un aumento de la actividad oxidativa, provocando una sobreproducción de EROs en las mitocondrias, generando daños en macromoléculas, como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Avelar *et al.*, 2015; Onyango, 2021).

El incremento en la concentración de MDA sérico en el grupo de SM coincide con los resultados reportados por Moreno-Fernández *et al.*, (2018), los cuales observaron diferencias significativas en los niveles de MDA plasmático en el grupo expuesto a una dieta alta en carbohidratos durante 20 semanas con respecto al grupo control (Moreno-Fernández *et al.*, 2018).

Las investigaciones de Panchal *et al.*, (2011) y Bratoeva *et al.*, (2018), relacionan el incremento de MDA sérico con un estado inflamatorio (infiltración de células proinflamatorias en tejido cardíaco y hepático, así como niveles elevados de PCR plasmática) en animales sometidos a una dieta hipercalórica con respecto al grupo control, por lo cual, nuestros resultados son consistentes con estos reportes.

El incremento observado en la concentración de MDA en tejido hepático es comparable al reportado en los estudios realizados por Poudyal *et al.*, (2017), y Prabhakar *et al.*, (2017), en animales expuestos a una dieta hipercalórica durante 16 y 6 semanas, respectivamente, en relación con los grupos control (Poudyal *et al.*, 2017; Prabhakar *et al.*, 2015).

No se encontraron reportes de la medición de lipoperoxidación a nivel renal y pancreático en modelos de inducción de SM por medio de dietas altas en carbohidratos. Sin embargo, Zhang *et al.*, (2008) refirieron un incremento en la concentración de MDA en páncreas después de la exposición a una dieta alta en grasas durante 18 semanas con respecto al grupo control (X. Zhang *et al.*, 2008).

Las concentraciones de **lipoperoxidación sérica, hepática, renal y pancreática** a las 40 semanas se reportan en la tabla 40 y figura 38.

Tabla 40. Concentración de MDA de los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Lipoperoxidación sérica (nM/mL)	Lipoperoxidación Hepática (nM/g)	Lipoperoxidación Renal (nM/g)	Lipoperoxidación Pancreática (nM/g)
DN	0.494 (0.346-0.590)	7.729 (3.650-11.94)	7.972 (6.112-13.45)	3.114 (1.740-5.593)
SM	0.696 (0.483-1.235)	15.49 (5.628-39.68)	10.09 (4.776-28.25)	2.009 (0.735-13.27)
SM+DLC	0.498 (0.230-0.819)	10.07 (7.825-21.34)	11.30 (3.965-16.14)	2.464 (1.284-3.291)
Valor de p	0.013 ¹	0.041 ¹	0.999 ¹	0.179 ¹
	0.999 ²	0.097 ²	0.650 ²	0.659 ²
	0.005 ³	0.999 ³	0.999 ³	0.999 ³

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

El grupo SM mostró un incremento estadísticamente significativo en la concentración de MDA en suero sanguíneo en comparación con los grupos DN y SM+DLC (figura 38). A nivel hepático, el grupo de SM mostró un incremento estadísticamente significativo en relación con el grupo de DN. En riñón y páncreas no se observaron cambios estadísticamente significativos entre los grupos de estudio, sin embargo, el grupo SM muestra una alta variabilidad entre los animales, en comparación con los grupos DN y SM+DLC.

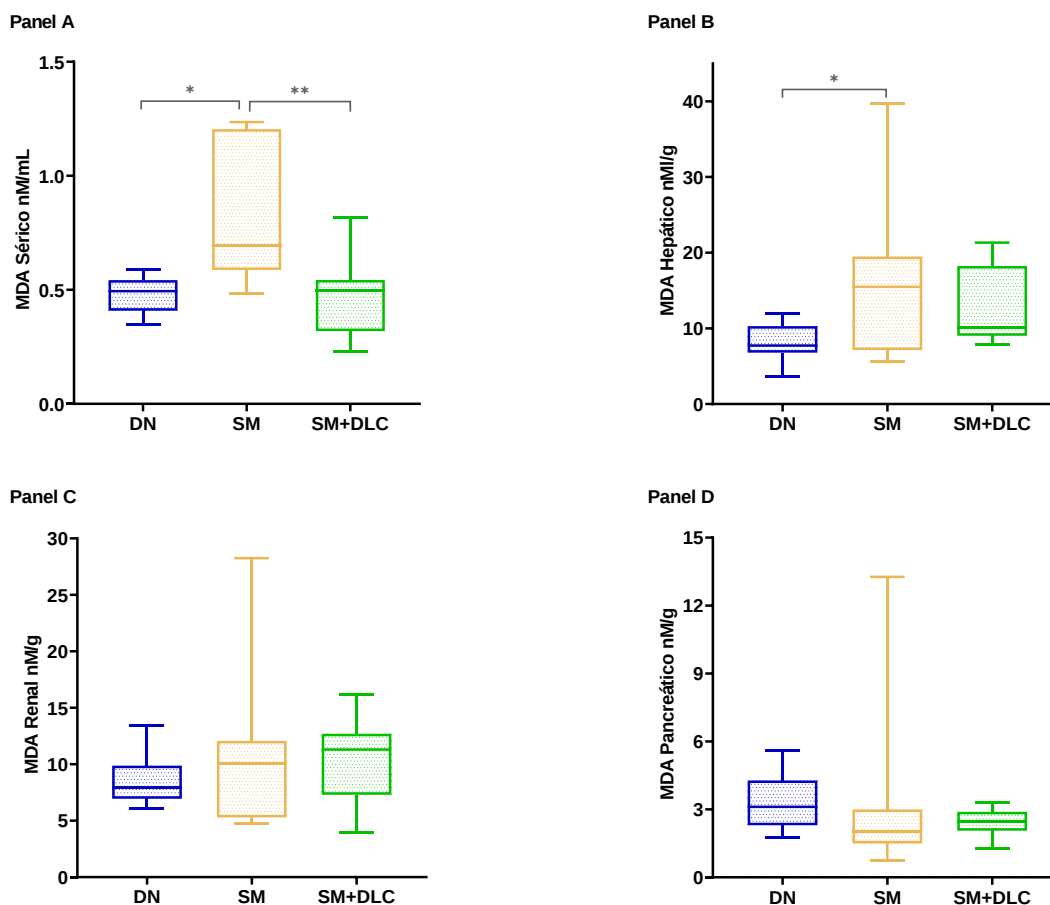


Figura 38. Valores de MDA en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Panel A: plasma, Panel B: hígado, Panel C: riñón, Panel D: páncreas. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Los resultados observados en la concentración de MDA a nivel sérico, hepático, renal y pancreático en los grupos de SM y DN a las 40 semanas de experimentación son

comparables con los obtenidos a las 20 semanas, mostrando alteraciones en el grupo de SM a nivel sérico y hepático con respecto al grupo de DN. La lipoperoxidación pancreática en el grupo de SM a las 40 semanas mostró una mayor variabilidad en los animales de estudio con respecto al período de 20 semanas.

La sobreproducción de EROs parece ser el primer evento clave en la activación de las vías de señalización que conducen a la hipertrofia cardíaca, inflamación, fibrosis y resistencia a la insulina (Panchal *et al.*, 2011).

La disminución en la concentración de MDA sérico en el grupo de SM+DLC con relación al grupo de SM, indica un decremento en la producción de EROs. En este modelo, el aporte energético excesivo por parte de los carbohidratos de la dieta disminuyó considerablemente, lo cual provocó un decremento de la actividad oxidativa y, por lo tanto, una disminución en la producción de EROs en las mitocondrias, impidiendo el daño a macromoléculas como los lípidos, reflejándose en la disminución de los niveles de MDA (Avelar *et al.*, 2015; Onyango, 2021).

De igual forma, la disminución en el estrés oxidativo se ha relacionado con aumento en los niveles de cuerpos cetónicos, principalmente β -hidroxibutirato, debido a que éstos inhiben vías relacionadas con la producción de EROs en respuesta a estímulos externos (Møller, 2020; Newman & Verdin, 2014). En este modelo, los animales del grupo de SM+DLC mostraron un incremento en la concentración de β -hidroxibutirato, posiblemente actuando como protección contra el estrés oxidativo.

Existen estudios en donde la exposición a dietas bajas en carbohidratos en ratas de la cepa Wistar, mostró protección contra el estrés oxidativo, observándose el papel del β -hidroxibutirato en la inhibición de la producción de EROs y la estimulación en la actividad de enzimas antioxidantes (Chimienti *et al.*, 2021; Kelly *et al.*, 2020; Moore *et al.*, 2020).

7.1.2.10. Histopatología

El estrés oxidativo, caracterizado por la sobreproducción de EROs, en el SM está asociado con anomalías estructurales en diversos órganos, tales como hígado, riñones, páncreas y tejido adiposo (Gueugneau *et al.*, 2015; Hazarika *et al.*, 2016).

7.1.2.10.1. Hígado

La influencia del SM y sus factores de riesgo individuales sobre la histología del hígado es considerable. Se ha demostrado una correlación entre éstos y varios grados de esteatosis hepática (leve, moderada y severa). De igual forma, la obesidad se considera un factor de riesgo para el desarrollo de fibrosis hepática y la enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA) (Kanwar *et al.*, 2016; Uslusoy *et al.*, 2009).

La tinción de hematoxilina y eosina, en conjunto con la tinción tricrómica de Masson, son consideradas tinciones histoquímicas de rutina validadas para evaluar de forma semicuantitativa el rango de características histológicas de la EHGNA (Kleiner *et al.*, 2005).

Resultados 20 semanas de experimentación

Los grupos de DN y SM mostraron una arquitectura conservada del hígado a las 20 semanas de experimentación, con espacios porta y venas centrales con la configuración hexagonal normal. Los hepatocitos se mantuvieron en trabéculas con espesor de dos células, citoplasma eosinófilo y núcleos redondos basófilos regulares. Los sinusoides hepáticos mostraron algunos eritrocitos. En el tercio proximal a la vena central se observaron hepatocitos con citoplasma más claro. En ambos grupos no se apreciaron agregados de células inmunes (figura 39).

En las secciones de hígado del grupo de SM se observan hepatocitos con esteatosis microvesicular, así como esteatosis macrovesicular grado 1 de acuerdo con la escala del NASH Clinical Research Group (tabla 41, figura 40).

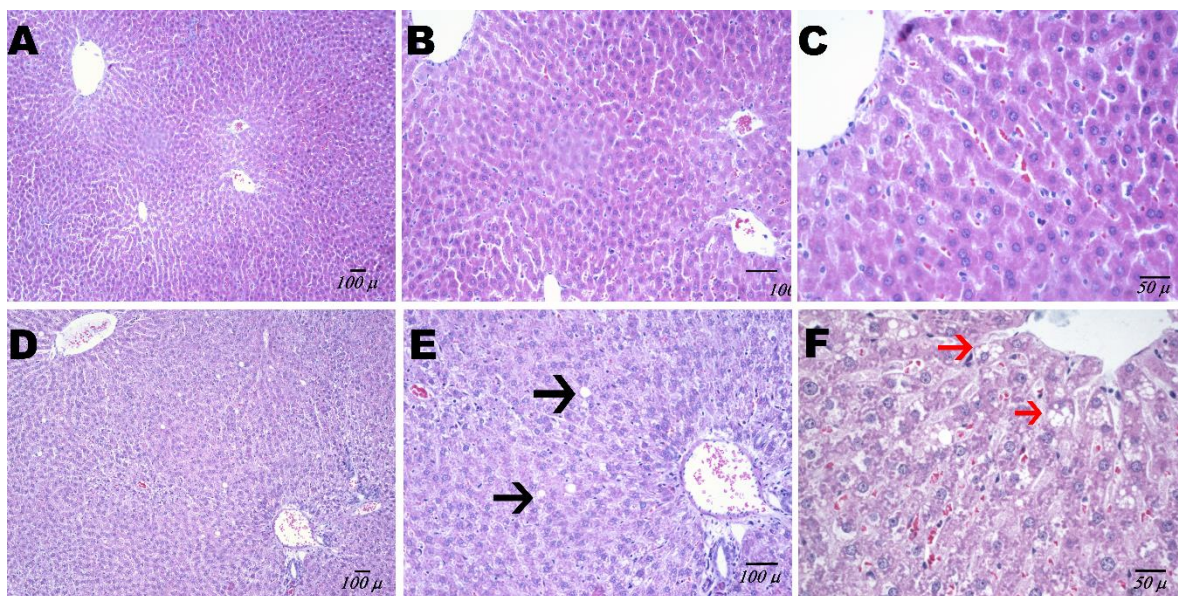


Figura 39. Cortes histológicos representativos de hígado de los grupos a las 20 semanas de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina. A-C: grupo de DN, no se muestran alteraciones. D-F: grupo de SM, se observa esteatosis en parénquima. Flecha negra: esteatosis macrovesicular, grado 1. Flecha roja: esteatosis microvesicular, grado 1.

Tabla 41. Porcentaje de esteatosis hepática en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Esteatosis Hepática (%)
DN	0
SM	15 (5-20)
Valor de <i>p</i>	0.000

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

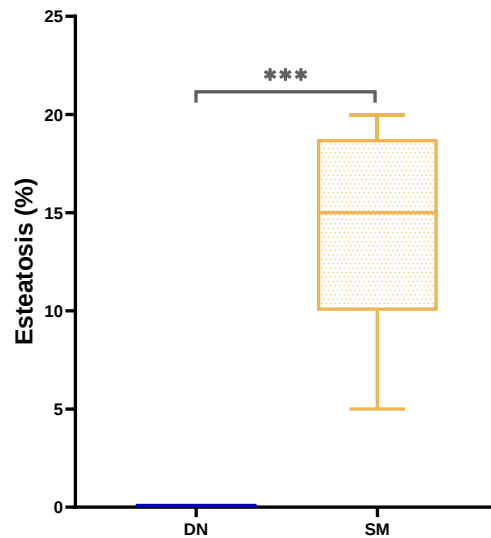


Figura 40. Esteatosis hepática en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Los resultados observados coinciden con los reportes de Bratoeva *et al.*, (2018) y Ferreira-Santos *et al.*, (2020) en donde se presentó acumulación ectópica de grasa en hígado, demostrando un estado de esteatosis hepática después de la administración de una dieta alta en carbohidratos simples.

La esteatosis hepática es el reflejo del exceso de grasa corporal y se ha relacionado con los estados de resistencia a la insulina, estrés oxidativo e inflamación (Godoy-Matos *et al.*, 2020). La resistencia a la insulina facilita la lipólisis, aumentando el flujo de FFA hacia el hígado y la lipogénesis de *ново*. En hígado, los triglicéridos y los metabolitos tóxicos inducen lipotoxicidad, disfunción mitocondrial y estrés del retículo endoplásmico, lo que conduce a daño celular, así como apoptosis y fibrosis de hepatocitos (Buzzetti *et al.*, 2016). Sin embargo, los resultados obtenidos no se correlacionan significativamente con los valores obtenidos en los parámetros de PCR, insulina y MDA hepático.

Utilizando la tinción tricrómica de Masson, en el grupo de DN, las secciones de hígado mostraron una distribución de depósitos de colágeno alrededor de vasos sanguíneos de forma normal, fibrosis portal inexistente, grado 0. De igual manera, el grupo de SM no

mostró depósitos de colágeno entre espacios porta, detonando fibrosis inexistente, grado 0, a las 20 semanas de experimentación (figura 41).

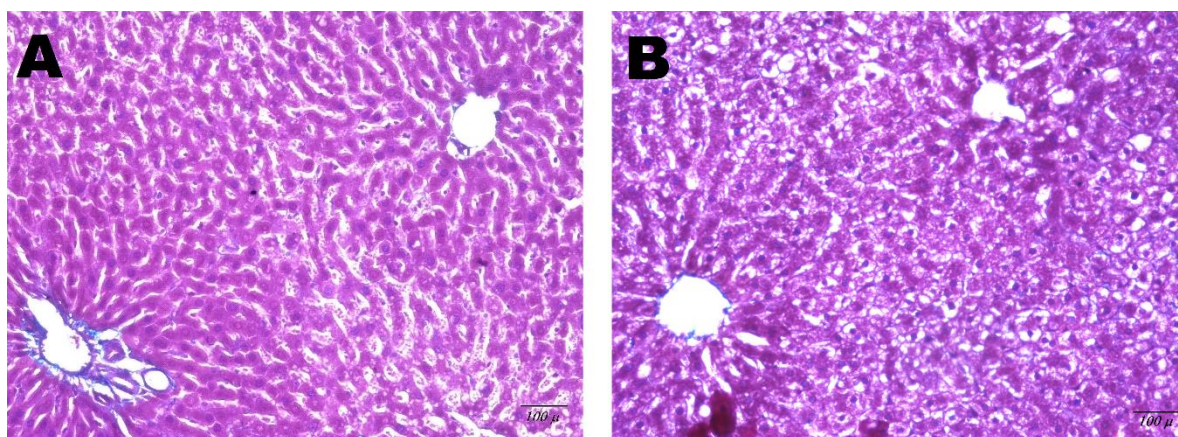


Figura 41. Cortes histológicos representativos de hígado de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción tricrómica de Masson. A: grupo de DN, fibrosis portal inexistente. B: grupo de SM, fibrosis portal inexistente.

La dieta alta en carbohidratos empleada en esta investigación no generó depósitos de colágeno en la estructura del hígado, destacando solamente la presencia de esteatosis hepática en el grupo de SM.

Los resultados observados coinciden con los reportados por Cho *et al.*, (2021) y Fakhoury-Sayegh *et al.*, (2019) en donde la exposición a una dieta alta en carbohidratos simples por 16 semanas no provocó fibrosis hepática, por medio de la evaluación con tinción tricrómica de Masson. De igual forma, una dieta alta en grasas y alta en carbohidratos administrada durante 12 semanas no provocó fibrosis hepática en los animales de experimentación (Shokouh *et al.*, 2018).

Resultados 40 semanas de experimentación

La tinción con hematoxilina y eosina demostró una arquitectura conservada del hígado en los grupos de DN, SM y SM+DLC. Observándose espacios porta y venas centrales con la configuración hexagonal típica. Los hepatocitos se mantuvieron en trabéculas con espesor de dos células, citoplasma eosinófilo y núcleos redondeados basófilos regulares. Los sinusoides hepáticos mostraron algunos eritrocitos. En el tercio proximal a la vena central se observan hepatocitos con citoplasma más claro (figura 42).

El grupo de SM, a las 40 semanas de experimentación, mostró esteatosis micro y macrovesicular, al igual que a las 20 semanas de experimentación, de grado 1 (tabla 42, figura 43).

En el grupo de SM+DLC se observaron hepatocitos con citoplasma más claro cerca de la vena central, con aspecto de vidrio despolido, característico de la degradación balonizante hepatocelular, grado 1 (tabla 43, figura 44). De igual manera, el grupo mostró infiltración de células inmunes en el parénquima, demostrando inflamación lobular grado 2 (2-4 focos) (figura 45).

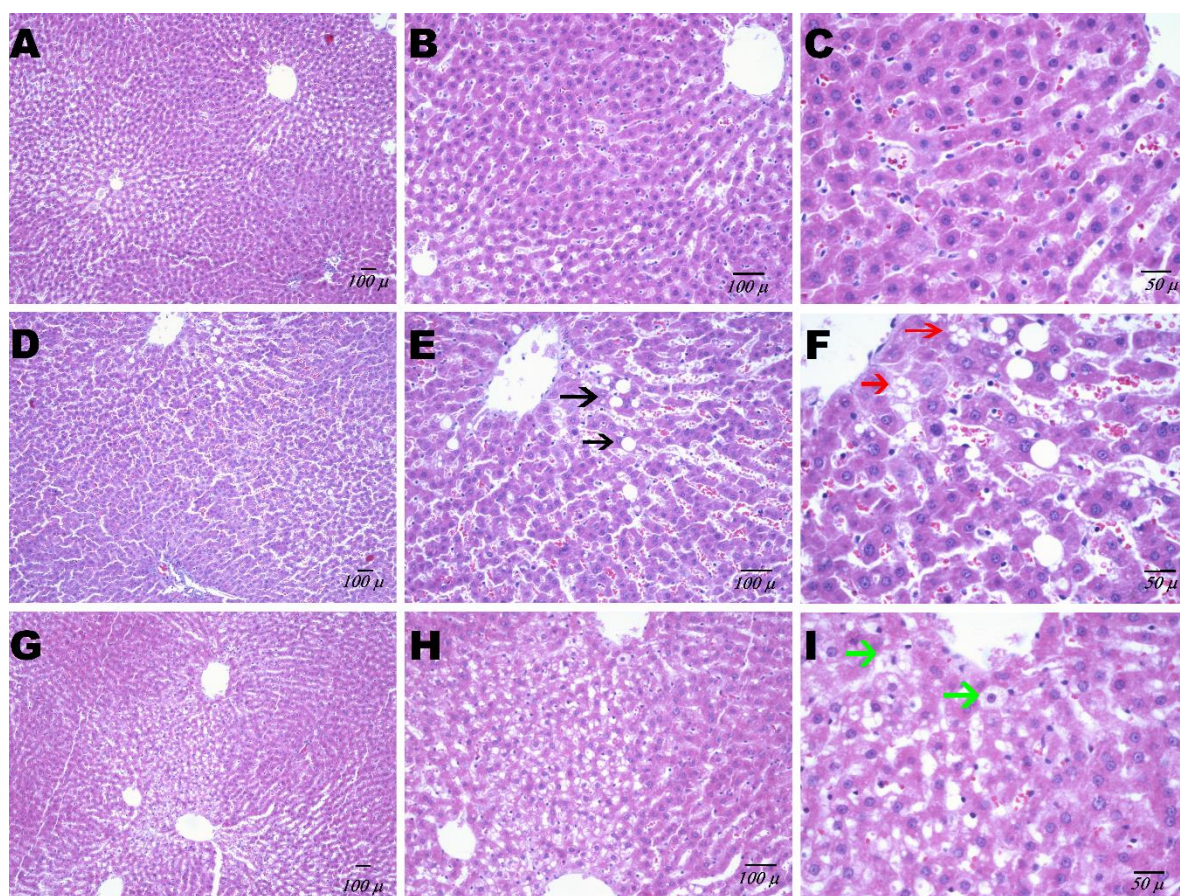


Figura 42. Cortes histológicos representativos de hígado de los grupos de experimentación a las 40 de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina. A-C: grupo de DN, se observa estructura normal. D-F: grupo de SM, se observa esteatosis grado 1. G-I: grupo de SM+DLC: se observa degradación balonizante grado 1. Flechas negras: esteatosis macrovesicular. Flechas rojas: esteatosis microvesicular. Flechas verdes: degradación balonizante hepatocelular.

Tabla 42. Porcentaje de esteatosis hepática en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Esteatosis Hepática (%)
DN	0
SM	5 (5-10)
SM+DLC	0
Valor de <i>p</i>	0.000 ^{1,3} 0.999 ²

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

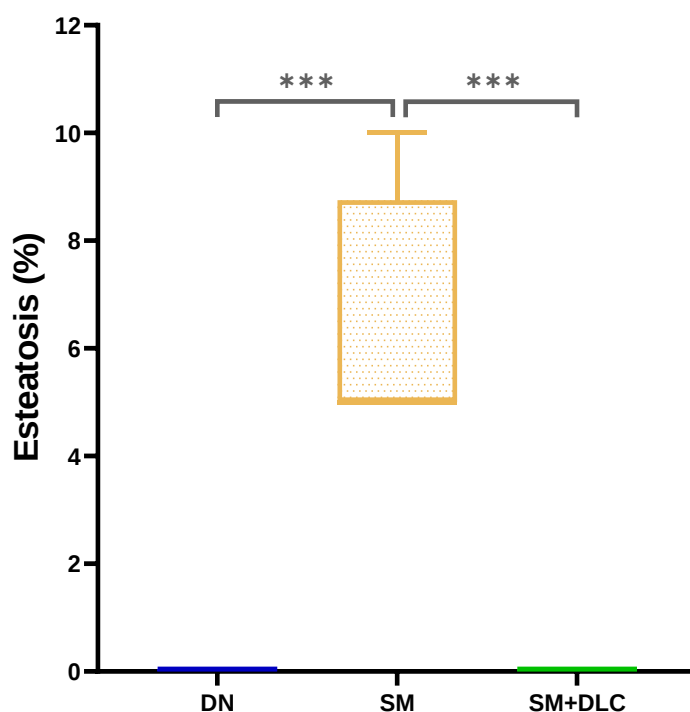


Figura 43. Esteatosis hepática en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Tabla 43. Porcentaje de degradación balonizante hepatocelular en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Degradación Balonizante Hepatocelular (%)
DN	0
SM	0
SM+DLC	5 (5-20)
Valor de <i>p</i>	0.999 ¹ 0.000 ^{2,3}

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

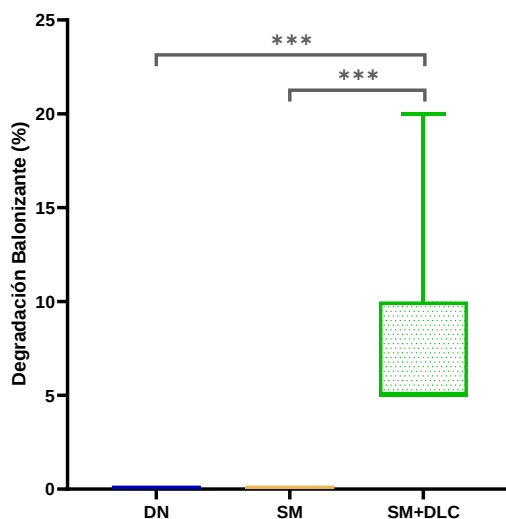


Figura 44. Degradación balonizante hepatocelular en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

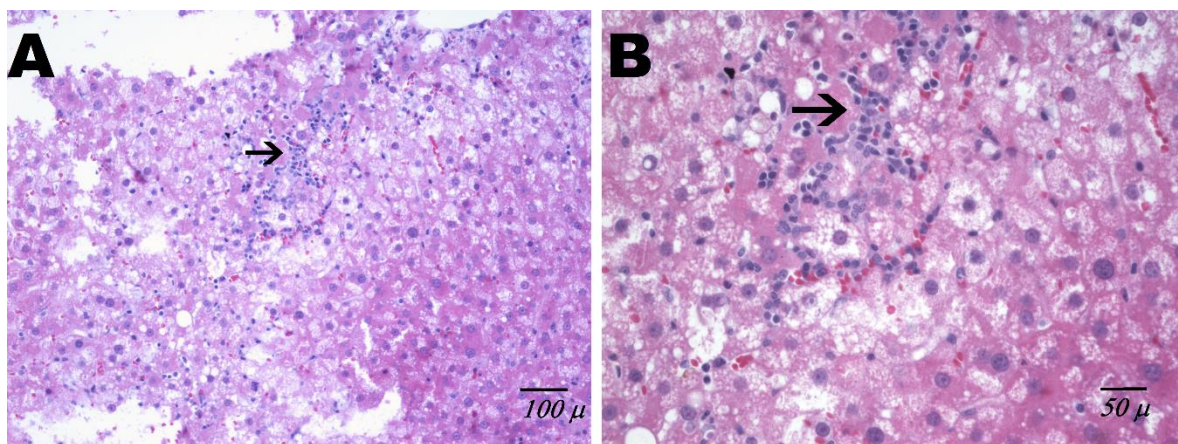


Figura 45. Corte histológico representativos de hígado del grupo de estudio SM+DLC a las 40 semanas de experimentación. Tinción con Hematoxilina y Eosina. A y B: se observan focos de linfocitos en el lóbulo hepático.

La exposición durante 40 semanas a la dieta alta en carbohidratos demostró esteatosis hepática, correlacionándose significativamente con los resultados obtenidos de MDA hepático, alanina aminotransferasa (ALT) y glucógeno hepático (figura 46).

La homeostasis de la grasa y la energía en las células hepáticas está regulada por la actividad mitocondrial, se ha demostrado que la esteatosis hepática se caracteriza principalmente por la presencia de disfunción mitocondrial, alterándose el equilibrio entre los mecanismos prooxidantes y antioxidantes, lo que lleva a la producción de EROs, promoviendo la generación de MDA (Masarone *et al.*, 2018). Los resultados obtenidos coinciden con reportes previos de inducción de EHGNA, observándose niveles elevados de MDA hepático en relación con los grupos control (Lima *et al.*, 2016; Sabir *et al.*, 2022).

De igual forma, se ha considerado que la resistencia a la insulina es el mecanismo central de la generación de esteatosis hepática (Godoy-Matos *et al.*, 2020; Masarone *et al.*, 2018). A su vez, el estado de resistencia a la insulina se ha relacionado con una disminución en la actividad de la enzima ALT, específica del hígado (Lum, 1995), coincidiendo con los resultados observados de correlación entre el porcentaje de esteatosis y actividad enzimática de ALT (figura 46).

Existe evidencia acerca de la acumulación de glucógeno hepatocelular cuando el metabolismo hepático de los carbohidratos se ve desregulado en la esteatosis,

correlacionando puntuaciones más bajas de esteatosis con el aumento en la acumulación de glucógeno en los hepatocitos, coincidiendo con los resultados observados en esta investigación (Allende *et al.*, 2021).

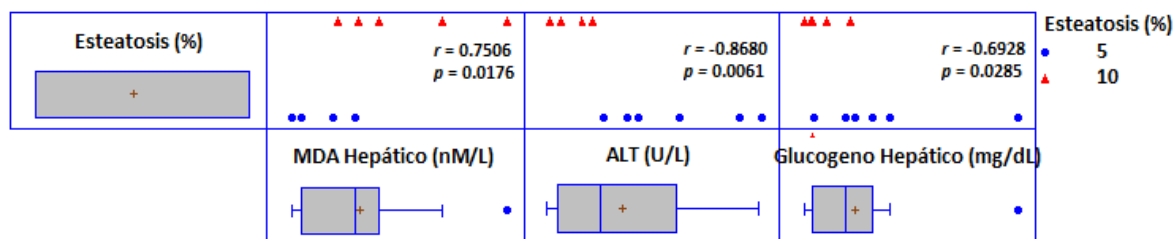


Figura 46. Correlación entre esteatosis y MDA hepático, ALT y glucógeno hepático en el grupo de SM con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de correlación de Spearman para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$.

El grupo de SM+DLC no presentó ningún grado de esteatosis, sin embargo, se presentó daño celular (degradación balonizante) e inflamación. Los resultados de la disminución de esteatosis hepática en el grupo de SM+DLC se relaciona con el decremento en la masa grasa en los animales del mismo grupo en relación con el grupo de SM. Se ha demostrado el papel hepatoprotector de las dietas bajas en carbohidratos cuando se aplican en campos como la obesidad y el SM. El bajo contenido de carbohidratos de las dietas provoca una disminución en la lipogénesis de *novo* en hígado, así como un aumento en la oxidación de ácidos grasos, observándose como una reducción de la grasa hepática (Lundsgaard *et al.*, 2019; Watanabe *et al.*, 2020).

Los resultados observados de la generación de degeneración balonizante hepatocelular e inflamación en el grupo de SM+DLC no coinciden con reportes en los que la restricción calórica se relaciona con la mejora de las características de la enfermedad por hígado graso no alcohólico, tales como la degradación balonizante hepatocelular, esteatosis, inflamación y fibrosis (Parra-Vargas *et al.*, 2020). La discrepancia en los resultados puede deberse al uso de una fuente animal de ácidos grasos en la DLC que suelen relacionarse con alteraciones hepáticas en relación con el uso de grasas de origen vegetal, así como al alto contenido de proteínas (Kleinert *et al.*, 2018).

La tinción tricrómica de Masson demostró una distribución normal de colágeno en los espacios porta en las secciones de hígado de los tres grupos de experimentación, concluyendo fibrosis inexistente, grado 0 (imagen 47).

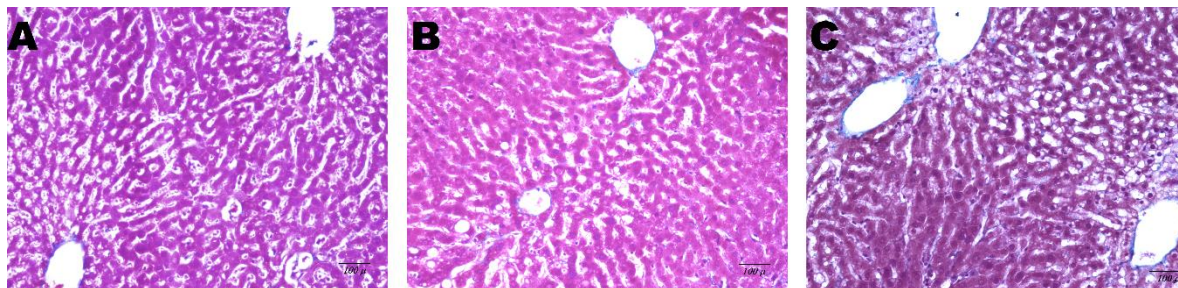


Figura 47. Cortes histológicos representativos de hígado en los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Tinción tricrómica de Masson. A: grupo de DN, fibrosis portal inexistente. B: grupo de SM, distribución normal de colágeno. C: grupo de SM+DLC: fibrosis portal inexistente, distribución normal de colágeno.

Los resultados obtenidos a las 40 semanas de experimentación en los grupos de DN y SM coinciden con los resultados observados a las 20 semanas experimentación, en donde se mostró una distribución normal de colágeno alrededor de vasos sanguíneos.

Existen reportes en donde se ha demostrado el papel benéfico que tienen las dietas bajas en carbohidratos sobre la patología hepática, destacando a los cuerpos cetónicos como moduladores efectivos de la inflamación, la fibrosis y complicaciones metabólicas implicadas en la patogénesis de la EHGNA (Watanabe *et al.*, 2020).

No se encontraron investigaciones en donde se reporte el efecto de una dieta libre de carbohidratos sobre la fisiopatología e histología del hígado.

7.1.2.10.2. Riñón

La asociación entre el SM y la enfermedad renal crónica ha sido descrita ampliamente. Las características histopatológicas renales en individuos con SM incluyen glomerulomegalia, esclerosis global y segmental, atrofia tubular, fibrosis intersticial y daño microvascular (esclerosis) (Alexander *et al.*, 2009; Ohashi *et al.*, 2014).

Resultados 20 semanas de experimentación

En las secciones de riñón del grupo de DN se observaron glomérulos con asas capilares con luces abiertas y regulares. El mesangio fue eosinófilo con células mesangiales de morfología habitual. La cápsula de Bowman mantuvo el espacio urinario y su revestimiento por células planas fue regular. Los túbulos renales se observaron ovales, revestidos por epitelio cúbico con núcleos basales normocromáticos. El intersticio no mostró alteraciones. Los vasos sanguíneos tuvieron revestimiento por células endoteliales sin alteraciones histológicas, mostrándose congestivos (figura 48).

El grupo de SM mostró glomerulomegalia en un 60%, acompañada por adherencia de los capilares del glomérulo a la cápsula de Bowman (sinequia periférica polar) y pérdida del espacio urinario, mientras que el grupo de DN presentó estas alteraciones sólo en el 10% de los glomérulos observados (tabla 44, figura 49).

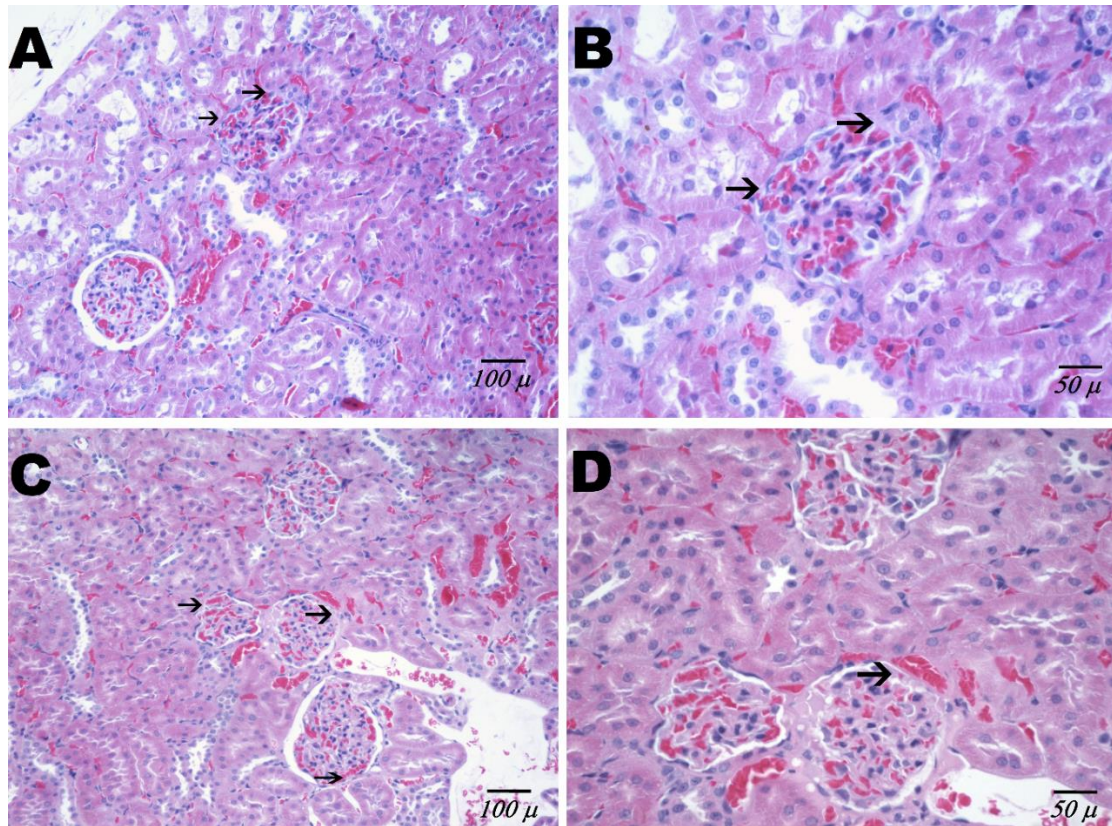


Figura 48. Cortes histológicos representativos de riñón de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina. A y B: grupo de DN, estructura normal. C y D: grupo de SM, glomerulomegalia y sinequias periféricas polares (flechas).

Tabla 44. Porcentaje de glomerulomegalia y sinequias periféricas polares en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Glomerulomegalia y Sinequias Periféricas (%)
DN	10 (0-20)
SM	60 (40-70)
Valor de <i>p</i>	0.000

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

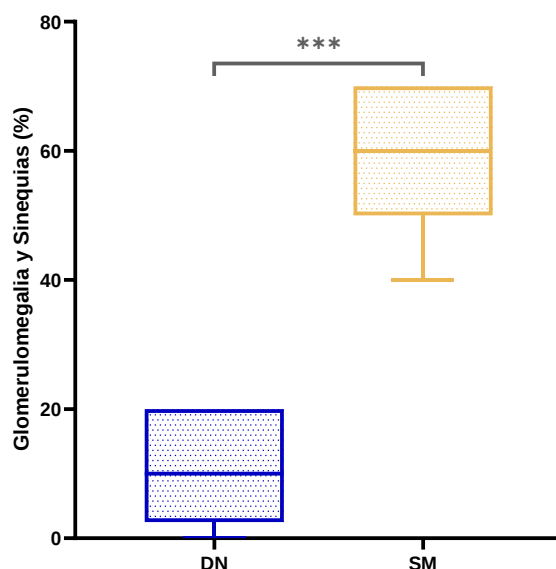


Figura 49. Glomerulomegalia y sinequias periféricas polares en riñón en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

Las secciones de riñón analizadas mediante la técnica tricrómica de Masson del grupo de DN no mostraron anomalías en la distribución de colágeno en glomerulos, túbulos, vasos sanguíneos e intersticio. El grupo de SM no presentó zonas fibróticas, sin embargo, al compararlo con el grupo de DN, se identificó un ligero incremento en el grosor de las membranas basales tubulares (figura 50).

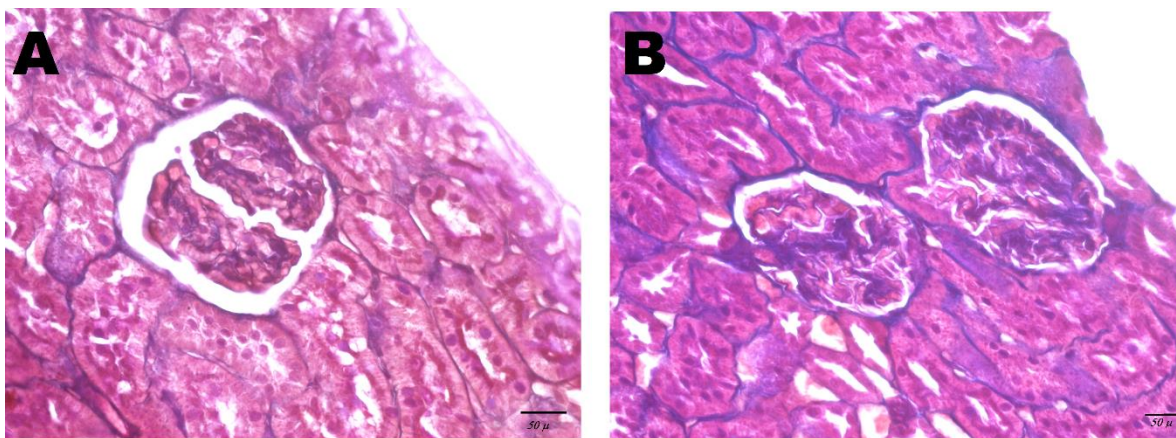


Figura 50. Cortes histológicos representativos de riñón en los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción tricrómica de Masson, aumento 40X. A: grupo de DN, ausencia de fibrosis. **B:** grupo de SM, ausencia de fibrosis en glomérulo, túbulos, vasos sanguíneos e intersticio.

Los resultados encontrados en el grupo de SM coinciden con los hallazgos de glomerulomegalia y sinequias periféricas polares reportados previamente, considerándose manifestaciones tempranas de esclerosis glomerular (Beriao & Gutiérrez, 2006). Los reportes que incluyen la implementación de una dieta alta en carbohidratos para la generación de SM han descrito cambios histológicos en riñones, incluyendo aumento del área tubular, glomerulomegalia, engrosamiento de la membrana basal tubular, acumulación de colágeno mesangial, engrosamiento de la cápsula de Bowman, degradación, vacuolaciones y necrosis tubulares, así como inflamación intersticial, acumulación de células grasas y glomeruloesclerosis (Fakhoury-Sayegh *et al.*, 2019; Güleş & Tatar, 2020).

Resultados 40 semanas de experimentación

En las secciones de riñón teñidas con hematoxilina y eosina a las 40 semanas de experimentación del grupo de DN, se observó los glomérulos con asas capilares con luces abiertas y regulares. El mesangio fue eosinófilo, con células mesangiales de morfología habitual. La cápsula de Bowman mantuvo el espacio urinario y su revestimiento por células planas fue regular. Los túbulos renales fueron ovales, revestidos por epitelio cúbico con núcleos basales normocromáticos. Los vasos sanguíneos presentaron revestimiento por células endoteliales sin alteraciones histológicas, mostrándose congestivos (figura 51).

En el grupo de SM se observó un 50% de glomerulomegalia, así como las asas capilares en contacto con la cápsula de Bowman formando sinequias periféricas polares.

Además, se observaron focos de infiltrado inflamatorio linfocitario intersticial (nefritis) (figura 52). El grupo de SM+DLC mostró un 40% de glomerulomegalia y sinequias, sin agregados inflamatorios (tabla 45, figura 53).

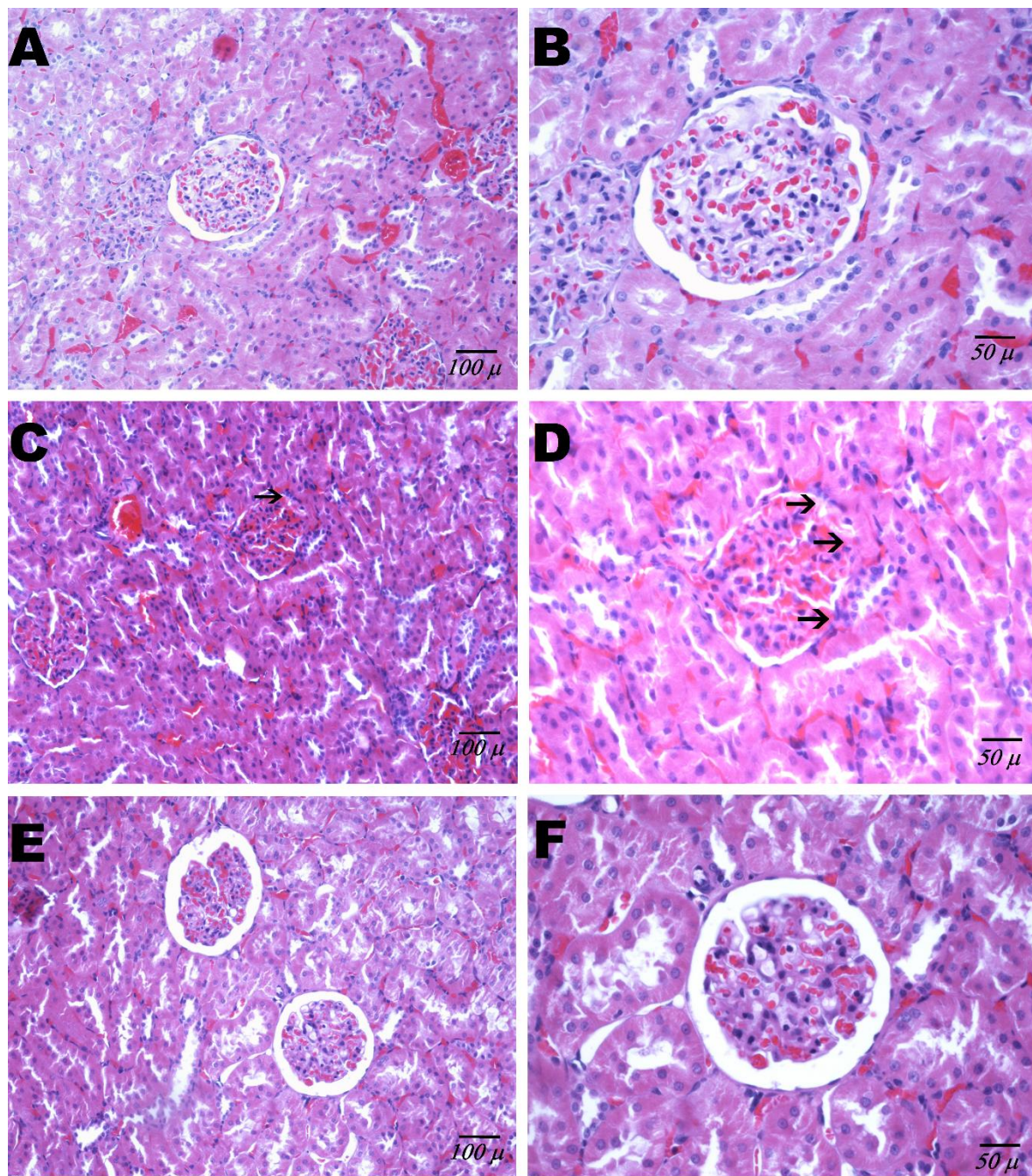


Figura 51. Cortes histológicos representativos de riñón de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina. A y B: grupo de DN, estructura normal. C y D: grupo de SM, glomerulomegalia y sinequias periféricas polares (flechas), colapso de las luces capilares. E y F: grupo de SM+DLC, no se muestran anomalías en la estructura.

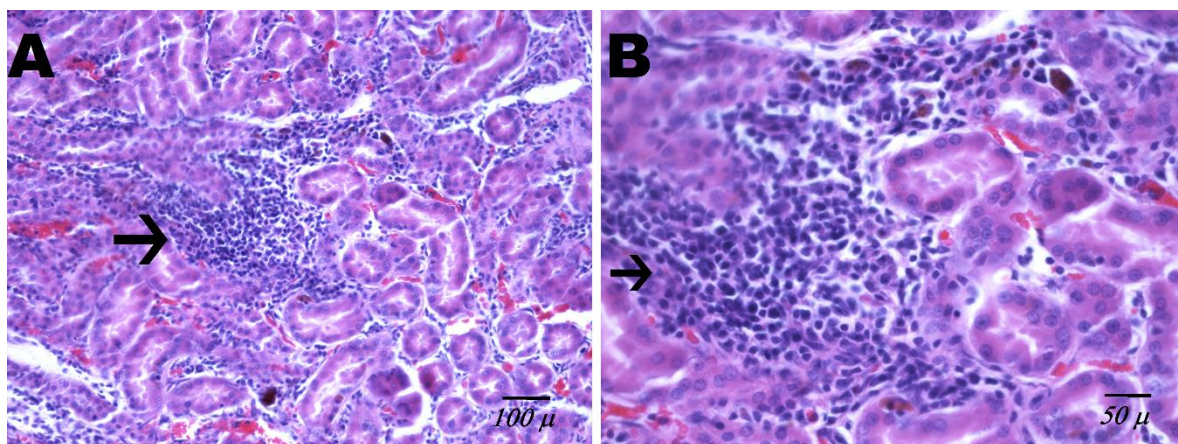


Figura 52. Cortes histológicos representativos de riñón del grupo de SM a las 40 semanas de experimentación. Tinción con Hematoxilina y Eosina. A y B: agregado de linfocitos en intersticio renal (flechas).

Tabla 45. Glomerulomegalia y sinequias periféricas polares en riñón en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Glomerulomegalia y Sinequias Periféricas (%)
DN	10 (0-30)
SM	50 (40-70)
SM+DLC	40 (30-50)
Valor de <i>p</i>	0.000 ^{1,2} 0.064 ^{1,2}

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

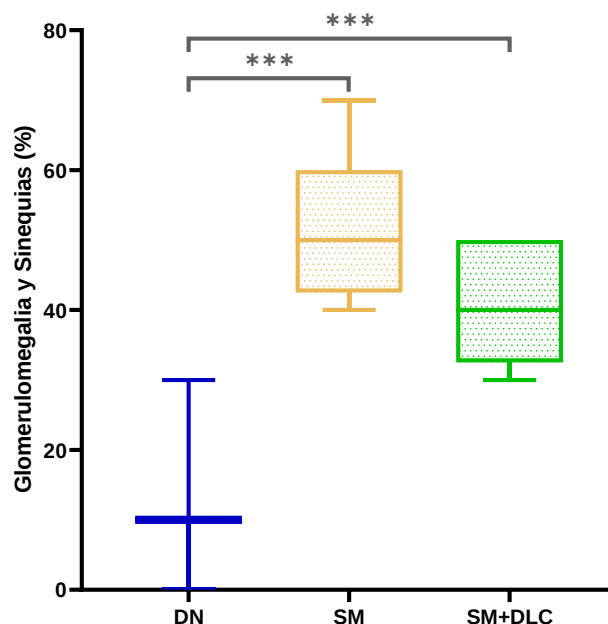


Figura 53. Glomerulomegalia y sinequias periféricas polares en riñón en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Los resultados observados de glomerulomegalia y sinequias periféricas polares en el grupo de SM se correlacionan significativamente con el peso corporal, colesterol total y MDA renal del mismo grupo tras la administración de la dieta alta en glucosa durante 40 semanas (figura 54).

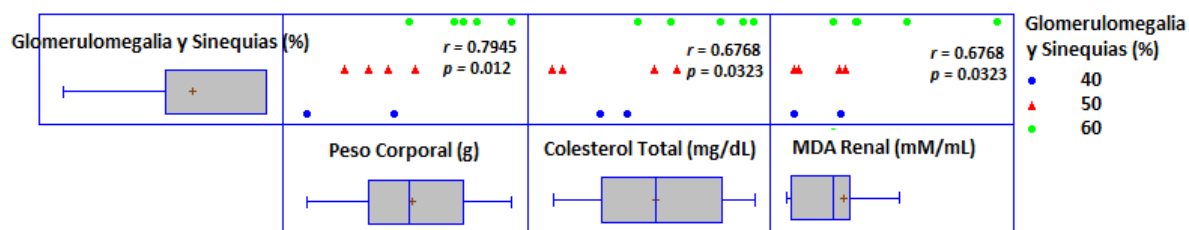


Figura 54. Correlación entre glomerulomegalia y sinequias periféricas renales con peso corporal, colesterol total y MDA renal en el grupo de SM con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de correlación de Spearman para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$.

De acuerdo con los resultados, a medida que incrementa el peso corporal y la concentración de colesterol total en los animales de experimentación, aumenta el porcentaje de glomerulomegalia y sinequias periféricas renales. Se ha demostrado que el estado de obesidad contribuye al desarrollo de glomerulomegalia, que puede conducir a proteinuria, glomeruloesclerosis focal y segmentaria, presentándose en individuos con un índice de masa corporal (IMC) elevado (S. Yang *et al.*, 2020). Así mismo, se ha sugerido que la hiperlipidemia y la hipercolesterolemia pueden actuar como factores agravantes de la glomerulopatía renal, observándose en individuos con obesidad y dislipidemia (Faustinella *et al.*, 1997).

Se ha descrito que los potenciales mecanismos por los cuales la obesidad afecta la fisiología y morfología renal incluyen alteración de la hemodinámica renal, resistencia a la insulina, hiperlipidemia, activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, inflamación y estrés oxidativo (Tang *et al.*, 2012), siendo este último mecanismo el involucrado en el aumento de la producción de MDA a nivel renal, relacionándose con los resultados obtenidos en esta investigación, en donde el incremento en la concentración de MDA se correlaciona con el aumento del porcentaje de glomerulomegalia y sinequias periféricas renales.

Los resultados encontrados en el grupo de SM+DLC demuestran una mejora en la estructura renal, al observarse un menor porcentaje de glomerulomegalia y sinequias periféricas, así como ausencia de inflamación, con respecto al grupo de SM, pese al alto contenido de proteínas en la DLC.

Existe evidencia acerca de la relación entre las dietas bajas en carbohidratos y altas en proteínas y grasas, y el aumento en la tasa de filtración glomerular, lo que posiblemente se refleja en daño renal (Juraschek *et al.*, 2016; Kostogrys *et al.*, 2015). El aumento en la excreción de urea en el grupo de SM+DLC demuestra el incremento en el metabolismo de las proteínas por el alto contenido de éstas en la dieta, sin embargo, algunos autores sugieren el incremento de este biomarcador como un mecanismo adaptativo normal que ocurre en respuesta a diversas condiciones fisiológicas y que no provoca efectos negativos sobre la morfología renal (Martin *et al.*, 2005).

Las secciones de riñón teñidas con tinción tricrómica de Masson de los grupos de DN, SM y SM+DLC mostraron membranas basales tubulares con morfología normal, sin

embargo, en el grupo de SM se observa un incremento en el grosor de las membranas capilares tubulares, así como algunos depósitos de colágeno en el glomérulo. En el grupo de SM+DLC se identificó un estado intermedio, con engrosamiento parcial de las membranas basales de los túbulos y depósitos de colágeno glomerular mayores en relación con el grupo de DN, pero menores que en el grupo de SM (figura 55).

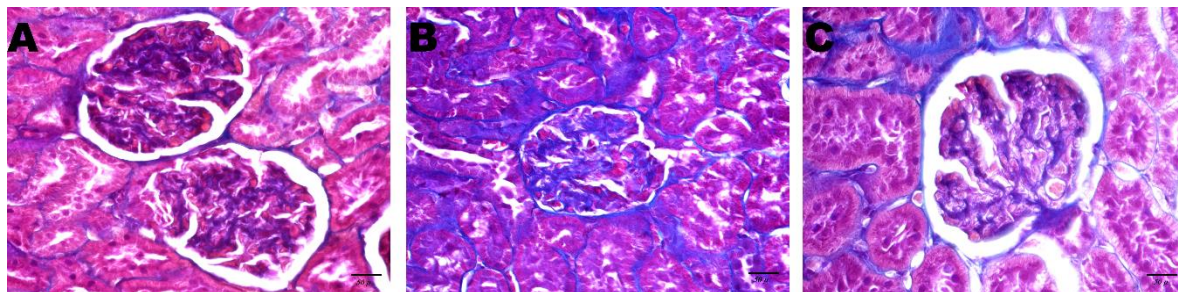


Figura 55. Cortes histológicos representativos de riñón en los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Tinción tricrómica de Masson. A: grupo de DN, ausencia de fibrosis. B: grupo de SM, incremento en el grosor de las membranas basales tubulares con depósitos de colágeno en el glomérulo. C: grupo de SM+DLC, incremento parcial del grosor de las membranas basales tubulares.

Los resultados obtenidos demostraron infiltración de células inmunes, demostrando un estado de inflamación característico del SM. Por otra parte, la administración de la DLC mostró una mejora en los cambios tempranos de fibrosis renal, demostrando la seguridad de su exposición en la estructura del riñón.

No se encontraron investigaciones en donde se haya realizado una evaluación de la histopatología del riñón después de la administración de una DLC.

7.1.2.10.3. Páncreas

Existe una importante correlación entre el estado funcional del páncreas y factores de riesgo relacionados al SM. Los cambios metabólicos como la obesidad y dislipidemia aterogénica, contribuyen a la alteración de la función pancreática endócrina y exocrina. El mecanismo desencadenante de la progresión de la patología pancreática en el SM aparece como un estado de inflamación estrechamente acompañado de deposición de grasa (Nurdiana *et al.*, 2017; Samsonova & Zvenigorodskaya, 2011).

Resultados 20 semanas de experimentación

En los grupos de DN y SM, el páncreas exocrino mostró una conformación acinar con lóbulos compuestos de células epiteliales formando glándulas. Ambos grupos mostraron una estructura pancreática normal dado que los islotes de Langerhans se observaron como nódulos eosinófilos más claros, con células endócrinas cuyos núcleos eran redondos con cromatina granular fina (figura 56).

Se realizó un conteo del número de islotes pancreáticos en diez campos utilizando un aumento de 10X. El grupo de DN mostró una mediana de 1 islote de Langerhans por cada campo observado, mientras que, en el grupo de SM, se apreció una disminución estadísticamente significativa, observándose 0.5 islotes por campo (tabla 46, figura 57).

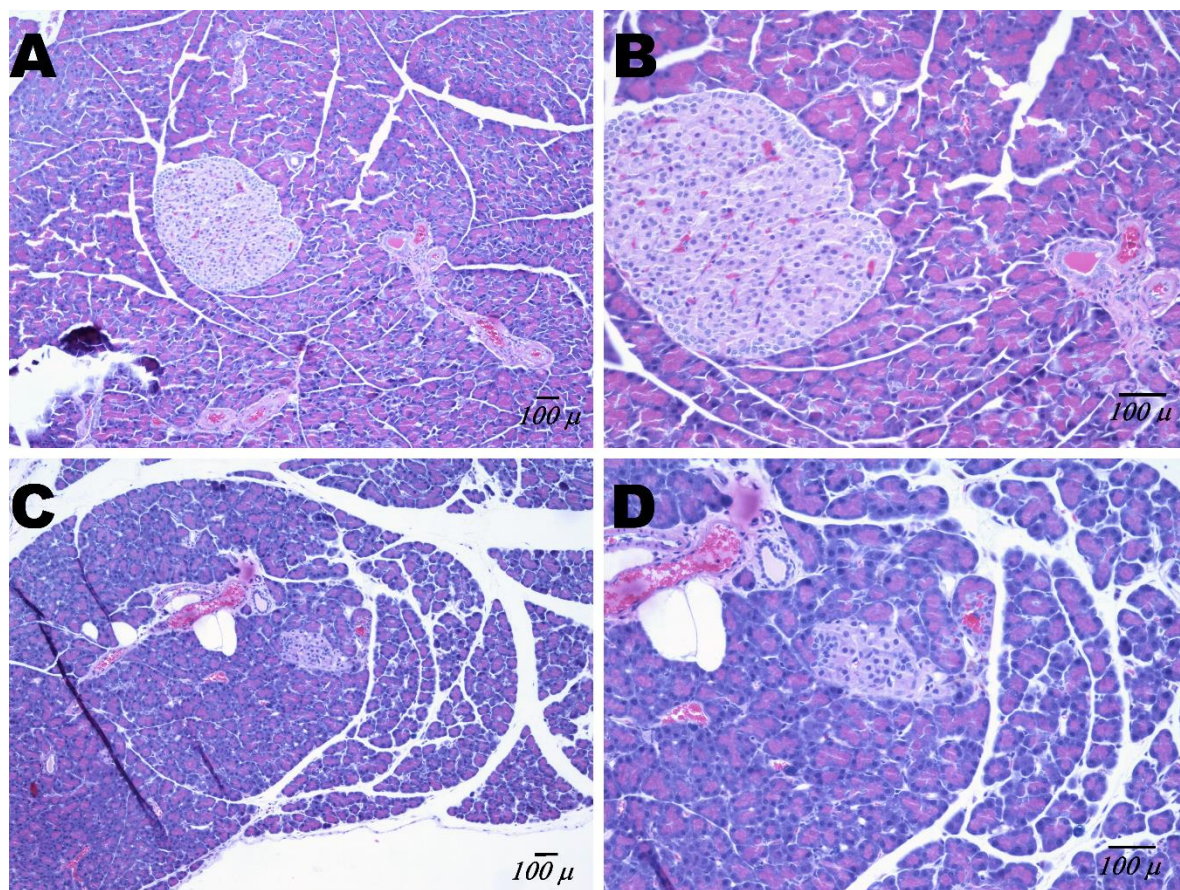


Figura 56. Cortes histológicos representativos de páncreas de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina. A y B: grupo de DN, no se observan alteraciones estructurales. C y D: grupo de SM, estructura normal de páncreas exocrino y endocrino.

Tabla 46. Número de islotes de Langerhans por campo observado en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Número de Islotes de Langerhans / Campo
DN	1 (0.8-1.1)
SM	0.5 (0.4-0.6)
Valor de <i>p</i>	0.000

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: *dieta normal*; SM: *síndrome metabólico*.

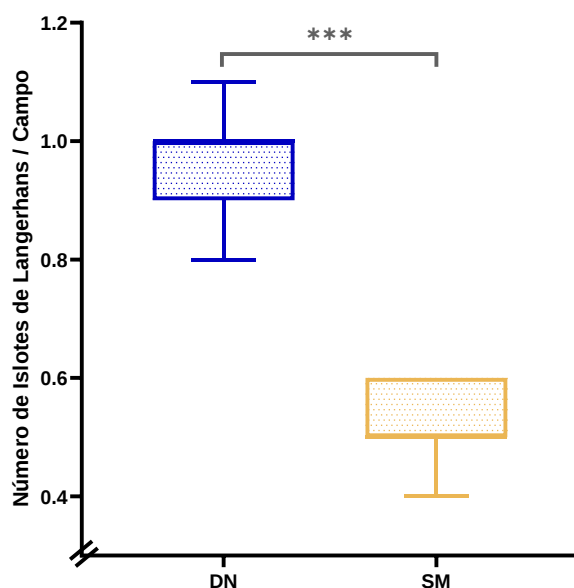


Figura 57. Número de islotes de Langerhans por campo observado en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: *dieta normal*; SM: *síndrome metabólico*.

Los resultados obtenidos no mostraron alteraciones en la estructura del páncreas exocrino y endocrino descritas por otros autores en modelos de SM inducido por dieta, tales como aumento en la infiltración de las células inmunes en islotes pancreáticos acompañada de exacerbación de la intolerancia a la glucosa (Horii *et al.*, 2020), así como hiperplasia e hipertrofia de los islotes de Langerhans (Albrahim & Alonazi, 2021; Auberval *et al.*, 2017; Panchal *et al.*, 2011). Sin embargo, el conteo del número de islotes de Langerhans observados por cada diez campos con un aumento de 10X mostró una disminución en el número de éstos en el grupo de SM en relación con el grupo de DN, demostrando con ello la disminución en

la cantidad de células β pancreáticas, pudiéndose relacionar con la disminución de la concentración de insulina observada en el grupo de SM en relación con el grupo de DN, sin embargo, no se demostró una correlación significativa entre el número de islotes pancreáticos con la concentración de insulina.

Resultados 40 semanas de experimentación

Los grupos de DN, SM y SM+DLC mostraron una conformación acinar con lóbulos compuestos de células epiteliales formando glándulas en el páncreas exocrino. En relación con el páncreas endocrino, en los islotes de Langerhans se observaron células con núcleos redondos y cromatina granular fina. Demostrando una estructura pancreática normal (figura 58).

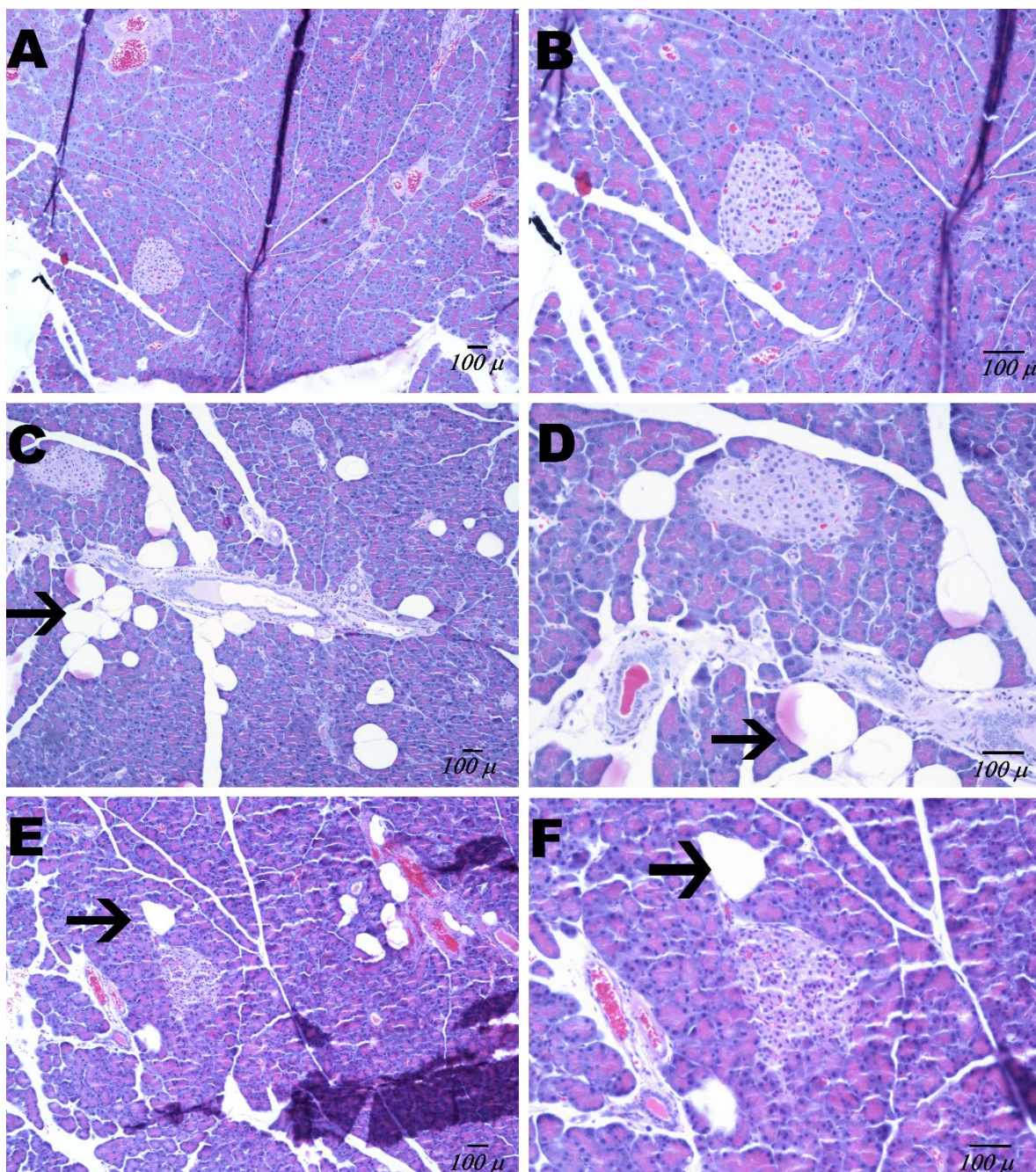


Figura 58. Cortes histológicos representativos de páncreas de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina. A y B: grupo de DN, muestra una estructura normal. C y D: grupo de SM, muestra estructura normal con infiltración de adipocitos. E y F: grupo de SM+DLC, muestra estructura normal con infiltración de adipocitos. Flechas: infiltración de adipocitos en el páncreas exocrino.

La cuantificación del número de islotes de Langerhans observados por campo con un aumento de 10X mostró una mediana de 1.15 islotes en el grupo de DN, una disminución

estadísticamente significativa en el grupo de SM con respecto al grupo de DN, observándose 0.5 islotes por campo, mientras que el grupo de SM+DLC mostró un incremento significativo en relación con el grupo de SM, observándose 1.0 islotes por campo (tabla 47, figura 59).

Tabla 47. Número de islotes de Langerhans por campo observado en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Número de Islotes de Langerhans / Campo
DN	1.15 (0.9-1.5)
SM	0.5 (0.3-0.7)
SM+DLC	1.0 (0.9-1.2)
Valor de <i>p</i>	0.000 ^{1,3} 0.166 ²

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

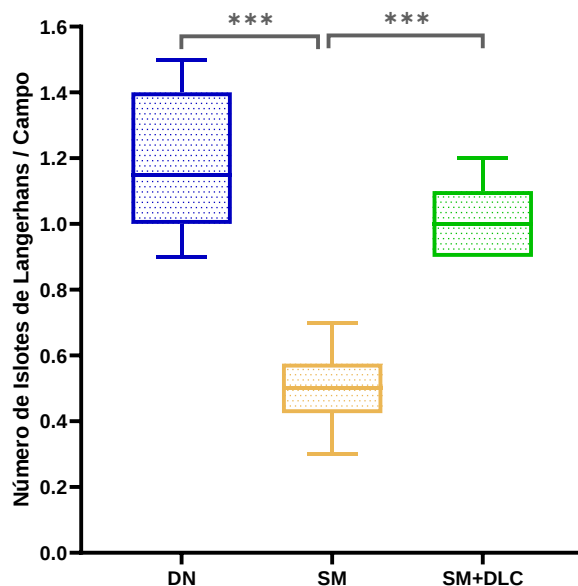


Figura 59. Número de islotes de Langerhans por campo observado en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

Como hallazgo adicional, en el grupo de SM y SM+DLC se identificaron células adiposas entre los acinos pancreáticos, caracterizándose por una vacuola clara, con el núcleo rechazado a la periferia en forma de semiluna (figura 58, paneles C-F).

Se realizó el conteo de número de células adiposas observadas por campo con un aumento de 20X, apreciándose una media de 2 adipocitos por campo en el grupo de SM, mientras que el grupo de SM+DLC mostró un decremento significativo con respecto al grupo de SM, observándose 0.15 adipocitos por campo (tabla 48, figura 60).

Tabla 48. Número de adipocitos infiltrados en páncreas por campo observado en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Número de Adipocitos / Campo
DN	0
SM	2.0 (1.5-2.8)
SM+DLC	0.15 (0-0.2)
<i>Valor de p</i>	0.000 ^{1,3} 0.008 ²

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

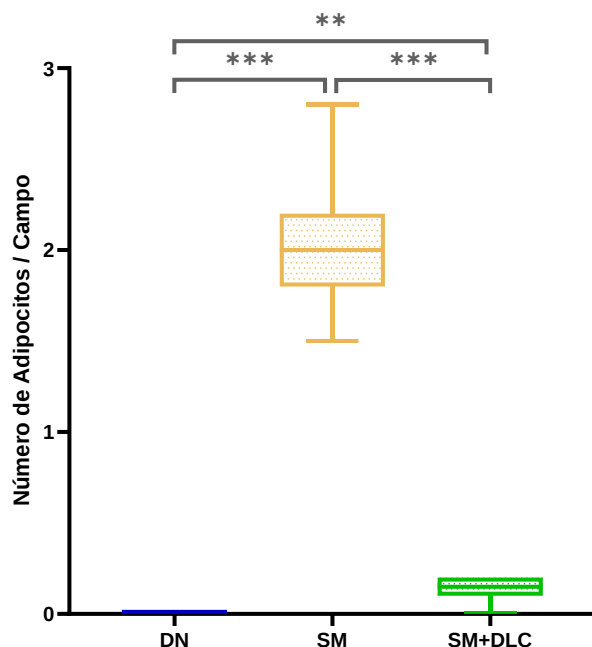


Figura 60. Número adipocitos infiltrados en páncreas por campo observado en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

En base a los resultados observados, el grupo de SM presentó una disminución significativa en el número de islotes de Langerhans cuantificados en relación con el grupo de DN. Estados de obesidad y resistencia a la insulina se han relacionado con la falla progresiva de secreción de insulina de las células β pancreáticas (Leenders *et al.*, 2021). Se ha demostrado que el daño de dichas células se debe al estrés oxidativo ejercido por altos niveles de glucosa provenientes de la dieta, así como concentraciones elevadas de FFA (Newsholme *et al.*, 2019).

El decremento del número de islotes de Langerhans se asoció significativamente con el peso corporal, colesterol total y c-LDL (figura 61). Se ha demostrado que el contenido de grasa pancreática aumenta proporcionalmente con la obesidad o el aumento en el peso corporal, siendo esta acumulación de grasa la responsable de la disfunción y apoptosis de las células β pancreáticas (Inaishi & Saisho, 2020). De igual forma, se ha descrito que la

hiperglucemia y la dislipidemia inducen muerte celular en las células β pancreáticas, al alterar las vías oxidativas relacionadas con la producción de EROs (Tangvarasittichai, 2015).

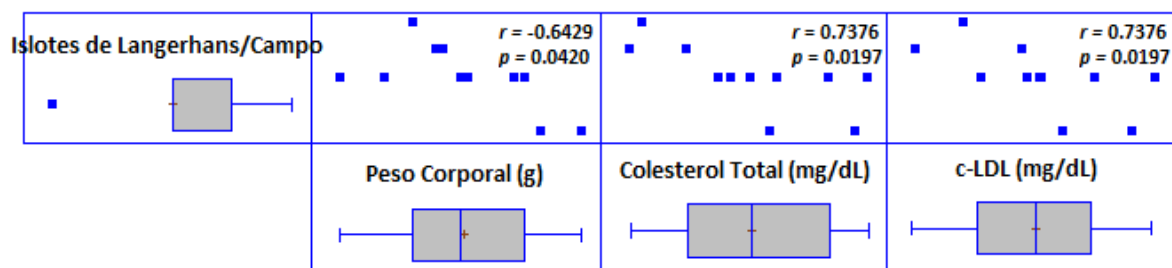


Figura 61. Correlación entre el número de islotes pancreáticos/campo y el peso corporal, colesterol total y c-LDL en el grupo de SM con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de correlación de Spearman para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$.

El grupo de SM +DLC mostró una mejora del daño celular pancreático en relación con el grupo de SM, al cuantificarse un mayor número de islotes de Langerhans por campo, así como al incrementarse la concentración de insulina sérica en relación con el grupo de SM, sin embargo, estos parámetros no se correlacionan significativamente. De acuerdo con los resultados obtenidos, el número de islotes de Langerhans observados por campo se correlaciona significativamente con el área de los adipocitos y el número de adipocitos infiltrados por campo en páncreas (figura 62).

A medida que disminuye el tamaño de los adipocitos, incrementa el número de islotes por campo, asimismo, el decremento del número de adipocitos infiltrados por campo en páncreas se correlaciona con el aumento en el número de islotes de Langerhans. La remodelación patológica del tejido adiposo es típicamente caracterizada por hipertrofia de adipocitos y está fuertemente relacionada por la acumulación ectópica de grasa en hígado, corazón, músculo esquelético y páncreas. Los depósitos de lípidos ectópicos son perjudiciales, ya que las especies lipídicas acumuladas, como las ceramidas y diacilglicerol, pueden interferir con la señalización de la insulina y otras funciones tisulares, es decir, lipotoxicidad (Longo *et al.*, 2019; Vishvanath & Gupta, 2019).

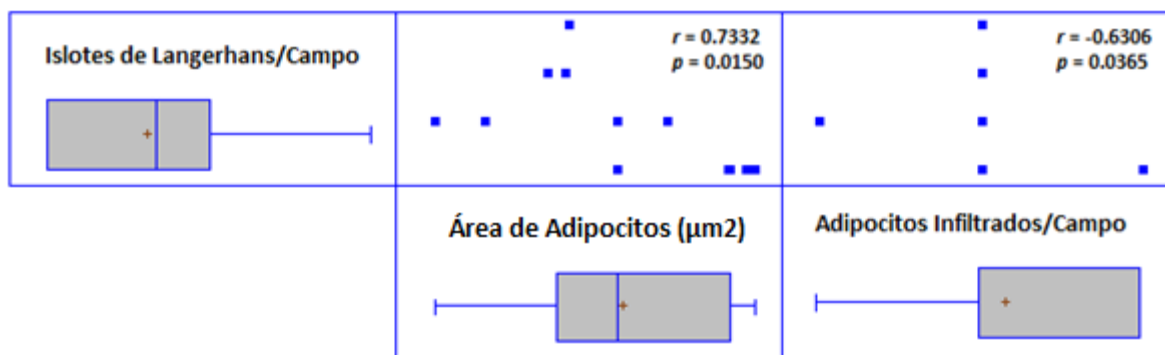


Figura 62. Correlación entre el número de islotes pancreáticos/campo con el área de adipocitos y el número de adipocitos infiltrados en páncreas/campo en el grupo de SM+DLC con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de correlación de Spearman para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$.

Los resultados de la deposición de grasa en el páncreas exocrino en el grupo de SM se relaciona con el desarrollo y progresión del SM (McCracken *et al.*, 2017). Se ha demostrado que la acumulación de grasa ectópica provoca apoptosis de las células β pancreáticas debido a la toxicidad de los productos metabólicos (Ye *et al.*, 2019).

Se demostró el efecto de la DLC en la disminución de los depósitos pancreáticos de grasa para su utilización como fuente de energía, promoviendo la oxidación de ácidos grasos. La infiltración de adipocitos en páncreas se correlacionó significativamente con las concentraciones séricas de glucosa e insulina, así como con el peso corporal de los animales de este grupo (figura 63). Los resultados demuestran que, a medida que disminuye el peso corporal, la concentración de glucosa y aumenta la concentración de insulina, decrementa el número de adipocitos en páncreas.

Como se mencionó anteriormente, la hipertrofia de adipocitos se asocia con un estado de resistencia a la insulina, promoviendo la acumulación ectópica de grasa (Vishvanath & Gupta, 2019), al disminuir la resistencia a la insulina, como se presentó en el grupo de SM+DLC, decrementa la acumulación de grasa pancreática.

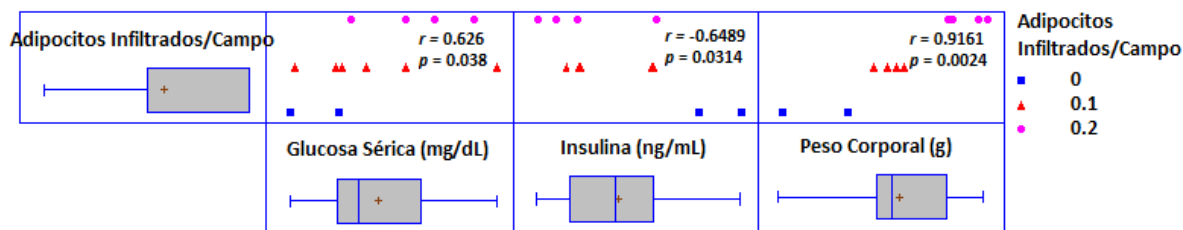


Figura 63. Correlación entre el número de adipocitos infiltrados en páncreas/campo, la glucosa sérica, la insulina y el peso corporal en el grupo de SM+DLC con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de correlación de Spearman para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$.

De acuerdo con la investigación de Jürgens *et al.*, (2007) la administración de una DLC previene la apoptosis de las células β pancreáticas en ratones NZO obesos y propensos a diabetes, en comparación con ratones alimentados con dietas altas en grasas y carbohidratos. De igual forma, los mismos resultados se ha demostrado en ratones *db/db* propensos a diabetes tipo 2 (Mirhashemi *et al.*, 2008).

7.1.2.10.4. Tejido adiposo visceral

Existen diversos estudios que han evaluado el papel del tejido adiposo disfuncional en la patogénesis del SM. Éstos afirman que el tamaño y la cantidad de células grasas en los distintos depósitos corporales juegan diferentes roles en las complicaciones metabólicas asociadas a la obesidad (Choudhary *et al.*, 2012; Rydén *et al.*, 2014).

Resultados 20 semanas de experimentación

En los grupos de DN y SM, la tinción con hematoxilina y eosina demostró tejido adiposo maduro en patrón lobular, dividido por finos septos fibrosos con vasos sanguíneos delgados. Las células adiposas mostraron núcleos periféricos en forma de medialuna (figura 64). El grupo de SM mostró adipocitos con un diámetro estadísticamente mayor (hipertrofia) al de las células observadas en el grupo de DN (tabla 49, figura 65).

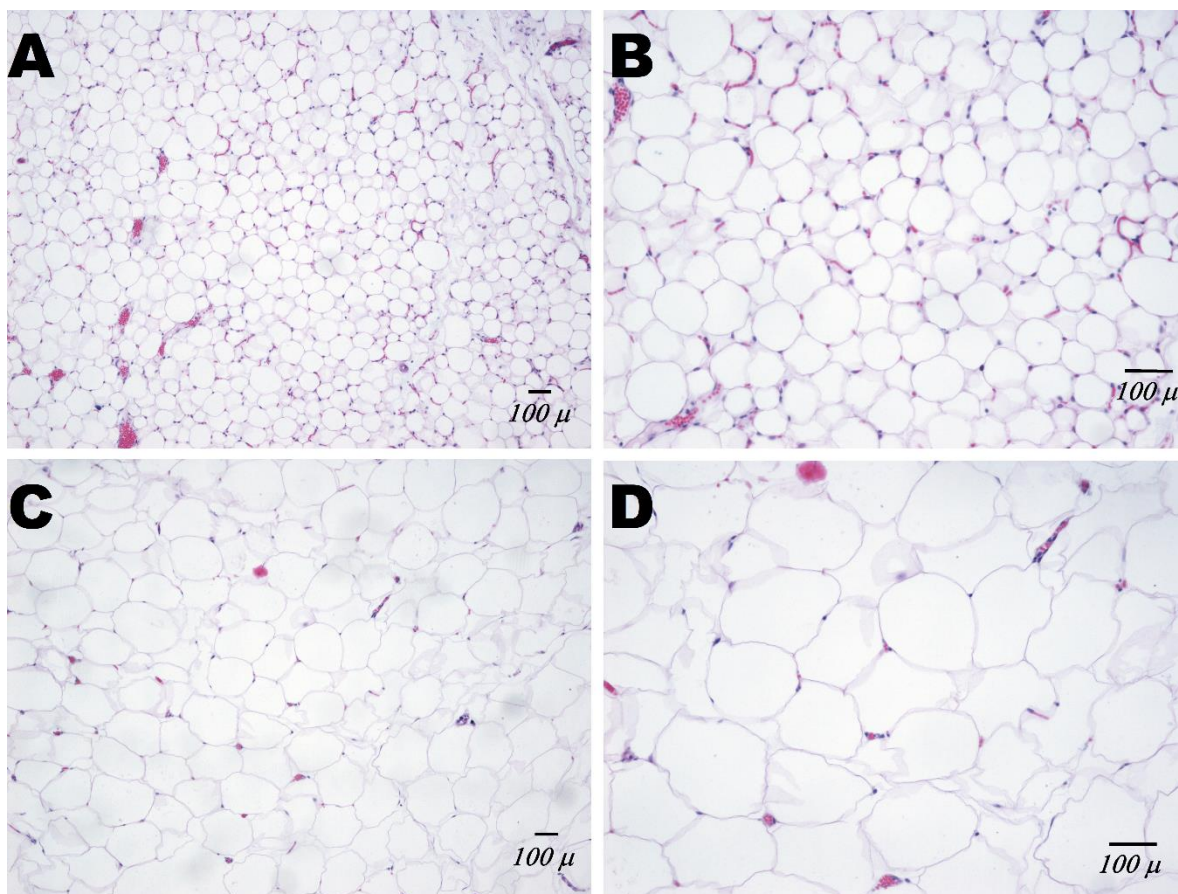


Figura 64. Cortes histológicos representativos de tejido adiposo visceral de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción hematoxilina y eosina. A y B: grupo de DN, adipocitos en forma y tamaño normales. C y D: grupo de SM: hipertrofia de adipocitos.

Tabla 49. Área de adipocitos de tejido adiposo visceral en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Área de Adipocitos (μm^2)
DN	10,642 (8,013-15,804)
SM	47,311 (35,296-87,197)
Valor de <i>p</i>	0.000

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: *dieta normal*; SM: *síndrome metabólico*.

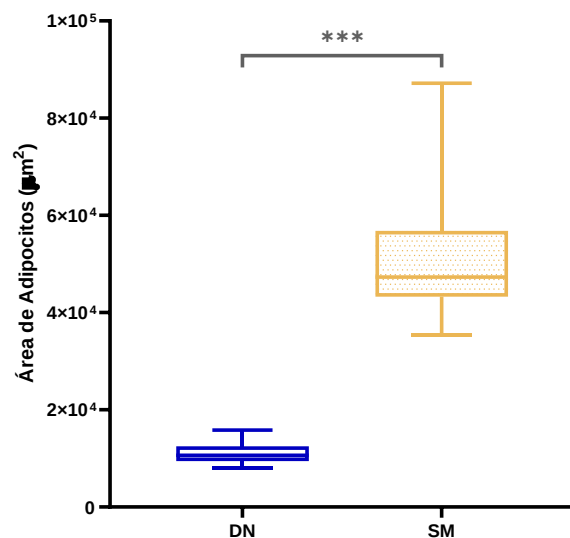


Figura 65. Área de adipocitos viscerales en los grupos de estudio con 20 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de U de Mann-Whitney para datos no paramétricos, se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico.

La tinción con rojo de picrosirius de las secciones de tejido adiposo visceral en el grupo de DN mostró septos de colágeno rodeando los lóbulos del tejido, mientras que en el grupo de SM se observó una pérdida del patrón lobular, lo que implicó que los septos que rodean a cada lóbulo se apreciaran más delgados (figura 66).

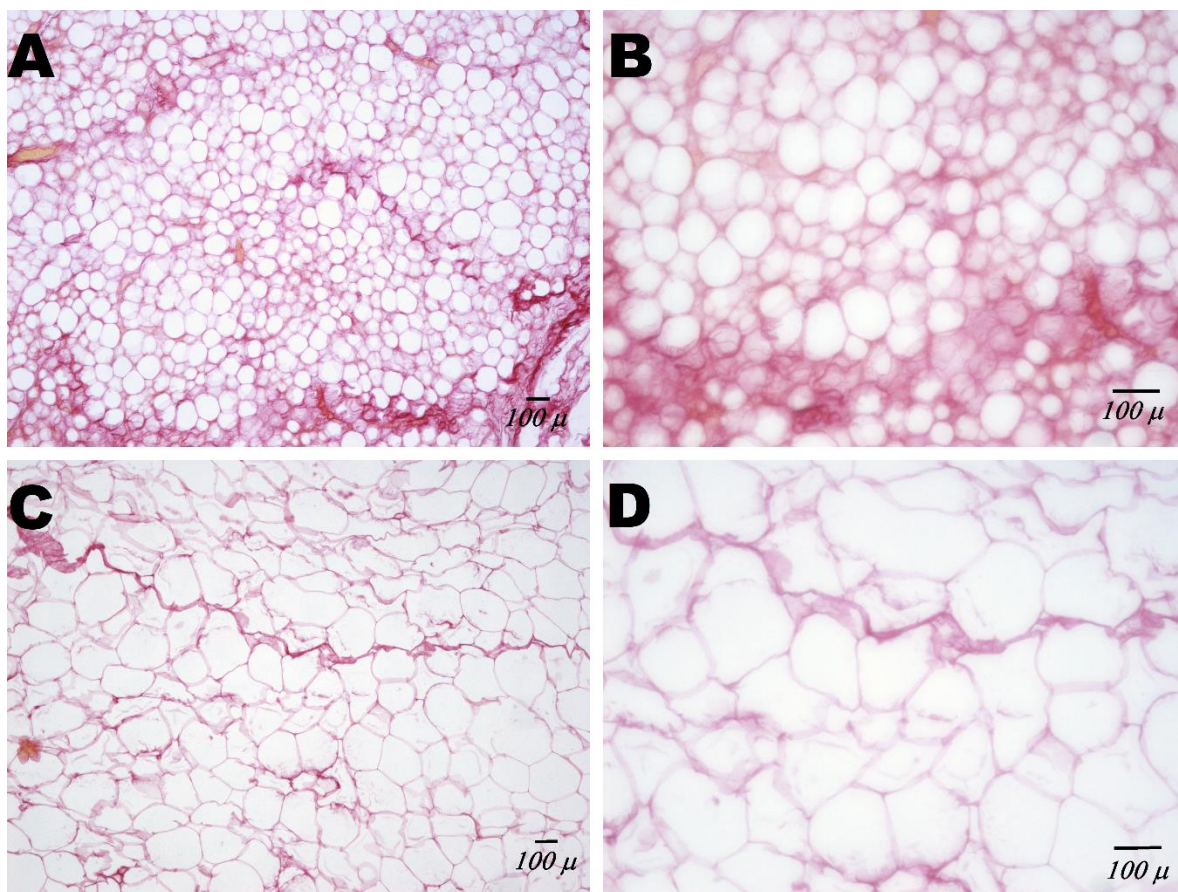


Figura 66. Cortes histológicos representativos de tejido adiposo visceral de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción con rojo de picrosirius. A y B: grupo de DN, septos de colágeno normales. C y D: grupo de SM, pérdida del patrón lobular.

El grupo de SM presentó hipertrofia y pérdida del patrón lobular. La hipertrofia de adipocitos del compartimento de grasa visceral sirve como un predictor significativo de alteraciones cardiometabólicas relacionadas con el SM (Laforest *et al.*, 2015). Se ha demostrado que en el tejido adiposo visceral hipertrófico, las fibras colágenas son de menor tamaño que en tejido normal, debido a la degradación de la matriz extracelular, necesaria para el aumento de tamaño de los adipocitos (hipertrofia) (Poitou *et al.*, 2013).

Los resultados de hipertrofia celular observados en el grupo de SM coinciden con los reportados por Ferreira-Santos *et al.*, (2020) en donde la exposición a una dieta alta en carbohidratos provocó acumulación de tejido adiposo visceral hipertrófico en ratas Wistar en relación con el grupo control. De igual forma, se ha descrito la disminución en el grosor de

los haces que rodean los lóbulos del tejido adiposo en estados de obesidad en animales (Tordjman, 2013).

Resultados 40 semanas de experimentación

Las secciones histológicas de tejido adiposo teñidas con hematoxilina y eosina de los grupos experimentales mostraron células grasas maduras en patrón lobular. El tejido se encontró dividido por finos septos fibrosos con vasos sanguíneos delgados. Los adipocitos mostraron núcleos excéntricos en forma de medialuna (figura 67). El grupo de SM mostró un incremento estadísticamente significativo en el diámetro celular (hipertrofia celular) en relación con el grupo de DN, mientras que, en el grupo de SM+DLC, se observó una disminución significativa del estado de hipertrofia de adipocitos en comparación con el grupo de SM (tabla 50, figura 68).

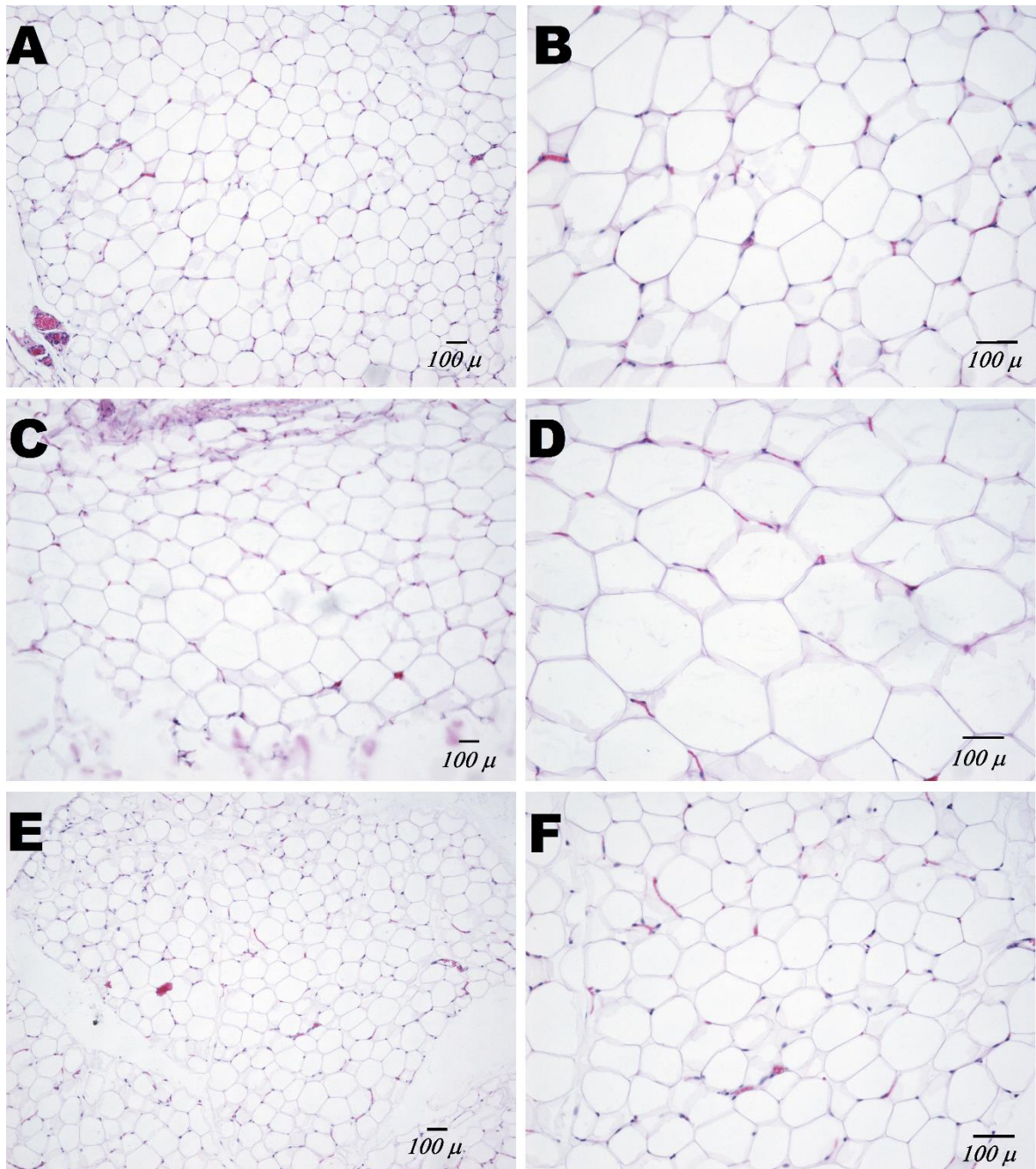


Figura 67. Cortes histológicos representativos de tejido adiposo visceral de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Tinción Hematoxilina y Eosina. A y B: grupo de DN, sin alteraciones histológicas. C y D: grupo de SM, hipertrofia de adipocitos. E y F: grupo de SM+DLC, disminución del área celular con respecto al grupo de SM.

Tabla 50. Área de adipocitos en tejido adiposo visceral en los grupos de estudio.

Grupo de Estudio	Área de Adipocitos (μm^2)
DN	21,291 (17,034-30,635)
SM	45,763 (35,070-86,249)
SM+DLC	19,296 (14,031-30,841)
Valor de <i>p</i>	0.000 ^{1,3} 0.0028 ²

Los datos se presentan como mediana (mínimo-máximo). Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. Las comparaciones fueron: ¹DN vs SM; ²DN vs SM+DLC; ³SM vs SM+DLC. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

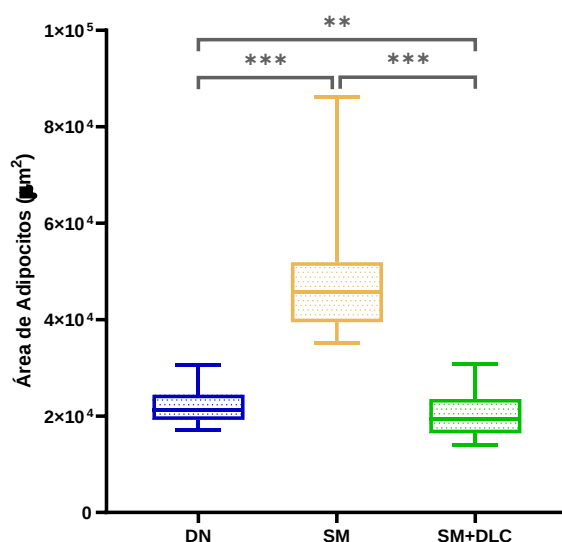


Figura 68. Área de adipocitos viscerales en los grupos de estudio con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de comparación entre grupos por medio de la prueba de Kruskal-Wallis para datos no paramétricos y se empleó la prueba de ajuste de Dunn para comparaciones múltiples *post hoc*. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$. DN: dieta normal; SM: síndrome metabólico; SM+DLC: síndrome metabólico posterior dieta libre de carbohidratos.

La tinción con rojo de picrosirius de los cortes de tejido adiposo del grupo de DN mostró lóbulos bien definidos por septos de colágeno, mientras que el grupo de SM tuvo una pérdida del patrón lobular, observándose como septos más delgados y menos definidos que el grupo de DN. El grupo de SM+DLC tuvo un incremento en el grosor del patrón lobular de

colágeno en relación con el grupo de SM, sin embargo, no se llegó a observar la misma definición y grosor que en el grupo de DN (figura 69).

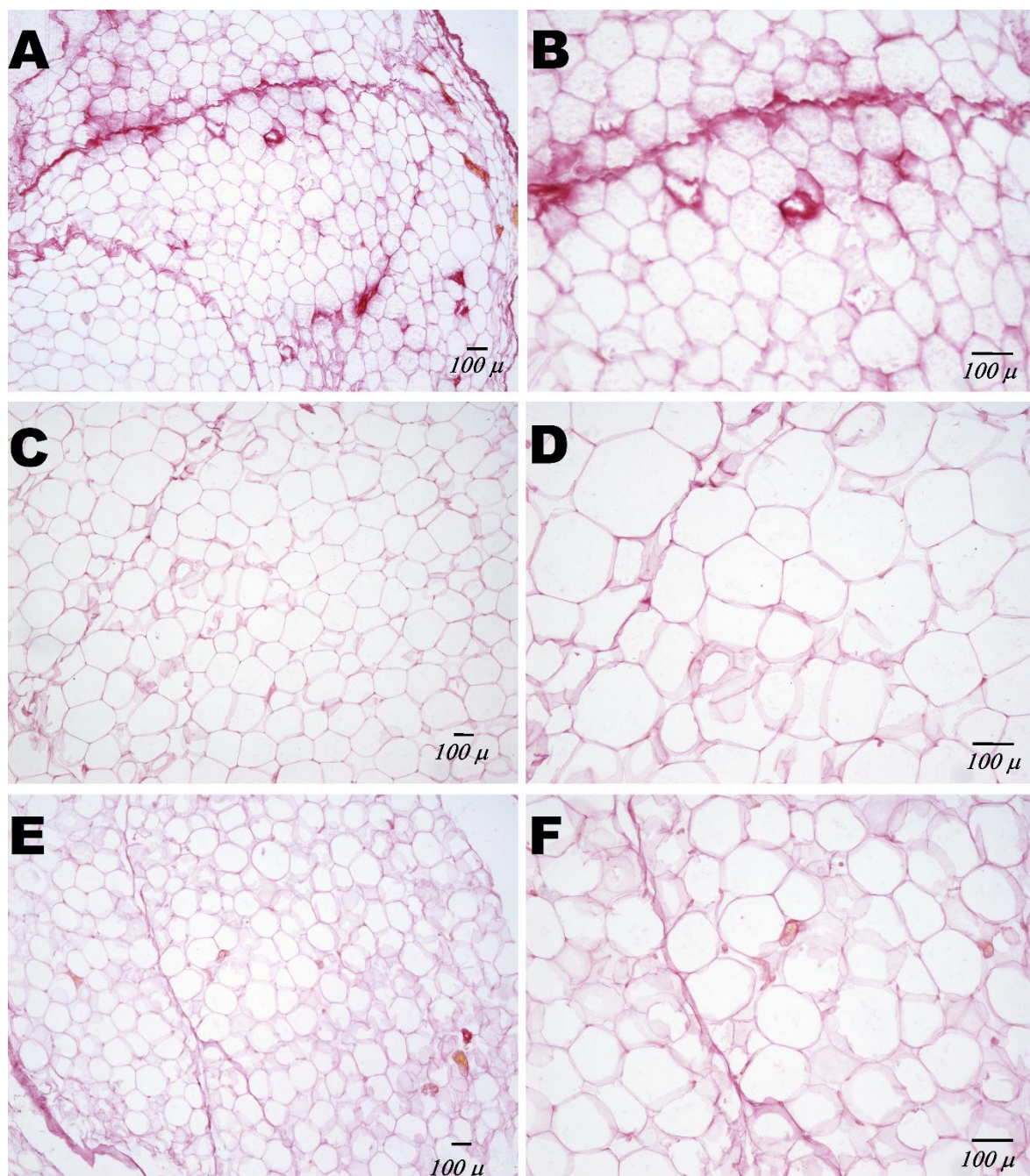


Figura 69. Cortes histológicos representativos de tejido adiposo visceral de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Tinción con rojo de picosirius. A y B: grupo de DN, patrón lobular marcado. C y D: grupo de SM, pérdida del patrón lobular. E y F: grupo de SM+DLC, recuperación parcial del patrón lobular.

El grupo de SM a las 40 semanas de experimentación mostró hipertrofia de adipocitos y pérdida del patrón lobular en relación con el grupo de DN. Mientras que el grupo de SM+DLC mostró una disminución en el área celular y una mejora del patrón lobular, demostrando la efectividad de la DLC en la disminución de la grasa visceral para su posterior oxidación en la obtención de energía.

El tamaño de los adipocitos en el grupo de SM+DLC se correlacionó significativamente con la concentración de glucosa sérica y el peso corporal (figura 70). De acuerdo con los resultados observados, a medida que el peso corporal disminuye, el tamaño de los adipocitos disminuye y, a su vez, existe un decremento en la concentración de glucosa sérica. Existe evidencia acerca de la asociación del tejido adiposo hipertrófico y la resistencia a la insulina. Cuando las células β pancreáticas ya no pueden compensar esta deficiencia, la concentración de glucosa en sangre aumenta. La hiperglucemia puede agravar aún más la disfunción de las células adiposas (Sorisky, 2017).

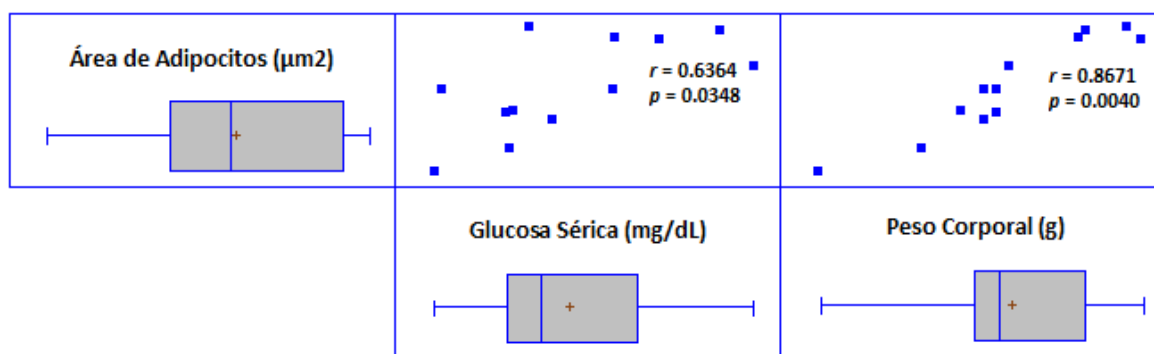


Figura 70. Correlación entre el área de adipocitos, la concentración de glucosa sérica y el peso corporal en el grupo de SM+DLC con 40 semanas de experimentación. Se realizó un análisis de correlación de Spearman para datos no paramétricos. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$.

Se ha demostrado que el índice de adiposidad depende, en gran medida, de la cantidad de proteínas presentes en la dieta. Un aumento en la cantidad de proteína ingerida promueve un menor índice de adiposidad en animales (Marsset-Baglieri *et al.*, 2004).

Los resultados obtenidos concuerdan con la investigación de Pichon *et al.*, (2006) en donde se demostró una disminución en la adiposidad visceral, así como un menor tamaño y

número de adipocitos en animales expuestos a una dieta alta en proteínas y grasas, y libre de carbohidratos.

Se ha demostrado que dietas altas en grasas y libre de carbohidratos favorecen la oxidación de los lípidos para la obtención de energía, en lugar de su almacenamiento en el tejido adiposo. El mecanismo probable que explica este comportamiento es la disminución en la secreción de insulina debido a la ausencia de carbohidratos en la dieta, decrementando con ello el almacenamiento de lípidos. Observándose una disminución de la adiposidad visceral (Marsset-Baglieri *et al.*, 2004).

7.1.2.10.5. Aorta

El SM se asocia con el desarrollo de aterosclerosis. Esta enfermedad se caracteriza por el depósito de una placa a base de calcio y lípidos en la pared aórtica, encontrado comúnmente en individuos con hiperlipidemia crónica (Robbins *et al.*, 2014).

El análisis histopatológico de la aorta permite describir las características comunes de la enfermedad aórtica, tales como degradación estructural, la formación de placas y la infiltración de células inmunes (Go *et al.*, 2018; Ohnuki *et al.*, 2013).

Resultados 20 semanas de experimentación

Los cortes de aorta teñidos con la tinción de Verhoeff van Gieson mostraron tres capas definidas de la aorta en los grupos de DN y SM. La capa íntima, compuesta de células endoteliales aplanadas no mostró alteraciones. La túnica media, formada de músculo liso con fibras reticulares de conformación laminar transcurrieron paralelas, continuas y, en gran medida, equidistantes, sin mostrar alteraciones, al igual que la capa adventicia, donde se observa tejido conectivo laxo eosinófilo hipocelular (figura 71).

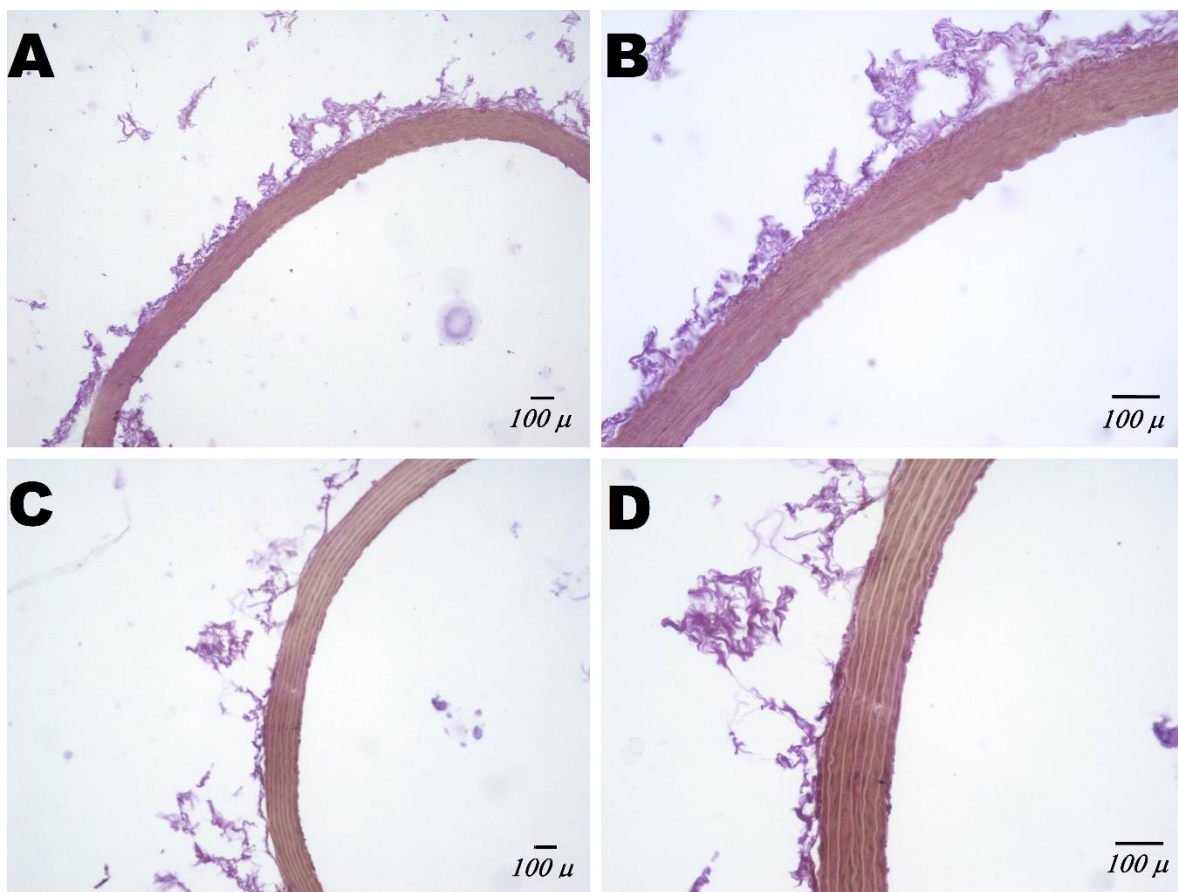


Figura 71. Cortes histológicos representativos de aorta de los grupos de estudio a las 20 semanas de experimentación. Tinción de Verhoeff van Gieson. A y B: grupo de DN, estructura normal, sin alteraciones. C y D: grupo de SM, estructura normal, sin alteraciones evidentes.

Los resultados obtenidos en esta investigación no coinciden con los reportados por otros autores, los cuales reportan anomalías estructurales en la aorta. En un estudio de inducción de SM mediante dieta alta en grasas durante 10 semanas en ratas Wistar se demostró la formación de depósitos de placa lipídica en los espacios interlaminares de la aorta, indicando cambios patológicos vasculares tempranos en relación con el grupo control (Ameer & Salman, 2021). De igual manera, un estudio de inducción de SM en ratas mediante dieta alta en fructosa durante 8 semanas, demostró un aumento del grosor de la túnica media de la aorta en animales con SM en relación con aquellos que recibieron una dieta estándar (Saleh *et al.*, 2017).

Esta discrepancia entre nuestros resultados y los reportados por los autores antes mencionados, se puede deber a que la dieta utilizada no era alta en grasa y se empleó glucosa y no fructuosa.

Resultados 40 semanas de experimentación

Las secciones de aorta de los grupos DN y SM+DLC teñidas con Verhoeff van Gieson mostraron tres capas definidas. La capa íntima, compuesta de células endoteliales planas sin alteraciones. La túnica media, formada de músculo liso con fibras reticulares evidentes que transcurrieron paralelamente, de forma continua y equidistantes. La capa adventicia, conformada de tejido conectivo laxo eosinófilo hipocelular. Por otra parte, el grupo de SM presentó un ensanchamiento focal de la pared de la túnica media, con un acomodo irregular de las fibras elásticas (figura 72).

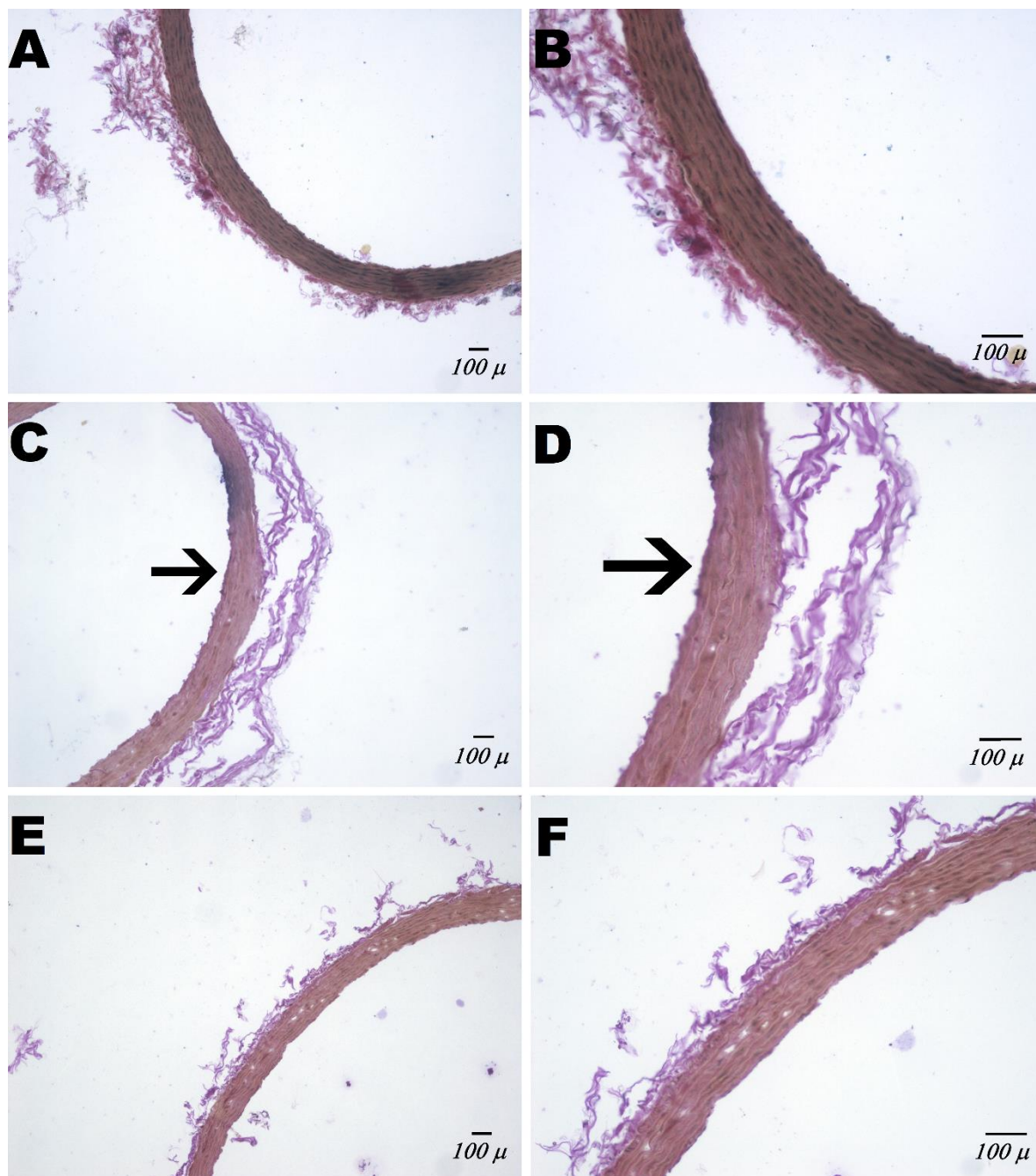


Figura 72. Cortes histológicos representativos de aorta de los grupos de estudio a las 40 semanas de experimentación. Tinción de Verhoeff van Gieson. A y B: grupo de DN, estructura normal. C y D: grupo de SM, ensanchamiento focal de la túnica media y acomodo irregular de las fibras elásticas (flechas). E y F: grupo de SM+DLC, estructura normal, sin alteraciones evidentes.

En base a los resultados obtenidos, el grupo de SM presentó daño a nivel de pared de la túnica media, mientras que el grupo de SM+DLC no presentó anomalías histopatológicas de aorta.

Los resultados obtenidos del grupo de SM coinciden con los reportados por Saleh *et al.*, (2017), en donde se observó un aumento en el grosor de la túnica media en animales sometidos a una dieta alta en carbohidratos, sin embargo, los autores utilizaron fructuosa en un tiempo de 8 semanas, mientras que en este estudio se utilizó glucosa durante 40 semanas.

La modificación en la composición de las dietas es una de las principales estrategias para la prevención y el mantenimiento de enfermedades cardiovasculares. Las dietas bajas en carbohidratos han demostrado la mejora de factores de riesgo de la enfermedad coronaria aterosclerótica (Hu *et al.*, 2019).

8. CONCLUSIONES

Se formuló una dieta hiperglucémica e hipercalórica y una DLC ajustando la cantidad de grasas y proteínas.

Se evidenció la generación del SM en ratas de la cepa Wistar mediante la administración de la dieta hiperglucémica presentándose obesidad visceral, resistencia a la insulina, dislipidemia, inflamación, lipoperoxidación sérica y hepática, así como alteraciones histológicas en hígado, riñón, páncreas y tejido adiposo visceral.

El cambio hacia una DLC en los animales con SM normalizó los parámetros morfométricos y bioquímicos, excepto las concentraciones de glucosa y urea. Mientras que a nivel histopatológico mostró una mejora parcial en las alteraciones en hígado, riñón, páncreas, tejido adiposo y aorta.

No se acepta la hipótesis propuesta. Los resultados demuestran que las alteraciones metabólicas generadas con la dieta hiperglucémica no se revierten totalmente con la administración de una DLC, al mostrarse concentraciones elevadas de glucosa y urea, así como inflamación y daño celular a nivel hepático. Sin embargo, si se revierte los estados de dislipidemia, resistencia a la insulina, inflamación sistémica, lipoperoxidación y el daño histopatológico a nivel renal, pancreático y adiposo.

PERSPECTIVAS

La formulación de las dietas bajas y libres de carbohidratos modifican en diferentes grados al metabolismo de la glucosa y los lípidos. En este estudio, se administró una dieta libre de carbohidratos, y pese a ello la concentración plasmática de glucosa permaneció elevada en los animales. Este efecto pudo deberse a un aumento en la tasa de gluconeogénesis estimulado por el alto contenido de proteínas de la dieta, la elevación en la concentración de urea parece corroborarlo. Para confirmar esta hipótesis, es necesario evaluar el efecto de la dieta libre de carbohidratos manteniendo el porcentaje de proteínas dentro del rango establecido en la NOM-062-ZOO-1999 que señala un porcentaje máximo del 24%. En consecuencia, el porcentaje de grasas se deberá incrementar al 50-55%. Al aumentar la proporción de grasas y disminuir las proteínas consumidas en la dieta, teóricamente debería disminuir la gluconeogénesis y en consecuencia disminuir la glucemia y el nivel de urea. Por otro lado, se incrementaría el metabolismo de los lípidos llevando a los animales a un estado mayor de cetosis, que mejoraría el estatus de los marcadores de dislipidemia, inflamación, y a nivel histológico.

Un segundo tema a evaluar sería indagar el efecto que las hormonas femeninas ejercen sobre la eficacia de esta dieta, y su extrapolación en el tratamiento de otras condiciones patológicas como la obesidad, DM2, aterosclerosis, enfermedades autoinmunes, entre otras enfermedades crónicas.

9. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	INICIO DEL PLAN	DURACIÓN DEL PLAN (semanas)	2020				2021												2022					
			Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun
Etapa I: Inicio de dietas altas en grasas y carbohidratos, control negativo	21-sep-20	40																						
Formulación y preparación de dieta libre de carbohidratos	07-dic-20	2																						
Cambio hacia dieta libre de carbohidratos	10-mar-21	20																						
Etapa II: Mediciones glucosa, peso y talla	21-sep-21	40																						
Etapa III: Obtención de sangre total y tejidos	21-jul-21 11-ago-21 04-sep-21 04-oct-21	16																						
Determinación cuantitativa de parámetros bioquímicos	21-jul-21	16																						
Técnica histológica y evaluación histopatológica	21-jul-21	24																						
Revisión bibliográfica	21-sep-20	84																						

* Ya se realizó; * Falta por realizar.

VI. REFERENCIAS

- Al-Khalifa, A., Mathew, T. C., Al-Zaid, N. S., Mathew, E., & Dashti, H. M. (2009). Therapeutic role of low-carbohydrate ketogenic diet in diabetes. *Nutrition*, 25(11–12), 1177–1185.
<https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.004>
- Arimura, E., Pulong, W. P., Marchianti, A. C. N., Nakakuma, M., Abe, M., Ushikai, M., & Horiuchi, M. (2017). Deteriorated glucose metabolism with a high-protein, low-carbohydrate diet in db mice, an animal model of type 2 diabetes, might be caused by insufficient insulin secretion. *European Journal of Nutrition*, 56(1), 237–246. <https://doi.org/10.1007/s00394-015-1075-y>
- Aufenanger, J., & Kattermann, R. (1995). Klinisch-chemische Meßgröße: Freie Fettsäuren (FFS). In: Greiling H, Gressner AM. *Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie: Schattauer*. 319-20.
- Ajiboye, T. O., Hussaini, A. A., Nafiu, B. Y., & Ibitoye, O. B. (2017). Aqueous seed extract of *Hunteria umbellata* (K. Schum.) Hallier f. (Apocynaceae) palliates hyperglycemia, insulin resistance, dyslipidemia, inflammation and oxidative stress in high-fructose diet-induced metabolic syndrome in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 198, 184–193.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.11.043>
- Al-Daghri, N. M., Al-Attas, O. S., Wani, K., Sabico, S., & Alokail, M. S. (2017). Serum Uric Acid to Creatinine Ratio and Risk of Metabolic Syndrome in Saudi Type 2 Diabetic Patients. *Scientific Reports*, 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12085-0>
- Al-Khalifa, A., Mathew, T. C., Al-Zaid, N. S., Mathew, E., & Dashti, H. M. (2009). Therapeutic role of low-carbohydrate ketogenic diet in diabetes. *Nutrition*, 25(11–12), 1177–1185.
<https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.004>
- Albrahim, T., & Alonazi, M. A. (2021). Lycopene corrects metabolic syndrome and liver injury induced by high fat diet in obese rats through antioxidant, anti-inflammatory, antifibrotic pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 141, 111831.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111831>
- Alexander, M. P., Patel, T. V, Farag, Y. M. K., Florez, A., Rennke, H. G., & Singh, A. K. (2009). Kidney Pathological Changes in Metabolic Syndrome: A Cross-sectional Study. *American Journal of Kidney Diseases: The Official Journal of the National Kidney Foundation*, 53(5), 751–759. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2009.01.255>

- Allende, D. S., Gawrieh, S., Cummings, O. W., Belt, P., Wilson, L., Natta, M. Van, Behling, C. A., Carpenter, D., Gill, R. M., Kleiner, D. E., Yeh, M. M., Chalasani, N., & Guy, C. D. (2021). Glycogenesis is common in nonalcoholic fatty liver disease and is independently associated with ballooning, but lower steatosis and lower fibrosis. *Liver International*, 41, 996–1011. <https://doi.org/10.1111/liv.14773>
- Alwahsh, S. M., Dwyer, B. J., Forbes, S., van Thiel, D. H., Starkey Lewis, P. J., & Ramadori, G. (2017). Insulin production and resistance in different models of diet-induced obesity and metabolic syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2). <https://doi.org/10.3390/ijms18020285>
- Ameer, O. Z., & Salman, I. M. (2021). Assessment of the Physiological and Pathological Structural Differences Along the Aorta in a Rat Model of Metabolic Syndrome. *American Heart Association, Inc.*, 144, A13462. https://doi.org/10.1161/circ.144.suppl_1.13462
- Añez, R., Morillo, J., Rojas, M., Torres, Y., Apruzzese, V., Martínez, M. S., Salazar, J., Rojas, J., & Bermúdez, V. (2016). Punto de corte de homeostasis model assessment (HOMA-IR) para determinar insulinoresistencia en individuos adultos del municipio Maracaibo-Estado Zulia, Venezuela. *Avances En Biomedicina*, 4(1), 09–18.
- Antunes, L. C., Elkfury, J. L., Jornada, M. N., Foletto, K. C., & Bertoluci, M. C. (2016). Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 60(2), 138–142. <https://doi.org/10.1590/2359-3997000000169>
- Arimura, E., Pulong, W. P., Marchianti, A. C. N., Nakakuma, M., Abe, M., Ushikai, M., & Horiuchi, M. (2017). Deteriorated glucose metabolism with a high-protein, low-carbohydrate diet in db mice, an animal model of type 2 diabetes, might be caused by insufficient insulin secretion. *European Journal of Nutrition*, 56(1), 237–246. <https://doi.org/10.1007/s00394-015-1075-y>
- Ashraf, H., Laway, B. A., Afroze, D., & Wani, A. I. (2018). Evaluation of Proinflammatory Cytokines in Obese vs Non-obese Patients with Metabolic Syndrome. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 22(6), 751–756. <https://doi.org/10.4103/ijem.IJEM>
- Association, A. D. (2015). *DKA Ketoacidosis & Ketones*. Arlington. <http://www.diabetes.org/living-with-diabetes/complications/ketoacidosis-dka.html?referrer>
- Auberval, N., Dal, S., Maillard, E., Bietiger, W., Peronet, C., Pinget, M., Schini-Kerth, V., & Sigrist, S. (2017). Beneficial effects of a red wine polyphenol extract on high-fat diet-induced metabolic syndrome in rats. *European Journal of Nutrition*, 56(4), 1467–1475.

<https://doi.org/10.1007/s00394-016-1192-2>

- Avelar, T. M. T., Storch, A. S., Castro, L. A., Azevedo, G. V. M. M., Ferraz, L., & Lopes, P. F. (2015). *Oxidative stress in the pathophysiology of metabolic syndrome : which mechanisms are involved ? August*, 231–239.
- Axen, K. V., & Axen, K. (2010). Longitudinal adaptations to very low-carbohydrate weight-reduction diet in obese rats: Body composition and glucose tolerance. *Obesity*, 18(8), 1538–1544. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.466>
- Azzout, B., Chanez, M., Bois-Joyeux, B., & Peret, J. (1984). Gluconeogenesis from dihydroxyacetone in rat hepatocytes during the shift from a low protein, high carbohydrate to a high protein, carbohydrate-free diet. *Journal of Nutrition*, 114(11), 2167–2178. <https://doi.org/10.1093/jn/114.11.2167>
- Beriaio, J. C., & Gutiérrez, C. (2006). Glomerulosclerosis segmentaria y focal: Lesiones tempranas en el síndrome nefrótico primitivo. *Arch. Pediatr. Urug.*, 77(2), 93–102.
- Bernardis, L. L., & Patterson, B. D. (1968). Correlation between “Lee index” and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *The Journal of Endocrinology*, 40(4), 527–528. <https://doi.org/10.1677/joe.0.0400527>
- Bevilacqua, A., & Bizzarri, M. (2018). Inositols in insulin signaling and glucose metabolism. *International Journal of Endocrinology*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/1968450>
- Bielohuby, M., Sisley, S., Sandoval, D., Herbach, N., Zengin, A., Fischereider, M., Menhofer, D., Stoehr, B. J. M., Stemmer, K., Wanke, R., Tschöp, M. H., Seeley, R. J., & Bidlingmaier, M. (2013). Impaired glucose tolerance in rats fed low-carbohydrate, high-fat diets. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 305(9). <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00208.2013>
- Binesh Marvasti, T., & Adeli, K. h. (2010). Pharmacological management of metabolic syndrome and its lipid complications. *Daru: Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences*, 18(3), 146–154.
- Blouet, C., Mariotti, F., Azzout-Marniche, D., Bos, C., Mathé, V., Tomé, D., & Huneau, J. F. (2006). The reduced energy intake of rats fed a high-protein low-carbohydrate diet explains the lower fat deposition, but macronutrient substitution accounts for the improved glycemic control. *Journal of Nutrition*, 136(7), 1849–1854. <https://doi.org/10.1093/jn/136.7.1849>

- Bogdanet, D., Shea, P. O., Lyons, C., Shafat, A., & Dunne, F. (2020). The Oral Glucose Tolerance Test—Is It Time for a Change?—A Literature Review with an Emphasis on Pregnancy. *Journal of Clinical Medicine*, 9(11), 3451. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/jcm9113451>
- Bratoeva, K., Nikolova, S., Merdzhanova, A., Stoyanov, G. S., Dimitrova, E., Kashlov, J., Conev, N., & Radanova, M. (2018). Association between serum CK-18 levels and the degree of liver damage in fructose-induced metabolic syndrome. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 16(7), 350–357. <https://doi.org/10.1089/met.2017.0162>
- Brito, S. M. R. C., Moura, M. A. F., Kawashita, N. H., Festuccia, W. T. L., Garófalo, M. A. R., Kettelhut, I. C., & Migliorini, R. H. (2005). Adaptation to a high protein, carbohydrate-free diet induces a marked reduction of fatty acid synthesis and lipogenic enzymes in rat adipose tissue that is rapidly reverted by a balanced diet. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 83(6), 477–482. <https://doi.org/10.1139/y05-035>
- Bucolo, G., Yabut, J., & Chang, T. Y. (1975). Mechanized enzymatic determination of triglycerides in serum. *Clinical Chemistry*, 21(3), 420–424.
- Buzzetti, E., Pinzani, M., & Tsochatzis, E. A. (2016). The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Metabolism: Clinical and Experimental*, 65(8), 1038–1048. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.12.012>
- Cabrera A., F. J., & García C., G. C. (2009). Histología del riñón de la baba (caimán *Crocodilus crocodilus*). *Rev. Fac. Cs. Vets.*, 50(2), 67–76.
- Caton, S. J., Yinglong, B., Burget, L., Spangler, L. J., Tschöp, M. H., & Bidlingmaier, M. (2009). Low-carbohydrate high-fat diets: Regulation of energy balance and body weight regain in rats. *Obesity*, 17(2), 283–289. <https://doi.org/10.1038/oby.2008.529>
- Chan, A. M. L., Ng, A. M. H., Mohd Yunus, M. H., Idrus, R. B. H., Law, J. X., Yazid, M. D., Chin, K. Y., Shamsuddin, S. A., & Lokanathan, Y. (2021). Recent developments in rodent models of high-fructose diet-induced metabolic syndrome: A systematic review. *Nutrients*, 13(8), 1–21. <https://doi.org/10.3390/nu13082497>
- Chan, Y. K., Davis, P. F., Poppitt, S. D., Sun, X., Greenhill, N. S., Krishnamurthi, R., Przepiorski, A., McGill, A. T., & Krissansen, G. W. (2012). Influence of tail versus cardiac sampling on blood glucose and lipid profiles in mice. *Laboratory Animals*, 46(2), 142–147. <https://doi.org/10.1258/la.2011.011136>

- Chen, J. H., Ouyang, C., Ding, Q., Song, J., Cao, W., & Mao, L. (2015). A moderate low-carbohydrate low-calorie diet improves lipid profile, insulin sensitivity and adiponectin expression in rats. *Nutrients*, 7(6), 4724–4738. <https://doi.org/10.3390/nu7064724>
- Cheng, H., Huang, J., Chiang, C., Yen, C., Hung, K., & Wu, K. (2012). Metabolic Syndrome and Insulin Resistance as Risk Factors for Development of Chronic Kidney Disease and Rapid Decline in Renal Function in Elderly. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97(4), 1268–1276. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-2658>
- Chimienti, G., Orlando, A., Lezza, A. M. S., D'Attoma, B., Notarnicola, M., Gigante, I., Pesce, V., & Russo, F. (2021). The Ketogenic Diet Reduces the Harmful Effects of Stress on Gut Mitochondrial Biogenesis in a Rat Model of Irritable Bowel Syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*, 22, 3498. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms22073498>
- Chiu, S., Williams, P. T., Dawson, T., Bergman, R. N., Stefanovski, D., Watkins, S. M., & Krauss, R. M. (2014). Diets high in protein or saturated fat do not affect insulin sensitivity or plasma concentrations of lipids and lipoproteins in overweight and obese adults. *Journal of Nutrition*, 144(11), 1753–1759. <https://doi.org/10.3945/jn.114.197624>
- Cho, I.-J., Oh, D.-H., Yoo, J., Hwang, Y.-C., Ahn, K.-J., Chung, H.-Y., Jeong, S. W., Moon, J.-Y., Sang-Ho, L., Lim, S.-J., & Jeong, I.-K. (2021). Allopurinol ameliorates high fructose diet induced hepatic steatosis in diabetic rats through modulation of lipid metabolism, inflammation, and ER stress pathway. *Scientific Reports*, 11(1), 9894. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88872-7>
- Choudhary, N. S., Duseja, A., Kalra, N., Das, A., Dhiman, R. K., & Chawla, Y. K. (2012). Correlation of adipose tissue with liver histology in Asian Indian patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Annals of Hepatology*, 11(4), 478–486. [https://doi.org/10.1016/s1665-2681\(19\)31461-9](https://doi.org/10.1016/s1665-2681(19)31461-9)
- Cubillos, V., López, C., & Alberdi, A. (2008). Histopathologic and immunohistochemical study of pancreas in alloxan-induced diabetic dogs. *Arch. Med. Vet.*, 177, 169–177.
- Cuenca-Sánchez, M., Navas-Carrillo, D., & Orenes-Piñero, E. (2015). Controversies surrounding high-protein diet intake: Satiating effect and kidney and bone health. *Advances in Nutrition*, 6(3), 260–266. <https://doi.org/10.3945/an.114.007716>
- de Luis, D. A., Aller, R., Izaola, O., de la Fuente, B., Conde, R., González Sagrado, M., & Primo, D. (2012). Evaluation of weight loss and adipocytokines levels after two hypocaloric diets with different macronutrient distribution in obese subjects with rs9939609 gene variant.

Diabetes/Metabolism Research and Reviews, 28, 663–668. <https://doi.org/10.1002/dmrr>

- De Meyts, P. (2016). The Insulin Receptor and Its Signal Transduction Network. In K. Feingold, B. Anawalt, & A. Boyce (Eds.), *Endotext*. MDText.com, Inc.
- Diniz, M. de F. H. S., Beleigoli, A. M. R., Schmidt, M. I., Duncan, B. B., Vidigal, P. G., Benseñor, I. M., Lotufo, P. A., Santos, I. S., Griep, R. H., & Barreto, S. M. (2020). Homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and metabolic syndrome at baseline of a multicentric Brazilian cohort: ELSA-Brasil study. *Cadernos de Saude Publica*, 36(8), e00072120. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00072120>
- El-Bassossy, H. M., & Shaltout, H. A. (2015). Allopurinol alleviates hypertension and proteinuria in high fructose, high salt and high fat induced model of metabolic syndrome. *Translational Research*, 165(5), 621–630. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.11.008>
- Elabbassi, W. N., & Haddad, H. A. (2005). The epidemic of the metabolic syndrome. *Saudi Medical Journal*, 26(3), 373–375.
- Emanuela, F., Grazia, M., Marco, D. R., Paola, L. M., Giorgio, F., & Marco, B. (2012). Inflammation as a Link between Obesity and Metabolic Syndrome. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2012, 476380. <https://doi.org/10.1155/2012/476380>
- Fakhoury-Sayegh, N., Trak-Smayra, V., Sayegh, R., Haidar, F., Obeid, O., Asmar, S., & Khazzaka, A. (2019). Fructose threshold for inducing organ damage in a rat model of nonalcoholic fatty liver disease. In *Nutrition Research* (Vol. 62). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2018.11.003>
- Faustinella, F., Uzoh, C., Sheikh-Hamad, D., Truong, L. D., & Olivero, J. J. (1997). Glomerulomegaly and Proteinuria in a Patient with Idiopathic Pulmonary Hypertension. *Journal of the American Society of Nephrology*, 8(12), 1966–1970. <https://doi.org/10.1681/ASN.V8121966>
- Ferreira-Santos, P., Aparicio, R., Carrón, R., Montero, M. J., & Sevilla, M. Á. (2020). Lycopene-supplemented diet ameliorates metabolic syndrome induced by fructose in rats. *Journal of Functional Foods*, 73(July), 104098. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104098>
- Fong, J., Schaffer, F. L., & Kirk, P. L. (1953). The ultramicrodetermination of glycogen in liver. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 45(2), 319–326.
- Forouhi, N. G., Krauss, R. M., Taubes, G., & Willett, W. (2018). Dietary fat and cardiometabolic health: Evidence, controversies, and consensus for guidance. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 361,

k2139. <https://doi.org/10.1136/bmj.k2139>

- Fox, C. H., Johnson, F. B., Whiting, J., & Roller, P. P. (1985). Formaldehyde Fixation. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 33(8), 845–853. <https://doi.org/10.1177/1461444810365020>
- Fukazawa, A., Koike, A., Karasawa, T., Tsutsui, M., Kondo, S., & Terada, S. (2020). Effects of a ketogenic diet containing medium-chain triglycerides and endurance training on metabolic enzyme adaptations in rat skeletal muscle. *Nutrients*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/nu12051269>
- Gerard, S. (2019). Diabetes mellitus y el síndrome metabólico. In S. Grossman & C. M. Porth (Eds.), *Porth fisiopatología: Alteraciones de la salud, conceptos básicos*. (10th ed., pp. 987–1016). Lippincott Williams & Wilkins.
- Gierach, M., Gierach, J., & Junik, R. (2016). Evaluation of lipid profiles in patients with metabolic syndrome according to cardiovascular risk calculated on the basis of the SCORE chart. *Endokrynologia Polska*, 67(3), 265–270. <https://doi.org/10.5603/EP>
- Go, J. L., Prem, K., Al-hijji, M. A., Qin, Q., Noble, C., Young, M. D., Lerman, L. O., & Lerman, A. (2018). Experimental Metabolic Syndrome Model Associated with Mechanical and Structural Degenerative Changes of the Aortic Valve. *Scientific Reports*, 8, 17835. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36388-y>
- Godoy-Matos, A. F., Silva Júnior, W. S., & Valerio, C. M. (2020). NAFLD as a continuum: From obesity to metabolic syndrome and diabetes. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 12(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s13098-020-00570-y>
- González-Chávez, A., Gómez-Miranda, J. E., Elizondo-Argueta, S., Rangel-Mejía, M. del P., & Sánchez-Zúñiga, M. de J. (2019). Guía de práctica clínica de síndrome metabólico. *Revista ALAD*, 9, 179–200. <https://doi.org/10.24875/ALAD.19000381>
- Gueugneau, M., Coudy-gandilhon, C., Théron, L., Meunier, B., Barboiron, C., Combaret, L., Taillandier, D., Polge, C., Attaix, D., Picard, B., Verney, J., Roche, F., Féasson, L., Barthélémy, J., & Béchet, D. (2015). Skeletal Muscle Lipid Content and Oxidative Activity in Relation to Muscle Fiber Type in Aging and Metabolic Syndrome. *Journal of Gerontology: BIOLOGICAL SCIENCE*, 70(5), 566–576. <https://doi.org/10.1093/gerona/glu086>
- Güleş, Ö., & Tatar, M. (2020). Effects of Fructose-Induced Metabolic Syndrome on Kidney Histology in Rats. *Kocatepe Veterinary Journal*, 13(2), 203–209. <https://doi.org/10.30607/kvj.715053>
- Gunawan, S., Aulia, A., & Soetikno, V. (2021). Development of rat metabolic syndrome models: A

- review. *Veterinary World*, 14(7), 1774–1783. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.1774-1783>
- Gutch, M., Kumar, S., Razi, S. M., Gupta, K. K., & Gupta, A. (2015). Assessment of insulin sensitivity/resistance. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 19(1), 160–164. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.146874>
- Haile, K., Haile, A., & Timerga, A. (2021). Predictors of Lipid Profile Abnormalities Among Patients with Metabolic Syndrome in Southwest Ethiopia: A Cross-Sectional Study. *Vascular Health and Risk Management*, 17(7), 461–469. <https://doi.org/10.2147/VHRM.S319161>
- Hallberg, S. J., Gershuni, V. M., & Athinarayanan, S. J. (2019). Reversing type 2 diabetes: A narrative review of the evidence. *Nutrients*, 11(4), 1–16. <https://doi.org/10.3390/nu11040766>
- Hao, L., Lu, X., Sun, M., Li, K., Shen, L., & Wu, T. (2015). Protective Effects of L-arabinose in High-Carbohydrate, High-Fat Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rats. *Food and Nutrition Research*, 59, 28886. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3402/fnr.v59.2888>
- Hariri, N., & Thibault, L. (2010). High-fat diet-induced obesity in animal models. *Nutrition Research Reviews*, 23(2), 270–299. <https://doi.org/10.1017/S0954422410000168>
- Hartman, C., Rennert, H. S., Rennert, G., Elenberg, Y., & Zuckerman, E. (2020). Prevalence of elevated liver enzymes and comorbidities in children and adolescents with overweight and obesity. *Acta Paediatrica*. <https://doi.org/10.1111/apa.15469>
- Hazarika, A., Kalita, H., Boruah, D. C., Kalita, M. C., & Devi, R. (2016). Pathophysiology of metabolic syndrome: The onset of natural recovery on withdrawal of high-carbohydrate high-fat diet. *Nutrition*, 32(10), 1081–1091. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.03.005>
- Homayounfar, R., Ehrampoush, E., Koohpaye, S. A., Meshkibaf, M. H., Taghizade, S., Almasi, A., Shahsavani, B., & Zand, H. (2013). Diet-induced metabolic syndrome model in rats. *Journal of Advanced Biomedical Sciences*, 2(4), 288–296.
- Horii, T., Fujita, Y., Ishibashi, C., Fukui, K., Eguchi, H., Kozawa, J., & Shimomura, I. (2020). Islet inflammation is associated with pancreatic fatty infiltration and hyperglycemia in type 2 diabetes. *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 8(1), e001508. <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2020-001508>
- Hu, T., Jacobs, D. R., Bazzano, L. A., Bertoni, A. G., & Steffen, L. M. (2019). Low-carbohydrate diets and prevalence, incidence and progression of coronary artery calcium in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *British Journal of Nutrition*, 121(4), 461–468.

<https://doi.org/10.1017/S0007114518003513>

- Huang, P. L. (2009). A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Disease Models & Mechanisms*, 2(5–6), 231–237. <https://doi.org/10.1242/dmm.001180>
- Hyde, P. N., Sapper, T. N., Crabtree, C. D., LaFountain, R. A., Bowling, M. L., Buga, A., Fell, B., McSwiney, F. T., Dickerson, R. M., Miller, V. J., Scandling, D., Simonetti, O. P., Phinney, S. D., Kraemer, W. J., King, S. A., Krauss, R. M., & Volek, J. S. (2019). Dietary carbohydrate restriction improves metabolic syndrome independent of weight loss. *JCI Insight*, 4(12), e128308. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.128308>
- Inaishi, J., & Saisho, Y. (2020). Beta-Cell Mass in Obesity and Type 2 Diabetes, and Its Relation to Pancreas Fat: A Mini-Review. *Nutrients*, 12, 3846. <https://doi.org/10.3390/nu12123846>
- INEGI. (2019). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018. *Instituto Nacional de Salud Pública*.
- Jagannathan, R., Neves, J. S., Dorcelly, B., Chung, S. T., Tamura, K., Rhee, M., & Bergman, M. (2020). The Oral Glucose Tolerance Test: 100 Years Later. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 13, 3787–3805.
- Jeong, H., Baek, S., Kim, S. W., Park, E., Lee, J., Kim, H., & Jeon, C. H. (2019). C reactive protein level as a marker for dyslipidaemia, diabetes and metabolic syndrome : results from the Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *BJM Open*, 9, 1–11. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-029861>
- Jonasson, L., Guldbrand, H., Lundberg, A. K., & Nystrom, F. H. (2014). *Advice to follow a low-carbohydrate diet has a favourable impact on low-grade inflammation in type 2 diabetes compared with advice to follow a low-fat diet*. 1–6. <https://doi.org/10.3109/07853890.2014.894286>
- Judge, A., & Dodd, M. S. (2020). Metabolism. *Essays in Biochemistry*, 64(July), 607–647. <https://doi.org/10.1042/EBC20190041>
- Juraschek, S. P., Chang, A. R., Appel, L. J., Anderson, C. A. M., Crews, D. C., Thomas, L., Charleston, J., & Iii, E. R. M. (2016). Effect of glycemic index and carbohydrate intake on kidney function in healthy adults. *BMC Nephrology*, 17(1), 70. <https://doi.org/10.1186/s12882-016-0288-5>
- Jürgens, H. S., Neschen, S., Ortmann, S., Scherneck, S., Schmolz, K., Schüler, G., Schmidt, S., Blüher,

- M., Klaus, S., Perez-Tilve, D., Tschöp, M. H., Schürmann, A., & Joost, H. G. (2007). Development of diabetes in obese, insulin-resistant mice: Essential role of dietary carbohydrate in beta cell destruction. *Diabetologia*, 50(7), 1481–1489. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0662-8>
- Kamuren, Z. T., Sanders, R., & Watkins, J. B. (2006). Low-carbohydrate diet and oxidative stress in diabetic and nondiabetic rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 20(5), 259–269. <https://doi.org/10.1002/jbt.20142>
- Kang, Y. E., Kim, J. M., Joung, K. H., Lee, J. H., You, B. R., Choi, M. J., Ryu, M. J., Ko, Y. B., Lee, M. A., Lee, J., Ku, B. J., Shong, M., Lee, K. H., & Kim, H. J. (2016). The Roles of Adipokines, Proinflammatory Cytokines, and Adipose Tissue Macrophages in Obesity-Associated Insulin Resistance in Modest Obesity and Early Metabolic Dysfunction. *PLoS ONE*, 11(4), e0154003. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154003>
- Kanungo, S., Wells, K., Tribett, T., & El-Gharbawy, A. (2018). Glycogen metabolism and glycogen storage disorders. *Annals of Translational Medicine*, 6(24), 474. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.10.59>
- Kanwar, P., Nelson, J. E., Yates, K., Kleiner, D. E., Unalp-Arida, A., & Kowdley, K. V. (2016). Association between metabolic syndrome and liver histology among NAFLD patients without diabetes. *BMJ Open Gastroenterology*, 3(1), e000114. <https://doi.org/10.1136/bmjgast-2016-000114>
- Kaplan, L. A., Cline, D., Garside, P., Burstein, S., Sperling, M., & Stein, E. A. (1984). Hemoglobin A1 in hemolysates from healthy and insulin-dependent diabetic children, as determined with a temperature-controlled minicolumn assay. *Clinical Chemistry*, 28(1), 13–18.
- Kassi, E., Pervanidou, P., Kaltsas, G., & Chrousos, G. (2011). Metabolic syndrome: Definitions and controversies. *BMC Medicine*, 9(1), 48. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-48>
- Kelly, T., Unwin, D., & Finucane, F. (2020). Low-Carbohydrate Diets in the Management of Obesity and Type 2 Diabetes: A Review from Clinicians Using the Approach in Practice. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(7), 2557. <https://doi.org/10.3390/ijerph17072557>
- Kirkpatrick, C. F., Bolick, J. P., Kris-Etherton, P. M., Sikand, G., Aspry, K. E., Soffer, D. E., Willard, K. E., & Maki, K. C. (2019). Review of current evidence and clinical recommendations on the effects of low-carbohydrate and very-low-carbohydrate (including ketogenic) diets for the

management of body weight and other cardiometabolic risk factors: A scientific statement from the Nati. *Journal of Clinical Lipidology*, 13(5), 689-711.e1.

<https://doi.org/10.1016/j.jacl.2019.08.003>

- Kleiner, D. E., Brunt, E. M., Natta, M. Van, Behling, C., Contos, M. J., Cummings, O. W., Ferrell, L. D., Liu, Y.-C., Torbenson, M. S., Unalp-Arida, A., Yeh, M., McCullough, A. J., & Sanyal, A. J. (2005). Design and Validation of a Histological Scoring System for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 41(6), 1313–1321. <https://doi.org/10.1002/hep.20701>
- Kleinert, M., Clemmensen, C., Hofmann, S. M., Moore, M. C., Renner, S., Woods, S. C., Huypens, P., Beckers, J., De Angelis, M. H., Schürmann, A., Bakhti, M., Klingenspor, M., Heiman, M., Cherrington, A. D., Ristow, M., Lickert, H., Wolf, E., Havel, P. J., Müller, T. D., & Tschöp, M. H. (2018). Animal models of obesity and diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(3), 140–162. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.161>
- Ko, G. J., Obi, Y., Tortorici, A. R., & Kalantar-Zadeh, K. (2017). Dietary Protein Intake and Chronic Kidney Disease. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 20(1), 77–85. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000342>.Dietary
- Koh, S., Dupuis, N., Cit, S. P., & Debr, R. (2020). Ketogenic diet and Neuroinflammation. *Epilepsy Research*, 167(July), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2020.106454>
- Koide, N., Oyama, T., Miyashita, Y., & Shirai, K. (2007). Effects of calorie-restricted low-carbohydrate diet on glucose and lipid metabolism in Otsuka Long Evans Tokushima Fatty rats. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 14(5), 253–260. <https://doi.org/10.5551/jat.E511>
- Kolovou, G. D., Anagnostopoulou, K. K., & Cokkinos, D. V. (2005). Pathophysiology of dyslipidaemia in the metabolic syndrome. *Postgraduate Medical Journal*, 81(956), 358–366. <https://doi.org/10.1136/pgmj.2004.025601>
- Korkmaz, O. A., Sadi, G., Kocabas, A., Yildirim, O. G., Sumlu, E., Koca, H. B., Nalbantoglu, B., Pektas, M. B., & Akar, F. (2019). Lactobacillus helveticus and Lactobacillus plantarum modulate renal antioxidant status in a rat model of fructose-induced metabolic syndrome. *Arch. Biol. Sci.*, 71(2), 265–273. <https://doi.org/10.2298/ABS190123008K>
- Kostogrys, R. B., Franczyk-Żarów, M., Maślak, E., & Topolska, K. (2015). Effect of low carbohydrate high protein (LCHP) diet on lipid metabolism, liver and kidney function in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39(2), 713–719. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.01.008>

- Kowalski, G. M., Hamley, S., Selathurai, A., Kloehn, J., De Souza, D. P., O'Callaghan, S., Nijagal, B., Tull, D. L., McConville, M. J., & Bruce, C. R. (2016). Reversing diet-induced metabolic dysregulation by diet switching leads to altered hepatic de novo lipogenesis and glycerolipid synthesis. *Scientific Reports*, 6(June), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep27541>
- Kubacka, M., Kotanska, M., Szafarz, M., Pocięcha, K., Waszkielewicz, A. M., Marona, H., Filipiek, B., & Mogilski, S. (2019). Beneficial effects of non-quinazoline α 1-adrenolytics on hypertension and altered metabolism in fructose-fed rats. A comparison with prazosin. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 29(7), 751–760. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2019.04.003>
- Kubant, R., Poon, A. N., Sánchez-Hernández, D., Domenichiello, A. F., Huot, P. S. P., Pannia, E., Cho, C. E., Hunschede, S., Bazinet, R. P., & Anderson, G. H. (2015). A comparison of effects of lard and hydrogenated vegetable shortening on the development of high-fat diet-induced obesity in rats. *Nutrition and Diabetes*, 5(11), 1–6. <https://doi.org/10.1038/nutd.2015.40>
- Kurosaka, Y., Shiroya, Y., Yamauchi, H., Kitamura, H., & Minato, K. (2017). Characterization of fat metabolism in the fatty liver caused by a high-fat, low-carbohydrate diet: A study under equal energy conditions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 487(1), 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.04.010>
- Kwitek, A. E. (2019). Rat Models of Metabolic Syndrome. *Methods in Molecular Biology*, 2018(319), 269–285. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9581-3_13
- Laforest, S., Labrecque, J., Michaud, A., Cianflone, K., & Tchernof, A. (2015). Adipocyte size as a determinant of metabolic disease and adipose tissue dysfunction. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 52(6), 301–313. <https://doi.org/10.3109/10408363.2015.1041582>
- Lars-Olof, H. (1996). Current opinion in infect diseases. *Immunology and Infectious Diseases*, 10, 196–201.
- Lasker, S., Rahman, M., Parvez, F., Zamila, M., Miah, P., Nahar, K., Kabir, F., Sharmin, S. B., Subhan, N., Ahsan, G. U., & Alam, A. (2019). High-fat diet-induced metabolic syndrome and oxidative stress in obese rats are ameliorated by yogurt supplementation. *Scientific Reports*, 9, 20026. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56538-0>
- Leenders, F., Groen, N., Graaf, N. De, Engelse, M. A., Rabelink, T. J., Koning, E. J. P. De, & Carlotti, F. (2021). Oxidative Stress Leads to β -Cell Dysfunction Through Loss of β -Cell Identity. *Frontiers in Immunology*, 12(November). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.690379>

- Leonardi, B. F., Gosmann, G., & Zimmer, A. R. (2020). Modeling Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rodents. *Molecular Nutrition and Food Research*, 64(22), 1–53.
<https://doi.org/10.1002/mnfr.202000249>
- Li, Y., Yu, T., Liu, Z., Chen, H., Liu, Y., Wei, Y., Sun, R., Zhang, H., Wang, W., Lu, Y., Zhou, Y., Deng, G., & Zhang, Z. (2020). Association of Serum Uric Acid, Urea Nitrogen, and Urine Specific Gravity Levels at 16 – 18 Weeks of Gestation with the Risk of Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 13, 4689–4697.
- Lim, J. S., Mietus-Snyder, M., Valente, A., Schwarz, J. M., & Lustig, R. H. (2010). The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 7(5), 251–264. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2010.41>
- Lima, M. L. R. P., Leite, L. H. R., Gioda, C. R., Leme, F. O. P., Couto, C. A., Coimbra, C. C., Leite, V. H. R., & Ferrari, T. C. A. (2016). A Novel Wistar Rat Model of Obesity-Related Nonalcoholic Fatty Liver Disease Induced by Sucrose-Rich Diet. *Jornal of Diabetes Research*, 2016, 9127076.
<https://doi.org/10.1155/2016/9127076>
- Lizarzaburu-Robles, J. C., Torres-Aparcana, L., Mansilla, R., Valera, J., Vento, F., Laca, J., Cornetero, V., Vargas, G., & Herman, W. H. (2019). A cross-sectional study of the association between the 1-hour oral glucose tolerance test and the metabolic syndrome in a high-risk sample with impaired fasting glucose. *Endocrine Practice: Official Journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists*, 26(5), 529–534.
<https://doi.org/10.4158/EP-2019-0387>
- Locatelli, C. A. A., & Mulvihill, E. E. (2020). Islet health, hormone secretion, and insulin responsivity with low-carbohydrate feeding in diabetes. *Metabolites*, 10(11), 1–17.
<https://doi.org/10.3390/metabo10110455>
- Locatelli, F., Pozzoni, P., & Vecchio, L. Del. (2006). Renal Manifestations in the Metabolic Syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology*, 17(9), 81–85.
<https://doi.org/10.1681/ASN.2005121332>
- Longo, M., Zatterale, F., Naderi, J., Parrillo, L., Formisano, P., Racity, G. A., Beguinot, F., & Miele, C. (2019). Adipose tissue dysfunction as determinant of obesity-associated metabolic complications. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9), 2358.
- Lum, G. (1995). Low Activities of Aspartate and Alanine Aminotransferase: Their Significance in Alcoholic Liver Disease. *Laboratory Medicine*, 26(4), 4–7.

- Lundsgaard, A.-M., Holm, J. B., Sjøberg, K. A., Richter, E. A., Kiens, B., Bojsen-Møller, K. N., Myrmel, L. S., Fjære, E., Jensen, B. A. H., Nicolaisen, T. S., Hingst, J. R., Hansen, S. L., Doll, S., Geyer, P. E., Desmukh, A. S., Holst, J. J., Madsen, L., Kristiansen, K., Wojtaszewski, J. F. P., ... Kiens, B. (2019). Clinical and Translational Report Mechanisms Preserving Insulin Action during High Clinical and Translational Report Mechanisms Preserving Insulin Action during High Dietary Fat Intake. *Cell Metabolism*, 29(1), 50–63. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.08.022>
- Lutz, T. A., & Woods, S. C. (2012). Overview of Animal Models of Obesity. *Current Protocols in Pharmacology, Chapter 5*(Unit5.61). <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0561s58.Overview>
- Luukkonen, P. K., Dufour, S., Lyu, K., Zhang, X. M., Hakkarainen, A., Lehtimäki, T. E., Cline, G. W., Petersen, K. F., Shulman, G. I., & Yki-Järvinen, H. (2020). Effect of a ketogenic diet on hepatic steatosis and hepatic mitochondrial metabolism in nonalcoholic fatty liver disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 117(13), 7347–7354. <https://doi.org/10.1073/pnas.1922344117>
- Ma, S., Huang, Q., Yada, K., Liu, C., & Suzuki, K. (2018). An 8-week ketogenic low carbohydrate, high fat diet enhanced exhaustive exercise capacity in mice. *Nutrients*, 10(6), 1–14. <https://doi.org/10.3390/nu10060673>
- Macedo, R. C. O., Santos, H. O., & Tinsley, G. M. (2020). Low-carbohydrate diets: Effects on metabolism and exercise - A comprehensive literature review. *Clinical Nutrition ESPEN*, 40, 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2020.07.022>
- Mansoor, N., Vinknes, K. J., Veierød, M. B., & Retterstøl, K. (2016). Effects of low-carbohydrate diets v. low-fat diets on body weight and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomised controlled trials. *British Journal of Nutrition*, 115(3), 466–479. <https://doi.org/10.1017/S0007114515004699>
- Marsset-Baglieri, A., Fromentin, G., Tomé, D., Bensaid, A., Makkarios, L., & Even, P. C. (2004). Increasing the protein content in a carbohydrate-free diet enhances fat loss during 35% but not 75% energy restriction in rats. *Journal of Nutrition*, 134(10), 2646–2652. <https://doi.org/10.1093/jn/134.10.2646>
- Martin, W. F., Armstrong, L. E., & Rodriguez, N. R. (2005). Dietary protein intake and renal function. *Nutrition and Metabolism*, 2, 25. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-2-25>
- Masarone, M., Rosato, V., Dallio, M., Gravina, A. G., Aglitti, A., Loguercio, C., Federico, A., & Persico, M. (2018). Role of Oxidative Stress in Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver

- Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, 9547613.
<https://doi.org/10.1155/2018/9547613>
- McCracken, E., Monaghan, M., & Sreenivasan, S. (2017). Pathophysiology of the Metabolic Syndrome. *Clinics in Dermatology*, 36(1), 14–20.
<https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2017.09.004>
- Meckling, K. A., O’Sullivan, C., & Saari, D. (2004). Comparison of a low-fat diet to a low-carbohydrate diet on weight loss, body composition, and risk factors for diabetes and cardiovascular disease in free-living, overweight men and women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(6), 2717–2723. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-031606>
- Melnik, B. C., John, S. M., & Schmitz, G. (2011). Over-stimulation of insulin/IGF-1 signaling by western diet may promote diseases of civilization: lessons learnt from laron syndrome. *Nutrition and Metabolism*, 8, 41. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-8-41>
- Mirhashemi, F., Kluth, O., Scherneck, S., Vogel, H., Schürmann, A., & Susanne, H. J. (2008). *High-Fat , Carbohydrate-Free Diet Markedly Aggravates Obesity but Prevents β -Cell Loss and Diabetes in the Obese , Diabetes-Susceptible db / db Strain*. 292–297.
<https://doi.org/10.1159/000176064>
- Møller, N. (2020). Ketone Body, 3-hydroxybutyrate: Minor Metabolite - Major Medical Manifestations. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 105(9), dgaa370.
- Monserrat-Mesquida, M., Quetglas-Illabr, M., Cap, X., Bouzas, C., Mateos, D., Pons, A., Tur, J. A., & Sureda, A. (2020). Metabolic Syndrome Is Associated with Oxidative Stress and Proinflammatory State. *Antioxidants*, 9(236), 1–14.
- Monteiro, M. E. L., Xavier, A. R., Oliveira, F. L., Filho, P. J., & Azeredo, V. B. (2016). Apoptosis induced by a low-carbohydrate and high-protein diet in rat livers. *World Journal of Gastroenterology*, 22(22), 5165–5172. <https://doi.org/10.3748/wjg.v22.i22.5165>
- Monteiro, R., & Azevedo, I. (2010). Chronic Inflammation in Obesity and the Metabolic Syndrome. *Mediators of Inflammation*, 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/289645>
- Moon, J., & Koh, G. (2021). Clinical evidence and mechanisms of high-protein diet-induced weight loss. *Journal of Obesity and Metabolic Syndrome*, 29(3), 166–173.
<https://doi.org/10.7570/jomes20028>
- Moore, M. P., Cunningham, R. P., Kelty, T. J., Boccardi, L. R., Nguyen, N. Y., Booth, F. W., &

- Rector, R. S. (2020). Ketogenic diet in combination with voluntary exercise impacts markers of hepatic metabolism and oxidative stress in male and female Wistar rats. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 45(1), 35–44. <https://doi.org/https://doi.org/10.1139/apnm-2019-0042>
- Moreno-Fernández, S., Garcés-Rimón, M., Vera, G., Astier, J., Landrier, J. F., & Miguel, M. (2018). High fat/high glucose diet induces metabolic syndrome in an experimental rat model. *Nutrients*, 10(10), 1–15. <https://doi.org/10.3390/nu10101502>
- Murray, R., & Kaplan, A. (1984). Determination of alanine aminotransferase. *Clinical Chemistry*, 34, 1088–1090.
- Naito, H. K., & David, J. A. (1984). Laboratory consideration: Determination of cholesterol, triglyceride, phospholipid, and other lipids in blood and tissues. *Laboratory and Research Methods in Biology and Medicine*, 10, 1–76.
- Naito, H. K., Strong, J. P., & Scott, M. G. (1995). Atherogenesis: current topics on etiology and risk factors. *Clinical Chemistry*, 41(1), 132–133.
- National Cholesterol Education Program (NCEP): Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult T. P. I. (2002). Third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults final report. *Circulation*, 106(25), 3143–3421.
- Neeland, I. J., Turer, A. T., Ayers, C. R., Powell-Wiley, T. M., Vega, G. L., Farzaneh-Far, R., Grundy, S. M., Khera, A., McGuire, D. K., & de Lemos, J. A. (2013). Dysfunctional adiposity and the risk of prediabetes and type 2 diabetes in obese adults. *JAMA*, 308(11), 1150–1159. <https://doi.org/10.1001/2012.jama.11132.Dysfunctional>
- Newman, J. C., & Verdin, E. (2014). β -hydroxybutyrate: Much more than a metabolite. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 106(2), 173–181. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2014.08.009>.
- Newsholme, P., Keane, K. N., Carlessi, R., & Cruzat, V. (2019). Oxidative stress pathways in pancreatic β -cells and insulin-sensitive cells and tissues: importance to cell metabolism, function, and dysfunction. *Metabolism, Oxidative Stress and Cell Signaling*, 317, 420–433. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00141.2019>
- Nilsson, P. M., Tuomilehto, J., & Rydén, L. (2019). The metabolic syndrome – What is it and how should it be managed? *European Journal of Preventive Cardiology*, 26(25), 33–46. <https://doi.org/10.1177/2047487319886404>

- Nurdiana, S., Goh, Y. M., Ahmad, H., Dom, S. M., Syimal'ain Azmi, N., Noor Mohamad Zin, N. S., & Ebrahimi, M. (2017). Changes in pancreatic histology, insulin secretion and oxidative status in diabetic rats following treatment with *Ficus deltoidea* and vitexin. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 290. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1762-8>
- O'Neill, B. J. (2020). Effect of low-carbohydrate diets on cardiometabolic risk, insulin resistance, and metabolic syndrome. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity*, 27(5), 301–307. <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000569>
- Ohashi, Y., Thomas, G., Nurko, S., Stephany, B., Fatica, R., Chiesa, A., Rule, A. D., Srinivas, T., Schold, J. D., Navaneethan, S. D., & Poggio, E. D. (2014). Association of metabolic syndrome with kidney function and histology in living kidney donors. *American Journal of Transplant*, 13(9), 1–18. <https://doi.org/10.1111/ajt.12369>. Association
- Ohnuki, T., Takahashi, W., Ohnuki, Y., Kawada, S., & Takizawa, S. (2013). Significance of the Presence of Metabolic Syndrome in Patients with Asymptomatic Arteriosclerosis Affecting the Aorta and the Cerebral, Extra-cranial Carotid and Coronary Arteries. *Internal Medicine*, 52, 523–527. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.52.8858>
- Olabi, B., & Bhopal, R. (2009). Diagnosis of diabetes using the oral glucose tolerance test. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 339, b4354. <https://doi.org/10.1136/bmj.b4354>
- Onyango, A. N. (2021). Lipid Peroxidation as a Link between Unhealthy Diets and the Metabolic Syndrome. In P. Atukeren (Ed.), *Accenting Lipid Peroxidation*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.98183>
- Panchal, S. K., Poudyal, H., Iyer, A., Nazer, R., Alam, A., Diwan, V., Kauter, K., Sernia, C., Campbell, F., Ward, L., Gobe, G., Fenning, A., & Brown, L. (2011). High-carbohydrate high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 57(1), 51–64. <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e3181feb90a>
- Paoli, A., Rubini, A., Volek, J., & Grimaldi, K. (2013). Beyond weight loss: A review of the therapeutic uses of very-low-carbohydrate (ketogenic) diets. *European Journal of Clinical Nutrition*, 67(8), 789–796. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2013.116>
- Parra-Vargas, M., Rodriguez-Echevarria, R., & Jimenez-Chillaron, J. C. (2020). Nutritional approaches for the management of nonalcoholic fatty liver disease: An evidence-based review. *Nutrients*, 12(12), 3860. <https://doi.org/10.3390/nu12123860>

- Pawlina, W. (2001). *Ross: Histología Texto y Atlas, correlación con biología molecular y celular* (Two Commerce Square (ed.); 7a. edición). Wolters Kluwer.
- Petersen, K. F., Dufour, S., Befroy, D., Lehrke, M., Hendler, R. E., & Shulman, G. I. (2005). Reversal of Nonalcoholic Hepatic Steatosis, Hepatic Insulin Resistance, and Hyperglycemia by Moderate Weight Reduction in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 54(3), 603–608.
- Petersen, K. F., Dufour, S., Savage, D. B., Bilz, S., Solomon, G., Yonemitsu, S., Cline, G. W., Befroy, D., Zeman, L., Kahn, B. B., Papademetris, X., Rothman, D. L., & Shulman, G. I. (2007). The role of skeletal muscle insulin resistance in the pathogenesis of the metabolic syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(31), 12587–12594. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705408104>
- Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiological Reviews*, 98(4), 2133–2223. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>
- Pichon, L., Huneu, J., Fromentin, G., & Tomé, D. (2006). A High-Protein, High-Fat, Carbohydrate-Free Diet Reduces Energy Intake, Hepatic Lipogenesis, and Adiposity in Rats. *Nutrient Physiology, Metabolism, and Nutrient Interactions*, 136(5), 1256–1260. <https://doi.org/10.1093/jn/136.5.1256>
- Poitou, C., Dalmás, E., & Clément, K. (2013). Adipose Tissue Inflammation in Obesity. In J. P. Bastard & B. Fève (Eds.), *Physiology and Physiopathology of Adipose Tissue* (pp. 1–437). Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0343-2>
- Poudyal, H., Lemonakis, N., Efentakis, P., Gikas, E., Halabalaki, M., Andreadou, I., Skaltsounis, L., & Brown, L. (2017). Hydroxytyrosol ameliorates metabolic, cardiovascular and liver changes in a rat model of diet-induced metabolic syndrome: Pharmacological and metabolism-based investigation. *Pharmacological Research*, 117, 32–45. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.12.002>
- Poudyal, H., Panchal, S., & Brown, L. (2010). Comparison of purple carrot juice and β -carotene in a high-carbohydrate, high-fat diet-fed rat model of the metabolic syndrome. *British Journal of Nutrition*, 104(9), 1322–1332. <https://doi.org/10.1017/S0007114510002308>
- Prabhakar, P., Reeta, K. H., Maulik, S. K., Dinda, A. K., & Gupta, Y. K. (2015). Protective effect of thymoquinone against high-fructose diet-induced metabolic syndrome in rats. *European Journal of Nutrition*, 54(7), 1117–1127. <https://doi.org/10.1007/s00394-014-0788-7>
- Preguiça, I., Alves, A., Nunes, S., Fernandes, R., Gomes, P., Viana, S. D., & Reis, F. (2020). Diet-

- induced rodent models of obesity-related metabolic disorders—A guide to a translational perspective. *Obesity Reviews*, 21(12), 1–29. <https://doi.org/10.1111/obr.13081>
- Prince, A., Zhang, Y., Croniger, C., & Puchowicz, M. (2013). Oxidative metabolism: Glucose versus ketones. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 789, 323–328. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7411-1_43
- Rani, V., Deep, G., Singh, R. K., Palle, K., & Yadav, U. C. (2016). Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life Sciences*, 148, 183–193. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.02.002>
- Rask Larsen, J., Dima, L., Correll, C. U., & Manu, P. (2018). The Pharmacological Management of Metabolic Syndrome. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 11(4), 397–410. <https://doi.org/10.1080/17512433.2018.1429910>
- Reddy, P., Lent-Schochet, D., Ramakrishnan, N., Mclaughlin, M., & Jialal, I. (2019). Metabolic syndrome is an inflammatory disorder: A conspiracy between adipose tissue and phagocytes. *Clinica Chimica Acta*, 496, 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2019.06.019>
- Reyes-Muñoz, E., Martínez-Herrera, E. M., Ortega-González, C., Arce-Sánchez, L., Ávila-Carrasco, A., & Zamora-Escudero, R. (2017). HOMA-IR and QUICKI reference values during pregnancy in Mexican women. *Ginecología y Obstetricia de México*, 85(5), 306–313.
- Roach, P. J., Depaoli-Roach, A. A., Hurley, T. D., & Tagliabracci, V. S. (2016). Glycogen and its metabolism: some new developments and old themes. *The Biochemical Journal*, 441(3), 763–787. <https://doi.org/10.1042/BJ20111416>.Glycogen
- Robbins, N., Thompson, A., Mann, A., & Blomkalns, A. L. (2014). Isolation and excision of murine aorta; a versatile technique in the study of cardiovascular disease. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 93, e52172. <https://doi.org/10.3791/52172>
- Roberts, C. K., Hevener, A. L., & Barnard, R. J. (2013). Metabolic syndrome and insulin resistance: Underlying causes and modification by exercise training. *Comprehensive Physiology*, 3(1), 1–58. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110062>.Metabolic
- Roberts, C. K., & Sindhu, K. K. (2009). Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*, 84(21–22), 705–712. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2009.02.026>
- Rochlani, Y., Pothineni, N. V., & Kovelamudi, S. (2017). Metabolic syndrome : pathophysiology, management, and modulation by natural compounds. *Ther Adv Cardiovasc Dis*, 11(8), 215–225.

<https://doi.org/10.1177/https>

- Rodríguez-Correa, E., González-Pérez, I., Clavel-Pérez, P. I., Contreras-Vargas, Y., & Carvajal, K. (2020). Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: what is the best choice? *Nutrition and Diabetes*, 10(1), 24. <https://doi.org/10.1038/s41387-020-0127-4>
- Rodríguez-Monforte, M., Sánchez, E., Barrio, F., Costa, B., & Flores-Mateo, G. (2016). Metabolic syndrome and dietary patterns: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *European Journal of Nutrition*, 56(3), 925–947. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1305-y>
- Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., & Weil, A. P. (2016). Harper. Bioquímica ilustrada. In *Harper. Bioquímica ilustrada*.
- Rogers, P., & Webb, G. P. (1980). Estimation of body fat in normal and obese mice. *British Journal of Nutrition*, 43(1), 83–86. <https://doi.org/10.1079/bjn19800066>
- Rosas C., C., Vázquez P., B., & del Sol, M. (2010). Descripción Histológica e Histoquímica del Hígado de Cobayo (*Cavia porcellus*). *Int. J. Morphol.*, 28(1), 151–156.
- Ruth, M. R., Port, A. M., Shah, M., Bourland, A. C., Istfan, N. W., Nelson, K. P., Gokce, N., & Apovian, C. M. (2013). Consuming a hypocaloric high fat low carbohydrate diet for 12 weeks lowers C-reactive protein, and raises serum adiponectin and high density lipoprotein-cholesterol in obese subjects. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 62(12), 1779–1787. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2013.07.006>
- Rydén, M., Andersson, D. P., Bergström, I. B., & Arner, P. (2014). Adipose tissue and metabolic alterations: Regional differences in fat cell size and number matter, but differently: A cross-sectional study. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 99(10), E1870–E1876. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-1526>
- Sabir, U., Irfan, H. M., Alamgeer, Ullah, A., Althobaiti, Y. S., & Asim, M. H. (2022). Reduction of Hepatic Steatosis, Oxidative Stress, Inflammation, Ballooning and Insulin Resistance After Therapy with Safranal in NAFLD Animal Model: A New Approach. *Journal of Inflammation Research*, 15(February), 1293–1316.
- Sahagun, E., Ward, L. M., & Kinzig, K. P. (2019). Attenuation of stress-induced weight loss with a ketogenic diet. *Physiology and Behavior*, 212, 112654. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112654>

- Sainsbury, E., Kizirian, N. V., Partridge, S. R., Gill, T., Colagiuri, S., & Gibson, A. A. (2018). Effect of dietary carbohydrate restriction on glycemic control in adults with diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 139, 239–252. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.02.026>
- Sakaguchi, K., Takeda, K., Maeda, M., Ogawa, W., Sato, T., Okada, S., Ohnishi, Y., Nakajima, H., & Kashiwagi, A. (2016). Glucose area under the curve during oral glucose tolerance test as an index of glucose intolerance. *Diabetology International*, 7(1), 53–58. <https://doi.org/10.1007/s13340-015-0212-4>
- Saklayen, M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current Hypertension Reports*, 20(12), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>
- Saleh, R., Merghani, B. H., & Awadin, W. (2017). Effect of high fructose administration on histopathology of kidney, heart and aorta of rats. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 4(1), 71–79. <https://doi.org/10.5455/javar.2017.d193>
- Samson, S. L., & Garber, A. J. (2014). Metabolic syndrome. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 43(1), 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2013.09.009>
- Samsonova, N. G., & Zvenigorodskaya, L. A. (2011). [Pancreas and metabolic syndrome]. *Experimental & Clinical Gastroenterology*, 11, 68–72.
- Schultz, A., & Kaplan, A. (1984). Uric acid. *Clinical Chemistry*, 418, 1261–1266.
- Sharman, M. J., & Volek, J. S. (2004). Weight loss leads to reductions in inflammatory biomarkers after a very-low-carbohydrate diet and a low-fat diet in overweight men. *Clinical Science*, 107(4), 365–369. <https://doi.org/10.1042/CS20040111>
- Shashaj, B., Luciano, R., Contoli, B., Morino, G. S., Spreghini, M. R., Rustico, C., Sforza, R. W., Dallapiccola, B., & Manco, M. (2016). Reference ranges of HOMA-IR in normal-weight and obese young Caucasians. *Acta Diabetologica*, 53(2), 251–260. <https://doi.org/10.1007/s00592-015-0782-4>
- Shokouh, P., Jeppesen, P. B., Hermansen, K., Nørskov, N. P., Laustsen, C., Hamilton-Dutoit, S. J., Qi, H., Stødkilde-Jørgensen, H., & Gregersen, S. (2018). A combination of coffee compounds shows insulin-sensitizing and hepatoprotective effects in a rat model of diet-induced metabolic syndrome. *Nutrients*, 10(1). <https://doi.org/10.3390/nu10010006>
- Smith, C. J., & Ryckman, K. K. (2015). Epigenetic and developmental influences on the risk of

- obesity, diabetes, and metabolic syndrome. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 8, 295–302.
- Sookoian, S., & Pirola, C. J. (2015). Liver enzymes, metabolomics and genome-wide association studies: From systems biology to the personalized medicine. *World Journal of Gastroenterology*, 21(3), 711–725. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i3.711>
- Sorisky, A. (2017). Effect of High Glucose Levels on White Adipose Cells and Adipokines—Fuel for the Fire. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 944. <https://doi.org/10.3390/ijms18050944>
- Srikanthan, K., Feyh, A., Visweshwar, H., Shapiro, J. I., & Sodhi, K. (2016). Systematic Review of Metabolic Syndrome Biomarkers: A Panel for Early Detection, Management, and Risk Stratification in the West Virginian Population. *International Journal of Medical Sciences*, 13(1), 25–38. <https://doi.org/10.7150/ijms.13800>
- Stanhope, K. L. (2016). Sugar consumption, metabolic disease and obesity: The state of the controversy. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 53(1), 52–67. <https://doi.org/10.3109/10408363.2015.1084990>. Sugar
- Starr, J. I., Mako, M. E., John, D., & Rubenstein, A. H. (1978). Measurement of serum proinsulin like material: Cross-reactivity of porcine and human proinsulin in the insulin. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 91(4), 683–692.
- Suiter, C., Singha, S. K., Khalili, R., & Shariat-Madar, Z. (2018). Free Fatty Acids: Circulating Contributors of Metabolic Syndrome. *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry*, 16, 20–34. <https://doi.org/10.2174/1871525716666180528100002>
- Sukkar, A. H., Lett, A. M., Frost, G., & Chambers, E. S. (2019). Regulation of energy expenditure and substrate oxidation by short-chain fatty acids. *Journal of Endocrinology*, 242(2), R1–R8. <https://doi.org/10.1530/JOE-19-0098>
- Swarup, S., Goyal, A., Grigorova, Y., & Zeltser, R. (2021). *Metabolic Syndrome*. StatPearls Publishing.
- Tang, J., Yan, H., & Zhuang, S. (2012). Inflammation and Oxidative Stress in Obesity-Related Glomerulopathy. *International Journal of Nephrology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/608397>
- Tangvarasittichai, S. (2015). Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes

- mellitus. *World Journal of Diabetes*, 6(3), 456–480. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i3.456>
- Taylor, R., Al-Mrabeh, A., & Sattar, N. (2019). Understanding the mechanisms of reversal of type 2 diabetes. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 7(9), 726–736. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(19\)30076-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(19)30076-2)
- Thomas, D. D., Corkey, B. E., Istfan, N. W., & Apovian, C. M. (2019). Hyperinsulinemia: An Early Indicator of Metabolic Dysfunction. *Journal of the Endocrine Society*, 3(9), 1727–1747. <https://doi.org/10.1210/js.2019-00065>
- Tordjman, J. (2013). Histology of Adipose Tissue. In J.-P. Bastard & B. Fève (Eds.), *Physiology and Physiopathology of Adipose Tissue* (pp. 1–437). Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-2-8178-0343-2>
- Uchiyama, M., & Mihara, M. (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical Biochemistry*, 86(1), 271–278.
- Unwin, D. J., Tobin, S. D., Murray, S. W., Delon, C., & Brady, A. J. (2019). Substantial and sustained improvements in blood pressure, weight and lipid profiles from a carbohydrate restricted diet: An observational study of insulin resistant patients in primary care. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(15). <https://doi.org/10.3390/ijerph16152680>
- Uslusoy, H. S., Nak, S. G., Gülten, M., & Bıyıklı, Z. (2009). Liver histology according to the presence of metabolic syndrome in nonalcoholic fatty liver disease cases. *World Journal of Gastroenterology*, 15(9), 1093–1098. <https://doi.org/10.3748/wjg.15.1093>
- Valle-Martos, R., Valle, M., Martos, R., Cañete, R., Jiménez-Reina, L., & Cañete, M. D. (2021). Liver enzymes correlate with metabolic syndrome, inflammation, and endothelial dysfunction in prepubertal children with obesity. *Front. Pediatr.*, 9, 629346. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.629346>
- Veldhorst, M. A., Westerterp-Plantenga, M. S., & Westerterp, K. R. (2009). Gluconeogenesis and energy expenditure after a high-protein, carbohydrate-free diet. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90(1), 519–526. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27834.1>
- Vishvanath, L., & Gupta, R. K. (2019). Contribution of adipogenesis to healthy adipose tissue expansion in obesity. *The Journal of Clinical Investigation*, 129(10), 4022–4031. <https://doi.org/https://doi.org/10.1172/JCI129191>
- Volek, J. S., & Feinman, R. D. (2005). Carbohydrate restriction improves the features of Metabolic

- Syndrome. Metabolic Syndrome may be defined by the response to carbohydrate restriction. *Nutrition and Metabolism*, 2, 1–17. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-2-31>
- Volek, J. S., Phinney, S. D., Forsythe, C. E., Quann, E. E., Wood, R. J., Puglisi, M. J., Kraemer, W. J., Bibus, D. M., Fernandez, M. L., & Feinman, R. D. (2009). Carbohydrate restriction has a more favorable impact on the metabolic syndrome than a low fat diet. *Lipids*, 44(4), 297–309. <https://doi.org/10.1007/s11745-008-3274-2>
- Wacher-rodarte, N. (2009). Epidemiología del síndrome metabólico. *Gac Méd Méx*, 145(5), 384–391.
- Wang, H. H., Lee, D. K., Liu, M., Portincasa, P., & Wang, D. Q.-H. (2020). Novel Insights into the Pathogenesis and Management of the Metabolic Syndrome. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition*, 23(3), 189–230. <https://doi.org/https://doi.org/10.1177/2047487319886404>
- Wang, S., Zhang, J., Zhu, L., Song, L., Meng, Z., Jia, Q., Li, X., Liu, N., Hu, T., Zhou, P., Zhang, Q., Liu, L., Song, K., & Jia, Q. (2017). Association between liver function and metabolic syndrome in Chinese men and women. *Scientific Reports*, 7, 44844. <https://doi.org/10.1038/srep44844>
- Watanabe, M., Mariani, S., Gnessi, L., Tozzi, R., Risi, R., Tuccinardi, D., Basciani, S., Spera, G., & Lubrano, C. (2020). Beneficial effects of the ketogenic diet on nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of the literature. *Obesity Reviews*, 21, e13024. <https://doi.org/10.1111/obr.13024>
- Winwood-Smith, H. S., Franklin, C. E., & White, C. R. (2017). Low-carbohydrate diet induces metabolic depression: A possible mechanism to conserve glycogen. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 313(4), R347–R356. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00067.2017>
- Xu, H., Li, X., Adams, H., Kubena, K., & Guo, S. (2019). Etiology of Metabolic Syndrome and Dietary Intervention. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(1), 128. <https://doi.org/10.3390/ijms20010128>
- Xu, R., Wan, Y., Tang, Q., Wu, J., & Cai, W. (2010). Carbohydrate-to-fat ratio affects food intake and body weight in Wistar rats. *Experimental Biology and Medicine*, 235, 833–838. <https://doi.org/10.1258/ebm.2010.009276>
- Yancy, W. S., Foy, M., Chalecki, A. M., Vernon, M. C., & Westman, E. C. (2005). A low-carbohydrate, ketogenic diet to treat type 2 diabetes. *Nutrition and Metabolism*, 2, 1–7.

<https://doi.org/10.1186/1743-7075-2-34>

- Yang, J., Lu, J., Yuan, S., Liu, G., Zhang, X., & Xu, A. (2018). From Hyper- to Hypoinsulinemia and Diabetes: Effect of KCNH6 on Insulin Secretion. *Cell Reports*, 25(13), 3800-3810.e6. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.12.005>
- Yang, S., Cao, C., Deng, T., & Zhou, Z. (2020). Obesity-Related Glomerulopathy: A Latent Change in Obesity Requiring More Attention. *Kidney Blood Press Res*, 45, 510–522. <https://doi.org/10.1159/000507784>
- Yaribeygi, H., Farrokhi, F. R., Butler, A. E., & Sahebkar, A. (2018). Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. *Journal of Cellular Physiology*, 234(6), 8152–8161. <https://doi.org/10.1002/jcp.27603>
- Ye, R., Onodera, T., & Scherer, P. E. (2019). Lipotoxicity and β Cell Maintenance in Obesity and Type 2 Diabetes. *Journal of the Endocrine Society*, 3(3), 617–631. <https://doi.org/10.1210/js.2018-00372>
- Zemančíková, A., & Török, J. (2016). Comparison of high fructose-induced cardiometabolic impairments in two different rat hypertensive models. *Current Topics in Toxicology*, 12, 25–32.
- Zhang, P. (2012). Analysis of Mouse Liver Glycogen Content. *Bio-Protocol*, 2(10), e186. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.186>
- Zhang, X., Cui, Y., Fang, L., & Li, F. (2008). Chronic High-Fat Diets Induce Oxide Injuries and Fibrogenesis of Pancreatic Cells in Rats. *Pancreas*, 37(3), 31–38.
- Yancy, W. S., Foy, M., Chalecki, A. M., Vernon, M. C., & Westman, E. C. (2005). A low-carbohydrate, ketogenic diet to treat type 2 diabetes. *Nutrition and Metabolism*, 2, 1–7. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-2-34>
- Zivin, J. A., & Snarr, J. F. (1973). An automated colorimetric method for the measurement of 3-hydroxybutyrate concentration. *Anal Biochem*. 52, 456-461.

VII. ANEXOS

Anexo A: Documento aprobatorio del Comité de Ética en Investigación del Área de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma de Zacatecas.



SOMOS
ARTE, CIENCIA Y
DESARROLLO
CULTURAL



Folio: 004/CEI-ACS-UAZ/2022

Dictamen: Aprobado.

D.C. Blanca Patricia Lazalde Ramos

D.C. Marisol Galván Valencia

Presente.

La NOM-012-SSA3-2012 establece los criterios para la ejecución de los proyectos de investigación para la salud en seres humanos, y el artículo 98 de la Ley General de Salud mandata la obligación de que en las instituciones donde se realiza investigación en seres humanos se debe de contar con Comités de Ética en Investigación, con la finalidad de asegurar que los protocolos de investigación contemplen las consideraciones éticas que son de observancia obligatoria para solicitar la autorización de proyectos o protocolos de investigación en seres humanos.

El Comité de Ética en Investigación del Área de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma de Zacatecas, inició sus funciones a partir del 18 de junio de 2021, mismo que se encuentra en trámite y ante el mismo, ha sido presentado el protocolo de investigación que lleva por título: EVALUACIÓN DE UNA DIETA LIBRE DE HIDRATOS DE CARBONO SOBRE PARÁMETROS DE SÍNDROME METABÓLICO Y CALIDAD ESPERMÁTICA EN UN MODELO MURINO.

En base a la Guía Nacional para la Integración y Funcionamiento de los Comités de Ética en Investigación 2018, que establece los criterios para la evaluación de los protocolos de investigación, y habiendo sido analizado por el Comité en pleno, se considera que cuenta con los elementos necesarios para su desarrollo, por lo que se determina que es:

APROBADO

Este Comité queda en espera del informe de avance de la investigación.

ATENTAMENTE

Zacatecas, Zac., a 04 de mayo de 2022

Somos Arte, Ciencia y Desarrollo Cultural

MDH. María Isabel Morales Hernández

Presidenta del Comité de Ética en Investigación del Área de Ciencias de la Salud de la UAZ.



c.c.p. M. en C. Hans Hiram Pacheco García. - Secretario Académico. - Para su conocimiento.
c.c.p. Dr. Carlos Francisco Bautista Capetillo. - Coordinador de Investigación y Posgrado. - Mismo Fin.
c.c.p. Archivo Institucional

Anexo B: Comprobatorios de asistencia a congresos y cursos nacionales e internacionales.

Constancia de asistencia al “9º Congreso Nacional de Ciencias Químico Biológicas”.





Universidad Autónoma de Zacatecas
“Francisco García Salinas”

Otorga la presente

CONSTANCIA

A: Diana Alejandra Lares Gutiérrez

Por su asistencia al:

“9no CONGRESO NACIONAL DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS”
25 hrs de valor curricular

20 al 22 de Octubre de 2021

Dr. en C. Jaime Cardoso Ortiz Presidente Comité Organizador	Dra. en C. María Angella López Luna Líder Cuerpo Académico Toxicología y Farmacia	Dra. en C. Rosalinda Gutiérrez Hernández Líder Cuerpo Académico Farmacología en Medicina Molecular	Dra. en C. Marisol Galván Valencia Líder Cuerpo Académico Modelos Experimentales para el Diagnóstico y la Terapéutica	Dr. en C. Sergio Miguel Durón Torres Líder Cuerpo Académico Energéticos	Dr. en C. Esteban Mesa Lamas Líder Cuerpo Académico Medio Ambiente y Salud
--	--	---	--	--	---









Universidad Autónoma de Zacatecas
“Francisco García Salinas”

Otorga la presente

CONSTANCIA

A: Diana Alejandra Lares Gutiérrez, Marisol Galván Valencia,
Blanca Patricia Lazalde Ramos

Por su Trabajo libre titulado:
“Modelos animales de síndrome metabólico inducido por dieta”
22 de Octubre de 2021
20 al 22 de Octubre de 2021

Dr. en C. Jaime Cardoso Ortiz
Presidente Comité Organizador

Dra. en C. María Argelia López Luna
Líder Cuerpo Académico Toxicología y Farmacia

Dra. en C. Rosalinda Gutiérrez Hernández
Líder Cuerpo Académico Farmacología en Medicina Molecular

Dra. en C. Marisol Galván Valencia
Líder Cuerpo Académico Modelos Experimentales para el Diagnóstico y la Terapéutica

Dr. en C. Sergio Miguel Durón Torres
Líder Cuerpo Académico Energéticos

Dr. en C. Esteban Mesa Lamas
Líder. Cuerpo Académico Medio Ambiente y Salud

Constancia de participación en el “XIII Coloquio Internacional de Investigación para Estudiantes Universitarios y el V Coloquio Internacional de Investigación Universitaria”.

	 Universidad de Guadalajara Centro Universitario del Sur Secretaría Académica Instituto de Investigaciones en Comportamiento Alimentario y Nutrición Instituto de Investigación de la Red Universitaria Otorga la presente	 IICAN INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN COMPORTAMIENTO ALIMENTARIO Y NUTRICIÓN 
CONSTANCIA		
a: <i>Diana Alejandra Lares Gutiérrez</i> Por su participación como PONENTE con el proyecto titulado: <i>Evaluación del Perfil Lipídico en un Modelo de Síndrome Metabólico bajo Dieta Libre de Carbohidratos</i> en el: XIII COLOQUIO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN PARA ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS Y EL V COLOQUIO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN UNIVERSITARIA		
 Dra. Elia Heminia Valdés Miramontes Secretaría del Instituto de Investigaciones en Comportamiento Alimentario y Nutrición	 Dr. Andrés Valdez Zepeda Secretario Académico	 Dra. Zyanya Reyes Castillo Directora del Instituto de Investigaciones en Comportamiento Alimentario y Nutrición

Constancia de participación las “XIV Jornadas de Ciencias Químicas”.

 UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
ZACATECAS
Francisco García Salinas

 **XIV JORNADAS DE CIENCIAS QUÍMICAS**
Dra. Rosalina Carrillo Núñez

LA UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y LA COORDINACIÓN DEL ÁREA DE CIENCIAS DE LA SALUD

OTORGAN LA PRESENTE

CONSTANCIA

A: DIANA ALEJANDRA LARES GUTIÉRREZ, MARISOL GALVÁN VALENCIA,
BLANCA PATRICIA LAZALDE RAMOS

Por su valiosa participación en la presentación del trabajo en modalidad Cartel:
Modelo Murino de Síndrome Metabólico Inducido mediante Dieta Alta en Carbohidratos

durante las **XIV Jornadas de Ciencias Químicas "Dra. Rosalina Carrillo Núñez"**
en el marco del Año Internacional del Desarrollo Sostenible, del 25 al 27 de mayo de 2022 en las instalaciones de la Unidad Académica de Ciencias Químicas, con un valor curricular de 10 horas crédito

 *Dra. María Angélica López Luna*
Directora
Unidad Académica de Ciencias Químicas

 *Dr. Juan Hernández Flores de la Torre*
Coordinador
Área de Ciencias de la Salud

Zacatecas, Zac., 27 de Mayo de 2022

 **SOMOS**
UNIVERSIDAD
DESARROLLO
CULTURAL



Constancia de Asistencia a las “XIV Jornadas de Ciencias Químicas”.



LA UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y
LA COORDINACIÓN DEL ÁREA DE CIENCIAS DE LA SALUD

OTORGAN LA PRESENTE

CONSTANCIA



25, 26 y 27
MAYO
2022

A: Diana Alejandra Lares Gutiérrez

Por su valiosa ASISTENCIA a las **XIV Jornadas de Ciencias Químicas**
“**Dra. en C. Rosalina Carrillo Núñez**”
en el marco del “Año Internacional del Desarrollo Sostenible”
llevadas a cabo del 25 al 27 de mayo de 2022 de manera híbrida
en las instalaciones y plataforma virtual de la
Unidad Académica de Ciencias Químicas,
con un valor curricular de 25 horas crédito.

Zacatecas, Zac., 27 de Mayo de 2022



Dra. Rosalina Carrillo Núñez
Coordinador
Área de Ciencias de la Salud



SOMOS
ARTE, CIENCIA Y
DESARROLLO
CULTURAL



Dra. María Angélica López Luna
Directora
Unidad Académica de Ciencias Químicas

Constancia de participación como ponente en el Curso de Titulación Teórico-Práctico para alumnos de Q.F.B.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
ZACATECAS
Francisco García Salinas

LA UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS
Y LA COORDINACIÓN DEL ÁREA DE CIENCIAS DE LA SALUD

OTORGAN EL PRESENTE

RECONOCIMIENTO

A: **Q.F.B. DIANA ALEJANDRA LARES GUTIÉRREZ**

Por su valiosa participación como **PONENTE** con el Tema:
"ELEMENTOS DE UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA: REVISIÓN DE AVANCES DE RESULTADOS, dentro del curso de titulación teórico-práctico para Alumnos de Q.F.B., realizado a través de la plataforma virtual de la Unidad Académica de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas.
Zacatecas, Zac., 25 de junio del 2022

Dra. Argelia López Luna
Directora de la Unidad Académica de
Ciencias Químicas

Dr. Juan Armándo Flores de la Torre
Coordinador del Área de
Ciencias de la Salud

Anexo C: Carta de aceptación de realización de estancia de investigación.

Zacatecas, Zac., marzo del 2022.

Asunto: Carta de Aceptación para Estancia de Investigación.

A quien corresponda,

Por este medio formalizo la aceptación a la **Q.F.B. DIANA ALEJANDRA LARES GUTIÉRREZ**, alumna de la Maestría en Ciencia y Tecnología Química de la Unidad Académica de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Zacatecas, para realizar una estancia de investigación en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). La duración de la estancia será del 01 de marzo al 31 de mayo del 2022, como parte del proyecto "Evaluación de una dieta libre de hidratos de carbono sobre parámetros morfométricos, bioquímicos e histopatológicos en un modelo murino de síndrome metabólico".

La alumna realizará la estancia en el Departamento de Patología, bajo la supervisión académica de mi persona, M. en C. Lorena Troncoso Vazquez, enfocándose en completar la evaluación de los parámetros histopatológicos de la investigación.

Sin otro particular por el momento, aprovecho para enviarle un cordial saludo y quedo de usted para cualquier aclaración o comentario.

ATENTAMENTE



Mtra. en C. Lorena Troncoso Vazquez.

Departamento de Anatomía Patológica, HGZ NO.1 IMSS