

REPÚBLICA DE CUBA



TESIS DOCTORAL

Cambios morfofuncionales en un biomodelo experimental de síndrome metabólico en diferentes etapas del desarrollo

Yisel González Madariaga

Villa Clara

2023

Cambios morfofuncionales en un biomodelo experimental de síndrome metabólico en diferentes etapas del desarrollo

**Programa de Ciencias Básicas como Fundamento de las
Clínicas Médicas**

Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara

**Tesis en opción al título de
Doctor en Ciencias Médicas**

Autora: Lic. Yisel González Madariaga, M. Sc.

**Tutores. Lic. María de los Ángeles Boffill Cárdenas, Dr. C.
Lic. Leisy Nieto Reyes, Dr. C.**

Villa Clara

2023

Declaración de autoría

Declaro que el trabajo de tesis presentado para optar por el grado científico de Doctor en Ciencias Médicas, es de mi autoría y no ha sido enviado con antelación a ninguna otra universidad para ser evaluado o ser utilizado para examen de grado.

M. Sc. Yisel González Madariaga

Autora

Publicaciones derivadas de la tesis

1. Machado-Martínez A, Herrera-Moya VA, **González-Madariaga Y**, García-Gómez ML. Daño en la pared arterial de las ratas *Wistar* sometidas a dieta hiperglucídica. **Medicent Electrón.** 2022; 26(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30432022000400818
2. **González-Madariaga Y**, Valido-Díaz A, Caieme-Fernandes M, Martínez-Lima MN. Morphological changes in *Wistar* rat fetuses from progenitors with sucrose-induced metabolic syndrome. **Explor Anim Med Res.** 2020; 10 (2). Disponible en: https://www.animalmedicalresearch.org/Vol.10_Issue-2_December_2020/MORPHOLOGICAL%20CHANGES%20IN%20WISTAR.pdf
3. García-Gómez ML, **González-Madariaga Y**, Llerena-Bernal T. Hallazgo necrópsico de nefroblastoma asociado a síndrome metabólico experimental. **Rev Cub Invest Bioméd.** 2020; 39 (3). Disponible en: <https://revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/335/867>
4. **González-Madariaga Y**, García-Gómez ML, Llerena-Bernal T, Castillo-Alfonso OA. Síndrome metabólico experimental, herramienta en el desarrollo de capacidades formativas en ciencias básicas biomédicas. **Edumecentro.** 2020; 12(3). Disponible en: https://revedumecentro.sld.cu/index.php/edumc/article/view/1608/html_595
5. Prada-Santana J, **González-Madariaga Y**, Cabrera-Llano JL, Boffill-Cárdenas MA, Ruiz-Moré A, Hernández- Díaz Y. Actividad de la mieloperoxidasa en un modelo experimental del síndrome metabólico. **Acta Méd Centro.** 2020; 14 (4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2709-79272020000400432
6. **González-Madariaga Y**, Santiesteban-Muñoz D, Herrera-Moya VA, Machado-Martínez A, Llerena-Bernal T, Escobar R. Effect of vitamin C and vitamin E on sucrose induced endothelial damage in rats. **Explor Anim Med Res.** 2017; 7(2):148-153. Disponible en: https://www.animalmedicalresearch.org/Vol.7_Issue-2_December_2017/EFFECT%20OF%20VITAMIN%20C%20AND%20VITAMIN%20E%20ON%20SUCROSE.pdf
7. **González-Madariaga Y**, Castillo-Alfonso OA, Llerena-Bernal T, Alfonso-Perdomo O, de la Barca-Barrera M, González-Machado Y. Síndrome Metabólico en ratas *Wistar* inducido por dieta rica en sacarosa. **Acta Bioquim Clin Latinoam.** 2015; 49 (3). Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0325-29572015000300003

DEDICATORIA

*A mi hija querida, la fuente inagotable de mis
fuerzas, cada día.*

A mis padres, en cada esfuerzo está su amor infinito.

AGRADECIMIENTOS

Cuando llegamos a esta etapa del camino son tantos a quienes agradecer que un par de cuartillas no alcanzaría. Agradezco a mi familia porque siempre han estado conmigo en las buenas y en las malas, y parte de lo que soy es gracias a ese sostén. A mi pequeña, que ya no lo es tanto, pero que sabe tanto de doctorado y del sacrificio que lleva implícito alcanzarlo porque lo ha sentido de cerca. A mis padres, por su aliento de cada día y su apoyo incondicional. A mi hermana que también me ha ayudado sin titubeos, aun cuando mis sobrinos, los locos bajitos, han demandado la atención de su mami. A Roberto, cuya ayuda aprecio mucho.

Agradezco, a la doctora y amiga María Boffill, la gentileza de ser mi tutora y el empeño en ayudarme para llegar al final de la meta. Gracias por sus horas de desvelos, por sus sabios consejos, por no abandonarme y a pesar de tantas dificultades y escollos en el camino, apostar por mí y ayudarme a crecer. Gracias a la doctora Leisy Nieto, sus enseñanzas también hicieron posible que llegara hasta el final.

Hoy recuerdo tantas personas que a lo largo de estos años me han ayudado, unos se han mantenido en el tren de mi vida, otros ya se han bajado por razones a veces nada felices, pero de igual forma nunca olvidaré. Gracias Carmen Sánchez, mi primera tutora de formación, una amiga querida, de quien aprendí los primeros acordes en mi profesión y a defender mis sueños; gracias a mis colegas y amigos de la UTEX, tantos años luchando contra tantas adversidades y aun así sacándole luz a las sombras. Gracias Freisman, Luis, mi querida Belquis, gracias Pedrito, Manuel, Yainier, Yoelvis, Carmen Álvarez, Ismeidy y Lucesita. Agradezco la amistad bonita y sincera de Orestes Castillo, mi viejuqui, como le digo, en todos estos años no solo fue un colaborador cercano en esta investigación, sino que también gracias a su sapiencia y oportunos consejos pude lograr equilibrio entre dirigir a tantas personas y llevar este proyecto investigativo. Gracias a Tania, su colaboración fue decisiva, su entrega y profesionalismo contribuyeron a realizar esta investigación. Agradezco a mis compañeros que de una forma u otra entregaron un pedacito de su talento en este trabajo: Arianna, Ramón, Milene, Maibia, Laurita, Dailys. Gracias a Maria Luisa, que por fortuna encontré y ha sido una bendición; a su lado aprendí mucho sobre lesiones histopatológicas, pero además el valor de la amistad. Le agradezco también a todos mis

tesiantes, estudiantes del pre y posgrado, de la UCLV y de la UCM, cuyos trabajos también contribuyeron a hacer realidad este proyecto doctoral.

Quiero agradecer también a mi buen amigo Montenegro, gracias a su paciencia para interpretar lo que quería decir y hacer, gracias a él he aprendido de análisis estadísticos, de medias y desviaciones, de matrices, regresiones, de trabajar en el SPSS. Gracias a mi buena amiga Marianela, siempre dispuesta a ayudarme, a colaborar de cualquier manera, es de las personas indispensables. Gracias Emilia, su apoyo siempre significó mucho para mí, tu comprensión y empuje los guardo celosamente. Agradezco también a mis colegas del programa co-doctorandos y doctores. Estos últimos meses han sido de constante aprendizaje, no solo de conocimientos sino también de aptitudes, de disposición ante la vida. Me quito el sombrero ante las doctoras Nélide y Manuela que nunca dejan de enseñarnos, paradigmas de muchas generaciones. Gracias a los doctores José Enríquez, Anselmo, Leticia, Tahiry, sus enseñanzas ayudaron a la calidad de esta obra.

Agradezco a esta universidad médica que, aunque no es mi alma mater de formación, hace más de 25 años bebo de su sabiduría y la siento mía, como mi casa; por eso no veo mejor escenario que este, donde también me hice máster en ciencias, para defender mi grado de doctor en ciencias.

Y gracias a la vida porque a veces lo más importante no es alcanzar un sueño, sino no dejar de soñar jamás.

RESUMEN

Resumen

Introducción: El síndrome metabólico es una condición patológica que predispone al individuo al desarrollo de enfermedades crónicas de alta morbi-mortalidad. Las ventajas de la experimentación animal, desde el punto de vista ético y de la rapidez en la generación de resultados permiten abordar esta condición. **Materiales y Métodos:** Se diseñó un esquema para la obtención y caracterización de cambios morfofuncionales en un modelo de síndrome metabólico inducido por sacarosa al 35 % a ratas *Wistar*; desde la etapa intrauterina y hasta una etapa extrapolable a la adolescencia en el ser humano. **Resultados:** Parámetros somatométricos y analíticos se modificaron al término de las 18 y 22 semanas de experimentación. El mal control glucémico se corroboró por las modificaciones que se observaron en la insulinemia y los índices HOMA-IR y HOMA-FC β . El sexo masculino desarrolló en mayor magnitud las alteraciones morfofuncionales. Los órganos que más se afectaron fueron riñón e hígado con cambios grasos y atrofia o hipertrofia celular. El ácido úrico y la circunferencia abdominal se seleccionaron para proponer un criterio diagnóstico del biomodelo. Se observó elevada la actividad de la mieloperoxidasa y daños histológicos a nivel de la aorta abdominal. Los descendientes de progenitores con inducción del síndrome metabólico experimental presentaron alteraciones morfológicas externas y óseas. **Conclusiones:** Se logró desarrollar un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa que permitió caracterizar los cambios morfofuncionales que se establecieron desde la etapa intrauterina y hasta la etapa extrauterina extrapolable a la adolescencia humana.

Palabras claves: síndrome metabólico, sacarosa, *Wistar*, adolescencia

Abstract

Introduction: Metabolic syndrome is a pathological condition that predisposes the individual to the development of chronic diseases with high morbidity and mortality. The advantages of animal experimentation, from the ethical point of view and the speed of generating results, allow us to address this condition. **Materials and Methods.** A scheme was designed to obtain and characterize morphofunctional changes in a model of 35 % sucrose-induced metabolic syndrome in Wistar rats; from the intrauterine stage to a stage that can be extrapolated to adolescence in humans. **Results:** Somatometric and analytical parameters were modified at the end of 18 and 22 weeks of experimentation. Poor glycemic control was corroborated by the changes observed in insulinemia, HOMA-IR and HOMA-FC β indices. The male sex developed morphofunctional alterations to a greater extent. The most affected organs were kidney and liver with fatty changes and cellular atrophy or hypertrophy. Uric acid and abdominal circumference were selected to propose a diagnostic criterion for the biomodel. Elevated myeloperoxidase activity and histological damage at the level of the abdominal aorta were observed. Offspring of biomodelo-induced parents showed external morphological and skeletal alterations. **Conclusions:** Metabolic syndrome biomodel induce by sucrose-rich diet was developed and it allowed characterizing the morphofunctional changes established in a period that can be extrapolated to adolescence in humans.

Keywords: metabolic syndrome, sucrose, *Wistar*, adolescence

TABLA DE CONTENIDOS

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO.....	8
1.1 Síndrome metabólico	8
1.1.1 Definición.....	8
1.1.2 Prevalencia.....	11
1.1.3 Fisiopatología	13
1.1.3.1 Obesidad abdominal	13
1.1.3.2 Inflamación.....	14
1.1.3.3 Resistencia a la insulina.....	16
1.1.3.4 Dislipidemia.....	18
1.1.3.5 Hipertensión arterial	19
1.1.3.6 Disfunción Endotelial.....	19
1.1.4 Síndrome metabólico, gestación y anomalías congénitas	22
1.2 Biomodelos experimentales	24
1.2.1 Generalidades	24
1.2.2 Síndrome metabólico experimental inducido por dieta rica en carbohidratos.....	25
1.2.3 Etapas del desarrollo prenatal y postnatal en animales de laboratorio.....	28
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
2.1 Aspectos Generales	31
2.2 Modelos biológicos	33
2.3 Establecimiento de un biomodelo de síndrome metabólico por inducción de una dieta rica en sacarosa en ratas <i>Wistar</i> desde la etapa intrauterina hasta las 18 semanas.....	34
2.3.1 Inducción del biomodelo	34
2.3.2 Parámetros somatométricos.....	35
2.3.3 Parámetros analíticos.....	35
2.3.3.1 Bioquímicos	35
2.3.3.2 Hematológicos	36
2.3.3.3 Control glucémico	36
2.3.4 Selección del sexo que mejor desarrolló el biomodelo	37
2.4 Determinación de parámetros somatométricos, analíticos e histo-patológicos en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas <i>Wistar</i> desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas	37

2.4.1 Inducción del biomodelo	37
2.4.2 Parámetros somatométricos	38
2.4.2.1 <i>In vivo</i>	38
2.4.2.2 Post-mortem	38
2.4.3 Parámetros analíticos	38
2.4.3.1 Bioquímicos	38
2.4.3.2 Control glucémico	39
2.4.4 Parámetros anátomo-histopatológicos	39
2.4.5 Determinación de un criterio diagnóstico para el síndrome metabólico experimental	39
2.5 Determinación de parámetros de inflamación en un síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas <i>Wistar</i>.....	41
2.5.1 Inducción del biomodelo	41
2.5.2 Determinación de parámetros de inflamación en biomodelo de síndrome metabólico experimental.....	41
2.6 Determinación de parámetros de disfunción endotelial en aorta abdominal en síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas <i>Wistar</i>.....	42
2.6.1 Inducción del biomodelo	42
2.6.2 Estudio de parámetros histo-morfométricos de disfunción endotelial en aorta abdominal.....	42
2.6.2.1 Registro de parámetros histológicos	43
2.6.2.2 Registro de parámetros morfométricos	43
2.7 Identificación de anomalías morfológicas en descendientes de progenitores con síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa	43
2.7.1 Cruzamiento de animales con síndrome metabólico experimental, gestación y cesárea.....	43
2.7.2 Registro de parámetros somatométricos de ratas progenitoras	45
2.7.3 Análisis de anomalías externas y comparación del número, sexo, talla y peso de los fetos.....	45
2.7.4 Determinación de anomalías congénitas en el tejido esquelético y blando	45
2.8 Análisis Estadístico	46
CAPÍTULO 3. RESULTADOS y DISCUSIÓN	49
3.1 Biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas <i>Wistar</i> desde la etapa intrauterina hasta 18 semanas	49
3.1.1 Parámetros somatométricos	49

3.1.1.1	Peso corporal.....	49
3.1.1.2	Circunferencia y grasa abdominal.....	51
3.1.2	Parámetros analíticos.....	53
3.1.2.1	Parámetros bioquímicos	53
3.1.2.2	Parámetros hematológicos	56
3.1.2.3	Parámetros de control glucémico.....	57
3.1.3	Sexo que mejor desarrolló el biomodelo	62
3.2	Parámetros somatométricos, analíticos e histológicos en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas machos desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas.....	64
3.2.1	Parámetros somatométricos.....	64
3.2.1.1	Peso corporal.....	64
3.2.1.2	Parámetros somatométricos <i>in vivo</i>	65
3.2.1.3	Parámetros somáticos post-mortem	66
3.2.2	Parámetros analíticos.....	67
3.2.2.1	Parámetros bioquímicos	67
3.2.2.2	Parámetros de control glucémico.....	69
3.2.3	Parámetros anátomo-histopatológicos	72
3.2.3.1	Observación macroscópica de la cavidad toraco-abdominal	72
3.2.3.2	Observación microscópica en tejidos.....	73
3.2.4	Nuevo criterio diagnóstico para predecir desarrollo de síndrome metabólico experimental.....	80
3.3	Parámetros de inflamación en el síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas <i>Wistar</i>	82
3.3.1	Parámetros somatométricos y analíticos.....	82
3.3.2	Parámetros de Inflamación.....	83
3.4	Parámetros de disfunción endotelial en aorta abdominal en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas <i>Wistar</i> desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas postnatales	87
3.4.1	Parámetros somatométricos y analíticos.....	87
3.4.2	Análisis histo-morfométrico de segmentos de aortas	89
3.4.2.1	Observación histológica en fragmentos de aorta abdominal.....	89
3.4.2.2	Parámetros morfométricos en fragmentos de aorta abdominal	91
3.5	Anomalías morfológicas en descendientes de progenitores con síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa	93
3.5.1	Parámetros somatométricos de ratas progenitoras	93

TABLA DE CONTENIDOS

3.5.2 Anomalías externas en fetos provenientes de ratas con síndrome metabólico experimental	97
3.5.2.1 Número, peso, sexo y talla de los fetos	97
3.5.2.2 Examen externo de los fetos.....	98
3.5.3 Anomalías en tejido esquelético y blando	99
CONCLUSIONES	97
RECOMENDACIONES.....	98
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105
ANEXOS.....	

ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

- ABC: área bajo la curva
- AG: ácidos grasos
- AGL: ácidos grasos libres
- AGEs: advanced glycosylated non-enzymatic (productos avanzados de glicosilación no enzimática)
- AHA: American Heart Association (Asociación Americana del Corazón)
- AL: acúmulo de linfocitos
- Alb: Albúmina
- ASP: acylation-stimulating protein (proteína estimuladora de la acilación).
- AU: ácido úrico
- CA: circunferencia abdominal
- cAMP: cyclic adenosine monophosphate (monofosfato de adenosina cíclico)
- CCR: chemokine receptors (receptores de quimiocinas)
- Cenpalab: Centro nacional para la producción de animales de laboratorio
- CL: cuerpos lúteos
- CMLV: células musculares lisas vasculares
- Creat: creatinina
- CT: colesterol total
- C3: fracción 3 del complemento
- C4: fracción 4 del complemento
- DAG: diacilgliceroles
- DE: disfunción endotelial
- DEnd: denudación endotelial
- DM: diabetes mellitus
- DM2: diabetes mellitus tipo 2
- DMG: diabetes mellitus gestacional
- DPP IV: dipeptidilpeptidasa IV
- DRS: dieta rica en sacarosa
- ECV: enfermedades cardiovasculares
- FC β : células β funcionales
- FSH: follicle stimulate hormone (hormona estimulante del folículo)
- EEAR: engrosamiento endotelial de arteriolas renales
- EMAC: esteatosis macrovacuolar
- EMIC: esteatosis microvacuolar
- EGIR: European Group for the study of the Insulin Resistance (Grupo Europeo para el estudio de la Resistencia a la Insulina)

- EO: estrés oxidativo
- EROs: especies reactivas de oxígeno
- ET-1: endotelina
- GA: glomérulos atróficos
- GAA: glucemia alterada en ayunas
- GAb: grasa abdominal
- GH: glomérulos hipertróficos
- Glob: globulina
- Glu: glucemia
- GLUT: familia de proteínas transportadoras de glucosa
- GLP-1: glucagon-like peptide-1 (péptido tipo I similar al glucagón)
- HDLc: high density lipoprotein cholesterol (colesterol unido a lipoproteína de alta densidad)
- HGNA: hígado graso no alcohólico
- HTA: hipertensión arterial
- HM: hipertrofia de miocitos
- HOMA: Homeostasis-Model-Assessment (modelo homeostático para la resistencia a la insulina)
- IA: islotes atróficos
- IAV: índice de adiposidad visceral
- IAVC: índice de adiposidad visceral chino
- ICAM-1: molécula 1 de adhesión intercelular
- IDA: índice de depósito abdominal
- IDF: International Diabetes Federation (Federación Internacional de Diabetes)
- IFC: índice de la forma corporal
- IGTAG: índice glucosa-triacilglicérido
- IH: islotes hipertróficos
- IL1: interleuquina 1
- IL6: interleuquina 6
- IMC: índice de masa corporal
- IR: insulin resistance (resistencia a la insulina)
- IRS-1: insulin receptor substrate type 1 (sustrato tipo 1 del receptor de la insulina)
- JNK: c-Jun N-terminal kinases (quinasas c-Jun N-terminal)
- LCC: longitud cabeza-cola
- LCR: líquido cefalorraquídeo
- LDL: low density lipoprotein (lipoproteínas de baja densidad)
- LPL: lipoprotein lipasa
- MAP-K: mitogen-activated kinase protein (proteína quinasa activada por mitógenos)
- MB: membrana basal
- MCP1: monocyte chemotactic protein-1 (proteína 1 quimioatrayente de monocitos)

- MEC: matriz extracelular
- MPO: mieloperoxidasa
- NCEP/ATP III: National Cholesterol Education Program /Adult Treatment Panel III (Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol /Panel III de Tratamiento al Adulto)
- NF-κB: nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells or nuclear factor-kappa B (factor nuclear kappa B)
- NHBPEP: National High Blood Pressure Education Program (Programa Nacional de Educación sobre la Presión Arterial Alta)
- NHLBI: National Heart, Lung, and Blood Institute (Instituto Nacional del Corazón, Pulmones y Sangre)
- NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey (Encuesta Nacional sobre Salud y Nutrición)
- NO: óxido nítrico
- 11-β-OHSDH: 11 β hidroxiesteroide deshidrogenasa
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- PA: presión arterial
- PAD: presión arterial diastólica
- PAI-1: plasminogen activator inhibitor type1 (inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1)
- PAL: productos de acumulación de lípidos
- PAS: presión arterial sistólica
- PC: peso corporal
- PI3K: fosfoinositol 3-quinasa
- Peróxido de hidrógeno: H₂O₂
- PGM: penetración grasa en miocitos
- PK: proteína quinasa
- PL: presencia de lipoblastos
- PTGO: prueba de tolerancia a la glucosa oral
- RCC: relación cintura-cadera
- RL: radicales libres
- RFA: reactantes de fase aguda
- RI: resistencia a la insulina
- SGLT2: sodium glucose co-transporter type 2 (Co-transportador tipo 2 de sodio/glucosa)
- SHBG: sexual hormones binding globulin (globulina fijadora de hormonas sexuales)
- SM: síndrome metabólico
- SME: síndrome metabólico experimental
- SPSS: Statistical Package for the Social Sciences (Paquete estadístico para las Ciencias Sociales)

- SRAA: sistema renina angiotensina-aldosterona
- TA: tubulis atróficos
- TAG: triacilglicéridos
- TGA: tolerancia a la glucosa alterada
- TGP: transaminasa glutámico- pirúvico
- TGO: transaminasa glutámico-oxalacético
- TH: tubulis hipertróficos
- TNF- α : tumoral necrosis factor-alfa (factor de necrosis tumoral alfa)
- VCAM-1: vascular cell adhesión molecule 1 (molécula 1 de adhesión de células vasculares)
- VLDL: very low density lipoprotein (lipoproteína de muy baja densidad)
- VPP: valores predictivos positivos
- VPN: valores predictivos negativos
- UCP1: uncoupling protein 1 (proteína desacopladora 1)
- UTEX: Unidad de Toxicología Experimental

Listado de Tablas

- Tabla 1. Parámetros somatométricos circunferencia y grasa abdominal en los grupos de experimentación a las 18 semanas postnatales.....	52
- Tabla 2. Valores de los parámetros bioquímicos evaluados a las 18 semanas postnatales.....	54
- Tabla 3. Valores de los parámetros hematológicos evaluados a las 18 semanas postnatales.....	56
- Tabla 4. Control glucémico determinado al destete (s3), a las 15 semanas (s15) y a las 18 semanas (s18) postnatales.....	58
- Tabla 5. Prueba de la tolerancia a la glucosa oral a las 18 semanas postnatales.....	60
- Tabla 6. Diferencias entre los valores medios de los parámetros en los grupos con inducción del biomodelo y su respectivo grupo sano del mismo sexo a las 18 semanas postnatales	62
- Tabla 7. Parámetros determinados a las 18 semanas de vida postnatal para verificar la instauración del biomodelo de SM en experimento 3.2.....	(anexo 10)
- Tabla 8. Parámetros somatométricos de cada grupo experimental a las 22 semanas postnatales.....	65
- Tabla 9. Parámetros somáticos medidos post-mortem en cada grupo experimental a las 22 semanas postnatales.....	67
- Tabla 10. Parámetros analíticos de los grupos experimentales a las 22 semanas postnatales.....	68
- Tabla 11. Parámetros de control glucémico a las 22 semanas postnatales.....	69
- Tabla 12. Prueba de la tolerancia a la glucosa oral a las 22 semanas postnatales.....	71
- Tabla 13. Registro de la observación macroscópica de la región toraco-abdominal al término de la inducción del SME en la semana 22 postnatales.....	(anexo 11)
- Tabla 14. Esteatosis hepática a las 22 semanas postnatales.....	74
- Tabla 15. Daños histológicos observados en corazón a las 22 semanas postnatales..	76
- Tabla 16. Registro de atrofia e hipertrofia de islotes pancreáticos a las 22 semanas postnatales.....	78
- Tabla 17. Diagnóstico de SME según los criterios de NCEP-ATP III ajustados al modelo biológico roedor. Estudio: Parámetros somatométricos, analíticos e histológicos en un	

biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas machos desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas.....	(anexo 14)
- Tabla 18. Intervalos de confianza (IC) para los parámetros seleccionados en la propuesta de nuevo criterio diagnóstico a las 22 semanas postnatales.....	80
- Tabla 19. Parámetros somatométricos y analíticos en los grupos experimentales a las 22 semanas postnatales. Estudio: Parámetros de inflamación en el síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas <i>Wistar</i>	83
- Tabla 20. Diagnóstico de SME según el criterio declarado en el acápite 3.2.5 Estudio: Parámetros de inflamación en el síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas <i>Wistar</i>	(anexo 16)
- Tabla 21. Parámetros de inflamación a las 20 y 22 semanas de inducción del biomodelo de síndrome metabólico.....	84
- Tabla 22. Asociación entre la MPO y los parámetros analíticos y somatométricos a las 22 semanas postnatales.....	86
- Tabla 23. Parámetros somatométricos y analíticos en los diferentes grupos experimentales a las 22 semanas postnatales. Estudio: Parámetros de disfunción endotelial en aorta abdominal en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas <i>Wistar</i> desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas postnatales.....	88
- Tabla 24. Diagnóstico de SME según el criterio declarado en el acápite 3.2.5. Estudio: Parámetros de disfunción endotelial en aorta abdominal en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas <i>Wistar</i> desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas postnatales	(anexo 17)
- Tabla 25. Frecuencia de los parámetros histológicos observados en aorta abdominal en la semana 20 y 22 de vida de los biomodelos.....	90
- Tabla 26. Parámetros morfométricos de daño endotelial en aorta abdominal en las semanas 20 y 22 de vida de los biomodelos.....	92
- Tabla 27. Parámetros somatométricos de ratas progenitoras gestadas con 18 semanas de vida postnatal.....	94
- Tabla 28. Inspección en cuernos uterinos de ratas gestadas con 18 semanas de vida postnatal.....	95

- Tabla 29. Número, sexo, peso y talla de los fetos de ratas gestadas con 18 semanas de vida postnatal.....	97
- Tabla 30. Alteraciones del tejido esquelético en fetos de ratas gestadas con 18 semanas de vida postnatal.....	100

Listado de Figuras

- Figura 1. Curva de peso corporal de los grupos de experimentación en ambos sexos hasta las 18 semanas postnatales.....50
- Figura 2. Curva de peso corporal de los grupos experimentales hasta las 22 semanas postnatales.....64
- Figura 3. Aspecto del nefroblastoma mixto o tumor de Wilms en un reporte de caso del grupo de SME. Estudio: Parámetros somatométricos, analíticos e histológicos en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas machos desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas.....(anexo 12)
- Figura 4. Cortes histológicos del tejido hepático en zona de la vena centrolobulillar a las 22 semanas postnatales.....73
- Figura 5. Imágenes de arteriolas renales a las 22 semanas postnatales.....75
- Figura 6. Imágenes de glomérulos y tubulis a las 22 semanas postnatales.....75
- Figura 7. Imágenes de miocitos a las 22 semanas postnatales.....76
- Figura 8. Tejido adiposo perivisceral a las 22 semanas postnatales.....77
- Figura 9. Tejido pancreático a las 22 semanas postnatales.....78
- Figura 10. Cortes de aorta abdominal en animales de 22 semanas de vida.....89
- Figura 11. Reabsorciones tempranas y tardías en progenitoras con síndrome metabólico inducido hasta la semana 18 postnatal.....96
- Figura 12. Hematomas en fetos de progenitores con síndrome metabólico inducido hasta la semana 18 postnatal.....99
- Figura 13. Tejido esquelético de fetos de progenitores sanos y con síndrome metabólico inducido hasta la semana 18 postnatal.....100
- Figura 14. Ventrículos cerebrales de fetos de progenitores sanos y con síndrome metabólico inducido hasta la semana 18 postnatal.....101

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico (SM) se caracteriza por una serie de desórdenes metabólicos que se presentan en un mismo individuo y que son considerados factores de riesgo para desarrollar diabetes mellitus (DM) y enfermedad cardiovascular (ECV). De manera simultánea o secuencial, aparecen obesidad central, dislipidemia, desajustes en el metabolismo de la glucosa e hipertensión arterial. Todos estos desórdenes están estrechamente asociados a la resistencia a la insulina (RI), la cual se considera como base fisiopatológica del síndrome, y a la obesidad abdominal o central, como responsable del desarrollo de la RI.¹

El número de adultos con SM es muy elevado y continúa aumentando en todo el mundo. Su prevalencia varía según la edad, el sexo, el origen étnico y el estilo de vida.² La diversidad en los criterios de clasificación dificulta conocer con exactitud, la cantidad de personas que presentan SM. El incremento de la prevalencia parece estar asociado con las modificaciones en el estilo de vida.^{3,4} Los cambios cualitativos y cuantitativos en la alimentación desde las edades tempranas, incluso en la etapa prenatal, además de la tendencia al sedentarismo, conducen al incremento de fenotipos obesos con alta probabilidad de desarrollar SM y otras comorbilidades.⁵

En las últimas décadas, numerosos estudios revelan la asociación en edades pediátricas entre la obesidad y el SM.^{4,6} El riesgo de padecer ECV y diabetes mellitus tipo II (DM2) también aumenta en niños obesos y con desajustes en el metabolismo. Las alteraciones provocadas por el SM en las edades pediátricas pueden ser revertidas si son identificadas y corregidas tempranamente, debido a la plasticidad de los órganos implicados. La implementación de estas acciones correctivas podría tener un efecto beneficioso en la salud de estos individuos en su edad adulta.⁶ Sin embargo, los cambios y adaptaciones fisiológicas que se producen durante el crecimiento natural dificultan llegar a un consenso para el diagnóstico del SM en esta etapa del ciclo vital.⁷ Por esta razón, el diagnóstico del SM en edades pediátricas, como la adolescencia, representa un desafío para los profesionales médicos.

En los últimos años, se han estudiado extensamente las alteraciones hormonales y metabólicas que se producen durante la gestación y que dependen del ambiente intrauterino establecido en esta etapa.^{8,9} Los cambios epigenéticos que ocurren durante el desarrollo embrionario-fetal explican cómo las exposiciones dietéticas inadecuadas durante el desarrollo temprano pueden condicionar la reprogramación fetal.¹⁰ Este ambiente puede provocar un aumento en la susceptibilidad a desarrollar estados mórbidos en la etapa adulta, incluyendo la obesidad y el SM.¹¹

Durante la etapa embrionaria, los procesos de diferenciación celular también están sujetos a la reprogramación debido al entorno prooxidante y proinflamatorio intrauterino que se produce en la obesidad materna, lo que afecta los procesos de regulación endocrina durante el desarrollo. La hiperglucemia o diabetes mellitus gestacional (DMG) y el SM *per se* también pueden afectar al feto. El exceso de glucosa circulante, que se observa tanto en gestantes diabéticas como en aquellas que consumen una dieta excedida en glúcidos, se transporta a través de la placenta y estimula tempranamente a un páncreas fetal inmaduro pero funcional. El resultado es un exceso de insulina fetal, que promueve el sobrecrecimiento y la adiposidad fetal, así como la desregulación de la función metabólica de diferentes órganos.¹²

Las gestantes que presentan aspectos del SM antes del embarazo, como obesidad, hipertensión crónica, DM y dislipidemia, tienen un alto riesgo de presentar disfunción placentaria e incluso muerte fetal. Los estados de hiperglucemia o hiperinsulinemia durante la gestación condicionan la aparición de anomalías congénitas en la descendencia. Entre las más frecuentes se encuentra el síndrome de regresión caudal (agenesia o hipoplasia del fémur y de las últimas vértebras).¹³ La combinación del embarazo y el SM en la adolescencia podría explicar las anomalías congénitas que se observan en el fruto de la concepción de estos individuos.

Varios estudios en humanos han reportado la relación entre el SM y la glucotoxicidad con las malformaciones en la descendencia a nivel renal, cardiovascular, entre otros.^{14,15} Sin embargo, aún son insuficientes los estudios que comprueben *in vivo* la posible asociación

entre este estado metabólico adverso y las anomalías en tejidos blandos y esqueléticos, principalmente cuando la gestación ocurre en etapas tempranas del desarrollo.

Aunque el estado de inflamación crónica de bajo grado no se incluye en ninguna de las guías diagnósticas del SM, se acepta como uno de los aspectos fisiopatológicos que vincula los mecanismos moleculares involucrados en la instauración y desarrollo de los componentes del síndrome.¹ El incremento de citoquinas proinflamatorias como la interleuquina 6 (IL6), el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF α por sus siglas en inglés) y el activador del inhibidor-1 del plasminógeno (por sus siglas en inglés PAI-1) se ha asociado con el aumento de adiposidad central y riesgo cardiovascular tanto en adultos como en niños. La mayoría de estas moléculas forman parte de rutas de señalización celular con una vida media en el plasma muy corta,¹⁶ lo que obliga a diseñar pruebas de detección con una alta sensibilidad.

La mieloperoxidasa (MPO) es una hemoperoxidasa que se libera por neutrófilos y macrófagos en respuesta a la agresión por patógenos, tanto a nivel tisular como plasmático. También ha sido asociada a numerosas enfermedades crónicas con componente inflamatorio.¹⁷ La acción oxidativa intrínseca de esta enzima induce cambios estructurales a nivel molecular que contribuyen a perpetuar e incrementar el daño en los tejidos expuestos.¹⁸

Las fracciones del complemento C3 y C4 son proteínas reactantes de fase aguda (RFA) relacionadas con la inmunidad innata. Estos marcadores presentan elevada asociación con las ECV, la obesidad y la RI, y constituyen parámetros que se determinan habitualmente en la práctica clínica para estudiar el estatus inmunológico.¹⁹ La determinación de la actividad de la MPO y la concentración de C3 y C4 podría ser útil para el diagnóstico y el seguimiento del SM, lo que sería una importante contribución a la práctica médica.

Muchos de los aspectos fisiopatológicos del SM que se conocen hoy en día se dilucidaron por la experimentación animal. Las investigaciones con biomodelos demostraron que ingestas ricas en hidratos de carbono simples (sacarosa y/o fructosa) conducen a RI y dislipidemia.²⁰ Los modelos experimentales empleados para el estudio del SM se enfocan en la reproducción de sus rasgos más significativos; la hipertensión, la diabetes y la

obesidad. El modelo experimental de SM ideal presentaría todos sus signos aunque, al igual que en el humano, basta que al menos tenga presente tres de los factores de riesgo aceptados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Federación Internacional de Diabetes (Internacional Diabetes Federation por sus siglas en inglés IDF) o el Programa de Educación Nacional del colesterol de EUA (National Cholesterol Education Program por sus siglas en inglés NCEP).²¹ No obstante, aún continúa la búsqueda de biomarcadores que faciliten el diagnóstico del SM en el animal de laboratorio y puedan ser extrapolables a la práctica clínica.

Los modelos inducidos por dieta hipergrasa o con alto contenido en carbohidratos son los más adecuados por simular las condiciones patogénicas del SM en el humano. La mayoría de los modelos reportados en la literatura se obtienen por intervención nutricional en animales adultos.^{22,23} El desarrollo de un biomodelo inducido por el suministro crónico de una dieta rica en sacarosa (DRS) desde la etapa intrauterina y hasta las primeras etapas del desarrollo aportaría nuevos conocimientos a la fisiopatología del SM.

El componente inflamatorio, la hipertensión arterial, la hipertrigliceridemia, el daño oxidativo y los niveles elevados de insulina y glucosa presentes en el SM, se relacionan patogénicamente con la disfunción endotelial (DE). Por esta razón, también se considera al SM como un estado predisponente al desarrollo de disfunción del endotelio y, por consiguiente, de la enfermedad vascular aterosclerótica.²⁴ En trabajos experimentales en aortas de animales se describen histológicamente las diferentes etapas en el desarrollo de la lesión vascular.²⁵ Sin embargo, son aún escasos los estudios en modelos experimentales que describan la instauración de las lesiones en el endotelio vascular conducentes a la DE en etapas incipientes del desarrollo de un SM.

El aumento de la población con SM, especialmente los niños y adolescentes,²⁶ indica una necesidad urgente de estudiar las causas pertinentes y la progresión de sus signos. Para llevar a cabo estos estudios, se requieren modelos animales viables que imiten adecuadamente los principales aspectos de la enfermedad humana. Estos aspectos incluyen la obesidad, la diabetes, la dislipidemia, la hipertensión arterial y la enfermedad vascular.¹

Es importante que estos modelos sean extrapolables al ser humano, y para ello debemos tener en cuenta no solo las similitudes y diferencias anatómicas y funcionales, sino también la etapa del desarrollo o ciclo de vida tanto en el ser humano como en el modelo empleado. De esta manera, podremos interpretar adecuadamente los hallazgos encontrados y valorar su utilidad en la investigación biomédica a partir de la extrapolación de los resultados.

La obtención y caracterización de un modelo de SM en animales de laboratorio por la administración crónica de sacarosa y que mimetice la etapa de la adolescencia, sentaría las pautas para estudios posteriores. Estos estudios podrían profundizar en las complicaciones metabólicas y vasculares de este síndrome, evaluar terapéuticas farmacológicas o nutricionales, así como diseñar estrategias preventivas que contribuyan a minimizar el impacto de esta condición tanto en los individuos como en su descendencia.

Situación problemática: Aunque se han desarrollado biomodelos animales para mimetizar la condición de síndrome metabólico en el humano, estos no han podido caracterizar totalmente los cambios morfofuncionales que se presentan en esta condición patológica.

Problema científico: Se desconoce qué elementos aportaría a la caracterización de los cambios morfofuncionales un biomodelo experimental de síndrome metabólico, inducido por intervención nutricional durante toda la etapa intrauterina y hasta las primeras etapas del desarrollo.

Hipótesis: El modelo experimental de síndrome metabólico, inducido por intervención nutricional desde la vida intrauterina y hasta las primeras etapas del desarrollo extrauterino, aporta nuevas evidencias que permiten caracterizar los cambios morfofuncionales que provoca este síndrome.

Objeto de Investigación: Cambios morfofuncionales en un modelo experimental de síndrome metabólico.

Campo de acción: Síndrome metabólico desarrollado por intervención nutricional desde la etapa intrauterina y hasta las primeras etapas del desarrollo.

OBJETIVO GENERAL: Caracterizar los cambios morfofuncionales en un biomodelo de síndrome metabólico experimental inducido por intervención nutricional desde la etapa intrauterina y hasta la etapa extrauterina extrapolable a la adolescencia humana.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Establecer un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa al 35 % en ratas *Wistar* desde toda la etapa intrauterina hasta la etapa extrapolable a la adolescencia en el ser humano.
2. Determinar parámetros somatométricos, analíticos e histo-patológicos en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa al 35 % en ratas *Wistar* desde toda la etapa intrauterina hasta la etapa extrapolable a la adolescencia en el ser humano.
3. Determinar parámetros de inflamación sistémica y disfunción endotelial en aorta abdominal en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa al 35 % en ratas *Wistar* desde la etapa intrauterina hasta la etapa extrapolable a la adolescencia en el ser humano.
4. Identificar las anomalías morfológicas en fetos de ratas *Wistar* descendientes de progenitores con síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa al 35 % y edad extrapolable a la adolescencia en el ser humano.

Novedad Científica: Se obtuvo y caracterizó un biomodelo experimental de síndrome metabólico que tuvo en cuenta el efecto, para el neonato, del ambiente hiperglucídico intrauterino en su progenitora y se extendió hasta su desarrollo postnatal extrapolable a la adolescencia en el ser humano. Se evaluó por vez primera el perfil inflamatorio del síndrome metabólico experimental mediante la actividad de la mieloperoxidasa y la concentración de los fragmentos del complemento C3 y C4. Además, se estableció un criterio diagnóstico para este biomodelo basado en la combinación de parámetros analíticos y somáticos.

Aporte teórico: La caracterización de los cambios morfofuncionales que se manifiestan en un síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa desde la etapa intrauterina y hasta la etapa del desarrollo extrapolable a la adolescencia en el ser humano.

Aporte práctico: El establecimiento de un diseño metodológico para la obtención de un biomodelo experimental de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa, desde la etapa intrauterina y hasta la etapa del desarrollo extrapolable a la adolescencia en el ser humano.

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO

El presente capítulo revisa el marco teórico-conceptual del SM, la génesis de esta alteración metabólica y su impacto a nivel global y local, principalmente en niños y adolescentes. También se aborda el tema referido a la fisiopatología de esta condición, se tratan los factores de riesgos asociados con su desarrollo en el ser humano y se señalan estudios que destacan posibles asociaciones entre el SM y las anomalías congénitas en el fruto de la concepción. Estos aspectos son necesarios, para evaluar desde la experimentación animal, las posibilidades de generar un biomodelo que simule la mayoría de los componentes de esta alteración. Para ello, sobre la base de la etiopatogenia del síndrome, se explican los cambios que producen las intervenciones nutricionales en la generación de este modelo. Además, se comparten aspectos referidos a determinar la edad extrapolable del roedor de laboratorio con la edad humana, lo cual contribuye a que los resultados puedan ser aplicables a la condición humana con un mayor grado de exactitud.

1.1 Síndrome metabólico

1.1.1 Definición

Los antecedentes del SM se remontan a las primeras décadas del pasado siglo cuando Kylin demostró la asociación existente entre la hipertensión, la hiperglucemia y la gota.²⁷ Otros investigadores reflejaron asociaciones entre la adiposidad visceral, obesidad y otras anormalidades metabólicas presentes en ECV y DM2.^{28,29}

El SM descrito por Reaven en el año 1988 dio un impulso importante al estudio de esta entidad. Él identificó como integrantes de este síndrome a la obesidad, la resistencia a la insulina, la hipertensión, la tolerancia alterada a la glucosa o diabetes, la hiperinsulinemia y la dislipidemia caracterizada por aumento de los triglicéridos y la baja concentración de lipoproteínas de alta densidad (HDL)³⁰. Todas estas características constituyen por sí mismas factores de riesgo para el desarrollo de aterosclerosis y, por lo tanto, el SM representa un riesgo importante para padecer enfermedad coronaria.¹

Los criterios diagnósticos para el SM han sido objeto de múltiples modificaciones y actualizaciones después de la publicación de varios estudios.³¹⁻³³ Estas investigaciones revelaron diferencias en el alcance de cada definición para detectar los individuos con alto riesgo cardiovascular (cuadro 1).

Cuadro 1. Criterios diagnósticos del SM

Medición clínica	OMS	EGIR	NCEP-ATP III 3 de los siguientes	AHA/NHLBI 3 de los siguientes	IDF
Insulino-resistencia	GAA, TGA; DM Tipo 2 o disminución de la sensibilidad a la insulina más dos de los siguientes	Insulina plasmática > Percentil 75 más dos de los siguientes	-	-	-
Obesidad	IMC>30 o RCC > 0.9 H > 0.85 M	CC ≥ 94 cm H ≥ 80 cm M	CC ≥102cm H ≥ 88cm M		CC ≥ del umbral definido para cada grupo étnico más dos de los siguientes
Dislipidemia	TAG ≥150mg/dL o HDL< 35mg/dL H <39 mg/dL M		TAG ≥ 150 mg/dL o HDL< 40 mg/dL H <50 mg/dL M	TAG ≥ 150 mg/dL* o HDL< 40 mg/dL H <50 mg/dL M	
Presión arterial	≥140/90 mm Hg		≥130/85 mm Hg	≥ 130/85 mm Hg*	
Glucemia	-	GAA,TGA o DM2	> 110 mg/dL	> 110 mg/dL*	
Otros	Microalb	-	-	-	-

* o en tratamiento con fármacos. H: Hombres, M: Mujeres. AHA/NHLBI: American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute; DM2: diabetes mellitus tipo 2, NCEP/ATP III: National Cholesterol Education Program /Adult Treatment Panel III, EGIR: European Group for the study of Insulin Resistance, IDF: International Diabetes Federation, OMS: Organización Mundial de la Salud. GAA: glucemia alterada en ayunas; TGA: tolerancia a la glucosa alterada; TAG: triacilglicéridos. RCC: relación cintura/cadera, CC: circunferencia de la cintura. Fuente: tomado de Grundy³²

El grupo de diabetes de la OMS dictaminó en 1998 los criterios diagnósticos para el SM donde la disminución a la sensibilidad insulínica constituye el aspecto esencial.³⁴ Un año después, el European Group for the study of Insulin Resistance (EGIR) modificó estos criterios.³⁵ En el 2001, el NCEP-ATP III de Estados Unidos definió al SM según variaciones metabólicas de género y edad.³⁶ Posteriormente, este criterio se modificó conjuntamente

por el National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI) y la American Heart Association (AHA). En este caso, se incluyeron los pacientes con alteración en la glucosa en ayunas (glucemia ≥ 100 mg/dL), hipertrigliceridemia, hiperglucemia, HDL-colesterol (HDLc) bajo o que estuvieran con prescripción médica por estas alteraciones.³⁷

En 2005, la IDF propuso nuevos criterios, similares a los del NCEP-ATPIII, pero consideró a la obesidad central como una condición necesaria para el diagnóstico del SM.³¹ En el 2009, la IDF actualizó un grupo de criterios diagnósticos, teniendo en cuenta, los umbrales de la circunferencia de la cintura específicos para cada grupo étnico.³³

El diagnóstico del SM en la adolescencia tendría un marcado interés, a partir de que se conoce que las profundas transformaciones anátomo-fisiológicas que sufre el organismo en este período determinan diferencias en cuanto a la expresión o no de algunas enfermedades.²⁶ La OMS declara que la adolescencia es la etapa que transcurre entre los 10 y 19 años.³⁸ Durante el crecimiento y desarrollo de los individuos se producen ajustes fisiológicos en la presión arterial, los niveles de lípidos en plasma y el metabolismo energético. La sensibilidad a la insulina en esta etapa de la vida es entre un 25 y un 50 % menor que en la etapa adulta.¹⁶

Numerosos investigadores han tratado de definir criterios para estudiar este segmento tan importante de la población (cuadro 2). En el 2007, la IDF fijó presentar una circunferencia de la cintura mayor o igual al percentil 90 para el diagnóstico del SM en niños y adolescentes.³⁹ Actualmente no existe consenso para el empleo de un criterio diagnóstico sobre otro, ni para la población pediátrica ni para la adulta. El criterio del NCEP-ATPIII es uno de los más empleados por su factibilidad, sobre todo, en estudios epidemiológicos.⁴⁰

Cuadro 2. Criterios diagnósticos del SM en niños y adolescentes

FR	Cook, 2003	d´Ferranti,2004	Vinier, 2005	IDF, 2007	IDFICS, 2012
Glucemia	≥ 110 mg/dL	≥ 110 mg/dL	> 110 mg/dL o Ins>15 mU/L	≥ 110 mg/dL	≥ Perc. 90 u HOMA-IR ≥ Perc 90
O. Abd	CC ≥ Perc 90*	CC ≥ Perc 75	IMC ≥ Perc 75	CC ≥ Perc 90	CC ≥ Perc 90
TAG	≥ 110 mg/dL**	≥ 110 mg/dL	≥ 150 mg/dL	≥ 150 mg/dL	≥ Perc 90
HDLc	< 40 mg/dL **	< 50 mg/dL	< 35 mg/dL o CT > Perc 95	< 40 mg/dL	<Perc 10
PA	≥ Perc 90***	≥ Perc 90	PAS ≥ Perc 95	≥130/85 mm Hg	PAS ≥ Perc 90 PAD ≥ Perc 90

IDF: International Diabetes Federation. IDFICS: Identification and Prevention of dietary and lifestyle-induced health effects in children and infants. O. Abd: obesidad abdominal, TAG: triacilglicérido, HDLc: high density lipoprotein cholesterol, PA: presión arterial, CC: circunferencia de la cintura, Ins: insulinemia, IMC: Índice de Masa Corporal, CT: colesterol total. HOMA-IR: Homeostasis-Model-Assessment-Resistance to Insulin, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica. * Edad y sexo definido por NHANES: National Health and Nutrition Examination Survey **Edad y sexo definido por NCEP: National Cholesterol Education Program ***Edad y sexo definido por NHBPEP: National High Blood Pressure Education Program. Fuente: tomado de Al Hamad⁷

El índice de Masa Corporal (IMC) ha sido un criterio usado por décadas para la clasificación de la obesidad y el sobrepeso. Sin embargo, es menos sensible que otros índices para clasificar individuos con SM o riesgo cardiometabólico al no discriminar la distribución de la grasa corporal.⁴¹ La búsqueda de factores de riesgo asociados a la obesidad abdominal ha permitido desarrollar índices que contribuyan al diagnóstico, predicción y evaluación del SM en los individuos. Entre estos podemos citar la relación cintura-cadera (RCC), los productos de acumulación de lípidos (PAL), el índice de adiposidad visceral (IAV),⁴² el índice de adiposidad visceral chino (IAVC),⁴³ el índice de la forma corporal (IFC)⁴⁴, el índice de Glucosa-TAG (IGTAG)⁴⁵, el índice de Depósito Abdominal (IDA),⁴⁶ entre otros.

1.1.2 Prevalencia

La prevalencia del SM varía de un país a otro y se complejiza su determinación porque depende de la edad, el género, la composición étnica de las poblaciones estudiadas y de los criterios diagnósticos aplicados.⁴⁷ En América Latina los valores rondan el 25% de la población adulta.⁴⁸ En Europa, el estudio MORGAM (Monica, Risk, Genetics, Archiving and

Monograph) mostró que la prevalencia del SM es superior en hombres menores de 50 años, mientras que en edades superiores la prevalencia es mayor en mujeres.⁴⁹

El incremento de la prevalencia del SM en las últimas décadas se correlaciona directamente con el aumento de la obesidad. Las causas parecen ser las modificaciones en el estilo de vida, con cambios cualitativos y cuantitativos en la alimentación y, sobre todo, con una marcada tendencia al sedentarismo que conduce a una disminución del gasto energético.¹⁶ Las cifras de niños y adolescentes obesos con criterio de SM también se han incrementado en los últimos años.⁵⁰ Actualmente las personas obesas a nivel mundial superan los 2 billones de individuos, lo cual explica la necesidad de articular estrategias para detener esta explosión pandémica.⁵¹

En Cuba aún son escasos los trabajos que abordan la prevalencia del SM. En su mayoría se trata de muestras relativamente pequeñas. En un estudio de personas obesas, efectuado en Holguín por Hernández–Tamayo,⁵² se observó una prevalencia de más del 60 % de SM. Rivero-Sabournin *et al.*⁵³ reportaron un 9,57 % de personas con SM en una población perteneciente a un área de salud de La Habana, donde casi el 50 % de la muestra superaba los 60 años. Un estudio realizado con 77 niños y adolescentes obesos camagüeyanos demostró que el 27,3 % tuvieron criterio diagnóstico de SM.⁵⁴ Recientemente, un estudio efectuado en el municipio de Santa Clara identificó al 6,27 % de gestantes con fenotipo normo peso en su primer trimestre de embarazo, como metabólicamente obesas y con síndrome metabólico.⁵⁵

El incremento del fenotipo sobrepeso y obeso se ha visto que está asociado a cambios en el epigenoma (conjunto de modificaciones del genoma que no alteran la información pero que, en dependencia de condiciones ambientales en la célula, determinan la expresión, supresión o modificación de un gen o conjunto de estos). Estos cambios pueden ser provocados por los estados de hiperglucemia, de modo que esta puede incidir en la memoria metabólica que se transmite a través de la replicación celular y en los procesos meióticos.¹¹ Cualquier etapa de la vida es susceptible a la modificación del epigenoma, sin embargo, las etapas tempranas del desarrollo son las más susceptibles. En el caso de la etapa fetal el riesgo es elevado para desarrollar enfermedades en la adultez como la obesidad, la DM y SM.¹⁰

1.1.3 Fisiopatología

Dentro de los componentes del SM se encuentran los metabólicos (obesidad, dislipidemia, hiperglucemia) y los no metabólicos (hipertensión arterial, inflamación, estado protrombóticos). El SM predispone al individuo a desarrollar la DM y las ECV, además, se asocia a un número creciente de entidades nosológicas. El hígado graso no alcohólico se considera la manifestación hepática de este síndrome.⁵⁶ La apnea obstructiva del sueño incrementa el riesgo cardiovascular en estos pacientes.⁵⁷ Diversos tipos de neoplasias se han relacionado con el SM debido principalmente al incremento del estrés oxidativo.²¹

Todavía existen muchas interrogantes sobre las causas del SM. La hipótesis más aceptada y unificadora para describir los aspectos fisiopatológicos del síndrome incluye la RI. La obesidad abdominal es el más importante de los factores de riesgo que provoca la RI.¹⁶

1.1.3.1 Obesidad abdominal

La obesidad abdominal implica un aumento de grasa a nivel visceral, principalmente en hígado, músculo y páncreas. Esta grasa visceral contribuye a la síntesis y secreción de sustancias químicas llamadas adipoquinas, que favorecen estados proinflamatorios y protrombóticos y que pueden conducir o contribuir al desarrollo de la RI.⁵⁸

El exceso de tejido adiposo visceral se comporta como un potente predictor de las complicaciones asociadas al SM de forma superior a índices de adiposidad total, como el IMC. Sin embargo, la necesidad de emplear técnicas imagenológicas para el registro de la grasa visceral limita el uso directo de este indicador en el individuo vivo y obliga a la búsqueda de asociaciones con otros indicadores para poder predecir el estado metabólico.⁵⁹ El registro de la grasa intraabdominal medida por la circunferencia de la cintura es muy fácil en el ser humano y también se asocia de manera independiente con cada uno de los criterios del SM.⁶⁰

En niños y adolescentes la circunferencia de la cintura también es un excelente predictor para el desarrollo del SM. Este factor es independiente de la RI, niveles de lípidos en plasma y presión arterial.⁶¹ En estudios con niños y adolescentes obesos con IMC similar, se

observó que aquellos con mayor tejido adiposo central presentaron menor sensibilidad a la insulina.^{62,63}

1.1.3.2 Inflamación

La presencia de un estado proinflamatorio, que contribuye a la resistencia a la insulina, es otro de los aspectos relacionados con la fisiopatología del SM. La hipertrofia del tejido adiposo, que se observa en la obesidad central, se asocia a una afección inflamatoria de bajo grado a este nivel en un primer estado subclínico, con incremento tanto de citoquinas proinflamatorias, proteínas reactantes de fase aguda (RFA) e indicadores antropométricos.⁶⁴

El incremento de la acumulación de lípidos en el adipocito inicia un estado de estrés celular reflejado por la activación de las quinasas inflamatorias: quinasa aminoterminal c-Jun-1 (JNK) y factor nuclear kappa beta (NF- κ B). Estas vías de señalización molecular proinflamatoria regulan la fosforilación de proteínas y eventos de transcripción celular. Esto provoca un incremento en la producción de citoquinas proinflamatorias por los adipocitos, que incluyen al TNF- α , IL6, leptina, resistina, quimiocinas como la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP1) y otros mediadores proaterogénicos, como el PAI-1.⁶⁵

Las moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1) y adhesión de células vasculares (VCAM-1), así como las moléculas quimio-atrayentes, que provienen de las células endoteliales en el tejido adiposo en expansión, se unen a las integrinas y a los receptores de quimiocinas (CCR), respectivamente, en la superficie de los monocitos para reclutarlos hacia el tejido adiposo.⁶⁶ Los monocitos se diferencian en macrófagos y producen altas cantidades de las mismas citoquinas inflamatorias producidas por los adipocitos. La inflamación local que se establece propicia mayor RI con la consiguiente lipólisis y propagación a nivel sistémico de un estado crónico inflamatorio de bajo grado y un incremento concomitante de la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs).⁶⁵

En el SM la enzima MPO EC 1.11.2.2 pudiera ser útil como marcador prooxidante que permita identificar el progreso del estado inflamatorio. Esta enzima reacciona con el peróxido de hidrógeno proveniente de las células fagocitarias y forma un complejo enzima-

sustrato con una fuerte capacidad oxidativa. El complejo se combina con un haluro, generalmente con cloruro, que se oxida para formar el ácido hipocloroso HClO.¹⁸

La actividad excesiva de la MPO puede inducir daños a tejidos por la producción de oxidantes y, consecuentemente, formar especies reactivas de lípidos y proteínas. La actividad de la MPO en leucocitos provoca un incremento de especies nitrogenadas y halogenadas en lipoproteínas de baja densidad (LDL). Este ambiente facilita los procesos de peroxidación lipídica, nitración proteica y conversión a formas proaterogénicas de LDL en la pared vascular. Además, la MPO participa en la generación de HDL disfuncionales con propiedades proinflamatorias en lugar de antiinflamatorias.⁶⁷

Los estados proinflamatorios y oxidativos se relacionan con daño en el miocardio y deterioro endotelial,⁶⁸ lo cual justifica el estudio de biomarcadores como la actividad enzimática de la MPO. La actividad de esta enzima provoca un aumento en las lipoproteínas aterogénicas debido a la excesiva generación de radicales libres (RL) y EROs, lo que causaría daño funcional en el endotelio vascular.¹⁸

La asociación entre la inflamación crónica de bajo grado en enfermedades metabólicas y el sistema inmune innato y adaptativo también pudiera contribuir a la síntesis y activación de las proteínas intermediarias de la cascada del complemento.⁶⁹ El tercer componente del complemento (C3) es una proteína RFA de producción hepática, además de ser una citoquina que puede ser secretada por adipocitos y macrófagos activados por un estado inflamatorio. Una elevación de la concentración de C3 se asocia, entre otros factores, con la ECV, el índice HOMA-IR, la ganancia de peso, la circunferencia de la cintura, los niveles elevados de TAG en ayunas y en situación postprandial.⁷⁰

Se publicaron evidencias del posible papel de la activación del sistema del complemento en la fisiología del tejido adiposo. La fracción C3 del complemento en el adipocito participa en la formación de la proteína estimuladora de la acilación (ASP). Los niveles de esta hormona aumentan en situación de obesidad, diabetes y ECV.⁷¹ Estudios recientes asocian a la ASP con el hígado graso.⁷² La determinación de los valores del complemento sería útil para completar la caracterización de un modelo experimental de SM inducido por sacarosa,

aunque no existen reportes previos de su modificación en el síndrome metabólico en humanos.

1.1.3.3 Resistencia a la insulina

La RI es el estado en que cantidades normales de insulina producen una respuesta biológica insuficiente para incrementar la entrada y utilización de la glucosa por los tejidos periféricos. Es considerada como la responsable de la mayoría de las anomalías presentes en el SM, fundamentalmente de la hiperglucemia, la hipertrigliceridemia, la hipertensión arterial, el aumento en la producción hepática de VLDL y la estimulación de la proliferación endotelial.⁷³

El comienzo de la resistencia mencionada es antecedido de hiperinsulinemia postprandial, seguido de hiperinsulinemia en el ayuno y por último hiperglucemia. Los defectos en la acción de la insulina hacen que disminuya la supresión de la producción de glucosa por parte del hígado y el riñón y exista una menor captación y metabolismo de dicho carbohidrato en tejidos sensibles a la insulina como el músculo y la grasa corporal.⁷⁴

La autofosforilación del receptor de la insulina es el paso crucial en la cascada de señalización de esta hormona. Una vez ocurrido este evento, se produce la fosforilación de la tirosina del sustrato¹ del receptor de la insulina (por sus siglas en inglés IRS-1). En este sentido, se demostró que el TNF- α causa un descenso moderado en la autofosforilación del receptor de la hormona y un marcado descenso en la fosforilación del IRS-1, lo cual provoca disrupción en la cascada de señalización de la insulina, lo que contribuye a la RI. También se demostró que la IL-6 altera la señalización de esta hormona tanto en adipocitos como en hepatocitos. Por otra parte, se sabe que tanto el TNF- α como la IL-6 aumentan la lipólisis y el incremento de ácidos grasos libres (AGL), aspecto que contribuye a agudizar el estado de RI.⁷⁵

La hipertrofia del adipocito provoca un exceso de AGL circulantes. Estos metabolitos se derivan o de las reservas de TAG del tejido adiposo, sometidos a la lipasa dependiente de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), o de la lipólisis de lipoproteínas ricas en TAG catalizada por la lipoproteinlipasa (LPL). El exceso de AGL resulta finalmente en una disrupción de la cascada de señalización de la insulina en los tejidos sensibles a esta

hormona. El incremento en la célula de diacilgliceroles (DAG) y ceramidas promueve la fosforilación de los residuos de serina del IRS en lugar de los residuos de tirosina, lo que inhibe la propagación de la cascada de la insulina y consecuentemente de la actividad fosfoinositol 3-quinasa (PI3K). Esta disfunción provoca una alteración en el transporte de glucosa hacia el interior de la célula dependiente del estímulo de la insulina. Otro punto de vista pondera la concentración de ácidos grasos en el interior de las células musculares, también llamada grasa ectópica, que primeramente favorece los procesos oxidativos en la mitocondria y posteriormente es la responsable del fallo β oxidativo en esta. La consecuencia es el escape de más AGL del adipocito a la circulación y en el resto de los tejidos deposición de estos metabolitos y agravamiento del estado de RI.⁷⁵

La insulina tiene otras acciones diferentes a la captación de la glucosa que no se afectan por la RI. Los tejidos sometidos al hiperinsulinismo sufren la inadecuada acción lipogénica y aterogénica. De esta manera, se favorece la obesidad abdominal, la producción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y la aterosclerosis.⁷⁴

La activación del receptor de la insulina no solo activa la vía de del PI3K con efectos sobre el metabolismo intermediario, sino también la vía de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAP-K), cuyos efectos son principalmente mitogénicos y proliferativos. En el estado de hiperinsulinemia compensatoria existe una franca inhibición de la ruta metabólica del PI3K, sin embargo, la vía de las MAP-K se encuentra sobre estimulada, lo que justifica que se exacerben todos los efectos no metabólicos que tiene la hormona.⁷⁵ Los niveles elevados plasmáticos de la insulina también producen una retención exagerada de sodio y agua renal, estimulación del sistema simpático y alteraciones de las bombas de la membrana celular, lo que favorece la hipertensión arterial (HTA).⁷⁶

La disfunción de las células β también está relacionada con la progresión del SM. En un inicio las células β pueden compensar el aumento de la demanda metabólica por incremento de su masa. Sin embargo, la exposición crónica a niveles elevados de glucosa y ácidos grasos libres, en un entorno de exceso de nutrientes, resulta en una adaptación y falla progresiva de la función de las células β y la consiguiente RI.⁷⁴

La prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO) se ha utilizado ampliamente en la clínica para diagnosticar alteración de la tolerancia a la glucosa y DM2. Los niveles de glucosa obtenidos durante la PTGO están relacionados tanto con la secreción de la insulina, como con la sensibilidad a la hormona.⁷⁷ Atendiendo a la forma de la curva se agrupan tres categorías que permiten inferir el riesgo de DM. La curva monofásica se caracteriza por un aumento gradual de la glucosa en el tiempo con un solo pico y luego una caída en su concentración plasmática. El patrón bifásico de la curva permite observar un aumento gradual de la glucemia hasta un pico, una caída de la glucosa plasmática y un aumento subsiguiente. El último patrón se caracteriza por un incremento continuo de la glucemia sin pico. Las curvas monofásicas y sin clasificación durante las 2 horas del estudio, están asociadas con menor sensibilidad a la insulina y disminución de la función de las células β .⁷⁸

1.1.3.4 Dislipidemia

El SM, al igual que la obesidad, se caracteriza por presentar en una etapa temprana, valores incrementados de TAG, AGL y lipoproteínas de muy baja densidad (LDL) pequeñas y densas, así como disminuidos los niveles de HDLc. La insulina media la acción antilipolítica principalmente en tejido adiposo y la estimulación de LPL en este tejido. De este modo, al surgir RI, el incremento de la lipólisis genera más AGL y ello a su vez disminuye el efecto antilipolítico de la insulina. El exceso de AGL dentro de la célula incrementa metabolitos como las ceramidas y los DAG. Estos metabolitos modifican las señales correspondientes a la unión insulina-receptor, que evita la migración del GLUT 4 en miocitos y adipocitos. Esto provoca de manera directa la disminución de la captación de glucosa mediada por insulina y la acumulación de TAG en músculos de fibra estriada y miocardio. En el hígado, la presencia de AGL hace que aumente la producción de glucosa, TAG y se secreten lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Estos eventos contribuyen al cambio de patrón en el resto de las lipoproteínas con una disminución de las HDLc y aumento de las LDL.⁷⁹

Estos acontecimientos determinan que la hipertrigliceridemia, sea un marcador excelente del cuadro de RI. La asociación entre la hipertrofia del tejido adiposo, los lípidos circulantes en plasma y la RI; sugiere que marcadores de inflamación junto a la hiperlipidemia, pudieran ser útiles para determinar la instauración, progresión y complicaciones del SM.

1.1.3.5 Hipertensión arterial

En individuos sanos la insulina es un vasodilatador que ejerce efectos secundarios en la reabsorción de sodio por el riñón. Cuando se desarrolla la RI se pierde el efecto vasodilatador de la insulina, pero se conserva el efecto renal en la reabsorción de sodio.⁸⁰ El estado de hiperinsulinemia intensifica la reabsorción de sodio y aumenta la actividad del sistema nervioso simpático, que contribuye a la hipertensión. En el endotelio se origina un desequilibrio entre la producción de óxido nítrico (NO) y la secreción de endotelina, lo que provoca que se incremente el efecto vasoconstrictor.⁸¹

Los niveles elevados de insulina y la disminución de la sensibilidad periférica de los tejidos a la hormona también provocan incremento en la síntesis y recaptación del ácido úrico (AU). La hiperuricemia se asocia con la hipertensión arterial, la DM, el SM y la ECV. Se considera al AU como un factor de riesgo independiente para eventos cardiovasculares y un predictor de la morbilidad y la mortalidad por estas enfermedades.⁸² Los niveles plasmáticos elevados de AU se asocian con la producción excesiva de EROs y la disminución de la biodisponibilidad del NO, lo que contribuye a la DE.²⁴

1.1.3.6 Disfunción Endotelial

Los vasos sanguíneos están formados por una capa adventicia y una capa media de células musculares lisas vasculares (CMLV) de potencia variable. En la parte más interna se localiza la capa íntima formada por el endotelio de estructura variable según el tipo de vaso (arterial o venoso, grandes vasos, medianos o la microvasculatura) y según el territorio (cerrado, continuo, discontinuo o fenestrado).⁸³

Las células endoteliales forman una mono-capa continua, que tapiza la cara luminal interna de las arterias, las venas, los capilares y los vasos linfáticos, con una estructura muy organizada que asegura el acoplamiento funcional entre ellas. En el endotelio podemos encontrar dos zonas especializadas, la apical o luminal y la basal. Estas zonas interaccionan con las proteínas de la matriz extracelular (MEC) de la lámina basal a la que están firmemente adheridas y anclan las células al subendotelio. La MEC está compuesta fundamentalmente por glucoproteínas (laminina, fibronectina, vitronectina, trombospondina, entactina, heparán sulfato y factor Von Willebrand, entre otros).⁸⁴

El endotelio vascular se considera un órgano perteneciente al sistema neuroendocrino difuso. Libera sustancias paracrinas, autocrinas y endocrinas para contribuir al control de la homeostasis vascular. De esta manera, el endotelio íntegro y funcional mantiene la interfase no trombogénica sangre-tejido, la regulación del tono vascular, el flujo sanguíneo tisular y la presión arterial.⁸⁵

En condiciones como la obesidad y el SM, aparecen una serie de alteraciones en la vasculatura que conducen al desarrollo de DE. Este estado se caracteriza por la pérdida de la capacidad del endotelio de controlar la liberación de las sustancias que mantienen el balance vasomotor y la homeostasis vascular. La DE se considera una de las primeras manifestaciones de la ECV. Se caracteriza por un aumento de la permeabilidad del endotelio que permite el paso, tanto de lipoproteínas modificadas, como de lipoproteínas pequeñas y densas. Otra consecuencia es la expresión de moléculas de adhesión en la superficie endotelial con el consiguiente estímulo de la atracción leucocitaria, elemento que conduce al desarrollo de procesos inflamatorios y enfermedad vascular. A este estado se le conoce como “activación endotelial” y se le considera como la etapa temprana de las enfermedades vasculares.⁸⁶

Los estados metabólicos como la obesidad y el SM que cursan con RI e inflamación, promueven el daño vascular por la pérdida del equilibrio entre la producción de NO vasodilatador y endotelina (ET-1) vasoconstrictora. Este desbalance se produce como consecuencia de la inhibición de la vía metabólica del PI3K en el endotelio (dependiente de la fosforilación de la tirosina en el IRS) y la sobre estimulación de la vía de crecimiento de las MAP-K. Además, en este ambiente de inflamación, primero local en los adipocitos y después sistémica, la liberación de citoquinas, como el TNF y la IL6, provoca la activación de vías de señalización celular que convergen en la activación de genes proinflamatorios. Esto provoca el incremento de la quimioatracción, la adhesión, la síntesis de EROS y el consecuente daño en el endotelio.²⁴

El engrosamiento de la íntima se presenta como un trastorno de la función endotelial sin cambios morfológicos manifiestos. Se caracteriza por una reactividad vascular alterada y una disminución de la síntesis de NO. A ello se une el depósito de lipoproteínas procedentes de la sangre, que se asocian a los proteoglicanos de la íntima y sufren procesos oxidativos

y de glucosilación.⁸⁵ La primera alteración microscópica es la acumulación focal en la íntima de células espumosas, macrófagos y CMLV cargadas de lípidos. Todo ello desencadena una respuesta inflamatoria con una serie de procesos que van desde la expresión de proteínas quimiotácticas, como MCP-1 y las VCAM-1, a la producción de factores proliferantes y de crecimiento, así como a la agregación plaquetaria.⁸⁷

El consumo elevado de carbohidratos conduce al incremento crónico de los niveles plasmáticos de glucosa y por tanto de insulina. Este desbalance tiene diferentes efectos adversos entre los que se encuentran el aumento del EO, la DE y de la tensión arterial, las alteraciones en el metabolismo lipoproteico y la respuesta inflamatoria en diferentes tejidos de la economía.⁸⁸

El EO induce a la DE debido a que la producción excesiva de anión superóxido provoca la inactivación oxidativa del NO en la pared vascular. El NO regula el tono vascular mediante la activación de la enzima guanilato ciclasa y el aumento del 3'5'-guanosín monofosfato e inhibe la actividad plaquetaria, la adhesión de los leucocitos y la proliferación de las células del músculo liso en el endotelio. Una disminución del NO lleva a la pérdida de sus funciones homeostáticas en las células endoteliales, fenómeno que contribuye a la formación de trombos, espasmo vascular, crecimiento de la íntima, inflamación y ruptura de las placas de ateroma.⁸⁹

El incremento de los AGL plasmáticos, que se produce por el consumo de dietas hiperlipídicas e hiperglucídicas, también se asocia al desarrollo de la DE. Los AGL aumentan la gluconeogénesis y la sobreproducción de lipoproteínas VLDL a nivel hepático, lo que deriva en un aumento de lipoproteínas LDL pequeñas y aterogénicas, disminución de HDLc e incremento de la resistencia a la insulina. Esto trae como consecuencia menor efecto vasodilatador inducido por la insulina en el músculo esquelético. Además, se produce un aumento en la producción de fibrinógeno, lo que provoca mayor viscosidad sanguínea.⁹⁰

En el deterioro progresivo de la función del endotelio vascular se observan modificaciones estructurales que se expresan a través de diferentes indicadores. Entre estos encontramos la endotelemia que se reconoce como indicador indirecto del daño del endotelio vascular.⁹¹ Se han descrito otros marcadores como la hemoglobina glucosilada, que puede inducir la

disminución de la relajación mediada por NO mediante la generación de radicales superóxido, la endotelina-1, que se relaciona con la aparición de la hipertensión, la hiperhomocisteinemia, que produce un incremento del EO y los niveles elevados en sangre del factor de von Willebrand, que también se asocian al desarrollo de la DE.^{92 93}

El estudio de la asociación entre los cambios estructurales en el endotelio vascular y los parámetros bioquímicos y antropométricos aún es insuficiente. Profundizar en esta relación pudiera ser útil para identificar la DE en etapas tempranas del SM, donde este estado es aún reversible.

1.1.4 Síndrome metabólico, gestación y anomalías congénitas

El embarazo se considera un SM transitorio. En el embarazo normal, hay un gasto cardiaco aumentado, tendencia a la hipercoagulabilidad, aumento de marcadores de inflamación y después de la semana 20, resistencia a la insulina y dislipidemia.⁹⁴ El crecimiento apropiado del feto depende de determinantes genéticos normales, factores ambientales y nutrientes aportados por la circulación materna a través de la placenta. La alteración de algunos de ellos puede afectar el crecimiento normal del producto de la gestación.¹⁵

El feto ajusta su desarrollo basado en el suministro de nutrientes aportados por la madre, de acuerdo con la expectativa de nacer en un entorno que coincida con el que tenía en el útero. Sin embargo, esta adaptación puede colocar al individuo en riesgo de enfermedades en el futuro. El entorno hiperglucémico o hiperinsulinémico intrauterino puede provocar alteraciones epigenéticas que favorezcan la reprogramación metabólico fetal y expliquen el posible mecanismo a través del cual un medio ambiente uterino adverso se traduce en enfermedades tales como la obesidad y la diabetes en la descendencia.⁹⁵

En mujeres con SM o algunos de sus componentes, el embarazo puede generar un empeoramiento de la hiperglucemia, dislipidemia y de la hipertensión arterial.⁹⁶ Por otro lado, se sabe que mujeres que presentan aspectos del SM antes del embarazo, tales como obesidad, hipertensión crónica, DM y dislipidemia, tienen un elevado riesgo de disfunción placentaria, incluso, de muerte fetal.⁹⁷ Recientemente se comprobó en mujeres embarazadas con normopeso, un incremento del riesgo cardiometabólico a medida que aumentaba el depósito graso en el organismo.⁹⁸

Los trastornos metabólicos repercuten sobre la salud materna y la descendencia. La mortalidad perinatal, el bajo peso al nacer y el parto pre término, han sido extensamente recogidos en numerosas investigaciones, que también coinciden en reconocer el incremento del riesgo de padecer obesidad y enfermedades cardiometabólicas en la etapa adulta en los hijos de progenitores obesos.⁹⁹

La obesidad y los trastornos metabólicos, que se presentan previa a la gestación, no solo predisponen a la mujer a sufrir alteraciones orgánicas durante la etapa gestacional, también se ha demostrado la elevada probabilidad de encontrar en su descendencia anomalías congénitas.¹⁰⁰ Padrón-Aguilera *et al.*¹⁰¹ reportaron el sobrepeso materno como uno de los factores de riesgo más frecuente asociado a la detección de anomalías en la descendencia de madres diabéticas o que desarrollaron DMG. Ferron *et al.*¹⁰² señalaron que la disfunción en la señalización de la insulina dificulta en los osteoblastos el metabolismo de la glucosa de una manera dependiente de la reabsorción del hueso, tanto en ratones como en seres humanos. Esto pudiera estar asociado a ausencia o defectos en estructuras óseas.

El riesgo de anomalías congénitas en el embarazo de mujeres obesas o con SM, se incrementa si además la progenitora es adolescente. Reportes indican que el 17,5 % de la población mundial tiene entre 10 y 19 años de edad; de ellos, 10 % se embarazan, lo que indica que aproximadamente, 16 millones de mujeres en estas edades tienen un nacimiento.¹⁰³ La maternidad en la adolescencia se ha relacionado con incremento del riesgo cardiovascular tanto en la madre como en el niño.¹⁰⁴ En los últimos años investigadores cubanos han abordado esta problemática a partir del reconocimiento que el embarazo en la adolescencia es una de las causas principales de mortalidad infantil y materna, y que la tasa de fecundidad en este grupo etario es de 51,5 x 1000 mujeres.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷

Sin embargo, quedan muchas interrogantes referidas a la frecuencia de aparición de las anomalías congénitas en tejido blando y esquelético en descendientes de progenitores con SM y la asociación existente entre estas y la condición parental. Las cifras alarmantes de la presencia de SM en edades cada vez más tempranas obligan al estudio, desde varias aristas, del impacto de esta condición en la adolescencia. La repercusión del embarazo en la adolescencia, fenómeno preocupante para las sociedades actuales, se agrava cuando

los progenitores suman a la inmadurez orgánica y social los determinantes patológicos del SM.

1.2 Biomodelos experimentales

1.2.1 Generalidades

Históricamente el empleo de animales de experimentación permite examinar, en un marco de tiempo relativamente menor, las condiciones fisiopatológicas de la enfermedad humana. Diversos modelos animales se utilizan, los cuales de manera espontánea o inducida pueden desarrollar las enfermedades que vemos en el ser humano. Decenas de millones de animales de laboratorio se emplean anualmente en todo el mundo para las investigaciones biomédicas, medio ambientales y toxicológicas. Dentro de los más empleados se encuentran los roedores especialmente la rata (*Rattus norvegicus*). Estos mamíferos además de tener condiciones de manipulación y alojamiento relativamente simples, comparten gran similitud con la fisiología y anatomía humana. Actualmente las ratas *Wistar* y las *Sprague-Dawley* son las que más se emplean en el mundo como animales de laboratorio.¹⁰⁸

El investigador puede seleccionar según los objetivos de su investigación, modelos matemáticos, físicos o mecánicos. Entre los modelos físicos se encuentran los biológicos, que se clasifican en celulares y tisulares, órganos aislados y animales completos. Al seleccionar el modelo experimental se deben considerar los aspectos científicos, prácticos y éticos. Los biomodelos más documentados en la literatura son aquellos que implican el uso del animal completo. En estos el investigador evalúa un estado mórbido, ya sea espontáneo o inducido, desde el punto de vista de sus condiciones fisiopatológicas y de las intervenciones dietéticas, farmacológicas, ambientales u otras que ayuden a prevenir, diagnosticar o tratar las enfermedades.¹⁰⁹

La medicina traslacional es un concepto que se desarrolló desde principios de siglo y que representa un enfoque novedoso para que el paciente obtenga un beneficio en el menor tiempo posible. De esta manera, se fomenta la investigación multidireccional donde se facilita la llegada de nuevas herramientas diagnósticas y terapéuticas generadas desde la

ciencia básica a la clínica o de los hallazgos clínicos al conocimiento básico.¹¹⁰ Precisamente, es en la experimentación animal donde generalmente se prueban o refutan las teorías sobre la prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades.¹⁰⁹

Un aspecto importante es lograr que los biomodelos experimentales sean reproducibles. El control de la mayoría de las variables involucradas es imprescindible para esto y el empleo adecuado de grupos controles. Aunque numerosos autores y laboratorios reportan valores anátomo-fisiológicos normales, es necesario ser cauteloso en su empleo para la comparación. Se debe tener en cuenta la amplia variabilidad de estos parámetros en dependencia del sexo, edad, línea, condiciones de alojamiento, nutrición, técnicas analíticas y equipamiento, protocolos de extracción y conservación de las muestras, entre otras.¹⁰⁸

1.2.2 Síndrome metabólico experimental inducido por dieta rica en carbohidratos

El riesgo de desarrollar SM depende de la combinación de factores genéticos y ambientales. Esto determina que exista una amplia variedad de modelos animales, entre los que se destacan los inducidos por la dieta o por agente químicos, o la combinación de ambos, así como modelos genéticos. Estos biomodelos están enfocados en la reproducción de sus rasgos más significativos, la hipertensión, la diabetes y la obesidad.^{111,112} Es difícil desarrollar un SME que presente todos los signos de la enfermedad. Sin embargo, el cumplimiento de los criterios diagnósticos aceptados por la OMS, IDF o NCEP pudiera contribuir a validar la propuesta.

La grasa abdominal o visceral es una de las variables de mayor peso en el desarrollo del SME. Junto a la RI constituye piedra angular en la etiopatogenia de este desbalance metabólico y presenta una elevada correlación con la instauración del síndrome.¹¹³ Para medirla se necesitan técnicas de imagenología o medirla post-mortem. Es lógico pensar que la deposición grasa en la región abdominal se traducirá en mayor cintura o circunferencia abdominal tanto en humanos como en animales. Tres de los cinco criterios diagnósticos del SM en el humano, definen que la circunferencia de la cintura alterada es un requisito obligatorio para el diagnóstico.¹¹⁴ Evaluar otros parámetros accesibles, como lo es la

circunferencia de la cintura, que se correlacionen con la grasa abdominal, contribuiría al diagnóstico del SM tanto a nivel del laboratorio experimental como en la práctica clínica.

La dieta juega un papel importante en el crecimiento y desarrollo. El consumo sistemático de alimentos enriquecidos con grasas saturadas o azúcares simples puede provocar incremento de la producción y secreción de insulina, aumento de la deposición de lípidos en el tejido adiposo y consecuentemente disminución de la sensibilidad a la insulina e intolerancia a la glucosa en los tejidos.¹¹⁵ Durante los últimos años del siglo pasado y los transcurridos del presente se ha producido un aumento en la incidencia de la obesidad proporcional al incremento en el consumo de carbohidratos, como la fructosa ($C_6H_{12}O_6$), en la dieta. Trabajos recientes han demostrado los mismos daños metabólicos tanto con la ingestión de fructosa como de sacarosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$).¹¹⁶

Desde mediados de la década del 1970 pueden encontrarse trabajos que indican que el consumo crónico de fructosa (como fructosa propiamente dicha o como sacarosa) induce RI tanto en ratas normales como en ratas diabéticas.¹¹⁷ Estudios posteriores no solo han confirmado la RI, también han demostrado un aumento de la presión arterial sistólica, conjuntamente con un incremento en los niveles de TAG, así como un deterioro de la producción y secreción de insulina. Este efecto se relaciona con la utilización hepática de la fructosa, ya que al aumentar la producción de TAG a este nivel se produce resistencia periférica a la insulina.¹¹⁸ La fructosa también carece de la capacidad para estimular la secreción de leptina ¹¹⁹ y posee una alta capacidad de formar productos avanzados de glicosilación no enzimática (AGEs), lo que aumenta la producción de EROs.¹²⁰

Es conocido que la fructosa que se absorbe a nivel intestinal llega rápidamente al hígado. En este órgano más del 50 % de la fructosa ingerida se convierte en glucosa ($C_6H_{12}O_6$), además de producirse lactato y ácidos grasos. Durante su metabolismo, la fructosa evade el paso limitante de la fosfofructoquinasa, lo que la hace una fuente no controlada de sustrato de la lipogénesis hepática. Además, la fructoquinasa presenta mayor afinidad por la fructosa cuando se compara con la afinidad de la glucoquinasa por la glucosa. Esto determina que una elevada proporción de fructosa promueve una mayor generación de triosafosfatos, para activar la lipogénesis *de novo*, que una cantidad comparable de glucosa.¹¹⁸

En el hígado, el exceso de fructosa produce tanto esteatosis microvesicular como macrovesicular, fibrosis periportal e inflamación lobular. En el riñón hay daño tubular, deposición de colágeno en el intersticio y aumento de la infiltración de macrófagos junto con la proliferación e hiperplasia de los túbulos proximales renales. La administración prolongada de fructosa lleva a dilatación ventricular, hipertrofia ventricular y disminución de la fuerza contráctil del ventrículo e infiltración de células inflamatorias en el corazón.⁶⁴

Concentraciones bajas de fructosa no estimulan la secreción de insulina en las células β del páncreas, posiblemente debido a la ausencia, en estas células, del principal transportador de fructosa (GLUT5).¹²¹ Sin embargo, el consumo excesivo de fructosa provoca cambios en el funcionamiento del páncreas y modifica tanto las células α como las β . La presencia en este tejido del GLUT 2, transportador para los dos monosacáridos glucosa y fructosa ($K_M = 17$ mM para la glucosa y $K_M = 66$ mM para la fructosa), explica que elevadas concentraciones de fructosa estimulan la secreción de insulina directamente.⁶⁴

Las dietas con elevados niveles de sacarosa (entre el 30 y el 60 %) incrementan la lipogénesis hepática y logran producir alteraciones semejantes al hígado graso no alcohólico.^{122, 123} La magnitud de los cambios endocrinos inducidos por la ingesta de una DRS depende del tiempo de administración. Ratas adultas, alimentadas por un corto período de tiempo (3-5 semanas) con una DRS, desarrollaron dislipidemia, incremento de triglicéridos hepáticos y mayor secreción hepática de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).¹²³

En presencia de dislipidemia, los niveles plasmáticos de glucosa e insulina pueden evolucionar desde normoglucemia e hiperinsulinemia luego de 3-5 semanas de dieta, a moderada hiperglucemia y normoinsulinemia, luego de 15 semanas. Cuando el período de alimentación se extiende a 30 semanas se puede observar un estado estacionario de hipertrigliceridemia y niveles incrementados de ácidos grasos no esterificados plasmáticos que se acompañan de hiperglucemia, RI periférica más marcada, sin cambios en los niveles de insulina. Los animales alimentados con DRS por más de 30 semanas también presentan un ligero incremento de peso corporal y adiposidad visceral.¹²⁴

Los modelos de dietas ricas en carbohidratos brindan la posibilidad de administrar soluciones edulcoradas, lo que simula el consumo de jugos y refrescos por la población. De

esta manera disminuye la señal de saciedad que se presenta al masticar un alimento sólido. También se conoce que la respuesta secretora del páncreas es mayor en respuesta a un alimento sólido o semisólido que en el caso de los líquidos.²⁰

La PTGO también se utiliza en la investigación básica, aunque tiene limitaciones debido a las diferencias entre las especies con respecto a la regulación metabólica. A diferencia de la práctica clínica, la PTGO en los modelos experimentales se utiliza, principalmente, para el estudio de la homeostasis de la glucosa.¹²⁵ El área bajo la curva (ABC) se deriva de los datos la glucemia plasmática de la PTGO y se calcula por el método de los trapezoides. Este parámetro se correlaciona con el aumento de la glucosa en sangre durante la PTGO, un mayor ABC se asocia, generalmente, a RI.¹²⁶

Investigaciones recientes encontraron alteración del patrón de metilación en el ADN provocado por dietas ricas en carbohidratos.^{127,128} Se reportan investigaciones clínicas en embarazadas que sugieren que estas dietas pueden alterar la reprogramación fetal y provocar que la descendencia tuviese mayor riesgo de desarrollar sobrepeso, obesidad y DM2 al llegar a la adolescencia.¹²⁹ Intervenciones nutricionales realizadas en modelos animales muestran que dietas maternas restrictivas en proteínas y otras ricas en grasa, causaron cambios en los patrones epigenéticos que determinaron cambios fenotípicos en la descendencia.^{130,131} Sin embargo, no se encuentran en la literatura estudios similares en animales de laboratorio que evalúen el impacto en la descendencia de dietas maternas ricas en carbohidratos.

1.2.3 Etapas del desarrollo prenatal y postnatal en animales de laboratorio

El uso extendido de los animales de laboratorio en las investigaciones biomédicas, principalmente de los roedores, lleva a la búsqueda de variantes para extrapolar la edad del modelo biológico con la humana. Los roedores no son humanos en miniatura, las diferencias en su anatomía, fisiología y procesos del desarrollo, deben tenerse en cuenta al analizar los resultados, principalmente cuando la edad es un factor crucial.¹³² La tendencia es al empleo de estos modelos en estudios toxicológicos, farmacológicos y biomédicos, en la etapa que abarca entre las 6 y 12 semanas de vida, donde el animal ya ha alcanzado la madurez sexual.^{108,133}

La etapa prenatal de los roedores se extiende aproximadamente por 21 días. Esta etapa de gestación al igual que en el ser humano, presenta varias fases y es el período donde ocurre la organogénesis (del sexto al décimo quinto día de la gestación) y por tanto, el más susceptible a sufrir daños por un agente externo.¹³² Al igual que en la mujer gestante la exposición del embrión del roedor a un ambiente nocivo, como pudiera ser el provocado por una ingesta elevada en sacarosa, provocaría alteraciones en el fruto de la concepción.

Diversos estudios han tratado de extrapolar de varias maneras la edad de los roedores con la humana. Por ejemplo, la asociación que existe entre las curvas de desarrollo de los roedores y el peso del lente de sus ojos,¹³¹ el crecimiento de los dientes molares,¹³⁴ el cierre epifisario de los huesos largos,¹³⁵ entre otros. Sin embargo, la correlación lineal entre la edad del roedor y el humano no es correcta, puesto que se ha determinado que el ritmo de crecimiento del roedor no es exactamente igual en cada etapa de su desarrollo.

Las ratas y ratones tienen una breve y acelerada infancia con respecto a los humanos. Los roedores se destetan a las 3 semanas de vida y a partir de ahí comienzan a experimentar la maduración sexual. En esta primera fase un año humano equivale a 42,2 días del roedor.¹³⁶

La segunda etapa en el ciclo de vida del roedor es la pubertad o preadolescencia. En esta etapa las células germinales pueden liberarse y los animales reproducirse. Las ratas se desarrollan rápidamente durante la infancia y se vuelven maduras sexualmente entre las 6 y 7 semanas de edad, aproximadamente. En cambio, los humanos se desarrollan lentamente y no alcanzan la pubertad hasta aproximadamente los 11 o 12 años. Esta y la etapa siguiente correspondiente a la adolescencia, son las etapas del desarrollo donde más se emplean a los roedores en las investigaciones biomédicas.^{137,138} En esta fase un año humano equivale a 3,3 días del animal.¹³⁹

La etapa de la adolescencia en los roedores, al igual que en los humanos comienza desde la pubertad y coincide con la transición a la adultez. Esta etapa se caracteriza por la intrepidez en el comportamiento y el intercambio social. Marcar el fin de esta etapa y el comienzo de la adultez en la rata no es fácil. El peso corporal solamente puede ser un

marcador aproximado de la edad; incluso se pueden encontrar animales con pesos similares que difieran hasta tres semanas de edad.¹³⁶

En el humano la madurez músculo esquelético está marcada por el cierre de la epífisis de los huesos largos. Sin embargo, en la rata esto está determinado por la detención del crecimiento del esqueleto, lo cual ocurre aproximadamente entre el séptimo y octavo mes de vida.¹⁴⁰ Todos estos elementos ayudaron a inferir que en esta fase del desarrollo, 10,5 días del animal equivalen a un año en la vida del ser humano.¹³⁹ Todos estos elementos permiten inferir que la madurez social de los roedores se alcanza aproximadamente a los seis meses de vida y coincide según Sengupta *et. al*¹³² con 18 años en el ser humano.

La adultez en los roedores se prolonga hasta los 20 meses aproximadamente, donde comienza el envejecimiento reproductivo en las hembras. Estos elementos permiten inferir que en esta etapa del ciclo vital 11,8 días de vida del roedor equivalen a un año en la vida humana.¹³⁶ Los roedores pueden vivir como promedio 17 meses después del periodo senil y hasta la muerte; lo que hace un total aproximado de 3 años. Por lo que se infiere que 17,1 días en la vida del roedor equivalen a un año de la vida humana en esta última fase de su ciclo vital.¹³²

Conclusiones parciales

- 1- El diagnóstico del SM, sobre todo en la edad pediátrica, constituye uno de los retos a los que se enfrenta la comunidad médica.
- 2- La inflamación se relaciona con la etiopatogenia del SM, su evaluación pudiera contribuir a definir la instauración de esta alteración metabólica.
- 3- Existe insuficiente información sobre anomalías congénitas en tejido blando y esquelético en descendientes de progenitores obesos o con SM.
- 4- La mayoría de los modelos biológicos que se reportan para el estudio del SM utilizan al animal maduro sexualmente y no tienen en cuenta la etapa fetal de inducción ni la edad del biomodelo extrapolable al ser humano.

CAPÍTULO 2
MATERIALES Y
MÉTODOS

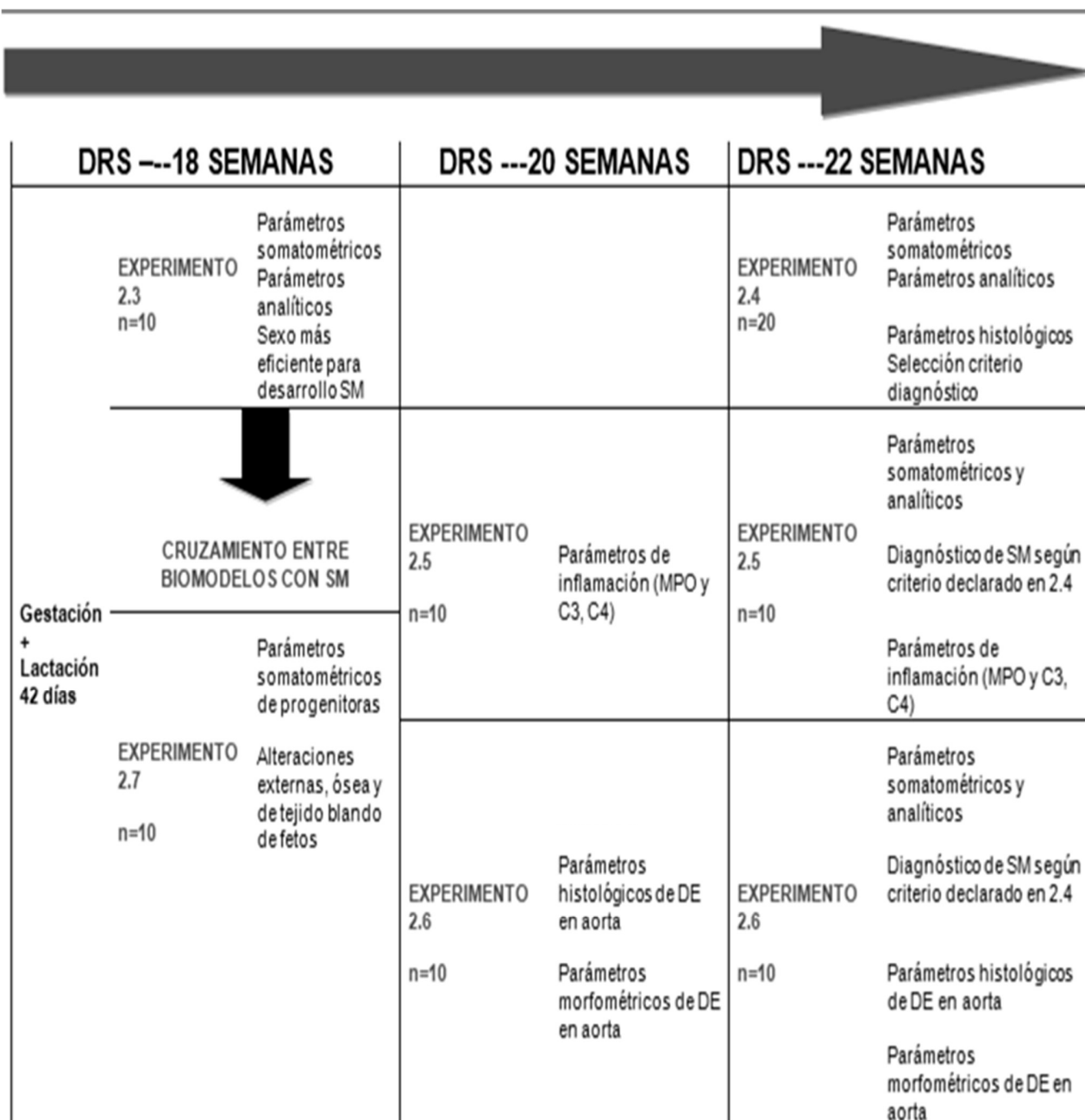
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente capítulo describe los métodos, técnicas y procedimientos que se utilizaron en la investigación para lograr la reproducibilidad de las condiciones de experimentación. Aborda los detalles del diseño experimental, la selección y operacionalización de las variables para cada ensayo biológico propuesto, así como el empleo del método estadístico para el procesamiento, análisis e interpretación de los resultados.

2.1 Aspectos Generales

Se desarrolló una investigación experimental, longitudinal y prospectiva para evaluar los cambios morfofuncionales en un biomodelo de síndrome metabólico en ratas *Wistar* en etapas tempranas de su desarrollo. El biomodelo de síndrome metabólico se obtuvo por suministro de sacarosa al 35 % a ratas *Wistar* gestadas y durante la lactancia materna. Posterior al destete, se les suministró a sus crías la DRS diariamente y como agua de bebida hasta las 18 o 22 semanas de vida, según el experimento y sus objetivos (cuadro 3).

El biomodelo experimental se estudió desde el punto de vista somático, analítico e histopatológico. La definición operacional de las variables de estudio se detalla en el anexo 1. Los estudios *in vivo* se realizaron en la Unidad de Toxicología Experimental (UTEX) perteneciente a la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara (UCM-VC). Los parámetros analíticos e histológicos se determinaron con la colaboración de los hospitales clínico-quirúrgico-docente “Arnaldo Milián Castro” y el pediátrico “José Luis Miranda”, así como con la Unidad de Investigaciones Biomédicas de la UCM-VC.



Cuadro 3. Diseño general de la investigación. DRS: Dieta Rica en Sacarosa. SM: síndrome metabólico. MPO: mieloperoxidasa, C3 y C4: fracciones del complemento, DE: disfunción endotelial. Experimento 2.3: Establecimiento de un biomodelo de SME inducido por dieta rica en sacarosa (DRS) en ratas desde la etapa intrauterina hasta las 18 semanas. Experimento 2.4: Evaluación de parámetros somatométricos, analíticos e histológicos en un biomodelo de SME inducido por DRS en ratas desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas. Experimento 2.5: Determinación de parámetros de inflamación en un SME inducido por DRS en ratas *Wistar*. Experimento 2.6: Determinación de marcadores de disfunción endotelial en aorta abdominal en un biomodelo de SME inducido por DRS en ratas *Wistar*. Experimento 2.7: Determinación de las alteraciones morfológicas en descendientes de progenitores con SME inducido por DRS.

2.2 Modelos biológicos

Se utilizaron como animales de laboratorio *Rattus norvegicus* (línea *Wistar*) de ambos sexos, aptas para la reproducción y procedentes del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (Cenpalab), con un peso entre 180 y 200 g, acompañados del correspondiente certificado de calidad genética e higiénico-sanitario (anexo 2). El estado de salud general de la colonia a su llegada y durante la etapa de cuarentena se corroboró por inspección clínica y análisis de los parámetros químicos y hematológicos del 10 % de los animales, según se describe en los procedimientos normalizados de operación (PNO) de la UTEX (anexo 3). Al terminar el período de cuarentena (7 días), los animales se identificaron por el método de ponche en la oreja.

Cuidado y mantenimiento: Los animales se mantuvieron en condiciones libres de patógenos específicos con acceso *ad libitum* al agua apta para el consumo humano y al pienso convencional, proveniente del Cenpalab (ver en anexo 4 Certificados de autorización de alimento animal). Se mantuvieron bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad y una temperatura de 22 ± 2 °C. La higiene del recinto primario (cajas de alojamiento), del recinto secundario (cubículo de experimentación) y de los utensilios utilizados en la experimentación, se cumplimentó en días alternos (anexo 3 listado de los PNO ejecutados para garantizar el bienestar de los biomodelos y la ejecución de los procedimientos ya estandarizados de registro de variables en la experimentación animal).

Conformación de los grupos experimentales: Los grupos experimentales se conformaron mediante aleatorización y se alojaron en cajas T-4 de Makrolón, con fondo y tapa de rejilla, identificadas con los datos: grupo experimental, código de identificación y número total de animales alojados, sexo y fecha de nacimiento.

En cada uno de los estudios se realizó el apareamiento a razón de dos hembras por macho. La detección del día cero de la gestación fue realizada por frotis del contenido vaginal al día siguiente del apareamiento, según lo establecido por la literatura¹⁴¹ y descrito en el PNO/REP/014. Confirmación del día cero de la preñez, estandarizado en la UTEX. Para el desarrollo del SM las crías se sometieron indirectamente a la dieta hiperglucídica, por ingestión de sacarosa de sus madres, en la etapa intrauterina y la lactancia materna.

Posterior al destete se agruparon por sexos a razón de 10 animales por caja y se les suministró diariamente como agua de bebida, la DRS a las crías hasta las 18 o 22 semanas postnatales.

Aspectos éticos: Los protocolos experimentales se evaluaron y aprobaron por el Comité de Ética para la Investigación de la UTEX (anexo 5), según las guías para la investigación Animal Research: Reporting of in Vivo Experiments (ARRIVE)¹⁴² y el Decreto-Ley No. 31 de Bienestar Animal de la República de Cuba.¹⁴³ Los animales se sacrificaron una vez concluido el estudio por sobre dosis de anestésico y posterior dislocación cervical.¹⁴⁴

2.3 Establecimiento de un biomodelo de síndrome metabólico por inducción de una dieta rica en sacarosa en ratas *Wistar* desde la etapa intrauterina hasta las 18 semanas

2.3.1 Inducción del biomodelo

Para el estudio se utilizaron los neonatos resultantes del cruzamiento de ratas sanas procedentes del Cenpalab. Se conformaron dos grupos experimentales por sexo de 10 animales cada uno (control Sanos y grupo de SME). Las ratas progenitoras, cuyas crías conformaron el grupo SME, recibieron solución de sacarosa *ad libitum* al 35 % durante 42 días, período que coincidió con la gestación y la lactancia materna.¹⁴⁵ Durante este período se tomaron las precauciones necesarias para evitar que los neonatos, sobre todo en la tercera semana de lactación, pudieran ingerir la solución de sacarosa de los biberones. Posterior al destete, los neonatos recibieron la solución de sacarosa al 35 % hasta las 18 semanas de vida, edad extrapolable aproximadamente a los 16 años en el ser humano.¹³² Las ratas progenitoras cuyas crías conformaron el grupo Sanos y sus neonatos solo consumieron dieta convencional.

La DRS se suministró diariamente como agua de bebida entre las 07:00 y las 09:00 horas. La experiencia acumulada en estudios pilotos previos determinó, que el consumo de los neonatos después del destete se elevara a 10 mL de la solución de sacarosa por animal, hasta el primer mes de vida aproximadamente. Durante el resto del estudio se elevó el consumo a 15 mL de sacarosa por animal. En ambos casos, el volumen de la solución de

sacarosa permitió que el animal tuviera aproximadamente el 50 % de las necesidades de líquido cubiertas.¹⁴⁶ Una vez que las ratas consumieron la solución se les colocó agua y la dieta estándar para la especie.

Los parámetros registrados en cada caso se compararon entre los grupos control Sanos y de inducción del SME. Una diferencia significativa, de al menos tres de los parámetros correspondientes al criterio diagnóstico más empleado en la práctica clínica (NCEP-ATP III)³⁶ y evaluados en el modelo experimental, fueron suficientes para determinar el establecimiento del modelo de SME. Adicionalmente, se comprobó si los valores de los parámetros en los grupos sanos se encontraban fuera del rango de los valores fisiológicos reportados para la especie según sexo y edad (anexo 6).

2.3.2 Parámetros somatométricos

Todas las mediciones se realizaron por una misma persona y el mismo día de la semana. Las variables que se registraron fueron: peso corporal (PC), circunferencia abdominal (CA) y peso de la grasa abdominal (GAb), esta última post-mortem.

2.3.3 Parámetros analíticos

2.3.3.1 Bioquímicos

Las muestras sanguíneas se obtuvieron al finalizar el estudio, previo a un ayuno de 12 horas. El método de punción en los senos retroorbitales se empleó para la toma de muestras con el animal anestesiado por inhalación de éter etílico. Se utilizó el suero obtenido por centrifugación a 3000 rpm durante 10 min.

Se cuantificaron: glucemia en ayunas, colesterol total, TAG, VLDL, HDLc, proteínas totales, creatinina, albúmina, ácido úrico, insulina, transaminasas glutámico pirúvica (TGP) y glutámico oxalacética (TGO). Todas las determinaciones se realizaron en autoanalizador Hitachi (Roche Diagnostic, Tokio, Japón). Las muestras de orina, para la determinación de micro-albuminuria por el método de aglutinación con látex, se recolectaron en cajas metabólicas durante 24 horas. Para esto, los modelos biológicos se alojaron individualmente a las 15 y 18 semanas postnatales.

2.3.3.2 Hematológicos

Las muestras sanguíneas fueron obtenidas según se detalló en el acápite anterior bajo las mismas condiciones. En lugar de suero se utilizó plasma y como anticoagulante heparina. Se determinaron la hemoglobina y plaquetas y de la serie blanca los leucocitos, los segmentados y los linfocitos.

2.3.3.3 Control glucémico

La PTGO se realizó a las 18 semanas postnatales, 72 horas previas a las determinaciones descritas en **2.3.3.1** y **2.3.3.2**. El resto de los parámetros correspondientes al control glucémico se evaluaron a la edad del destete (3 semanas), a las 15 y a las 18 semanas postnatales.

La PTGO se efectuó por administración oral de solución de glucosa (2 g/Kg de PC) a razón de 10 mL/Kg con cánula esofágica.¹⁴⁷ La toma de muestra para la PTGO se realizó por punción en la cola del animal con lanceta estéril y posterior lectura de la glucemia en glucómetro Sumasensor (Cuba). Se efectuó en tres momentos: ayunas (0 min), a los 30 min y a los 120 min. Los animales se sometieron a un ayuno previo de 18 horas para alcanzar una mayor respuesta glucémica postprandial.¹⁴⁸

Para el estudio de la insulinemia y el resto de los indicadores de control glucémico, las muestras fueron obtenidas previo ayuno de 12 horas, por el método de punción en los senos retroorbitales según procedimiento estandarizado en la UTEX (PNO/ANI/0016. Método de extracción de sangre por senos orbitales). La insulinemia se determinó por la técnica de radioinmunoensayo (RIA), la RI y el porcentaje de células β funcionales (FC β) se determinaron según HOMA (Homeostasis Model Assessment).¹⁴⁹ También se determinó el índice glucosa-triacilglicéridos (IGTAG).¹⁵⁰ Las muestras para determinar la glucemia y los TAG, que se emplean para el cálculo de los índices de control glucémico, se obtuvieron y procesaron según lo descrito en **2.3.3.1**.

El establecimiento del modelo se demostró por cumplir con los criterios diagnósticos declarados por NCEP-ATP III³⁶, aunque teniendo en cuenta la comparación entre el grupo Sanos y el de inducción del SME. La obesidad central se determinó por presentar cada

grupo experimental valores mayores de CA con respecto al grupo Sanos del mismo sexo, de igual manera se procedió con los TAG y la glucemia en ayunas.

2.3.4 Selección del sexo que mejor desarrolló el biomodelo

Después de comprobar el establecimiento del modelo de SME se procedió a seleccionar el sexo que desarrolló las alteraciones morfofuncionales en mayor grado. Se seleccionó la media como estadígrafo de tendencia central para comparar, con el empleo del test T de Student, la diferencia de los parámetros con distribución normal entre los grupos que se les provocó el SME y los respectivos grupos sanos del mismo sexo. Se seleccionó el sexo que superó en mayor cantidad de parámetros, la diferencia de las medias con su control sano respectivo.

Adicionalmente se verificó que existieran signos de RI o pobre control glucémico. El empleo de este procedimiento permitió determinar el sexo que manifestó en mayor magnitud la modificación del estado metabólico por administración crónica con la DRS hasta las 18 semanas de vida.

2.4 Determinación de parámetros somatométricos, analíticos e histopatológicos en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas *Wistar* desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas

2.4.1 Inducción del biomodelo

Se procedió de manera similar al acápite **2.3.1** con la diferencia que solo fueron seleccionados neonatos del sexo que mejor desarrolló el biomodelo del SM (acápite **2.3.4**). Los neonatos estuvieron en contacto indirecto con la solución rica en sacarosa, en la etapa intrauterina y durante la lactancia materna. Posteriormente, se les suministró como agua de bebida la DRS hasta las 22 semanas de vida, edad extrapolable a los 19 años del ser humano.¹³² La muestra la conformaron 40 neonatos resultado del cruzamiento de ratas *Wistar* sanas procedentes del Cenpalab. Se formaron dos grupos experimentales de 20 animales cada uno: inducción del SME y control Sanos. Los animales consumieron 10 mL de solución de sacarosa al 35 % como promedio por animal, hasta el primer mes de vida

después del destete y después se elevó a un promedio de 15 mL por animal hasta finalizar el estudio.

Para verificar la reproducibilidad del biomodelo, a las 18 semanas postnatales se determinaron, en ambos grupos, los parámetros glucemia, TAG y CA. La observancia de valores superiores de estos parámetros en el grupo de SME, comparados al grupo Sanos, confirmó la correcta instauración y desarrollo del biomodelo.

2.4.2 Parámetros somatométricos

2.4.2.1 *In vivo*

Se siguió el procedimiento ya descrito en el acápite **2.3.2** para el peso corporal y la circunferencia abdominal. Además, se registraron los parámetros: longitud cabeza-cola (LCC), índice de masa corporal (IMC), presión arterial sistólica (PAS) y diastólica (PAD). La presión arterial fue registrada con un equipo para medir presión arterial en roedores marca CODA-UEA. El día previo al registro, los animales tuvieron una sesión de entrenamiento para disminuir el posible estrés producto de la manipulación y aplicación de la técnica.

2.4.2.2 Post-mortem

Después de aplicada la eutanasia, la cavidad abdominal fue abierta en la línea media desde la pelvis y hasta el apéndice xifoide. Se extrajeron y pesaron la grasa abdominal, el corazón, el hígado y el riñón.

2.4.3 Parámetros analíticos

2.4.3.1 Bioquímicos

Se obtuvieron muestras sanguíneas a la semana 22 de vida de los animales para comparar las variables de estudio del grupo Sanos y de inducción del SME. Se procedió de igual forma a lo descrito en el acápite **2.3.3.1** para determinar la glucemia en ayunas, colesterol total, TAG, VLDL, proteínas totales, globulinas, albúmina, TGP, creatinina, ácido úrico e insulina.

2.4.3.2 Control glucémico

Las condiciones de ejecución de la PTGO fueron similares a las descritas en el acápite **2.3.3.3**. La toma de muestras para este estudio se efectuó en ayunas y a los 30, 60, 90 y 120 min postcarga de la solución glucídica. Las muestras se obtuvieron por punción en la cola del modelo animal con lanceta estéril y la glucemia se determinó con glucómetro Sumasensor (Cuba). Además, se determinó el ABC por el método de los trapecios.¹⁵¹

La insulinemia, los índices HOMA-IR, HOMA-FC β e IGTAG se determinaron 72 horas posterior a la ejecución de la PTGO. Los valores de la glucemia y los TAG para el cálculo de los índices de control glucémico, coincidieron con los obtenidos según lo descrito en el acápite **2.4.3.1**.

2.4.4 Parámetros anátomo-histopatológicos

La observación macroscópica de la cavidad toraco-abdominal se realizó para cada animal según lo descrito en los PNO estandarizados en la UTEX (anexo 3) y la bibliografía consultada.¹⁵² Se registró todo hallazgo alejado del comportamiento normal; cambio de coloración en tejidos, presencia de grasa en exceso, de tumoración, etc.

Los órganos y estructuras a estudiar desde el punto de vista anátomo-histopatológico fueron: hígado, riñón, corazón, tejido adiposo y páncreas. Las muestras de tejido se tomaron inmediatamente después de la eutanasia y se conservaron en formol al 10 % durante 24 horas. Todas se procesaron por la técnica clásica de inclusión en parafina y las láminas se tiñeron con hematoxilina y eosina.¹⁵² La observación microscópica de las láminas se capturó en imágenes (microscopio OPTECH con cámara digital Cannon Power Shot G11 acoplada) para identificar los cambios grasos en los tejidos, necrosis, inflamación, atrofia e hipertrofia de células.

2.4.5 Determinación de un criterio diagnóstico para el síndrome metabólico experimental

Previamente se verificó el establecimiento del modelo según se describió en acápite **2.3.3**. En este caso, se tuvo en cuenta la presión arterial (sistólica y diastólica), además de la

circunferencia abdominal, la glucemia en ayunas y los TAG. La alteración de al menos tres de estos criterios, fue suficiente para demostrar el establecimiento del biomodelo de SM.³⁶

Partiendo de la premisa del papel central de la grasa abdominal en la etiopatogenia del SM y de la dificultad para medirla sin ayuda de técnicas imagenológicas en el modelo vivo, se determinó a partir del análisis de los parámetros asociados a la grasa abdominal, aquellos que podían ser utilizados como criterio diagnóstico del SME. El primer paso consistió en la selección de los parámetros que podían potencialmente formar parte de la propuesta del nuevo criterio diagnóstico. Los requisitos establecidos para la selección de estos parámetros tuvieron en cuenta que el registro de los valores no implicó el sacrificio del animal y que hubo diferencias significativas entre los grupos Sanos y SME. De manera particular, se excluyeron los parámetros que no presentaron correlación positiva con el parámetro grasa abdominal ($p > 0,05$).

Seguidamente, se clasificaron cada uno de los casos o factores, correspondientes a cada parámetro seleccionado como posibles factores influyentes en el SME. Para lograrlo, se calculó en cada grupo los intervalos de confianza (95 %) para cada parámetro. Como posibles factores influyentes se tomaron aquellos cuyos valores fueron mayores o iguales que el límite inferior del intervalo de confianza determinado. Los posibles factores influyentes se re-codificaron con el valor 1 y en caso contrario se otorgó 0. De esta manera se construyó una base de datos binarios basada en los parámetros previamente seleccionados.

A continuación, se aplicó para cada parámetro seleccionado y de manera independiente la regresión logística binaria. Seguidamente se determinó cuáles de los parámetros, seleccionados en el paso anterior, eran influyentes en el SME. Se consideró como variable respuesta la correspondiente a la asignación previa de los dos grupos experimentales. En este caso esa variable tomó valor 1 si el factor originalmente provenía del grupo de SME y 0 en caso contrario. Los parámetros cuyos modelos de regresión registraron valores positivos en su coeficiente y $\alpha < 0,05$, se clasificaron como factores influyentes y de riesgo. Solo estos parámetros fueron seleccionados para obtener nuevos modelos de regresión logística binaria con las diferentes combinaciones posibles entre ellos.

Para el nuevo criterio diagnóstico del SME se seleccionaron los parámetros incluidos en el mejor modelo de regresión logística que se generó con mayor capacidad diagnóstica. El modelo que alcanzó los mayores indicadores de especificidad, sensibilidad, porcentaje de valores predictivos positivos (VPP) y negativos (VPN), permitió seleccionar los parámetros que mayor capacidad diagnóstica tuvieron del SME.¹⁵³ Los puntos de corte coincidieron con el límite inferior del intervalo de confianza calculado para dichos parámetros en el grupo de SME.

2.5 Determinación de parámetros de inflamación en un síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas *Wistar*

2.5.1 Inducción del biomodelo

El SME se obtuvo según lo descrito en el acápite 2.4.1. Se conformaron dos grupos experimentales (Sanos y SME) de n=10 cada uno, resultado del cruzamiento de ratas *Wistar* sanas procedentes del Cenpalab. A las 22 semanas de vida postnatal de los biomodelos, se determinaron los parámetros somatométricos y analíticos que fueron seleccionados para la propuesta del nuevo criterio diagnóstico y se incluyó al peso corporal. Además, se verificó el desarrollo del SME a las 22 semanas de vida con el empleo del nuevo criterio diagnóstico obtenido según el acápite 2.4.6.

2.5.2 Determinación de parámetros de inflamación en biomodelo de síndrome metabólico experimental

A las 20 y 22 semanas de vida de los biomodelos se efectuó la determinación de los parámetros actividad de la MPO y concentración de las fracciones del complemento C3 y C4, para comparar la instauración y evolución de los parámetros de inflamación en el modelo de SME.

Actividad de la mieloperoxidasa: se determinó en suero a 25 °C por el método descrito por Graff *et al*¹⁵⁴ y adaptado por Prada-Santana *et al*.¹⁵⁵ Se usó como sustrato el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y la reacción se siguió por el aumento de la absorbancia a 460 nm debido a la oxidación de la ortodianisidina (anexo 7).

Concentraciones de las fracciones del complemento C3 y C4: se determinaron por un método inmunturbidimétrico¹⁵⁶ suministrado por la firma Roche. Se utilizó un autoanalizador químico Roche/Hitachi–Cobas c311. Las muestras de sangre se obtuvieron por el plexo ocular y se procesaron para obtener el plasma por centrifugación a 3000 rpm durante 10 min. Se utilizó como anticoagulante el EDTA-K.

Al finalizar el estudio, para evaluar el grado de asociación entre los parámetros de inflamación estudiados y los parámetros somatométricos y analíticos registrados se determinaron los coeficientes de correlación.

2.6 Determinación de parámetros de disfunción endotelial en aorta abdominal en síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas *Wistar*

2.6.1 Inducción del biomodelo

Se obtuvo el SME de manera similar al descrito en el acápite 2.4.1. Una vez destetados los neonatos se conformaron 4 grupos experimentales de n=10 cada uno. De estos grupos, dos fueron de los animales a los que se les indujo el SME desde la vida intrauterina y hasta las 20 y 22 semanas de vida. Los restantes fueron controles (sin inducción del SME) con 20 y 22 semanas de vida extrauterina.

De manera similar al 2.5.1, se determinaron a las 22 semanas los parámetros somatométricos y analíticos que fueron seleccionados para la propuesta del nuevo criterio diagnóstico y se incluyó al peso corporal. Además, se verificó el desarrollo de SME a las 22 semanas con el empleo del nuevo criterio diagnóstico obtenido según el acápite 2.4.6. La presencia y evolución de la DE en aorta abdominal se verificó por comparación de parámetros histo-morfométricos de 10 animales con SME sacrificados a las 20 semanas postnatales y otros 10 a las 22 semanas postnatales. De igual manera se procedió con el grupo Sanos.

2.6.2 Estudio de parámetros histo-morfométricos de disfunción endotelial en aorta abdominal

2.6.2.1 Registro de parámetros histológicos

Segmentos de aortas abdominales de 1,0 cm de largo se extrajeron por cada animal y se incluyeron en parafina. Se obtuvieron cortes histológicos de 3,0 μm de grosor y se tiñeron con hematoxilina-eosina (H/E) y las técnicas especiales de van Gieson para colágeno y Verhoeff para fibras elásticas.¹⁵² La observación histológica de los fragmentos de aorta se efectuó con microscopio óptico binocular OPTTECH; ocular 10x y objetivo 4x, 10x y 40x. Con una cámara digital Cannon Power Shot G11, acoplada a dicho microscopio se efectuó la captación de imágenes. La observación se dirigió a identificar la presencia de daño tisular en cada una de las capas de la pared arterial. Los parámetros evaluados fueron tumefacción de las células endoteliales y de las células musculares lisas, denudación del endotelio, proliferación subendotelial, integridad de la lámina elástica interna y organización de las fibras elásticas de la capa media.

2.6.2.2 Registro de parámetros morfométricos

Para el análisis morfométrico del daño en fragmentos de aorta se realizó la digitalización de las observaciones en formato JPG, para su posterior examen con el uso del programa Imagen J versión 1.44p/Java1.6.0_24. Los parámetros morfométricos fueron: grosor de la túnica media o pared del vaso (μm), área de la luz o lumen del vaso (mm^2), área total del vaso (mm^2) y área de la túnica media vascular o pared del vaso (mm^2).

2.7 Identificación de anomalías morfológicas en descendientes de progenitores con síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa

2.7.1 Cruzamiento de animales con síndrome metabólico experimental, gestación y cesárea

Se aparearon dos hembras y un macho de 18 semanas con SM inducido según descrito en el acápite 2.3.1. De igual manera se procedió para el grupo Sanas. Previamente, el establecimiento del biomodelo se corroboró por cumplir con al menos tres de los criterios diagnósticos según NCEP-ATP III.³⁶ El apareamiento sin vínculo de parentesco en primer grado se garantizó por el cumplimiento estricto del PNO estandarizado en la UTEX, que

describe el cruzamiento entre colonias diferentes sin vínculo genealógico (PNO/REP/013. Apareamiento de las diferentes especies). De esta forma se minimiza el sesgo en el desarrollo de anomalías congénitas.

Diariamente, entre las 06:00 y las 07:00 horas, se monitorizó el introito vaginal de las ratas. La presencia de espermatozoides en el contenido vaginal por inspección en microscopio estéreo (MGC-1-Russia) indicó el día cero de gestación (PNO/REP/014. Confirmación del día cero de la preñez). El procedimiento se repitió hasta completar dos grupos experimentales de 10 ratas gestadas cada uno; un grupo de progenitoras con SME y el otro de progenitoras sanas. Una vez confirmada la preñez, las ratas fueron alojadas en cajas individuales con cambio de viruta de pino en días alternos (PNO/ANI/0004. Condiciones de alojamiento para los animales de laboratorio). Durante la gestación, las ratas del grupo SME consumieron 15 mL de DRS al 35 % como agua de bebida en el horario desde las 07:00 hasta las 09:00 horas. Seguidamente se les colocó agua y la dieta estándar para la especie.

A las ratas preñadas de cada grupo se les practicó la cesárea a los 20 días de la gestación según lo descrito en el procedimiento estandarizado en la UTEX PNO/REP/016. Cesárea. Este proceder evita el parto espontáneo y que las ratas progenitoras engullesen a los recién nacidos malformados o muertos. Las ratas, previamente anestesiadas con éter, se colocaron en posición decúbito supino y se les practicó una incisión en forma de U en la región abdominal baja. Se expusieron los ovarios y los cuernos uterinos derecho e izquierdo. Con extremo cuidado se extrajeron estas estructuras, se lavaron con solución salina isotónica y se pesaron en balanza analítica digital Sartorius BP160P (Gottingen, Alemania) para tener criterio del peso del útero grávido.

Con la finalidad de detectar posibles diferencias entre los dos grupos de estudio y tener un criterio preliminar del rendimiento reproductivo materno, solo se registraron en el momento de la cesárea el número de cuerpos lúteos (CL), los sitios de implantación, los sacos gestacionales y las reabsorciones tempranas y tardías.¹⁵⁷ Se procedió a la identificación y registro de cada una de estas estructuras, según lo descrito en la literatura consultada¹⁴¹ y los PNO estandarizados en la UTEX para los estudios de toxicología de la reproducción

(PNO/REP/017. Examen del útero y extracción de los fetos, PNO/REP/018. Conteo de los sitios de implantación, PNO/REP/019. Conteo de cuerpos lúteos).

Una vez terminado el proceso de cesárea y extracción de las estructuras y fetos, se realizó la eutanasia por exanguinación de las ratas anestesiadas. Los fetos se sacrificaron por sobre dosis de éter.^{141, 144}

2.7.2 Registro de parámetros somatométricos de ratas progenitoras

La presión arterial sistólica (PAS) y la diastólica (PAD) expresados en mm Hg, se registraron en el día cero de la gestación. Estos parámetros se determinaron por medición indirecta de igual manera a la descrita en el acápite **2.4.2**.

Al confirmarse la preñez y antes de practicar la cesárea se registró para cada rata progenitora el peso corporal y su ganancia durante la preñez. Durante la cesárea, se extrajo y pesó el útero grávido. Además, se registró la ganancia ajustada de peso materno para eliminar la contribución del útero grávido. La eutanasia se realizó por exanguinación de la rata anestesiada.¹⁴¹

2.7.3 Análisis de anomalías externas y comparación del número, sexo, talla y peso de los fetos

Una vez que se realizó la extracción de los fetos se procedió al registro del sexo, peso, talla y número de estos por madre, según los procedimientos correspondientes establecidos en la UTEX (anexo 3). Además, se realizó la identificación macroscópica de anomalías externas.¹⁴¹

2.7.4 Determinación de anomalías congénitas en el tejido esquelético y blando

Posterior al análisis externo de los fetos se seleccionó aleatoriamente dos muestras de los fetos. Una parte se destinó al estudio óseo y la otra para el estudio del tejido blando.

Preparación del tejido esquelético. Para el procesamiento de los fetos y preparación de las soluciones reactivas, se empleó la técnica del transparentado descrito por Liao *et al.*¹⁵⁸ y estandarizado en la UTEX según PNO/REP/024: Metodología para el examen de las

malformaciones externas. Los fetos se fijaron en alcohol al 95 % durante tres días, posteriormente se transfirieron a acetona con el fin de disolver las grasas. Al quinto día, las muestras se lavaron con alcohol al 95 % y se mantuvieron en esta solución 24 horas. Al finalizar este procedimiento los fetos se sumergieron en hidróxido de potasio al 1 % hasta que los huesos fueron claramente visibles a través del músculo. Luego se transfirieron a rojo de alizarina S y al tercer día se sumergieron en solución de Malls hasta obtener coloración roja de los huesos y transparencia de los tejidos no calcificados.

Examen de estructuras esqueléticas. Se determinaron anomalías esqueléticas y falta de osificación del tejido óseo.¹⁴¹ Los huesos de la cabeza, los de la región del tronco y los huesos de las extremidades anteriores y posteriores, se examinaron con ayuda de un estéreo microscopio (MGC-1-Russia). (Anexo 8)

Preparación y examen del tejido blando. Los fetos seleccionados para el análisis del tejido blando se sumergieron en el líquido fijador de Bovin, el cual se preparó el día previo a la cesárea. Se aplicó la técnica de los cortes de Wilson¹⁵⁹ en busca de alteraciones en algún órgano interno (anexo 9) con ayuda de un estéreo microscopio (MGC-1-Russia).

2.8 Análisis Estadístico

Para el procesamiento estadístico se empleó el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) para Windows, versión 25. Se realizó un análisis descriptivo de los datos para conocer su naturaleza y principales tendencias. El tipo de distribución de las muestras se comprobó con el test de Shapiro-Wilk. El test de Levene se empleó para comprobar la homogeneidad de varianza. Los resultados obtenidos se reportaron como la media \pm desviación estándar para cada una de las variables cuantitativas con distribución normal, las que no se ajustaron a esta distribución se expresaron como la mediana y el rango intercuartilico. Las variables cuantitativas discretas se reportaron en porcentaje o rango. Las variables cualitativas se expresaron como frecuencia absoluta y relativa.

Las comparaciones entre grupos se realizaron según la naturaleza de la distribución de las variables y su clasificación. Para variables cuantitativas con distribución normal se aplicó la prueba de ANOVA de una vía con un post hoc de Bonferroni y la T-Student para evaluar las

diferencias entre grupos. Las comparaciones se realizaron con el test de Kruskal-Wallis y Mann-Witney en los casos en que no se cumplió la normalidad en la distribución. Las variables cualitativas ordinales fueron analizadas por el test de Ji cuadrado y se registraron en tablas de contingencia para el análisis de las relaciones entre estas. Para los análisis en las semanas 20 y 22, de la evolución de los parámetros de inflamación y DE se utilizó el test T de Student para muestras pareadas o Wilcoxon, según la distribución de las muestras.

El nuevo criterio diagnóstico del SME se estableció con el empleo de la regresión logística binaria. La asociación entre los parámetros seleccionados y la grasa abdominal se comprobó con el empleo del test de correlación de Spearman, según la distribución del parámetro grasa abdominal. Los parámetros que presentaron un coeficiente de correlación mayor que 0,5 y $p < 0,05$ se utilizaron para la construcción de una nueva base de datos de carácter binario. Esta se obtuvo por transformación de cada caso en un nuevo factor, que tomó valores de 1 y 0, teniendo en cuenta su carácter influyente o no en el SM, según se describió en el acápite **2.4.6**.

La regresión logística binaria fue aplicada, sobre la base de considerar como variable respuesta, la que discriminó en dos grupos la muestra total y que solo tomó valor 1 para el grupo SME y 0 para el Sanos. Los modelos generados se analizaron según los indicadores para variables diagnósticas (sensibilidad, especificidad, % del VPP y VPN).¹⁵³ El modelo seleccionado fue el de mejores resultados en estos indicadores. El punto de corte de los parámetros que se incluyeron en el mejor modelo se correspondió con el límite inferior del intervalo de confianza calculado en el grupo de SME.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS y

DISCUSIÓN

CAPÍTULO 3. RESULTADOS y DISCUSIÓN

El capítulo está dirigido a la descripción y evaluación de los cambios morfofuncionales que se desarrollaron en edades tempranas del ciclo vital del biomodelo empleado. Se particulariza en el estudio de marcadores inflamatorios sistémicos (la actividad de la mieloperoxidasa y las concentraciones de C3 y C4 del complemento) y la asociación de estos con otros componentes del SME. Además, se presentan los parámetros que describieron el estado del endotelio vascular en aorta abdominal como reflejo de la DE en el modelo de SME. Finalmente se presenta el análisis de los cambios morfofisiológicos en las madres gestadas con SME y su descendencia.

3.1 Biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas *Wistar* desde la etapa intrauterina hasta 18 semanas

3.1.1 Parámetros somatométricos

3.1.1.1 Peso corporal

El SM, que se produce por desbalances nutricionales en los roedores de laboratorio, comparte gran parte de las alteraciones del SM humano. En la literatura se encuentran dietas con diversas composiciones de macronutrientes y diferentes regímenes de alimentación. En el caso de dietas hipercalóricas tanto elevadas en carbohidratos como en lípidos, el incremento de peso corporal es un indicador con alta asociación al desarrollo del SM.^{20,160,161}

Estudios anteriores demostraron que una DRS al 35 % provoca alteraciones metabólicas y somáticas.¹⁶² El comportamiento del peso corporal en los cuatro grupos del estudio a partir de la sexta semana postnatal se muestra en la figura 1. Durante las 18 semanas de inducción postnatal del biomodelo se produjo un incremento significativo del peso corporal en los dos grupos expuestos a DRS, al compararlos con sus controles respectivos.

El grupo de machos bajo régimen de DRS tuvo un incremento significativo hasta el final del estudio ($p < 0,001$). En este grupo, a las 18 semanas los animales terminaron con un

peso corporal de $476,78 \pm 36,61$ g y los del grupo MS, $381,68 \pm 22,13$ g. El aumento en el peso corporal fue significativo en las hembras del grupo HSME hasta la semana 14 ($p < 0,001$) con respecto a su control sano ($274,72 \pm 22,54$ g contra $233,23 \pm 9,08$ g, respectivamente). Sin embargo, este grupo terminó con un peso corporal de $291,56 \pm 20,66$ g, sin diferencias estadísticas significativas a su grupo control HS ($256,14 \pm 17,18$ g),

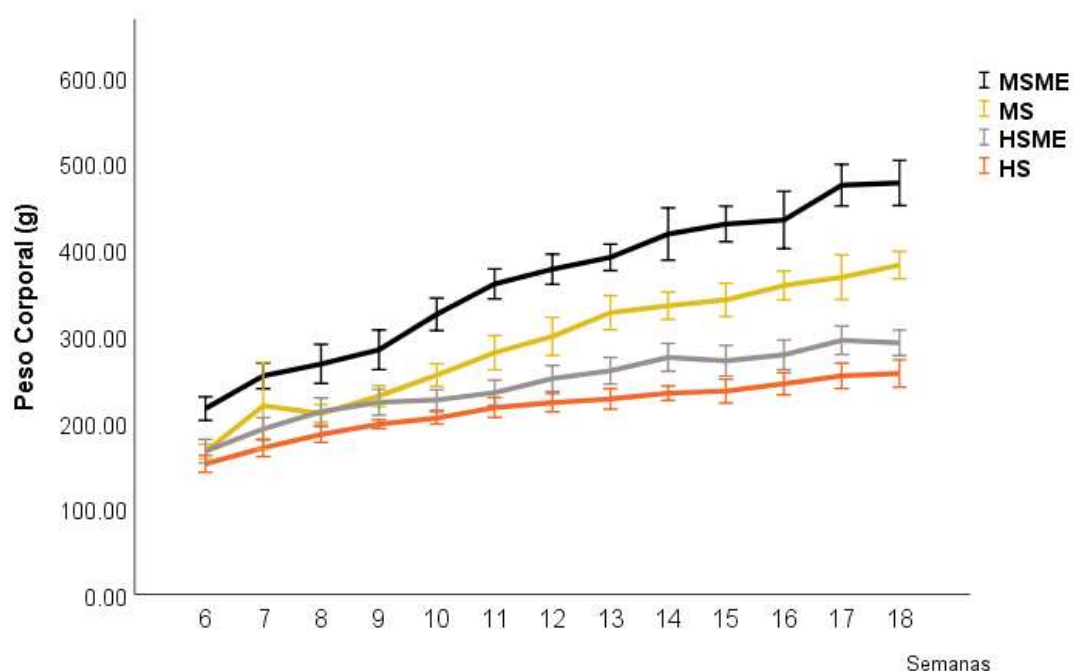


Fig. 1. Curva de peso corporal de los grupos de experimentación en ambos sexos hasta las 18 semanas postnatales.

MS: machos sanos, MSME: machos del grupo de inducción del SME, HS: hembras sanas, HSME: hembras del grupo de inducción del SME. Las comparaciones se realizaron con test de ANOVA y post hoc de Bonferroni, $p < 0,005$. Las barras expresan la desviación estándar (95 % de confianza). Fuente: registro de recogida de datos

Existen mecanismos fisiológicos que contribuyen a garantizar la homeostasia energética. En este proceso el consumo se iguala al gasto energético de manera que los almacenes corporales, en forma de tejido adiposo, se mantienen constantes a pesar de las variaciones diarias en la ingesta calórica. Cuando existe un desequilibrio sostenido en el tiempo entre ingesta y gasto energético, a favor del primero, se incrementan los depósitos grasos y sobreviene la obesidad.¹⁶³

Durante el embarazo y la lactancia se forman los circuitos neuronales que determinan los procesos regulatorios de la ingesta alimentaria. A diferencia de los humanos, en los roedores muchos de estos circuitos se desarrollan en etapa postnatal. Esto define que el desarrollo del complejo sistema neuronal del control de la alimentación en el roedor, se extienda hasta su pubertad.¹⁶⁴

En el presente biomodelo de SM inducido por DRS, las progenitoras recibieron durante toda la etapa de gestación una elevada ingesta calórica que se transmite a sus descendientes a través de la comunicación materno-fetal y posteriormente vía lactancia materna. Estas condiciones permiten la obtención de fenotipos cercanos a niños que nacen en un ambiente de sobrealimentación materna. Estos infantes presentan un elevado riesgo de desarrollar SM en etapas tempranas de su desarrollo.¹⁶⁵

La sobrealimentación de la progenitora en la etapa del embarazo y lactancia impacta en la reducción de la expresión de los receptores de leptina, lo que determina una inadecuada respuesta de la hormona a los niveles elevados de ingesta.¹⁶⁶ Además, los cambios epigenéticos que se producen en este ambiente hiperglucídico contribuyen al marcaje de genes claves en el metabolismo. Estos genes, que se asocian al desarrollo de fenotipos metabólicamente no saludables, pueden expresarse en la etapa postnatal en una interacción con el medio ambiente.¹²⁹

3.1.1.2 Circunferencia y grasa abdominal

Los animales de ambos sexos de los grupos de inducción del SME, desarrollaron mayor CA que sus homólogos con dieta normal (tabla 1). Las diferencias obtenidas en el peso de la GAb para ambos grupos que consumieron DRS fueron altamente significativas comparadas con lo observado en los controles sanos. De manera similar a lo observado en el peso corporal, los machos desarrollaron en mayor grado los parámetros somatométricos CA y GAb. En el caso de la GAb, los machos con inducción del SME presentaron una deposición de casi ocho veces la obtenida en el grupo Sanos respectivo (tabla 1).

Tabla 1. Parámetros somatométricos circunferencia y grasa abdominal en los grupos de experimentación a las 18 semanas postnatales

Parámetros somatométricos	MSME (n=10)	MS (n=10)	HSME (n=10)	HS (n=10)	p1	p2
CA (cm)	17,49 ± 1,34	15,48 ± 1,49	14,98 ± 0,78	13,54 ± 0,65	< 0,001	< 0,001
GAb (g)	16,10 ± 7,21	2,93 ± 1,18	10,59 ± 4,83	2,77 ± 1,14	0,001	< 0,001

CA: circunferencia abdominal, GAb: grasa abdominal. MSME: machos del grupo de inducción del SME, MS: machos sanos, HSME: hembras del grupo de inducción del SME, HS: hembras sanas. p1: comparaciones entre los grupos de machos, p2: comparaciones entre los grupos de hembras. Se utilizó test de ANOVA, seguido de un post hoc de Bonferroni. Los datos se presentan como la media y la desviación estándar. Fuente: registro de recogida de datos.

La medición de la circunferencia de la cintura, junto al índice de volumen abdominal, resultó ser efectiva para identificar el SM en adolescentes.⁶¹ Otros estudios también demostraron que en esta edad hay una mayor susceptibilidad a incrementar estos parámetros somáticos en el sexo masculino.⁵⁰

El dimorfismo sexual en la instauración y desarrollo del SM se explica desde el punto de vista del papel protector de los estrógenos. Estudios previos señalan que las hormonas sexuales femeninas incrementan la capacidad termogénica y lipolítica de los adipocitos a diferencia de la testosterona.¹⁶⁷ Investigaciones recientes asocian de manera inversa la expresión de receptores estrogénicos en tejido adiposo con la adiposidad visceral.¹⁶⁸ Las ratas hembras también presentan una mayor capacidad termogénica, con un contenido de proteína mitocondrial y de la proteína desacopladora 1 (UCP1 por sus siglas en inglés) superior que en los machos, por lo que globalmente presentan mayor gasto energético.¹⁶⁹ Esta diferencia fisiológica incrementa el umbral de las hembras para desarrollar la obesidad.

Otros estudios refieren los efectos sobre el metabolismo intermediario que pudieran provocar los niveles de andrógenos circulantes.¹⁷⁰ Un estudio en ratas, espontáneamente hipertensas de ambos sexos, sugiere que la testosterona provocó un incremento de los niveles de aldosterona responsable de un estado similar al SM, así como incremento de la mortalidad en estos biomodelos.²³

Reportes de estudios en adolescentes coinciden en identificar al sexo masculino como el que más desarrolla adiposidad visceral.⁵⁰ Un estudio durante dos años con adolescentes de 10 a 16 años determinó que los varones presentaron mayor masa corporal y grasa visceral que las hembras, tanto al inicio del estudio como al concluir este.¹⁷¹

3.1.2 Parámetros analíticos

3.1.2.1 Parámetros bioquímicos

El análisis comparativo de la glucemia, el perfil lipídico y los parámetros que exploraron el funcionamiento renal, entre grupos del mismo sexo, se efectuó con el estadígrafo T Student al comprobar la normalidad de las muestras. En el resto de los parámetros no se observó distribución normal, por lo que se empleó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (tabla 2).

En ambos grupos bajo el régimen de DRS se observó un incremento en la glucemia, los TAG y VLDL al compararlos con sus respectivos grupos controles. Los valores de colesterol solo se incrementaron en las hembras sometidas a la dieta hiperglucídica en comparación con su grupo Sanos ($p=0,039$). En todos los grupos de ensayo se comportó de manera similar los valores de HDLc. Los valores obtenidos para la fracción proteica del suero tampoco mostraron diferencias entre los respectivos grupos según sexo.

La ingestión de dietas ricas en sacarosa produce alteraciones tanto por la ruta de la glucosa, secretagoga principal de la insulina, como de la fructosa, que presenta mayor potencial lipogénico.⁶⁴ La hipertrigliceridemia e hiperglucemia, que se observan en ambos sexos en el experimento presentado, son consistentes con el desarrollo del SM tanto en roedores de laboratorio como en humanos que han consumido dietas elevadas en estos carbohidratos.⁸⁸ En los estados de resistencia a la insulina se describe que la hipertrigliceridemia es consecuencia, principalmente, del incremento de las VLDL. Los niveles elevados de fructosa que llegan al hígado provenientes de la DRS inundan la vía de la lipogénesis *de novo* y la glucosa plasmática provoca picos de insulina.⁶⁴ De esta forma se justifica el elevado flujo de lipoproteínas del hígado hacia el torrente sanguíneo.

Tabla 2. Valores de los parámetros bioquímicos evaluados a las 18 semanas postnatales

Parámetros bioquímicos	MSME (n=10)	MS (n=10)	HSME (n=10)	HS (n=10)	p1	p2
Glu (mmol/L)	7,97 ± 2,43	4,43 ± 0,96	10,43 ± 1,89	7,43 ± 1,37	0,001	0,040
CT (mmol/L)	1,53 ± 0,48	1,67 ± 0,17	2,43 ± 0,43	1,79 ± 0,31	0,633	0,039
TAG (mmol/L)	0,88 ± 0,28	0,39 ± 0,10	0,90 ± 0,21	0,39 ± 0,25	<0,001	0,006
VLDL (mmol/L)	0,45 ± 0,14	0,30 ± 0,06	0,47 ± 0,08	0,21 ± 0,14	0,001	0,002
HDLc (mmol/L)	0,93 ± 0,35	0,88 ± 0,02	1,42 ± 0,26	1,23 ± 0,20	0,499	0,264
Creat (μmol/L)	33,60 ± 9,35	40,75 ± 11,24	42,90 ± 6,51	34,33 ± 9,87	0,361	0,134
AU (μmol/L)	167,44 ± 62,54	151,25 ± 54,99	169,60 ± 64,19	128,33 ± 15,04	0,303	0,228
PT (g/L)	69,70 (52,80 -78,6)	64,50 (64,50 -72,50)	76,80 (72,60 -91,1)	71,00 (67,10 - 83,00)	0,780	0,368
Alb (g/L)	48,20 (38,10 -51,7)	43,60 (42,30-47,30)	49,90 (49,30 -58,3)	47,50 (46,90 - 54,20)	0,980	0,414
Glob (g/L)	21,00 (20,00 -27,0)	21,00 (21,00 -25,00)	26,00 (23,00 -33,0)	24,00 (20,00 - 29,00)	0,862	0,350
TGP (U/L)	55,20 (31,40-117,4)	25,10 (22,00 -29,20)	49,70 (36,40 -58,90)	52,30 (27,40 - 54,90)	0,014	0,726
TGO (U/L)	108,60 (90,60-302,20)	110,50 (104,30-137,20)	86,30 (78,40-116,90)	128,00 (122,80- 159,10)	0,625	0,057

Glu: glucemia, CT: colesterol total, TAG: triacilglicéridos, VLDL: very low density protein, Creat: creatinina, AU: ácido úrico, PT: proteínas totales, Alb: albúmina, Glob: globulinas, TGP: Transaminasa glutámico-pirúvica, TGO: transaminasa glutámico-oxalacética, MS: machos sanos. MSME: machos del grupo de inducción del SME, HS: hembras sanas, HSME: hembras del grupo de inducción del SME, p1: comparaciones entre los grupos de machos, p2: comparaciones entre los grupos de hembras. El test T de Student se empleó en glucemia, perfil lipídico, Creat y AU y los datos se presentaron como la media y la desviación estándar. El test no paramétrico para muestras independientes de Mann–Whitney se empleó para las proteínas séricas y las transaminasas. Los datos se expresan como la mediana y entre paréntesis, el rango intercuartílico. Fuente: registro de recogida de datos.

Es conocido el alto grado de similitud fisio-morfológica de la especie *Rattus norvegicus* y la humana, lo que entre otras aspectos, define a la primera como ideal para la experimentación biomédica.¹⁰⁸ Sin embargo, los valores de los parámetros fisiológicos del roedor de laboratorio difieren de la especie humana (anexo 6). El amplio margen que presentan muchos de estos parámetros depende de las condiciones del laboratorio que los registre, lo que hace imprescindible el empleo de grupos controles.¹⁷²

Ratas sanas, tanto de la línea *Wistar* como *Sprague Dawley* pueden presentar valores de glucemia superiores que los valores clínicos normales en humanos.¹⁵⁰ En la presente investigación, la comparación con los grupos sanos, no sujetos a la intervención de la DRS, permite la interpretación de los resultados que se observan.

Otro aspecto divergente entre el SM desarrollado en el presente biomodelo y el observado en la especie humana es el incremento del colesterol asociado a las HDL. En los roedores

las HDL son las lipoproteínas que más abundan en el animal sano. Esta diferencia importante con el humano provoca que las ratas sean más resistentes al desarrollo de placas de ateromas debido al desbalance entre HDLc y LDLc.¹⁷³

Las alteraciones metabólicas desarrolladas en el biomodelo presentado se relacionan con el diseño experimental que contempla la exposición al ambiente hiperglucídico desde la etapa intrauterina y lactancia materna y posteriormente en la etapa postnatal durante 18 semanas.¹⁴⁵ Souza-Cruz *et al.*¹²² a pesar de que expusieron a los biomodelos a una dieta hiperglucídica durante un mayor número de semanas (25), no tuvieron en cuenta la influencia de esta dieta en las etapas tempranas del desarrollo y lograron valores de glucemia inferiores a los obtenidos en la presente investigación.

En la evaluación del funcionamiento hepático solo se observó un incremento significativo de la TGP en el grupo de machos sometidos a la intervención nutricional al compararlos con el grupo Sanos del mismo sexo (tabla 2). Alrededor del 80 % de la fructosa proveniente de la dieta queda atrapada en el hepatocito y contribuye a la inflamación del tejido hepático, debido al incremento de la grasa ectópica en este tejido. Este ambiente contribuye a la activación de la enzima 11 β hidroxisteroide deshidrogenasa (11-beta-OHSDH) encargada de activar la corticosterona en el roedor y el cortisol en el ser humano.¹⁷⁴ De esta manera, el ambiente inflamatorio dentro del hepatocito coexiste con el incremento de glucocorticoides, lo que contribuye a perpetuar el daño a este nivel. Una de las expresiones de este daño hepático es la liberación al espacio extracelular de las transaminasas.¹⁷⁵ Este análisis pudiera explicar el incremento significativo de la TGP que se observó en el grupo de machos sometidos a la DRS.

Los marcadores plasmáticos de daño renal no fueron modificados de manera significativa en ningún grupo (tabla 2). El test de micro-albuminuria en orina en la semana 15 de vida resultó negativo para ambos sexos sometidos a la DRS y para sus controles sanos ($28 \pm 0,01$ mg/L). En la semana 18 se registraron resultados positivos en un 90 % de los animales de experimentación. Las hembras con valores de micro-albuminuria correspondientes a $92 \pm 0,04$ mg/L y los machos a $139 \pm 0,04$ mg/L. Los biomodelos de los grupos sanos de ambos sexos, tuvieron resultados negativos en un 100 % ($28 \pm 0,01$ mg/L).

El incremento observado solamente en la micro-albuminuria, en el experimento que se presenta, coincide con otros estudios en los que este parámetro mostró mayor sensibilidad como indicador temprano de daño renal.^{176,177} La excreción urinaria de albúmina se asocia con la obesidad y, en los primeros años de vida, es un factor de riesgo para la enfermedad renal en el adulto.¹⁷⁸

3.1.2.2 Parámetros hematológicos

La tabla 3 muestra los valores medios de los parámetros hematológicos por grupo.

Tabla 3. Valores de los parámetros hematológicos evaluados a las 18 semanas postnatales

Parámetros Hematológicos	MSME (n=10)	MS (n=10)	HSME (n=10)	HS (n=10)	p1	p2
Hb (g/L)	142,60 ± 7,30	137,50 ± 12,30	133,10 ± 7,9	140,40 ± 6,6	0,481	0,100
Leuc (x 10 ⁹ /L)	6,92 ± 0,46	8,65 ± 0,68	5,80 ± 0,66	8,30 ± 0,53	<0,001	<0,001
Seg (cel/L)	29,30 ± 5,52	29,00 ± 5,16	26,90 ± 5,90	30,20 ± 1,30	0,927	0,120
Linf (cel/L)	70,70 ± 5,52	71,00 ± 5,16	73,10 ± 5,90	69,80 ± 1,30	0,927	0,120
Plaq (x10 ⁹ /L)	807,20 ± 68,70	836,25 ± 48,10	757,10 ± 83,70	897,40 ± 50,50	0,459	0,005

Hb: hemoglobina, Leuc: leucocitos, Seg: segmentados, Linf: linfocitos, Plaq: plaquetas, MS: machos sanos. MSME: machos del grupo de inducción del SME, HS: hembras sanas, HSME: hembras del grupo de inducción del SME, p1: comparaciones entre los grupos de machos, p2: comparaciones entre los grupos de hembras. Se utilizó la prueba T de Student y los datos se presentan como la media y la desviación estándar. Fuente: registro de recogida de datos.

Los valores inferiores de leucocitos, observados en los dos grupos de inducción de SME, se encontraron dentro del rango fisiológico para la especie (4,0 – 10,2 x 10⁹/L). De igual manera, ocurrió con los valores inferiores de las plaquetas en el grupo de las hembras con inducción del SME (450 – 885 x 10⁹/L).¹⁷⁹ El resto de los parámetros no mostraron diferencias con los grupos sanos de igual sexo.

La revisión de la bibliografía disponible, muestra resultados contradictorios en cuanto a la modificación del perfil hematológico en diferentes modelos de intervención nutricional. El estudio Kerman Coronary Artery Disease Risk Factor Study (KERCADRS)¹⁸⁰ se realizó en Irán con individuos de ambos sexos y determinó que los leucocitos son un buen indicador de SM, aunque los valores de sensibilidad (<70 %) y especificidad (<60 %) pudieran ser discutibles. En un estudio de intervención nutricional que se realizó en ratones con dieta

alta en lípidos, Ranjbar *et al.*¹⁸¹ determinaron fluctuaciones en los parámetros hematológicos durante 16 semanas. En un primer momento registraron tendencias a la disminución en la hemoglobina, los basófilos, los eosinófilos y los monocitos. Al finalizar estos parámetros se incrementaron y solamente los linfocitos disminuyeron.

Los resultados obtenidos en el experimento que se presenta no permiten determinar asociación entre los parámetros hematológicos y el desbalance metabólico que se establece en el biomodelo. Sin embargo, no se descarta que una exposición mayor a la DRS pudiera provocar efectos deletéreos en el perfil hematológico.

3.1.2.3 Parámetros de control glucémico

La tabla 4 muestra los parámetros del control glucémico que se determinaron a la edad del destete (3 semanas), a las 15 y a las 18 semanas de experimentación. La comparación permitió detectar que la glucemia, los valores de HOMA-IR, los de HOMA-FC β y los de IGTAG resultaron ser diferentes en los tres momentos de tomas de muestra. En cambio, la insulinemia solo se modificó en la última semana del estudio.

Los machos bajo inducción del SME mantuvieron valores mayores de glucemia y HOMA-IR que su control desde un inicio y hasta el final. Las hembras del grupo SME, a partir de la semana 15, presentaron valores superiores de glucemia y HOMA-IR que sus controles sanos. Los valores de insulina plasmática solo se incrementaron al final del estudio en ambos sexos.

Se obtuvieron menores valores de HOMA-FC β en los animales machos sometidos a la DRS a los 21 días de nacidos (semana 3 de la toma de muestra). A las 15 semanas existió un incremento de este parámetro en los dos grupos sometidos a la DRS. Tres semanas después, el número disminuyó drásticamente solo en el grupo de animales del sexo masculino sometido a la inducción del SME.

Los valores del IGTAG fueron mayores en ambos grupos de inducción del SME, con respecto a los sanos desde la semana del destete. Sin embargo, solo el grupo MSME permaneció durante todo el estudio con estos valores incrementados. Este índice en el grupo HSME presentó valores similares a los del grupo control en la semana 18.

CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 4. Control glucémico determinado al destete (s3), a las 15 semanas (s15) y a las 18 semanas (s18) postnatales

	MSME (n=10)	MS (n=10)	p1	HSME (n=10)	HS (n=10)	p2
Glu mmol/L	5,31± 1,07	2,90 ± 0,62	0,001	3,91 ± 1,40	3,79 ± 0,53	0,891
Ins. μU/mL	10,51 (10,00 -10,98)	10,90 (10,75-11,14)	0,288	10,65 (10,47- 12,41)	10,47 (10,16-11,46)	0,461
s3 HOMA-IR	2,17 (1,93 - 3,07)	1,26 (1,14-1,82)	0,007	1,87 (1,48 -2,65)	1,71 (1,61 - 1,99)	0,866
HOMA-FCβ (%)	37,77 (31,64-44,36)	69,97 (54,30-90,62)	0,007	58,74 (48,46– 77,02)	57,02 (42,66 –59,08)	0,612
IGTAG	0,44 (0,33-0,54)	0,25 (0,16-0,34)	0,024	0,85 (0,70-1,13)	0,46 (0,44-0,62)	0,018
Glu mmol/L	7,53 ± 1,00	4,44 ± 0,75	p< 0,001	6,37 ± 0,92	4,73 ± 0,25	0,014
Ins. μU/mL	18,70 (15,82-24,79)	14,21 (12,73 -20,90)	0,120	13,16 (12,01- 18,10)	10,58 (10,44 -15,11)	0,086
s15 HOMA-IR	6,37 (5,12 - 7,27)	2,74 (2,63 - 4,37)	0,007	3,79 (3,32 - 5,84)	2,08 (1,98 - 2,42)	0,018
HOMA-FCβ (%)	91,60 (71,93-53,57)	59,97 (51,07-80,11)	0,034	87,11 (80,09 -90,46)	40,06 (36,85 -42,80)	0,011
IGTAG	4,61 (4,53-4,70)	4,00 (3,77-4,12)	0,005	4,57 (4,49-4,76)	4,09 (4,04- 4,27)	0,011
Glu mmol/L	7,97 ± 2,43	4,43 ± 0,96	0,001	10,43 ± 1,89	7,43 ± 1,37	0,040
Ins. (μU/mL)	28,12 (18,05-30,88)	14,96 (11,17-16,35)	0,019	18,75 (11,54-23,74)	10,18 (9,140-12,60)	0,014
s18 HOMA-IR	8,59 (3,90 - 14,61)	2,94 (1,74 - 6,30)	0,042	9,61 (5,31 - 11,15)	3,53 (2,86 - 3,58)	0,011
HOMA-FCβ (%)	44,37 (36,02-47,32)	76,38 (54,88-79,93)	0,011	33,20 (19,48-42,83)	32,60 (16,86-37,46)	0,499
IGTAG	4,79 (4,74-4,89)	4,23 (4,12-4,33)	0,011	5,04 (4,67-5,06)	4,64 (4,63-4,74)	0,150

MS: machos Sanos. MSME: machos del grupo de inducción del SME, HS: hembras Sanas, HSME: hembras del grupo de inducción del SME. Glu: glucemia, Ins: insulinemia, HOMA-IR: Resistencia a la insulina calculado según HOMA, HOMA-FCβ: Funcionamiento células beta del páncreas, calculado según HOMA.IGTAG: índice glucosa-triacilglicéridos. p1: comparaciones entre los grupos de machos, p2: comparaciones entre los grupos de hembras. La comparación entre grupos del mismo sexo se realizó con el test de Mann-Whitney, excepto para la glucemia que se utilizó T de Student. Los datos se expresan como la mediana y entre paréntesis, el rango intercuartílico. La glucemia se expresó como la media y la desviación estándar. Fuente: registro de recogida de datos

Los valores del IGTAG fueron mayores en ambos grupos de inducción del SME, con respecto a los sanos desde la semana del destete. Sin embargo, solo el grupo MSME permaneció durante todo el estudio con estos valores incrementados. Este índice en el grupo HSME presentó valores similares a los del grupo control en la semana 18.

La resistencia a la insulina juega un rol central en la patogenia del síndrome metabólico. Su estimación puede efectuarse a través de la determinación del índice de HOMA.¹⁸² Una tolerancia normal a la glucosa pero un índice de HOMA alterado con la presencia de otros síntomas como hipertrigliceridemia, obesidad abdominal, micro-albuminuria e hiperglucemia basal se corresponde con un cuadro de SM.¹ Los signos de descontrol glucémico que se observaron desde el mismo comienzo del estudio, con mayor magnitud en el sexo masculino, confirman la tendencia a desarrollar RI en estos animales sometidos a la dieta hiperglucídica desde su etapa prenatal.

El dimorfismo sexual referido al funcionamiento de las células pancreáticas está bien documentado en diferentes especies. Los estrógenos tienen efecto protector en el páncreas y de forma general en el metabolismo energético, lo que justificaría la menor variabilidad en el número de células β funcionales entre el grupo de hembras sometido a la dieta hiperglucídica y su grupo control; así como el menor número de estas células con respecto a los machos. Mayores niveles circulantes de esteroides desde la etapa prenatal condicionan valores de glucemia superiores sin que esto implique un incremento proporcional de la secreción de insulina.^{183,184}

Lo que se explica pudiera justificar la disminución de las células funcionales en la semana 18 en el grupo de MSME. El agotamiento de estas células β se corresponde con los valores de insulinemia elevados desde la semana del destete, unido a la menor protección estrogénica en este sexo. Ratas machos Zucker obesas, que desarrollan hiperglucemias inducidas por dietas hipercalóricas, mostraron mayor RI y disminución de la capacidad secretora de las células β del páncreas que sus homólogas hembras.¹⁸⁵

Los resultados publicados por Moreno-Fernández *et al.*¹⁸⁶ acerca de un estudio en ratas Wistar machos con 8 semanas de edad y alimentadas durante 20 semanas con combinación de grasas y fructosa o glucosa, son similares a los obtenidos en el presente

experimento. Estos autores también reportaron en el modelo experimental hiperinsulinemia con hiperglucemia, sin embargo, no observaron cambios significativos en el índice de HOMA-IR.

Los resultados obtenidos en la PTGO en la semana 18 se muestran en la tabla 5. Los valores de glucemia basal y a los 120 min de los dos grupos sometidos a la DRS fueron superiores a sus controles.

Tabla 5. Prueba de la tolerancia a la glucosa oral a las 18 semanas postnatales

Grupo (n=10)	Glucemia (mmol/L)					
	PTGO 0'	p1	PTGO 30'	p2	PTGO 120'	p3
MSME	6,56 ± 0,61	0,001	5,00 ± 0,78	0,456	6,02 ± 0,36	0.041
MS	4,20 ± 0,46		5,40 ± 0,44		5,37 ± 0,25	
HSME	6,60 ± 0,70	< 0,001	5,36 ± 0,82	0,715	6,46 ± 0,38	0.002
HS	3,10 ± 0,20		5,60 ± 0,28		4,97 ± 0,66	

HSME: hembras del grupo de inducción del SME, HS: hembras sanas, MSME: machos del grupo de inducción del SME, MS: machos sanos, p1: comparaciones entre los grupos del mismo sexo al inicio, p2: comparaciones entre los grupos del mismo sexo a los 30 min, p3: comparaciones entre los grupos del mismo sexo a los 120 min (test de ANOVA con un post hoc de Bonferroni). Los datos se presentan como la media y la desviación estándar. Fuente: registro de recogida de datos.

La prueba PTGO contribuye a caracterizar la tolerancia a los carbohidratos. Es suficiente medir los niveles plasmáticos de glucosa después de la postcarga a los 0 y 120 minutos para identificar el tipo de tolerancia que presenta el individuo. Además, esta prueba permite tener un criterio del funcionamiento de las células del páncreas.¹⁸⁷

Los resultados obtenidos en el presente experimento demuestran que los biomodelos desarrollaron intolerancia a la glucosa en ayunas y tras la sobrecarga. Los valores inferiores de glucemia en ayunas, a los determinados para este parámetro tres días después, cuando se evaluaron el resto de los parámetros analíticos, pueden estar relacionados con las 18 horas de retiro del alimento previo a la PTGO y con el empleo de sangre total y dispositivo portátil para su determinación.¹⁸⁸⁻¹⁹⁰

Rakvaag *et al.*¹⁸⁸ demostraron que un ayuno de 18 horas disminuye la glucemia inicial antes de la postcarga e incrementa la respuesta insulínica en la prueba de la PTGO, sin alterar la sensibilidad insulínica. Por otra parte, estudios reportados en roedores y perros demuestran la variabilidad de la glucemia tomada en dispositivos portátiles de uso humano con respecto a la registrada en sensores analíticos con muestras sanguíneas arterial o venosa. En estos casos los autores obtuvieron menores valores de glucosa con el empleo de glucómetros de uso humano, que los obtenidos en las pruebas tradicionales de laboratorio.^{189,190} Estos resultados son coincidentes a los mostrados en la investigación que se presenta. Sin embargo, el empleo de estos dispositivos portátiles en ensayos como la PTGO, que implica la toma sucesiva de muestras sanguíneas, está justificado en la experimentación animal. El empleo de los grupos controles en el diseño experimental minimiza el sesgo, que constituye el subregistro de la glucemia, propio de la técnica analítica.

En los grupos de inducción del SM, los valores más bajos de glucemia, aunque sin significado estadístico, a los 30 min de la sobrecarga pudieran estar relacionados con una hipoglucemia reactiva debido al ambiente endógeno hiperinsulinémico.¹⁹¹ Sin embargo, el retorno de los niveles de glucosa en estos grupos de inducción a los valores iniciales, que son superiores a sus respectivos grupos controles, indica un estado incipiente de RI.

Este comportamiento se ha descrito en otros modelos experimentales y en experiencias clínicas.^{192,193} Los resultados de la PTGO cobran relevancia cuando se combina la glucemia alterada en ayunas con los signos de RI,¹⁹⁴ como lo observado en este experimento. Esto se corresponde con un estado temprano del SM, donde puede observarse normoglucemia o hiperglucemia moderada, pero los niveles de insulina para mantener el equilibrio son supra-fisiológicos (hiperinsulinemia compensatoria).¹⁹⁵

Los resultados que se obtuvieron permitieron corroborar el establecimiento del SME. Los valores medios de glucemia, TAG y circunferencia abdominal, en ambos sexos de los grupos de inducción del SME, fueron superiores con respecto a su control sano.

El ambiente hiperglucídico en la etapa prenatal del biomodelo, condicionó la respuesta y la predisposición (posiblemente por alteración en el epigenoma)¹¹ a desarrollar los

síntomas del SM. En la etapa postnatal el biomodelo desarrolló mayores valores de parámetros somáticos que sus homólogos sanos. La hiperglucemia e hipertrigliceridemia, así como los problemas en el control glucémico con hiperinsulinemia y menor porcentaje de células beta funcionales, caracterizan la RI y permiten asegurar que el biomodelo de SM se obtuvo bajo la inducción de DRS al 35 % durante la etapa prenatal y hasta las 18 semanas de vida.

3.1.3 Sexo que mejor desarrolló el biomodelo

La tabla 6 muestra los resultados de la comparación de valores medios de los parámetros somáticos y bioquímicos con distribución normal, según se declaró en 2.3.4, entre los grupos de un mismo sexo (prueba T de Student para igualdad de medias).

Tabla 6. Diferencias entre los valores medios de los parámetros en los grupos con inducción del biomodelo y su respectivo grupo sano del mismo sexo a las 18 semanas postnatales

Parámetros	MSME	95 % IC	HSME	95 % IC
PC (g)	95,1	66,68 – 123,52	35,42	15,10 – 55,73
CA (cm)	2,27	1,66 – 2,88	1,03	0,42 – 1,64
GAb (g)	13,17	7,99 – 18,35	7,82	3,63 – 12,01
Glu (mmol/L)	4,42	2,06 – 6,79	3,04	0,17 – 5,92
CT (mmol/L)	-0,12	-0,66 – 0,42	0,68	0,57– 1,30
TAG (mmol/L)	0,62	0,34 – 0,90	0,52	0,19 – 0,85
VLDL (mmol/L)	0,26	0,13 – 0,38	0,26	0,12 – 0,41
AU (μmol/L)	70,75	-75,68 – 217,18	48,78	-35,85 – 133,40
Creat (μmol/L)	-6,46	-21,65 – 8,72	8,11	-2,97– 19,20

PC: peso corporal, CA: circunferencia abdominal, GAb: grasa abdominal, Glu: glucemia, CT: colesterol total, TAG: triacilglicéridos, VLDL: very low density lipoprotein, AU: ácido úrico, Creat: creatinina, MSME: machos del grupo de inducción del SME, HSME: hembras del grupo de inducción del SME. 95 % IC: 95 % de intervalo de confianza de la diferencia de los valores medios entre grupos del mismo sexo. Fuente: registro de recogida de datos.

De los nueve parámetros analizados, seis mostraron en el sexo masculino mayor diferencia de los valores medios con respecto a su control sano. Solo en el grupo de las hembras el colesterol y la creatinina tuvieron diferencias mayores con su control que los machos. Adicionalmente, se observó menor control glucémico en los machos del grupo de

SME. Estos resultados permitieron seleccionar al sexo masculino como el que desarrolló las alteraciones morfofuncionales del SM en mayor magnitud.

Las HDLc no se seleccionaron para este análisis debido a las diferencias existentes entre la concentración relativa de esta lipoproteína en la especie roedora y el hombre, lo cual no contribuiría a la extrapolación en la interpretación de los resultados.¹⁷³ Los parámetros hematológicos, que también presentaron distribución normal, tampoco se seleccionaron para este análisis porque no están contemplados de manera directa en la etiopatogenia del SM.¹¹⁴

El dimorfismo sexual observado en este experimento, y presente en muchos biomodelos, también se aprecia en la especie humana cuando analizamos la epidemiología y prevalencia del SM. La mayor parte de los estudios apuntan que la prevalencia del SM en la niñez y juventud es mayor en el sexo masculino que en la femenino,¹⁹⁶ comportamiento que coincide con el modelo experimental desarrollado y extrapolable a la etapa de la adolescencia humana. Sin embargo, con la llegada del climaterio y posiblemente de la pérdida del efecto protector de los estrógenos, las cifras globales se invierten y el SM tiene mayor incidencia en la mujer que en el hombre.¹⁹⁷

Los resultados obtenidos en este experimento permiten constatar el establecimiento del biomodelo de SM inducido por DRS desde la etapa intrauterina y hasta las 18 semanas postnatales. Este biomodelo se caracterizó por incremento en los parámetros somatométricos: peso corporal, circunferencia y grasa abdominal, los parámetros analíticos: glucemia, CT, TAG, VLDL, TGP y albúmina en orina. La evaluación del control glucémico demostró elevación del indicador HOMA-IR, incremento de la insulinemia y disminución de las células β funcionales del páncreas. El sexo masculino desarrolló en mayor magnitud que el sexo femenino, las alteraciones morfofuncionales que se producen en un SME.

3.2 Parámetros somatométricos, analíticos e histológicos en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas machos desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas

En la semana 18 se verificó la instauración del biomodelo para confirmar la reproducibilidad del diseño metodológico propuesto (anexo 10 Tabla 7).

3.2.1 Parámetros somatométricos

3.2.1.1 Peso corporal

La figura 2 representa la curva de peso corporal a partir de la sexta semana de vida y hasta la 22. Los valores del grupo de inducción de SME fueron mayores que sus homólogos del grupo Sanos durante todo el estudio. Los valores medios del peso corporal del grupo SME al término de las 22 semanas fueron de $398,96 \pm 63,54$ g y los del grupo Sanos $308,86 \pm 33,93$ g ($p < 0,001$, Test T-Student).

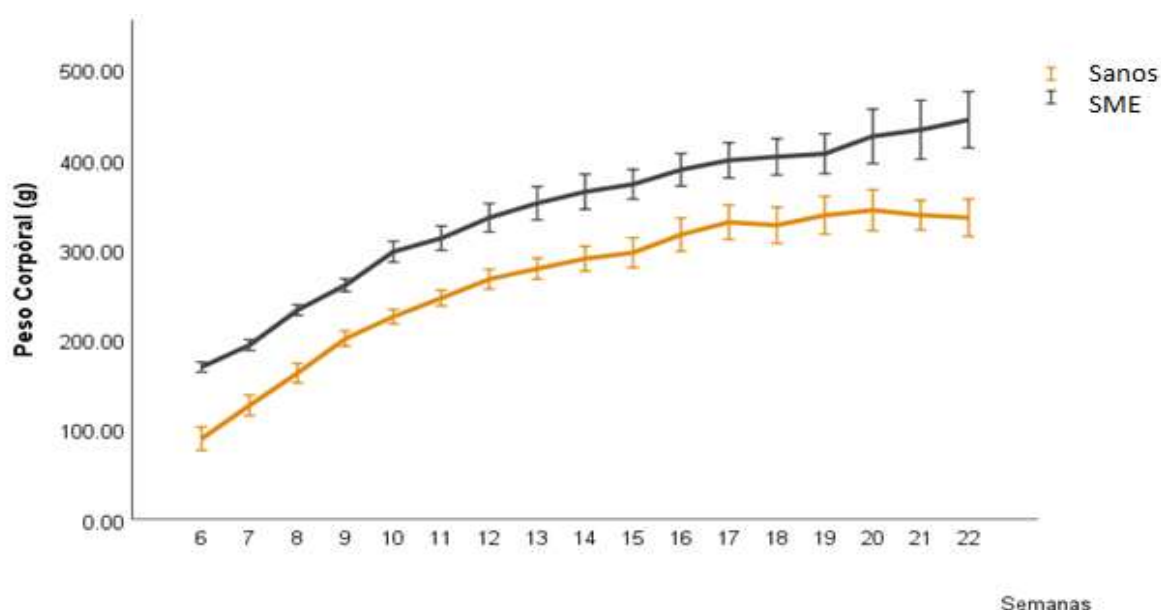


Fig. 2. Curva de peso corporal de los grupos experimentales hasta las 22 semanas postnatales

SME: síndrome metabólico experimental. Sanos: Grupo sin inducción del biomodelo. Las comparaciones se realizaron con test de ANOVA y post hoc de Bonferroni, $p < 0,005$. Las barras expresan la desviación estándar (95 % de confianza). Fuente: registro de recogida de datos.

3.2.1.2 Parámetros somatométricos *in vivo*

La tabla 8 muestra los parámetros somatométricos medidos a las 22 semanas en el animal consciente. Todos los parámetros en el grupo de SME alcanzaron valores superiores al grupo Sanos.

Tabla 8. Parámetros somatométricos de cada grupo experimental a las 22 semanas postnatales

	CA (cm)	LCC (cm)	IMC(g/cm ²)	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
Sanos (n=20)	15,80 ± 0,85	21,72 ± 0,90	6,57 ± 0,87	125,41 ± 2,91	89,69 ± 3,37
SME (n=20)	17,40 ± 1,16	22,92 ± 0,93	7,73 ± 1,30	145,03 ± 7,75	109,80 ± 15,03
p	0,004	< 0,001	0,001	< 0,001	< 0,001

SME: síndrome metabólico experimental, CA: circunferencia abdominal, LCC: Longitud cabeza-cola, IMC: índice de masa corporal, PAS: presión arterial sistólica y PAD: presión arterial diastólica. La comparación se realizó con el test T de Student. Los datos se expresan como la media y la desviación estándar. Fuente: registro de recogida de datos.

El incremento en las últimas décadas de la prevalencia del SM en la edad juvenil, principalmente en niños y adolescentes,^{26,198} ha hecho necesaria la búsqueda de causas, asociaciones y manifestaciones de esta condición para minimizar el impacto que este desbalance metabólico trae en el presente y futuro de estas generaciones. La inducción del biomodelo en este experimento se extendió hasta una etapa extrapolable al fin de la adolescencia en el ser humano (19 años),³⁸ según las consideraciones sobre el crecimiento, desarrollo y madurez sexual del roedor.¹³²

La obesidad en la adolescencia constituye un factor de riesgo para el desarrollo del SM. Existe un riesgo del 50 al 77% de que los adolescentes obesos se conviertan en adultos obesos y desarrollen enfermedades crónicas como la DM2 y cardiopatías.¹⁹⁹ Entre los indicadores para clasificar el individuo adulto obeso y sobrepeso se encuentra el IMC.

El empleo del IMC en edades tempranas es cuestionable debido a los cambios anatómicos, propios del desarrollo, que sufren los adolescentes. En estas edades se identifica al individuo obeso cuando está por encima del percentil 95 para su edad y sexo.²⁰⁰ Los

valores mayores del IMC en el grupo de SME en el presente experimento son congruentes con los reportes en pacientes diagnosticados con SM, donde este parámetro somático se altera rebasando los puntos de corte para el sobre peso y la obesidad.^{59,60}

Sin embargo, el IMC considera la grasa total y no discrimina la abdominal. Es la obesidad visceral o abdominal junto a la RI, las piedras angulares en el desarrollo del SM, por tanto, el registro de la CA y el peso post-mortem de la grasa abdominal tendrán más peso en la clasificación de SM. Los valores superiores de CA que se registraron en el grupo de SME en el presente experimento, con respecto al grupo Sanos, fueron coincidentes con los obtenidos en el establecimiento del biomodelo hasta las 18 semanas y con otras investigaciones reportadas en la literatura que emplearon modelos similares de inducción del SM.^{22,201}

La hipertensión arterial que se observó en el grupo de SME está descrita como uno de los componentes del SM y se asocia a la RI. En respuesta a la RI se produce la hiperinsulinemia compensatoria que aumenta la reabsorción de sodio y agua en el túbulo proximal renal. En este entorno también se incrementa la resistencia vascular periférica por la activación del sistema simpático con el consiguiente aumento de las catecolaminas circulantes y la estimulación del sistema renina angiotensina-aldosterona (SRAA), eventos que favorecen el incremento de la presión arterial sistémica.¹

3.2.1.3 Parámetros somáticos post-mortem

Una vez practicada la necropsia de cada modelo biológico se registraron los pesos de los órganos internos (tabla 9).

La GAb del grupo SME se destacó por ser el parámetro con mayor incremento en su valor medio, casi tres veces con respecto al control. El mayor peso en los órganos evaluados, corazón, riñón e hígado, con respecto al grupo Sanos se relaciona con la penetración de grasa ectópica o incremento en la síntesis lipídica *de novo* en el hígado.^{202,203}

Tabla 9. Parámetros somáticos medidos post-mortem en cada grupo experimental a las 22 semanas postnatales

	GAb (g)	P. Corazón (g)	P. Riñón (g)	P. Hígado (g)
Sanos (n=20)	4,38 (3,64 - 5,04)	1,00 (0,92 -1,08)	0,87 (0,81-1,02)	8,71 (7,91- 9,95)
SME (n=20)	13,04 (11,08 -15,53)	1,23 (1,19 -1,34)	1,15 (1,13 -1,23)	11,53 (10,26 -12,88)
p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

SME: síndrome metabólico experimental, GAb: grasa abdominal, P. Corazón, P. Riñón, P. Hígado: peso del corazón, riñón e hígado. La comparación se realizó con test de Mann-Whitney. Los datos se expresan como la mediana y entre paréntesis, el rango intercuartílico. Fuente: registro de recogida de datos.

3.2.2 Parámetros analíticos

3.2.2.1 Parámetros bioquímicos

El análisis comparativo de los parámetros analíticos al finalizar el período de inducción del biomodelo demostró que todos los parámetros evaluados se modificaron en el grupo de SME con respecto al grupo Sanos (tabla 10). El incremento de la glucemia, TAG, VLDL y TGP coincide con lo observado en el establecimiento del modelo hasta las 18 semanas. El resto de los parámetros estudiados se incrementaron en el grupo de inducción del SME a excepción de la fracción de albúminas que decreció significativamente.

La hipertrigliceridemia es un marcador excelente del cuadro de resistencia a la insulina. La elevación de los TAG presenta alta correlación con la inflamación del tejido adiposo y el daño hepático.^{79,161} Algunos investigadores han propuesto este indicador para el diagnóstico del SM en adolescentes conjuntamente con otros criterios.²⁰⁴ Calcaterra *et al.*⁶ demostraron en un estudio con pacientes pediátricos obesos, que la hipertrigliceridemia, el incremento de la GAb y RI fueron los principales factores de riesgo del SM en esta temprana edad. En modelos experimentales, inducidos con dietas hipercalóricas, se ha demostrado que los TAG se elevan tanto en la sangre como en el hígado.^{205,206}

Tabla 10. Parámetros analíticos de los grupos experimentales a las 22 semanas postnatales

	Glu mmol/L	CT mmol/L	TAG mmol/L	VLDL mmol/L	TGP U/L
Sanos (n=20)	6,52 ± 1,08	1,28 ± 0,20	0,92 ± 0,31	0,42 ± 0,14	33,86 ± 5,57
SME (n=20)	8,35 ± 1,08	1,49 ± 0,24	1,46 ± 0,39	0,67 ± 0,18	38,75 ± 6,80
p	< 0,001	0,004	< 0,001	< 0,001	0,013
	PT g/L	Alb g/L	Glob g/L	AU mmol/L	Creat μmol/L
Sanos (n=20)	62,95 ± 5,17	46,39 ± 4,76	16,30 ± 4,21	148,30 ± 49,46	26,82 ± 2,47
SME (n=20)	68,96 ± 6,50	33,54 ± 6,01	35,40 ± 9,92	259,64 ± 34,19	43,36 ± 5,92
p	0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

SME: síndrome metabólico experimental, Glu: glucemia, CT: colesterol total, TAG: triacilglicéridos, VLDL: very low density protein, TGP: Transaminasa glutámico-pirúvica, PT: proteínas totales, ALB: albúmina, Glob: globulinas, AU: ácido úrico, Creat: creatinina. La comparación se realizó con T de Student. Los datos se expresan como la media y la desviación estándar. Fuente: registro de recogida de datos.

Las proteínas totales son de gran importancia para evaluar la posible presencia de enfermedades nutricionales, metabólicas, renales o hepáticas.²⁰⁷ En el experimento que se presenta se obtuvieron valores superiores de proteínas totales en el grupo de SME a expensas de un incremento significativo de las globulinas. Este aumento pudiera explicarse por la contribución del fibrinógeno asociado con la RI y el estado inflamatorio.²⁰⁸ Sin embargo, los niveles de albúmina son inferiores, comportamiento que no se observó a las 18 semanas postnatales.

Estudios en pacientes con DM2 han reportado valores inferiores de albumina y en los últimos años se ha reportado la asociación negativa de esta proteína plasmática y la inflamación de bajo grado que caracteriza a la obesidad y a las enfermedades metabólicas como la DM2.²⁰⁹ Entre los posibles mecanismos implicados se describe la disminución en la síntesis hepática de la albúmina y el incremento de la glucosilación de esta molécula.²¹⁰ Este último mecanismo favorece su aclaramiento, lo cual contribuye a su disminución en plasma. No obstante, otros estudios reportan asociación en muy bajo grado o la ausencia

de esta.^{211,212} Serán necesarios estudios futuros que evalúen la causalidad y la asociación entre inflamación crónica de bajo grado y los niveles plasmáticos de albúmina y sus formas glucosiladas.

El incremento de los niveles plasmáticos de ácido úrico y creatinina tampoco había sido detectado en el experimento anterior (hasta las 18 semanas postnatales). Este resultado refuerza el criterio de que en esta etapa se agravó el desbalance metabólico del SM inducido por DRS. La hiperuricemia es reconocida como un factor de riesgo cardiovascular y de enfermedad renal, asociado al SM, la hipertensión y la resistencia insulínica.²¹³ La creatinina elevada en sangre puede ser expresión de daño renal, aunque también la encontramos elevada en otros desórdenes metabólicos.²¹⁴

3.2.2.2 Parámetros de control glucémico

La tabla 11 muestra los parámetros del control glucémico, para evaluar la sensibilidad insulínica a las 22 semanas de la inducción del SME.

Tabla 11. Parámetros de control glucémico a las 22 semanas postnatales

	Glu (mmol/L)	Insulinemia (μU/mL)	HOMA-IR	HOMA-FCβ (%)	IGTAG
Sanos (n=20)	6,49 ± 1,16	6,30 (5,14-7,33)	1,82 (1,65-2,00)	45,53 (41,88-55,00)	4,78 ± 0,10
SME (n=20)	8,54 ± 1,18	6,24 (6,18-7,56)	2,68 (2,06-3,21)	36,66 (34,00-41,21)	5,02 ± 0,18
p	< 0,001	0,334	0,034	0,021	< 0,001

SME: síndrome metabólico experimental, Glu: glucemia, HOMA-IR: Resistencia a la insulina calculado según HOMA, HOMA-FCβ: Funcionamiento células beta del páncreas, calculado según HOMA. IGTAG: índice glucosa-triacilglicéridos. La comparación entre grupos se realizó con el test de Mann-Whitney para todos los parámetros excepto para la glucemia y el IGTAG (T de Student). p: comparaciones entre los grupos Sanos y SME. Los datos se expresan como la mediana y entre paréntesis, el rango intercuartílico para la Insulinemia, el HOMA-IR, el HOMA-FCβ. Para la Glu y el IGTAG los datos se expresan como la media y la desviación estándar. Fuente: registro de recogida de datos.

Los valores de glucemia del grupo SME se elevaron de manera significativa al compararlos con el grupo Sanos. De igual manera se incrementó el índice de HOMA-IR y el IGTAG que expresan signos de RI. También se observó que el número de células beta funcionales del

páncreas fue inferior en este grupo de inducción, mientras que los niveles de insulina se mantuvieron en un nivel similar al grupo Sanos.

La evaluación del control glucémico demostró un deterioro del papel de la insulina como reductora de la glucemia. Los indicadores que evalúan la RI y el porcentaje de células β funcionales tienen el mismo comportamiento que en el estudio precedente. Un incremento del HOMA-IR y del IGTAG, la disminución de las células β funcionales e hiperglucemia y normoinsulinemia, apuntan a la agudización de la RI y por lo tanto a un estado más avanzado del SM.

D'Alessandro *et al.*¹²⁴ también observaron un estado de normoinsulinemia con hiperglucemia y alteración del perfil lipídico en un modelo de SM inducido durante 30 semanas con sacarosa al 62,5 % en la dieta de ratas *Wistar*. Estudios que se realizaron en adolescentes con sobrepeso y edades entre los 10 y 18 años, demostraron la factibilidad del empleo del IGTAG para evaluar la RI, con una adecuada sensibilidad y especificidad.²¹⁵

El porcentaje de células β funcionales inferior en el grupo de SME es signo del fallo pancreático para sintetizar y secretar insulina. La célula β responde a fluctuaciones estrechas de las concentraciones de nutrientes. Una exposición crónica a niveles elevados de glucosa y ácidos grasos libres, como ocurre en el SM, resulta en una adaptación y falla progresivas de las células β .²¹⁶ La teoría del estrés oxidativo y la sobrecarga del retículo endoplasmático también está relacionada con el fallo de las disfunción y muerte de las células β del páncreas.²¹⁷ Investigaciones recientes demuestran además la asociación existente entre la hiperuricemia y el daño de las células β . El ácido úrico es capaz no solo de incrementar las EROs, sino también inhibir la vía de señalización de la insulina en las células pancreáticas.²¹⁸

La tabla 12 muestra los resultados de la PTGO a las 22 semanas de inducción del SME. En el tiempo inicial y hasta la primera hora de postcarga, los valores medios de glucemia de la curva de la PTGO del grupo de SME se encontraron por encima del grupo Sanos. El mayor valor del área bajo la curva en el grupo SME infiere menor control glucémico con respecto al grupo Sanos. En este experimento también observamos valores inferiores de

glucemia a los obtenidos tres días después en la determinación de los parámetros analíticos, en ambos grupos. Este resultado debe estar relacionado con el mayor tiempo de ayuno y la diferencia en la técnica analítica de determinación.^{188,189}

Tabla 12. Prueba de la tolerancia a la glucosa oral a las 22 semanas postnatales

T (min)	Sanos (n=20)	SME (n=20)	p
0	4,70 (4,10-5,50)	6,60 (6,20-8,70)	0,034
30	6,55 (6,40-6,70)	7,75 (6,80-8,50)	0,021
60	8,15 (7,30- 9,20)	10,20 (8,20-11,00)	0,042
90	7,80 (6,60-8,40)	8,25 (7,90-9,10)	0,269
120	6,60 (5,60-7,80)	8,00 (6,80-9,80)	0,089
ABC	34,73 (26,55-49,80)	56,95 (36,50-58,50)	0,042

SME: síndrome metabólico experimental, ABC: área bajo la curva. La comparación entre grupos se realizó con el test de Mann-Whitney. Los datos se expresan como la mediana y entre paréntesis, el rango intercuartílico. Fuente: registro de recogida de datos.

Los valores patológicos de la glucemia en ayunas y los observados en la PTGO se corresponden con signos de intolerancia al carbohidrato. La presencia del patrón monofásico de la curva de la PTGO, más marcado en el grupo de SME, y que se caracterizó por un incremento de la glucemia y corrimiento del pico hiperglucémico hasta la primera hora postcarga, implica una disfunción marcada de las células β del páncreas y elevado riesgo de padecer DM2 y ECV.⁷⁷ Esta alteración, junto al estado de normoinsulinemia que se observó, es consistente con el deterioro del control glucémico a las 22 semanas y por tanto de la agudización del SM.

El pico glucémico en la PTGO puede estar determinado por la vía de administración de la sobrecarga del monosacárido. Los roedores pueden presentar el pico glucémico después de la sobrecarga oral de glucosa entre los 15 y 60 minutos a diferencia de la especie humana que se presenta, regularmente, a los 30 minutos postcarga.²¹⁹⁻²²¹ La sobrecarga de glucosa intravenosa, que se utiliza solamente en la investigación experimental en animales, permite observar el pico alrededor de los 15 minutos.²²²

El tiempo de obtención del pico glucémico también está asociado al estatus metabólico del modelo experimental. En modelos de DM este pico se observa generalmente a los 30 min

postcarga. En modelos de obesidad, hiperinsulinemia o resistencia a la insulina el patrón monofásico se desplaza y se observa el pico a la hora de la sobrecarga glucídica.²²⁰ Este último resultado coincide con lo obtenido en el presente experimento que desarrolla un biomodelo con signos de obesidad y RI.

La determinación del ABC total en la PTGO, es muy útil para evaluar la homeostasia del metabolismo glucídico sobre todo en las investigaciones básicas.²²³ Valores elevados de este parámetro, como los obtenidos en la presente investigación, reflejan intolerancia a la glucosa, por lo que numerosas investigaciones emplean este indicador para evaluar el éxito de la instauración de modelos de prediabetes, DM2 o RI.^{222,224}

3.2.3 Parámetros anátomo-histopatológicos

3.2.3.1 Observación macroscópica de la cavidad toraco-abdominal

La observación macroscópica registró como rasgo distintivo el incremento de la deposición grasa en cavidad abdominal en el grupo SME. En un 50 % de los animales se observó exceso de grasa epicárdica. En este mismo porcentaje se detectó un leve moteado o coloración amarillenta de algunas áreas del tejido hepático (Anexo 11 Tabla 13).

Un caso aislado de nefroblastoma se reportó en un animal del grupo de SME.²²⁵ La rata se sacrificó a las 20 semanas por presentar signos de dolor a la palpación y una masa detectable en la región dorsal. La autopsia corroboró la presencia de un tumor de Wilms (anexo 12 Fig. 3). Este animal fue reemplazado por un animal testigo sometido a las mismas condiciones del grupo del SME descrito en **2.4.1**.

El tejido adiposo inflamado en individuos obesos brinda un microambiente adecuado para el desarrollo de procesos neoplásicos malignos.⁶⁶ Por otra parte, este nefroblastoma es la neoplasia abdominal más frecuente en edad pediátrica y rara vez se encuentra en otro grupo etario.²²⁶

3.2.3.2 Observación microscópica en tejidos

El análisis microscópico reveló mayor cantidad de animales con alteración en el hígado y el riñón, aunque también se apreciaron cambios grasos, penetración de tejido adiposo e inflamación en el resto de los órganos estudiados (anexo 13). La presencia de esteatosis micro y macrovacuolar constituyeron signos característicos de este modelo experimental (Fig. 4).

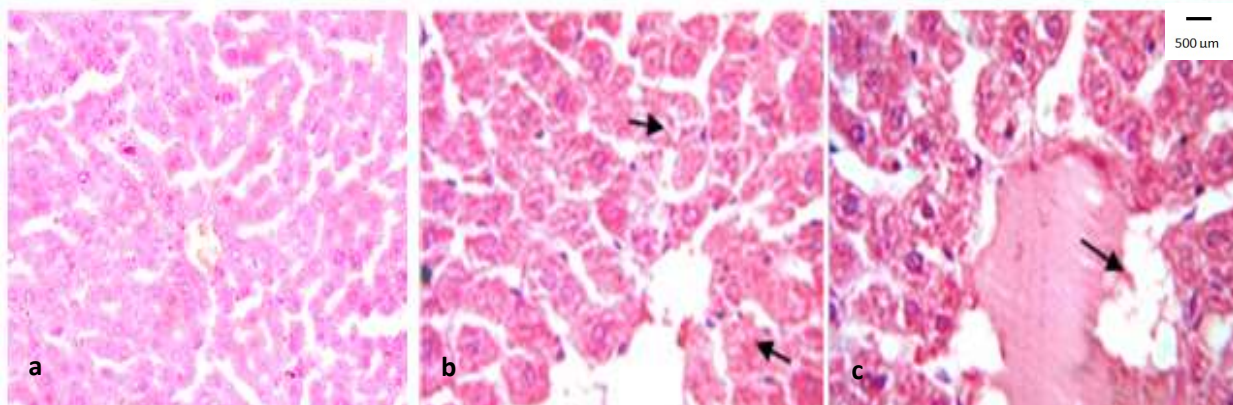


Fig. 4. Cortes histológicos del tejido hepático en zona de la vena centrolobulillar a las 22 semanas postnatales.

Tinción H/E aumento 20x a) Sanos: se observan hepatocitos normales. b y c) SME. En (b) y (c) las flechas señalan vacuolización micro y macrovacuolar respectivamente.

La tabla 14 muestra la frecuencia de observación de los hallazgos encontrados en el tejido hepático. Los resultados muestran que el 100 % de los animales del grupo de inducción presentaron esteatosis microvacuolar y el 90 % presentó esteatosis macrovacuolar. En el grupo Sanos no se observó ningún tipo de esteatosis.

El hígado es uno de los órganos más afectados como consecuencia del síndrome metabólico. El llamado hígado graso no alcohólico (HGNA), es una de las manifestaciones clínicas más documentadas, que se asocia a desbalances metabólicos y cuadros de resistencia a la insulina como la que se puede desarrollar en el SM. Debido a la RI, al hepatocito llegan niveles elevados de AGL resultado del incremento de la lipólisis en tejido adiposo. El flujo de lípidos que inunda la arquitectura del hepatocito proveniente de la desregulación de la lipólisis en el adipocito provoca acumulación de grasa que afecta de manera directa la acción de la insulina en el hígado.²²⁷

Tabla 14. Esteatosis hepática a las 22 semanas postnatales

Grupos (n=20)		EMAC		EMIC	
		Si	No	Si	No
Sanos	Nº	0	20	0	20
	%	0	100	0	100
SME	Nº	18	2	20	0
	%	90	10	100	0
p		< 0,001		< 0,001	

SME: síndrome metabólico experimental, EMAC: esteatosis macrovacuolar, EMIC: esteatosis microvacuolar, Nº: frecuencia de observación, %: porcentaje de observación. La comparación entre grupos se realizó con el test de Ji cuadrado (χ^2). Fuente: registro de recogida de datos.

La esteatosis hepática se identifica como un estado previo al desarrollo de enfermedades metabólicas. La mayoría de los individuos con obesidad o DM2 presentan HGNA.²²⁸ Investigaciones anteriores señalaron que la presencia de grasa en el hígado es mejor predictor de la RI en este tejido que la adiposidad visceral o el IMC.²⁰³ En estudios recientes en adolescentes se comprobó la asociación existente entre la lipidemia aterogénica y el HGNA.^{79,229} Otros trabajos en roedores relacionan las dimensiones hipertrofiadas del núcleo de hepatocitos con síntesis activa de lípidos que se estable en condiciones como el síndrome metabólico.²³⁰

En los cortes de tejido renal a nivel arteriolar se observaron depósitos de material homogéneo y eosinofílico, irregularmente distribuidos y entremezclados con segmentos libres de lesión. Esto se corresponde con mayor depósito de la matriz en la membrana basal (MB) de la pared de las arteriolas de todos los animales del grupo de inducción del SME. Este engrosamiento arteriolar provocó estrechamiento de la luz del vaso. (Fig. 5)

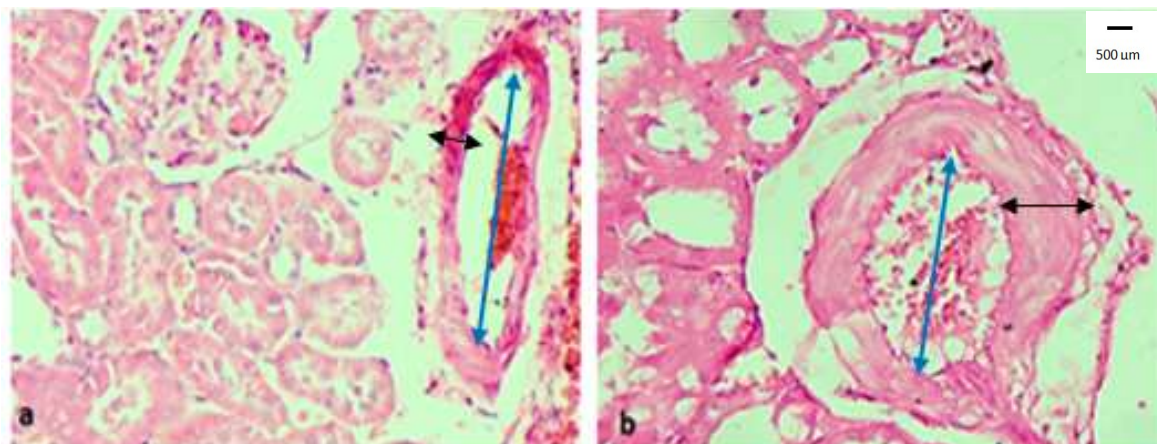


Fig. 5. Imágenes de arteriolas renales a las 22 semanas postnatales.

Tinción H/E, aumento 20x. a) Sanos: arteriola normal. b) SME: se observa engrosamiento arteriolar con aumento de matriz de la MB (↔) y disminución de la luz (↔).

Todos los animales con inducción del SME presentaron atrofia de la mayoría de los glomérulos del campo de observación. Las paredes capilares del ovillo se observaron arrugadas, retraídas e irregulares. En algunos casos estas paredes capilares presentaron aspecto ondulado o en forma de “acordeón” y se observó aumento del espacio de Bowman. También se presentaron en todos los animales del grupo de SME alteraciones a nivel de los tubulis. Algunos estaban atróficos, con disminución del diámetro de la luz, mezclados con algunos conservados y tubulis con dilatación compensatoria. (Fig. 6)

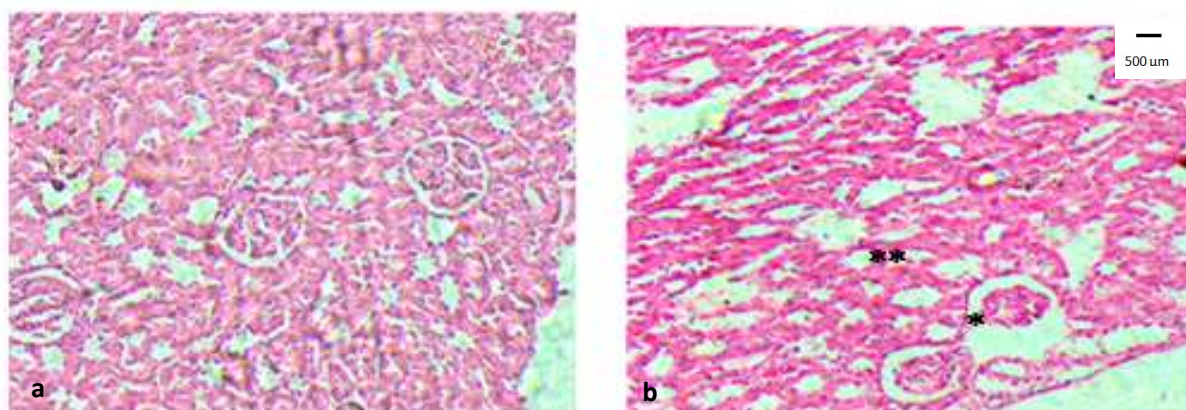


Fig. 6. Imágenes de glomérulos y tubulis a las 22 semanas postnatales.

Tinción H/E, aumento 10x. a) Sanos: glomérulos y tubulis normales. b) SME: predominio de glomérulos (*) y tubulis atróficos (**).

La rata *Wistar* hipertensa como consecuencia de una dieta hipercalórica desarrolla, al igual que el humano hipertenso, lesiones vasculares y renales.²³¹ Las alteraciones, en el grupo de SME en la semana 22, descritas como cambios atróficos en la arquitectura de glomérulos y tubulis, así como engrosamiento arteriolar; se asocian con isquemia renal como consecuencia de la HTA.²³²

En la figura 7 se observan signos de penetración grasa e hipertrofia patológica de algunos cardiomiocitos en un animal del grupo de SME. Los resultados en la tabla 15 señalan que, aunque estos signos no se registraron en todos los animales del grupo de SME, la frecuencia de observación fue mayor al compararlos con el grupo Sanos.

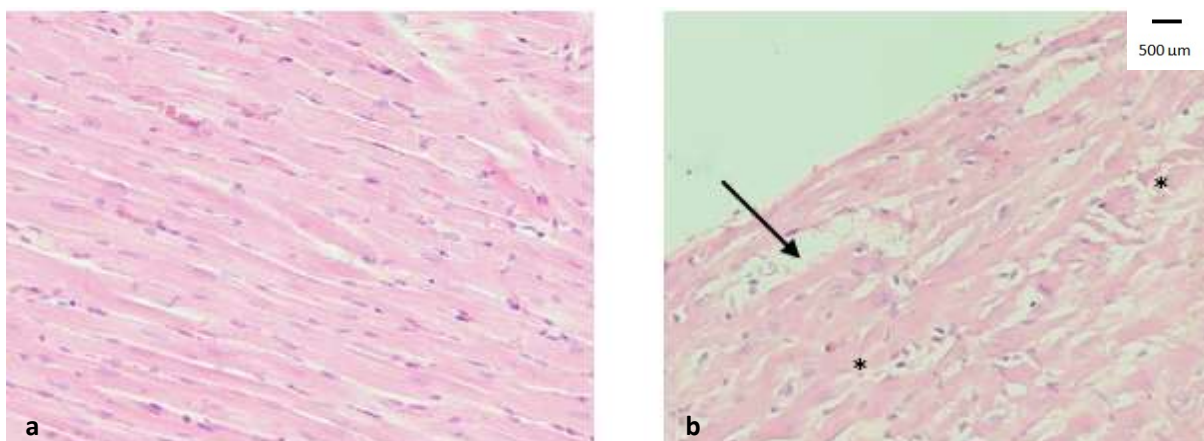


Fig. 7. Imágenes de miocitos a las 22 semanas postnatales.

Tinción H/E, aumento 20x. a) Grupo control Sanos: fibras normales. b) Grupo SME: Penetración grasa (→) e hipertrofia de algunos miocitos (*).

Tabla 15. Daños histológicos observados en corazón a las 22 semanas postnatales

Grupos (n=20)		PGM		HM	
		Si	No	Si	No
Sanos	Nº	0	20	0	20
	%	0	100	0	100
SME	Nº	12	8	12	8
	%	60	40	60	40
p		< 0,001		0,002	

SME: síndrome metabólico experimental, PGM: penetración grasa en miocitos, HM: hipertrofia de miocitos. Nº: frecuencia de observación, %: porcentaje de observación. La comparación entre grupos se realizó con el test de Ji cuadrado (χ^2). Fuente: registro de recogida de datos.

En estudios precedentes en un modelo de SME desarrollado por este equipo de investigación, se identificaron cambios estructurales en los cardiomiocitos, con mayor grosor en la pared ventricular y un incremento en la celularidad.²³³ Estos cambios son consistentes con una hipertrofia ventricular descrita como complicación clínica del SM.²³⁴

El estudio de cortes histológicos del tejido adiposo visceral mostró abundancia de lipoblastos o grasa inmadura en el 100 % de los animales con SME inducido, así como acúmulo de linfocitos (Fig. 8). Este último hallazgo solo se observó en el 30 % de las muestras obtenidas en el grupo de SME.

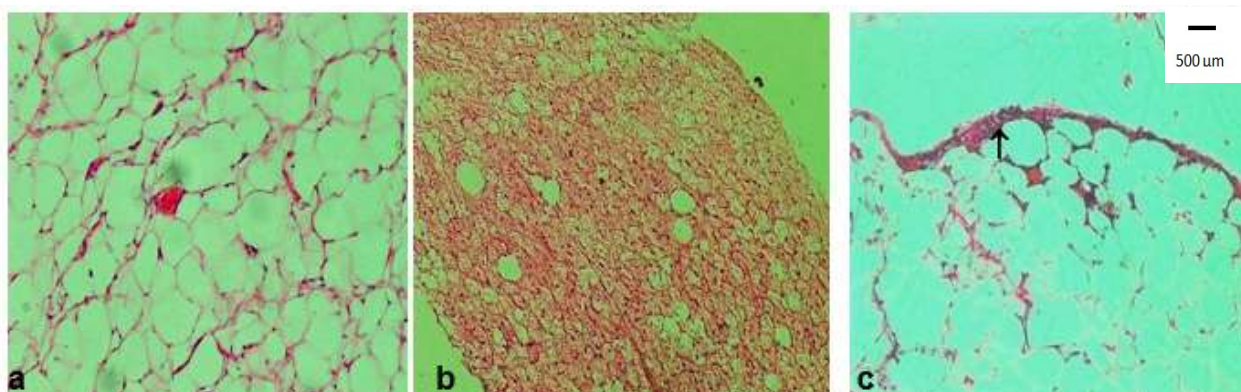


Fig. 8. Tejido adiposo perivisceral a las 22 semanas postnatales.

Tinción H/E, aumento 10x. a) Sanos: adipocitos normales, predominio de grasa madura b) y c) SME: predominio de lipoblastos (b) la flecha indica acúmulo de linfocitos (c).

La hiperplasia observada junto a la hipertrofia del tejido adiposo es una de las respuestas que tiene este tejido a la avalancha de fuentes carbonadas provenientes de la dieta y del flujo hepático. Sin embargo, este papel protector del tejido adiposo para evitar el acúmulo de grasa ectópica falla cuando aparecen los signos de RI.²³⁵ El tejido adiposo se inflama y esta condición juega un rol importante en perpetuar e incrementar la inflamación crónica de bajo grado y el daño endotelial.²³⁶

En el tejido pancreático se analizó la parte endocrina desde el punto de vista morfológico. Se observaron islotes pancreáticos tanto atróficos como hipertróficos, al compararlos con el grupo Sanos (Fig. 9). La tabla 16 muestra las frecuencias de observación de esta alteración.

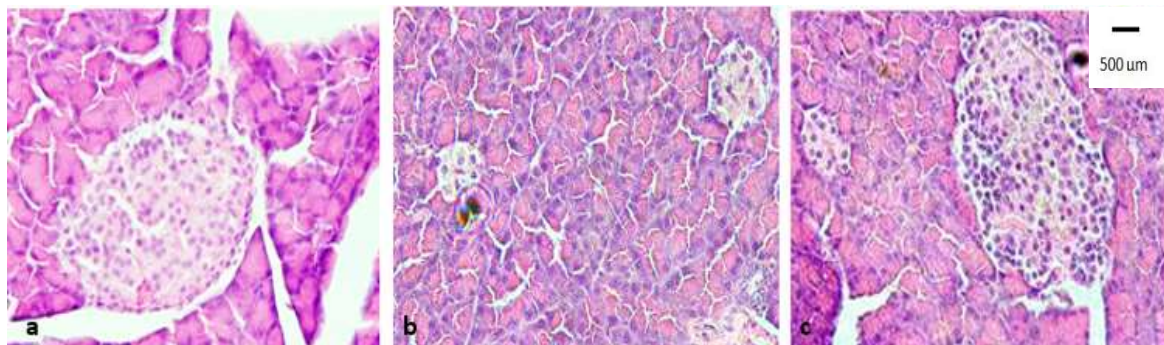


Fig. 9. Tejido pancreático a las 22 semanas postnatales.

Tinción H/E, aumento 20x. a) Sanos: islote normal. b) y c) SME: presencia de islotes atróficos (b), presencia de un islote hipertrofico (c).

Todos los animales del grupo de SME presentaron islotes atróficos, mientras que un 40 % presentaron hipertrofia en alguno de sus islotes. En el grupo Sanos no se detectó desviación en cuanto al tamaño de los islotes.

Tabla 16. Registro de atrofia e hipertrofia de islotes pancreáticos a las 22 semanas postnatales

Grupos (n=20)		IA		IH	
		Si	No	Si	No
Sanos	Nº	0	20	0	20
	%	0	100	0	100
SME	Nº	20	0	8	12
	%	100	0	40	60
	p	< 0,001		0,002	

SME: síndrome metabólico experimental, IA: islotes atróficos, IH: islotes hipertroficos. La comparación entre grupos se realizó con el test de Ji cuadrado (χ^2). Fuente: registro de recogida de datos.

El ambiente adverso uterino predispone al individuo a desarrollar alteraciones metabólicas y enfermedades crónicas en la etapa adulta como la diabetes y las ECV.²³⁷ La hiperglucemia y los niveles elevados de insulina favorecen el EO y disparan mecanismos moleculares que alteran el perfil epigenético del individuo y lo hacen susceptible al desarrollo de estas enfermedades.¹¹

Estudios en animales comprobaron que dietas hipercalóricas maternas perinatales aumentan la susceptibilidad a trastornos metabólicos en la descendencia. Souza *et al.*²³⁸

demonstraron que la descendencia de ratas alimentadas con fructosa al 29 % durante la gestación y lactancia presentaban reducción de las células β de los islotes del páncreas, con disminución de la secreción insulínica al estímulo de altas concentraciones de glucosa, debido a un agotamiento de estas células. Por otra parte, la hipertrofia que se observó en algunos islotes pudiera ser resultado de secuelas de estados previos de incremento de la función del tejido, descritos en la literatura revisada y que anteceden al fallo de las células β .²³⁹

La comparación de los resultados obtenidos en el experimento que se presenta, con el anterior, muestra la agudización de los efectos deletéreos en el metabolismo de glúcidos, lípidos y proteínas. Se obtuvieron valores superiores al grupo Sanos en parámetros somatométricos como IMC, CA y la presión arterial. También se obtuvo evidencia de mayor grasa depositada en la cavidad abdominal y de manera ectópica.

Souza-Cruz *et al.*¹²² solo observaron modificaciones en variables analíticas en ratas que recibieron durante 27 semanas sacarosa al 40 %. El IMC y la CA, no se incrementaron significativamente con respecto al grupo control. Otros modelos reportados en la literatura y que utilizan la intervención nutricional con sacarosa en etapa postnatal, también lograron modificar, en mayor magnitud, el metabolismo glucídico y de los lípidos, con moderada hipertensión arterial.^{20,240} Por otra parte, las dietas ricas en lípidos incrementan los depósitos grasos del organismo pero son menos eficaces para lograr en menor tiempo desbalances metabólicos y estados de RI.^{20,241}

Los modelos genéticos para estudiar el SM son ampliamente utilizados por desarrollar algunas de las alteraciones del SM como la obesidad, la resistencia a la insulina, la hiperglucemia, la hiperlectinemia, entre otras. Entre estos modelos encontramos a los ratones db/db, los ob/ob, la rata Zucker, la cepa fa/fa, entre otros. Sin embargo, estas mutaciones rara vez se observan en la etiopatogenia del SM, por lo que estos biomodelos no mimetizan adecuadamente el SM humano.²⁰

Las pruebas obtenidas en el presente experimento apuntan a un mayor deterioro en el control glucémico. Es constatable la evolución desde la hiperinsulinemia, con valores moderados de hiperglucemia observada en la semana 18, hasta la normoinsulinemia con

el mantenimiento de niveles elevados de glucemia, obtenido en la semana 22. Estos resultados se corresponden con una etapa más avanzada del SM inducido durante 22 semanas.

3.2.4 Nuevo criterio diagnóstico para predecir desarrollo de síndrome metabólico experimental

Los criterios diagnósticos aplicados según el NCEP-ATP III y ajustados al modelo biológico roedor identificaron solo al 70 % de los animales bajo el régimen de la DRS con el SME. (Anexo 14 Tabla 17)

Los parámetros previamente seleccionados para la determinación de un nuevo criterio diagnóstico fueron: glucemia, TAG, creatinina, ácido úrico, PAS, PAD y circunferencia abdominal (tabla 18). En todos los casos se observó el cumplimiento de los criterios de exclusión propuestos en el acápite 2.4.6 y que los parámetros seleccionados tuvieron correlación con la grasa abdominal.

Tabla 18. Intervalos de confianza (IC) para los parámetros seleccionados en la propuesta de nuevo criterio diagnóstico a las 22 semanas postnatales

	Glu mmol/L	TAG mmol/L	Creat μmol/L	AU μmol/L	PAS mm Hg	PAD mm Hg	CA cm
IC	7,90- 8,79	1,30- 1,62	40,92- 45,80	245,53- 273,75	141,84- 148,23	103,60- 116,00	16,92- 17,87
CC	0,714	0,639	0,775	0,708	0,677	0,593	0,670
α	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Glu: glucemia, TAG: triacilglicéridos, Creat: creatinina, AU: ácido úrico, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, CA: circunferencia abdominal. IC: Intervalos de confianza calculados para un 95 %. CC: Coeficiente de correlación de Spearman, α: Significación estadística. El coeficiente de correlación se refirió al estudio de asociación con el parámetro grasa abdominal.

La base de datos binarios construida a partir de la re-codificación de los valores de cada parámetro permitió generar diferentes modelos por regresión logística binaria que tuvieron en cuenta solo un parámetro para clasificarlos como factores influyentes o no del SME (anexo 15). Los parámetros glucemia, TAG, ácido úrico y circunferencia abdominal se clasificaron como influyentes y de riesgo, debido a que se obtuvieron coeficientes positivos

y significación estadística en sus modelos respectivos. Solo con estos parámetros clasificados se repitió la regresión logística para obtener nuevos modelos con todas las combinaciones posibles (anexo 15). La combinación de la circunferencia abdominal y el ácido úrico generó el mejor modelo; con una sensibilidad del 96 %, especificidad del 80 %, los VPP y VPN con un 85,71 % y 94,11 %, respectivamente. El punto de corte se correspondió con el límite inferior del intervalo de confianza que se calculó en el grupo de SME: ácido úrico > 245,53 $\mu\text{mol/L}$ y circunferencia abdominal > 16,92 cm.

Las cifras globales de SM dependen en gran medida del criterio diagnóstico empleado, la región geográfica, el género, el sexo y la edad.¹ La dificultad para diagnosticar el SM es aún más dramática en la edad pediátrica debido a los cambios anátomo-fisiológicos que acompañan a esta etapa del desarrollo.¹⁶ Sin embargo, el crecimiento de la prevalencia de este síndrome a nivel mundial obliga a la búsqueda de criterios que identifiquen de manera precoz el establecimiento de las alteraciones conducentes al SM, en una etapa donde los cambios pueden ser reversibles.

La circunferencia de la cintura constituye un fuerte predictor de RI. Estudios recientes ubican este parámetro como el más importante para determinar el riesgo de SM.²⁴² En adolescentes, como criterio de diagnóstico, está establecido el 90 percentil como punto de corte. Esto obliga a definir por área geográfica este parámetro para que sea realmente eficaz.²⁴³

Las concentraciones plasmáticas elevadas de AU se encuentran en pacientes con resistencia a la insulina y con SM.²⁴⁴ La hiperinsulinemia contribuye no solo a aumentar la recaptación de sodio y potasio a nivel renal, sino también de uratos.²¹³ Sin embargo, la hiperuricemia no está contemplada en los criterios diagnósticos del SM.

Pugliese *et al.*²⁴⁵ publicaron recientemente evidencias de la relevancia de incluir al AU en el diagnóstico del SM, debido a la asociación de niveles elevados de este metabolito con el riesgo de mortalidad cardiovascular. La hiperuricemia puede estar presente en las etapas tempranas del desarrollo del SM. La utilización de este criterio, no como requisito obligatorio, sino como uno de los criterios a cumplir para lograr el diagnóstico podría contribuir a la identificación de un número mayor de adolescentes con SM.

En modelos animales dietas elevadas en carbohidratos o que favorecen el desarrollo de resistencia a la insulina y obesidad producen cifras elevadas de AU.¹¹⁶ Esta hiperuricemia está asociada a los estados de estrés oxidativo e inflamación que están presentes en el SM.²⁴³ Los resultados obtenidos en la inducción del SM hasta la semana 22, muestran una elevada asociación en las concentraciones plasmáticas del AU con la grasa abdominal. De igual manera, se demostró por regresión logística, la capacidad de este parámetro junto a la CA, para identificar biomodelos con SM.

El empleo conjunto del AU y la CA más los criterios de dislipidemia o hipertensión arterial, contribuyen a clasificar el SME en esta etapa extrapolable al segmento final de la adolescencia en la cual las alteraciones aún pueden ser revertidas y de esta manera se puede evitar el desarrollo de la DM2 y ECV.

El biomodelo de SM inducido por DRS desde la etapa intrauterina y hasta las 22 semanas postnatales se caracterizó por modificación en todos los parámetros somatométricos y analíticos evaluados. El control glucémico mostró incremento del indicador HOMA-IR, valores disminuidos de las células funcionales β y mayores niveles de glucosa con normoinsulinemia, fase que refleja un agravamiento del estado metabólico observado a las 18 semanas del biomodelo. El análisis anatomopatológico comprobó daños principalmente en el hígado y el riñón. La combinación del ácido úrico y la circunferencia abdominal se seleccionó como criterio diagnóstico del SME en la semana 22 del desarrollo del modelo.

3.3 Parámetros de inflamación en el síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas *Wistar*

3.3.1 Parámetros somatométricos y analíticos

La tabla 19 muestra los parámetros somatométricos y bioquímicos evaluados en los grupos experimentales. Todos los parámetros demostraron distribución normal según el test de Shapiro-Wilk, excepto la circunferencia abdominal. El análisis estadístico arrojó diferencias significativas en todos los parámetros bajo estudio. Este resultado corrobora la

reproducibilidad del biomodelo, ya que se alcanzó un estado más avanzado del SME, similar a lo obtenido en el epígrafe 3.2, con la inducción de la DRS hasta las 22 semanas de vida postnatal.

Tabla 19. Parámetros somatométricos y analíticos en los grupos experimentales a las 22 semanas postnatales. Estudio: Parámetros de inflamación en el síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas *Wistar*

Parámetros	Sanos (n=10)	SME (n=10)	p
CA (cm)	15,50 (15,00-18,00)	17,00 (16,50-18,00)	0,003
PC (g)	289,11 ± 21,84	400,22 ± 70,91	< 0,001
PAS/PAD (mmHg)	126,22/89,93 ± 3,17/4,26	145,21/112,14 ± 7,96/16,20	< 0,001
Glu (mmol/L)	6,07 ± 1,10	8,31 ± 1,02	< 0,001
TAG (mmol/L)	0,72 ± 0,15	1,52 ± 0,41	< 0,001
AU (μmol/L)	142,67 ± 54,12	253,11 ± 32,59	< 0,001
Creat ((μmol/L)	27,39 ± 2,44	44,11 ± 5,36	< 0,001

SME: síndrome metabólico experimental, CA: circunferencia abdominal, PC: peso corporal, PAS: presión arterial sistólica y PAD: presión arterial diastólica, Glu: glucemia, TAG: triacilglicéridos, AU: ácido úrico, Creat: creatinina. La comparación entre grupos se realizó con T de Student a excepción de la CA (test no paramétrico de Mann-Whitney). Los datos se expresan como la media y la desviación estándar a diferencia de la CA que se presenta como la mediana y entre paréntesis, el rango intercuartílico. Fuente: registro de recogida de datos.

Se utilizó el criterio diagnóstico declarado en el acápite 3.2.5 y se comprobó que la combinación del criterio del AU o la CA con la condición de superar los valores medios de la glucosa, los TAG o la presión arterial del grupo Sanos, logró diagnosticar al 100 % de los individuos del grupo con SME (anexo 16 Tabla 20).

3.3.2 Parámetros de Inflamación

El reconocimiento del componente inflamatorio en la etiopatogenia del SM y la condición de inflamación de bajo grado que acompaña a este grupo de alteraciones metabólicas permiten diseñar múltiples estrategias para evaluar las condiciones del comienzo, instauración y desarrollo de este proceso inflamatorio, con objetivos de prevención, diagnóstico y tratamiento.

La tabla 21 muestra los resultados de la actividad de la MPO y las concentraciones de C3 y C4 en la semana 20 y 22 de vida de los biomodelos experimentales.

Tabla 21. Parámetros de inflamación a las 20 y 22 semanas de inducción del biomodelo de síndrome metabólico

		MPO (U/mL)	C3 (g/L)	C4 (g/L)
20 semanas	Sanos (n=10)	0,42 ± 0,21	0,19 ± 0,11	0,06 ± 0,03
	SME (n=10)	2,62 ± 0,69	0,77 ± 0,07	0,17 ± 0,03
	p	< 0,001	< 0,001	< 0,001
22 semanas	Sanos (n=10)	0,38 ± 0,22	0,23 ± 0,03	0,04 ± 0,03
	SME (n=10)	3,08 ± 0,86	0,55 ± 0,09	0,04 ± 0,01
	p	< 0,001	< 0,001	0,860

SME: síndrome metabólico experimental, MPO: mieloperoxidasa, C3: fracción 3 del complemento, C4: fracción 4 del complemento. La comparación entre grupos se realizó con el test T de Student. Los datos se expresan como la media y la desviación estándar. Fuente: registro de recogida de datos.

En la semana 20 y la 22, la actividad de la MPO y la concentración de C3 en el grupo de inducción del SME alcanzaron valores superiores al grupo Sanos. Se destacó el incremento de la actividad de la MPO en el grupo de SME en más de seis veces en la semana 20 y ocho en la 22, con respecto al grupo Sanos. Los valores de la concentración de la fracción C4 en el grupo de SME solo se incrementaron en la semana 20 de vida de los biomodelos.

La evolución de estos parámetros indicó que en el grupo Sanos no se modificaron ($p > 0,05$). Sin embargo, en el grupo de SME solo la MPO mantuvo los niveles elevados a las 22 semanas en comparación con la semana 20 ($p = 0,352$). Las concentraciones de las fracciones del complemento C3 y C4 disminuyeron significativamente al finalizar el estudio ($p < 0,001$ en ambos casos).

En el SME, al igual que en el humano, la hiperplasia e hipertrofia del tejido adiposo aumenta la liberación de adipoquinas inflamatorias, lo cual contribuye al estado de estrés oxidativo, a la hiperinsulinemia y a la resistencia local y sistémica a la insulina.²⁴⁶ Las citoquinas inflamatorias activan los leucocitos y se libera la enzima MPO al foco inflamatorio, donde también se incrementa el flujo de los RL por acción directa de la

enzima. Posteriormente, la MPO es vertida al fluido extracelular y a la circulación general con aumento de su concentración en sangre. Esto determina que pueda ser un excelente marcador de inflamación y estrés oxidativo.¹⁸

La determinación de la actividad de la MPO y concentraciones de C3 y C4 en la semana 20, se corresponde con la detección del estado de inflamación sistémica que precede a la inflamación local que se establece en las primeras etapas del SM.¹⁶ El tiempo óptimo para que se manifiesten los signos de inflamación sistémica se corresponde con una etapa posterior a la semana 18, donde comprobamos signos de un SME incipiente. La determinación de estos parámetros a las 20 semanas postnatales y posteriormente a las 22 semanas postnatales, permitiría una caracterización más completa de toda la etapa extrapolable a la adolescencia en el ser humano, sin exponer a los animales a un mayor número de procedimientos invasivos.

Los resultados que se obtuvieron muestran un incremento significativo de la actividad de la MPO en el SME con respecto al grupo Sanos desde la semana 20 de inducción del modelo, resultados que coinciden con otros publicados por el grupo de investigación.¹⁵⁴ Garagiola *et al.*²⁴⁷ obtuvieron valores incrementados de este indicador en un biomodelo experimental de SM por administración de fructosa al 10 % durante 6 semanas. La MPO también ha sido utilizada como marcador del daño vascular, a partir de que en esta condición pueden coincidir alteraciones como la RI, la inflamación del endotelio y el incremento del estrés oxidativo.²⁴⁸

La inducción del SME a través de una DRS provoca una serie de alteraciones en el tejido adiposo que contribuyen a perpetuar el ambiente inflamatorio. El ambiente inflamatorio que se establece como consecuencia de la síntesis y secreción de citoquinas en un tejido adiposo en expansión provoca también que se incorporen células que tienen un vínculo común con el sistema inmunológico, los macrófagos. Estas células, activadas por AGL, están involucradas en el inicio de la respuesta inflamatoria innata y contribuyen a amplificar la respuesta inflamatoria en adipocitos y células endoteliales.²⁴⁹

Las proteínas C3 y C4 son RFA. El organismo produce mayores cantidades de C3 durante los procesos inflamatorios. Su concentración se incrementa en enfermedades sistémicas, estados inflamatorios crónicos no infecciosos y en situaciones fisiológicas especiales.^{69,250}

Para evaluar la posible asociación entre la actividad de MPO y los parámetros analíticos y somatométricos se analizó la correlación entre estos (tabla 22). Los resultados indicaron asociación de la actividad enzimática con todos los parámetros evaluados. Se destaca la fuerte correlación positiva con los TAG, el AU y la PAS ($r > 0,7$).

Tabla 22. Asociación entre la MPO y los parámetros analíticos y somatométricos a las 22 semanas postnatales

Analíticos	r	p	Somatométricos	r	p
Glu	0,689	< 0,001	PAS	0,716	< 0,001
TAG	0,790	< 0,001	PAD	0,584	0,001
Creat	0,815	< 0,001	PC	0,569	0,002
AU	0,744	< 0,001	CA	0,420	0,029

Glu: glucemia, TAG: triacilglicéridos, Creat: creatinina, AU: ácido úrico, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, PC: peso corporal, CA: circunferencia abdominal, r: coeficiente de correlación de Pearson, p: significación estadística.

La evaluación entre los marcadores de inflamación del estudio arrojó una asociación significativa entre ellos. Se observó una fuerte correlación negativa entre la actividad de la MPO y las concentraciones de C3 (- 0,878) y moderadamente positiva entre la actividad de la enzima y la concentración de C4 (0,679).

La asociación directa y significativa que se observó en el presente experimento entre la actividad de la MPO con los parámetros analíticos y somatométricos, demuestran la utilidad de este biomarcador en el SM. Liu *et al.*²⁵¹ también demostraron la correlación positiva entre la actividad de la enzima y la modificación de la LDL-colesterol, lo que pudiera ser útil para identificar el riesgo aterogénico.

Los resultados obtenidos sugieren, que en la semana 20 de vida el estado más avanzado del SM, probablemente provoca un estado detectable de inflamación sistémica, lo que

provocó la liberación de RFA y el incremento de la actividad de la MPO. Dos semanas después, aunque se agudizaron las alteraciones metabólicas, estos RFA fueron ineficaces para evaluar el estado inflamatorio, posiblemente porque el consumo de estos superó su síntesis. Sin embargo, los niveles elevados de MPO confirman que aún persiste el estado de inflamación crónica de bajo grado que se describe en este síndrome.¹¹³

La asociación fuertemente negativa que resultó al correlacionar la actividad de la MPO y la concentración de C3 apoyan el criterio señalado. El incremento de la actividad enzimática de la MPO en la semana 22 se relacionó con una disminución plasmática de este RFA, lo cual nos lleva a pensar que luego del pico plasmático de C3 las condiciones se crearon para su consumo, propio de un proceso inflamatorio activo.²⁵²

Los resultados de este experimento demuestran que la actividad de la MPO resultó ser un parámetro óptimo para identificar desde la semana 20 el ambiente inflamatorio sistémico y corroborar la presencia de las condiciones inflamatorias aún en la semana 22, etapa más avanzada del deterioro metabólico.

3.4 Parámetros de disfunción endotelial en aorta abdominal en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas *Wistar* desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas postnatales

3.4.1 Parámetros somatométricos y analíticos

Los parámetros somatométricos y analíticos mostrados en la tabla 23 fueron estadísticamente superiores en el grupo de inducción del SME con respecto al grupo Sanos. Se utilizó el criterio diagnóstico declarado en acápite **3.2.5**. Se logró diagnosticar al 100 % de los individuos del grupo con SME cuando se combinó el criterio del AU o la CA con los valores medios del grupo Sanos de la glucosa, los TAG o la presión arterial. (Anexo 17 Tabla 24).

El endotelio, debido a su localización estratégica, constituye un blanco para los estímulos provenientes del medio. La ingestión elevada y sostenida en el tiempo de dietas ricas en azúcares promueve la aparición de desórdenes metabólicos como la hiperglucemia y la

RI, que constituyen factores de riesgo que actúan sobre el endotelio vascular y provocan su disfunción.²⁵³ Además, la inflamación local en adipocitos promueve la liberación de citoquinas inflamatorias secretadas por macrófagos endógenos contribuyendo a la inflamación sistémica en un estado más avanzado del daño metabólico. Estas moléculas pro-inflamatorias se diseminan al endotelio adyacente y participan en la génesis del daño endotelial.^{235,254}

Tabla 23. Parámetros somatométricos y analíticos en los diferentes grupos experimentales a las 22 semanas postnatales. Estudio: Parámetros de disfunción endotelial en aorta abdominal en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas Wistar desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas postnatales

Parámetros	Sanos (n=10)	SME (n=10)	p
CA (g)	14,83 ± 0,76	15,61 ± 0,55	0,040
PC (g)	357,98 ± 23,57	398,67 ± 9,69	0,021
PAS/PAD (mmHg)	126,40/92,69 ± 1,86/8,76	144,57/103,79 ± 7,75/10,06	< 0,001
Glu (mmol/L)	6,58 ± 0,45	8,16 ± 1,02	0,018
TAG (mmol/L)	0,74 ± 0,16	1,30 ± 0,34	0,014
AU (μmol/L)	177,23 ± 38,06	248,11 ± 18,71	0,002
Creat (μmol/L)	24,68 ± 3,60	41,43 ± 7,25	0,002

SME: síndrome metabólico experimental, CA: circunferencia abdominal, PC: peso corporal, PAS: presión arterial sistólica y PAD: presión arterial diastólica, Glu: glucemia, TAG: triacilglicéridos, AU: ácido úrico, Creat: creatinina. La comparación entre grupos se realizó con el test T de Student. Los datos se expresan como la media y la desviación estándar. Fuente: registro de recogida de datos.

La DE se produce en las etapas más tempranas del desarrollo del proceso aterosclerótico y además es potencialmente reversible.²⁵³ Investigaciones recientes en jóvenes de 15, 17 y 24 años, identificaron a la adolescencia como un momento óptimo para la intervención dirigida a mantener el efecto protector de la disminución de la insulina y la resistencia a esta hormona sobre la progresión de la rigidez arterial. En este segmento se obtuvo asociación entre la hiperinsulinemia y los valores elevados de HOMA-IR con el deterioro del funcionamiento del endotelio vascular.²⁵⁵

En el presente experimento, a las 22 semanas de DRS se observaron parámetros analíticos y somatométricos superiores al grupo Sanos, lo que verificó la reproducibilidad del desbalance metabólico que contribuye al desarrollo de la DE en un estado más avanzado del SME. La actividad incrementada de la MPO, que se observó en el experimento anterior, confirmó el estado inflamatorio y oxidativo que afecta a tejidos tan sensibles como el endotelial y que es consecuencia de la obesidad abdominal y la RI.²⁵⁶

3.4.2 Análisis histo-morfométrico de segmentos de aortas

3.4.2.1 Observación histológica en fragmentos de aorta abdominal

El análisis histológico mostró en los animales con SME la presencia de tumefacción en la célula endotelial y en la muscular lisa vascular, células espumosas, además de marcada desorganización de las fibras elásticas y musculares de la capa media (Fig. 10).

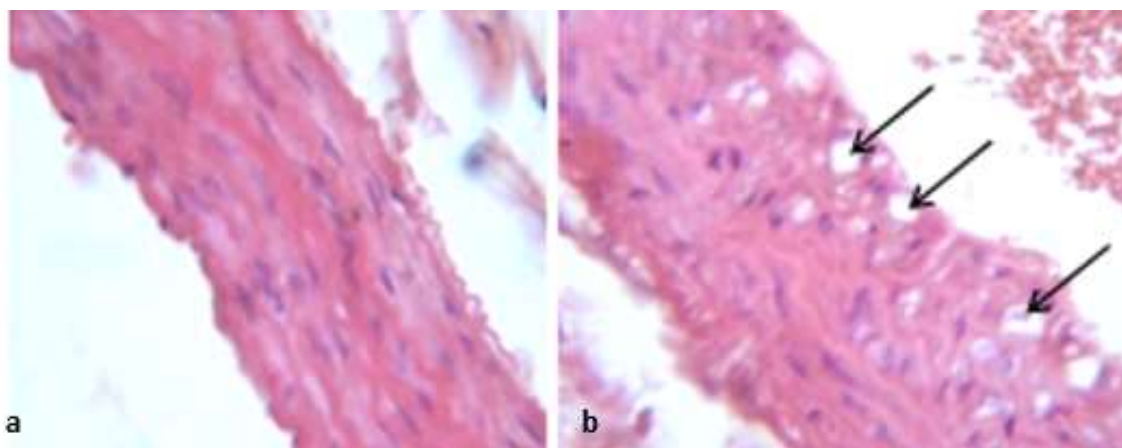


Fig. 10. Cortes de aorta abdominal en animales de 22 semanas de vida.

Tinción H/E, aumento 40x. a) Animal sano: Se observa la integridad del endotelio y la lámina elástica interna, se aprecia organización de las fibras musculares lisas y elásticas. b) Animal con SME sin tratamiento. Las flechas muestran células espumosas, presencia de denudación endotelial y desorganización en las capas subendoteliales, con pérdida de la continuidad de las fibras. Se observa mayor engrosamiento del subendotelio con ligera proliferación intimal.

La tabla 25 muestra los daños que se presentan en la aorta abdominal en ambos grupos en las semanas 20 y 22 de vida de los biomodelos (ver datos primarios en anexo 18). Los resultados muestran que la tumefacción del endotelio y de la célula muscular lisa del vaso, la proliferación subendotelial y la desorganización de las fibras elásticas de la capa media vascular, fueron alteraciones que se observaron desde la semana 20. La denudación del

endotelio y la fragmentación de la lámina elástica interna del vaso incrementaron su frecuencia de observación en la semana 22.

Tabla 25. Frecuencia de los parámetros histológicos observados en aorta abdominal en la semana 20 y 22 de vida de los biomodelos

	Grupos (n=10)	TE	DEnd	PSE	LEIF	FEMD	TCMLV
20 semanas	Sanos	0	0	0	0	0	0
	SME	90	10	40,	30	100	100
	P	< 0,001	0,305	0,025	0,060	< 0,001	< 0,001
22 semanas	Sanos	0	0	0	0	0	0
	SME	100	30	60	70	100	100
	p	< 0,001	0,060	0,003	0,001	< 0,001	< 0,001

SME: síndrome metabólico experimental, TE: tumefacción endotelial, DEnd: denudación endotelial, PSE: proliferación subendotelial, LEIF: lámina elástica interna fragmentada, FEMD: fibras elásticas de la media desorganizada, TCMLV: tumefacción de la célula muscular lisa vascular. La comparación entre grupos se realizó con el test de Ji cuadrado (χ^2). Los valores se registran en porcentaje. Fuente: registro de recogida de datos.

La observación microscópica de la aorta abdominal reveló lesiones consistentes con un estadio primario de la DE.²⁵⁷ El edema celular que se presentó, tanto en el endotelio vascular como en la célula muscular lisa del vaso, es la primera manifestación morfológica de casi todas las formas de daño celular. El aspecto tumefacto se debe a vacuolas claras en el citoplasma correspondientes a fragmentos de retículo endoplásmico distendidos y escindidos. Las causas relacionadas con este tipo de daño van desde la privación de oxígeno y la agresión por agentes físicos y químicos hasta desequilibrios nutricionales.²⁵⁸

La denudación endotelial, descrita como la pérdida de células endoteliales focalizadas o en zonas extensas de la superficie intimal, se describe en otras investigaciones, sobre todo, en etapas más avanzadas de las lesiones ateroscleróticas.^{24,259} Aunque estas lesiones en sus diferentes etapas de progresión no están acompañadas, necesariamente, por la denudación endotelial.²⁶⁰ Este parámetro evaluado, aunque incrementó la frecuencia de observación de la semana 22 con respecto a la 20, se manifestó poco significativo si lo comparamos con el resto de las alteraciones observadas.

La observación de los fragmentos aórticos a nivel de la íntima reveló discreta proliferación subendotelial, determinada por mínimos engrosamientos en áreas de aortas de ratas sometidas a la DRS. En la revisión de trabajos publicados se encontró que la proliferación subendotelial marcada estaba presente en las arterias de los animales con un desarrollo ya establecido de la lesión aterosclerótica.^{261,262}

La perturbación en la organización de las fibras elásticas de la vasculatura sanguínea se relaciona con la progresión de la enfermedad vascular que puede conllevar a una oclusión de la luz por remodelación o adaptación celular (hipertrofia e hiperplasia) de los componentes de la pared.^{263,264} La hiperglucemia, la resistencia a la insulina y el hiperinsulinismo resultante, están asociados a la generación del EO y a la formación de EROs por el depósito de AGEs. Estos elementos favorecen mecanismos de cambio en el tropismo de las CMLV, que determinan un aumento en su proliferación, migración y actividad sintética.²⁶⁵ Tanto la desorganización de las fibras elásticas de la capa media vascular como la fragmentación de la lámina elástica interna del vaso se presentaron en el 100 % de las ratas del grupo de SME desde las 20 semanas, lo cual es coherente con el daño vascular.

La vacuolización de la célula muscular lisa vascular, identificada como tumefacción, se observó en todos los casos del grupo experimental. Aunque no se puede determinar si la naturaleza de estas vacuolas es hidrópica, glucogénica o lipídica, se describe que en una primera fase de la DE pueden encontrarse tanto las modificaciones hidrópicas como células espumosas provenientes de macrófagos activados y cargados de lípidos que se asocian al desarrollo de la lesión vascular.^{266,267}

3.4.2.2 Parámetros morfométricos en fragmentos de aorta abdominal

La tabla 26 muestra los parámetros morfométricos utilizados para evaluar el daño en el endotelio de la aorta abdominal. En la semana 20 solo se alteró el grosor de la pared de la arteria con un incremento de este parámetro en el grupo de SME. Dos semanas después, excepto el área del vaso, el resto de los parámetros se modificó. Los resultados revelaron que disminuyó la luz del vaso a expensas de un incremento del área y grosor de la pared arterial.

Los cambios celulares que se producen en las estructuras vasculares dependen, en gran medida, de los factores dependientes del estímulo agresor, del tiempo de exposición a este y de la capacidad de respuesta tisular para enfrentar la agresión.²⁶⁸ El análisis de las variables morfométricas reveló mayor grosor de la pared y su área, con una constricción de la luz del vaso. Estos cambios estructurales se corresponden con un remodelado vascular, observado por otros investigadores y que se asocia a un entorno hipertenso.²⁶⁹

Tabla 26. Parámetros morfométricos de daño endotelial en aorta abdominal en las semanas 20 y 22 de vida de los biomodelos

	Grupos (n=10)	ATV (mm²)	ALV (mm²)	APV (mm²)	GPV (μm)
20 semanas	Sanos	540,00 ± 0,15	340,00± 0,12	200,00± 0,03	73,09 ± 5,44
	SME p	540,00 ± 0,15 0,394	290,00 ± 0,10 0,989	250,00±0,07 0,113	92,02 ± 20,70 0,019
22 semanas	Sanos	608,01 ± 81,79	426,13 ± 49,48	184,33 ± 16,78	74,22 ± 14,76
	SME p	532,94 ± 59,72 0,240	214,72±48,68 0,001	254,16 ± 31,27 0,008	95,16 ± 42,09 0,001

SME: síndrome metabólico experimental, ATV: Área total del vaso, ALV: Área del lumen del vaso, APV: Área de la pared vascular, GPV: Grosor de la pared vascular. La comparación entre grupos se realizó con el test T de Student. Los datos se expresan como la media y la desviación estándar. Fuente: registro de recogida de datos.

La RI, como se ha señalado, contribuye al incremento de la recaptación de sodio en los tubulis renales lo cual activa el SRAA. Este sistema, especialmente la angiotensina II, estimula el crecimiento de la pared vascular y facilita la producción y la acción de factores mitogénicos que favorecen la síntesis de proteínas y la proliferación de las células musculares lisas. El incremento de la actividad mitogénica provoca engrosamiento en la capa subintimal y en la capa media, lo que contribuye al desarrollo de la hipertensión.^{76,80} Otro actor importante son los niveles elevados de AU con elevada asociación al ambiente oxidativo. Este metabolito también activa el SAAR e inactiva el NO endotelial, lo que acentúa el incremento de la presión arterial.⁸²

El análisis de los parámetros histo-morfométricos en la semana 20, previo al período final de inducción en la semana 22, se corresponde con el criterio de caracterizar la evolución

del daño endotelial en el presente biomodelo. Resultados anteriores identificaron un SM incipiente a la semana 18 postnatal. La estrecha relación que existe entre el grado de inflamación sistémica y el daño endotelial, conectan la hiperplasia e hipertrofia del tejido adiposo con la instauración y desarrollo de la DE en un estado más avanzado del SM.²⁵³ Este criterio nos permite seleccionar la semana 20 para determinar los parámetros histomorfométricos declarados y lograr una caracterización del biomodelo más completa de esta etapa extrapolable a la adolescencia humana. Además, de esta manera se utiliza un menor número de animales, si se tiene en cuenta que la determinación de los parámetros evaluados se realiza post-mortem.

El SME inducido con previa exposición de los animales al ambiente hiperglucídico en etapa intrauterina y lactancia materna y posterior suministro de DRS durante el período que abarca la etapa extrapolable a la adolescencia en el ser humano; provocó cambios estructurales a nivel del endotelio vascular, la capa íntima y la muscular lisa del vaso. Estas alteraciones pudieran ser consecuencias de la RI que se desarrolló en el biomodelo y de los niveles elevados de AU que agudizan los efectos nocivos del ambiente inflamatorio, oxidativo e hipertensivo. La respuesta adaptativa del vaso fue coherente con un remodelado hipertrófico que puede conducir al desarrollo y progreso de las lesiones celulares aterogénicas irreversibles en la pared arterial.

3.5 Anomalías morfológicas en descendientes de progenitores con síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa

3.5.1 Parámetros somatométricos de ratas progenitoras

Diferentes investigaciones han asociado la obesidad materna al desarrollo de numerosas patologías en la madre y su descendencia. La hipertensión y la DMG están ampliamente relacionadas con retardo en el crecimiento uterino, defectos embrionarios y muerte fetal.^{165,270} El embarazo en la adolescencia se identifica como un problema de salud y se asocia con incremento de riesgo cardiovascular para la madre y la descendencia.¹⁰⁴

Otro aspecto estudiado profundamente en los últimos años se refiere a los cambios en el epigenoma. La posibilidad de que las marcas epigenéticas de los padres se transmitan a

la descendencia explicaría, en gran medida, la explosión de individuos obesos en edades cada vez más tempranas.¹²

En el presente experimento, las progenitoras con inducción del SME alcanzaron una presión arterial de $143/110 \pm 9,98/8,76$ mm Hg al inicio de la gestación. Estos valores fueron significativamente mayores que los del grupo Sanas. Los parámetros somatométricos de las ratas progenitoras con SME antes de la interrupción de la gestación también fueron superiores al grupo Sanos, excepto el peso de inicio de la gestación y el del útero grávido (tabla 27).

Tabla 27. Parámetros somatométricos de ratas progenitoras gestadas con 18 semanas de vida postnatal

Parámetros somatométricos	Sanas (n=10)	SME (n=10)	p
PAS (mm Hg)	121,00 \pm 3,56	143,00 \pm 9,98	< 0,001
PAD (mm Hg)	96,00 \pm 2,83	110,00 \pm 8,76	0,004
PCM _c (g)	196,00 \pm 5,77	200,80 \pm 13,29	0,307
PCM _f (g)	277,00 \pm 8,37	300,13 \pm 10,70	0,001
GPC (g)	76,20 \pm 17,77	103,47 \pm 6,44	< 0,001
PGAb (g)	6,98 \pm 3,02	13,94 \pm 1,61	< 0,001
PUG (g)	53,55 \pm 15,61	59,14 \pm 8,07	0,345
GAPM (g)	28,32 \pm 1,22	44,32 \pm 14,51	< 0,001

SME: síndrome metabólico experimental, PCM_c: Peso Corporal Materno al comienzo de la gestación, PCM_f: Peso Corporal Materno al finalizar la gestación. GPC: Ganancia de Peso Corporal, PGAb: Peso de la Grasa Abdominal, PUG: Peso del Útero Grávido, GAPM: Ganancia Ajustada de Peso Materno. La comparación entre grupos se realizó con el test T de Student. Los resultados se expresan como la media y la desviación estándar. Fuente: registro de recogida de datos.

Más importante que la ganancia de peso corporal durante el embarazo es la distribución de grasa en el cuerpo durante esta etapa. Sarasa-Muñoz *et al.*²⁷¹ estudiaron el rol de la grasa abdominal en el desarrollo de la RI, específicamente, en los estados tempranos del embarazo junto a la presencia de los riesgos de la diabetes gestacional. Estudios en modelos biológicos como la rata Zucker obesa demostraron que la hiperplasia del tejido adiposo influye en el fallo de la acción estrogénica para favorecer la concepción y el fruto de esta.²⁷² En el presente experimento, el incremento de la grasa abdominal en las ratas

gestadas del grupo de SME pudiera estar relacionado con las alteraciones observadas en el producto de la concepción de este grupo experimental.

En la literatura se reportan investigaciones que asocian la hiperglucemia y la diabetes a la muerte embrionaria y por consiguiente al fallo en la concepción.²⁷³ Por otra parte, la eclampsia en mujeres también se identifica con abortos espontáneos y muerte fetal,²⁷⁴ resultados que han sido reproducidos en animales de experimentación.²⁷⁵

La inspección de los cuernos uterinos de las ratas gestadas mostró mayores cantidades de cuerpos lúteos, sitios de implantación y sacos gestacionales en ratas del grupo Sanas, resultados publicados por el grupo de investigación.¹⁵⁶ En ambos grupos se observó coincidencia en cuanto al número de cuerpos lúteos, sitios de implantación y número de sacos gestacionales más reabsorciones (tabla 28).

Tabla 28. Inspección en cuernos uterinos de ratas gestadas con 18 semanas de vida postnatal

Parámetros	Total	Sanas (n=10)	SME (n=10)	p
CL	106	63	43	0,006
Sitios de implantación	106	63	43	0,006
Reabsorciones	7	0	7	0,030
Sacos gestacionales	99	63	36	0,001

SME: síndrome metabólico experimental, CL: cuerpos lúteos. La comparación entre grupos se realizó con el test de Mann-Whitney. Fuente: registro de recogida de datos.

Los teratógenos o las condiciones fisiopatológicas durante el embarazo pueden provocar alteraciones en el desarrollo embrionario que se traduzcan en anomalías congénitas. De esta manera se afecta el crecimiento prenatal e incluso pueden provocar la muerte del organismo en vía de desarrollo.²⁷⁶ Las reabsorciones tempranas y tardías observadas, indican el efecto potencialmente teratogénico de la sacarosa y de la condición previa de SME de los progenitores. En estos casos, aunque ocurre la implantación del blastocito al revestimiento epitelial del útero y su penetración a través del endometrio, ocurre un fallo en el periodo embriofetal que evita el éxito en la concepción.¹⁵⁹ Esta anomalía solamente se observó en úteros de ratas gestadas con SME (Fig.11).

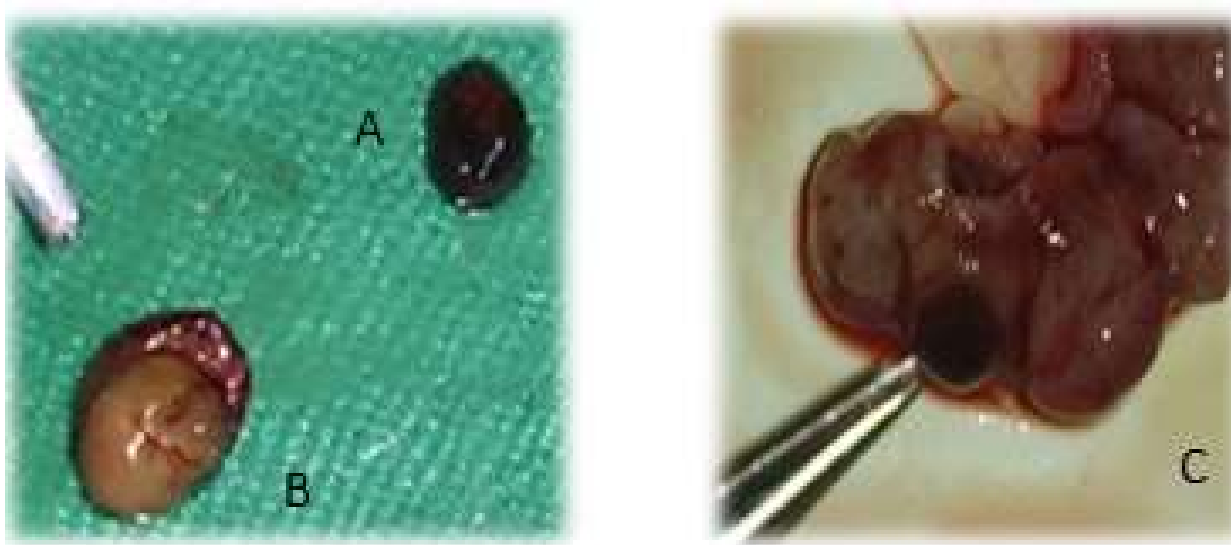


Fig. 11. Reabsorciones tempranas y tardías en progenitoras con síndrome metabólico inducido hasta la semana 18 postnatal.

Reabsorción temprana (A), Reabsorción tardía (B), Reabsorción temprana todavía en su cuerno (C).

Un aspecto interesante en el estudio del efecto de las intervenciones nutricionales o los estados mórbidos de obesidad o SM durante la gestación, es analizar el éxito de la fecundación.²⁷⁷ El estudio de los CL, como expresión de la ovulación, y los sitios de implantación, indicativos del éxito de la implantación del óvulo fecundado en el endometrio, se utilizan para evaluar esta primera fase del rendimiento materno en la concepción. Es necesario tener en cuenta que la especie roedora, a diferencia de la humana, presenta CL de ultra-corta duración. Esta característica es propia de especies poliéstricas y define que este indicador no sea totalmente eficaz para evaluar el rendimiento en la reproducción del roedor, pues se tiene el riesgo del subregistro de CL.²⁷⁸

En el biomodelo de SM, desarrollado en el experimento que se presenta, se obtuvo coincidencia con las cifras de CL y sitios de implantación. Estos resultados solamente pueden ser interpretados como la falta de asociación entre el fallo en la ovulación, la implantación de los ovocitos y las alteraciones metabólicas que se desarrollaron en las condiciones del presente biomodelo de SM. Sin embargo, investigaciones posteriores deben ser diseñadas para evaluar otros parámetros del rendimiento reproductivo, aspecto que no fue objeto de la presente investigación.

3.5.2 Anomalías externas en fetos provenientes de ratas con síndrome metabólico experimental

3.5.2.1 Número, peso, sexo y talla de los fetos

Los fetos provenientes del grupo con SME solo representaron el 40,57 % del total de fetos obtenidos en el estudio. No se observaron fetos muertos en ninguno de los grupos. Los valores del peso corporal de los fetos provenientes de progenitores con SME fueron estadísticamente inferiores que sus homólogos sanos (tabla 29).

Tabla 29. Número, sexo, peso y talla de los fetos de ratas gestadas con 18 semanas de vida postnatal

	Sanos	SME	p
Número de fetos	63	43	0,050
Sexo	♀ 31	23	0,610
	♂ 32	20	
Peso (g)	4,24 ± 1,39	4,10 ± 0,50	< 0,001
LCC (cm)	3,69 ± 0,45	3,35 ± 0,24	0,319

SME: síndrome metabólico experimental, LCC: Longitud cabeza-cola, ♀: hembras, ♂: machos. La comparación entre grupos se realizó con el test de Student. Los resultados se expresan como la media y la desviación estándar. Fuente: registro de recogida de datos.

La obesidad y el SM se relacionan con la infertilidad y los trastornos de la ovulación. La rata Zucker obesa tiene menor índice de natalidad que sus homólogas delgadas.²⁷² Se reporta en la literatura que la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina presente en las mujeres obesas llevan a la disminución en la síntesis de la globulina fijadora de las hormonas sexuales (por sus siglas en inglés SHBG) y al aumento de andrógenos libres. Este desbalance hormonal provoca el incremento de estradiol que afecta negativamente la síntesis de la hormona estimulante del folículo (FSH). De esta manera, se altera el reclutamiento folicular, lo que es consistente con la alta prevalencia de anovulación en mujeres obesas.²⁷⁹ El menor índice de natalidad observado en las ratas con SME pudiera estar asociado también al fallo en la ovulación.

Los pesos de los fetos del grupo SME fueron inferiores al grupo Sanos. Estos resultados están sustentados por la presencia de hipertensión arterial comprobada en las gestantes con SME. Se ha descrito que el bajo peso al nacer de fetos de madres con SM puede estar relacionado con este componente del SM.²⁸⁰ Múltiples alteraciones del desarrollo fetal, que incluyen el retardo en el crecimiento, se relacionan con la obesidad materna y su influencia alrededor del periodo de la organogénesis.¹⁰⁰ Vega *et al.*¹⁰⁴ en un estudio con adolescentes embarazadas publicado en el 2019, también encontró bajo peso al nacer, en correspondencia con el incremento del IMC de la progenitora y su estatus de pre o hipertensa.

La condición trófica al nacer en un entorno de disfunción metabólica de la progenitora pudiera estar determinada por el mayor componente que incida en la etapa del desarrollo del embarazo. Un ambiente hiperglucídico, con valores elevados de insulina fetal y un estado normotenso; pudiera condicionar que los descendientes tengan pesos elevados al nacer. Este comportamiento lo observamos en hijos de madres diabéticas u obesas con cifras de tensión adecuadas,^{281,282} así como en modelos experimentales de DM y obesidad.^{283,284} Sin embargo, existen reportes que relacionan al SM y la obesidad con el bajo al peso al nacer, probablemente por disfunción placentaria atribuible a la preeclampsia,²⁸⁵ lo cual coincide con los resultados obtenidos en el presente experimento.

3.5.2.2 Examen externo de los fetos

Las anomalías congénitas se desarrollan generalmente en la etapa embriogénica.¹⁵⁹ Una de las estrategias más sencillas para la búsqueda de estas alteraciones es la observación de posibles defectos externos por comparación con individuos sanos. Las siete reabsorciones que se reportaron en la inspección de los cuernos uterinos de las ratas gestadas del grupo SME se correspondieron a 4 tempranas y 3 tardías (16 % de los fetos provenientes del grupo SME), aspecto que contrasta con la ausencia total de esta alteración en los descendientes del grupo Sanas.

El examen externo de los fetos detectó como alteración la presencia de hematomas en región dorsal, lateral y extremidades en un 28 %, solo en fetos del grupo de SME (Fig.12). Los hematomas observados en la inspección externa de los fetos provenientes del grupo

de SME concuerdan con los descritos por otros autores que relacionan a la DM2 con estas alteraciones.^{286, 287} Las mujeres gestadas con criterio de SM presentan altos valores de tensión arterial lo cual duplica el riesgo de sangrado en la descendencia.^{95,288} La presencia de estos hematomas en los fetos del grupo de progenitoras con SME, sugiere que estos animales tendrían una alta probabilidad de desarrollar accidentes vasculares en su desarrollo postnatal.

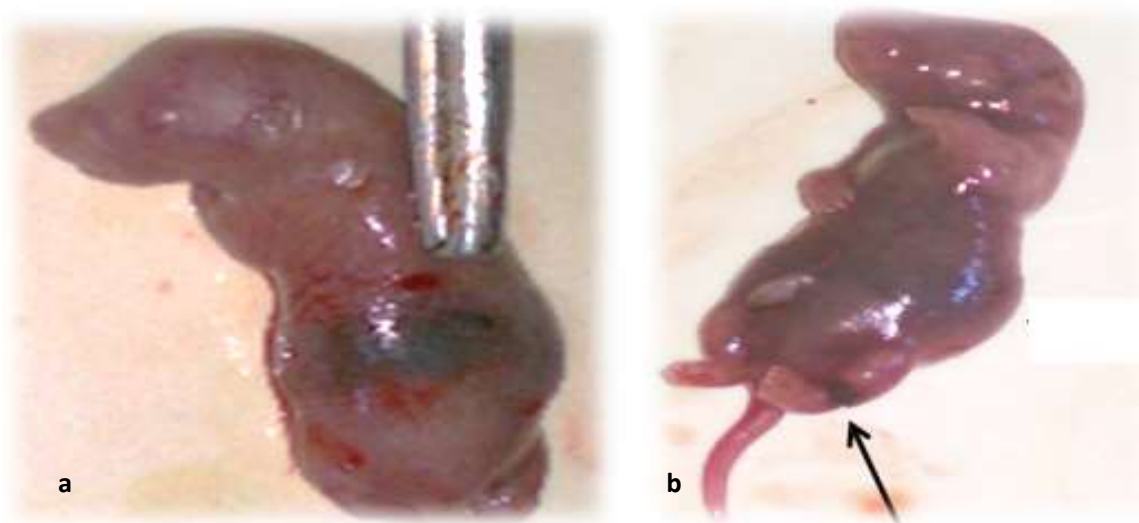


Fig. 12. Hematomas en fetos de progenitores con síndrome metabólico inducido hasta la semana 18 postnatal.

a: zona dorsal. b: extremidades.

3.5.3 Anomalías en tejido esquelético y blando

Dentro de las anomalías que se estudiaron para la determinación de defectos en el tejido esquelético solo se presentaron agenesia ósea en los grupos de experimentación, correspondientes a ausencias de esternones y xifoides (Fig.13).

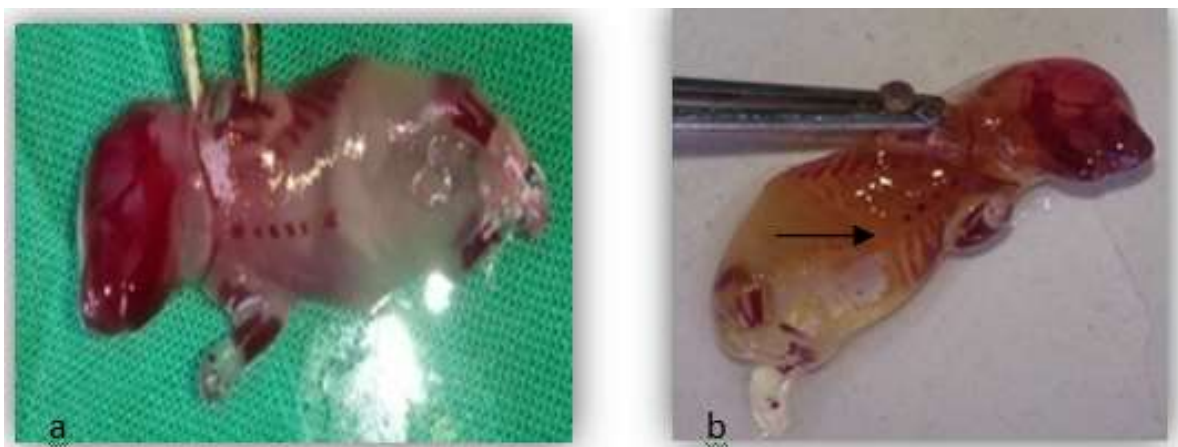


Fig. 13. Tejido esquelético de fetos de progenitores sanos y con síndrome metabólico inducido hasta la semana 18 postnatal.

a: osificación completa de las esterneras y xifoides en Sanos. b: osificación incompleta de las esterneras en feto del grupo SME. La flecha señala la ausencia de la quinta esternera y ausencia de xifoide.

De un total de 58 fetos estudiados se observaron 18 con ausencias de esterneras y 12 con ausencia de xifoides, lo que representó el 31,03 y 20,7 % respectivamente. La tabla 30 muestra la comparación entre los fetos de los dos grupos experimentales. El grupo de SME registró un 57,7 % de ausencia de esterneras y un 38,5 % de ausencia de xifoides, valores significativamente mayores al compararlo con el control sano ($\chi^2=0$).

Tabla 30. Alteraciones del tejido esquelético en fetos de ratas gestadas con 18 semanas de vida postnatal

Alteraciones observadas	Sanos (n=32)	SME (n= 26)	p
Ausencia de xifoide	2 (6,3)	10 (38,5)	0,003
Ausencia de esterneras	3 (9,4)	15 (57,7)	< 0,001
AE1	3 (9,4)	5 (19,2)	0,279
AE2	0 (0)	6 (23,1)	0,004
AE5	0 (0)	4 (15,4)	0,021

SME: síndrome metabólico experimental, AE1, 2 y 5: Ausencia de una esternera, dos esterneras y cinco esterneras, respectivamente. La comparación entre grupos se realizó con el test de Ji cuadrado (χ^2). Los valores entre paréntesis representan los porcentajes por grupo. Fuente: registro de recogida de datos.

Los resultados demuestran la sensibilidad del tejido óseo a la altura de la caja torácica a sufrir anomalías en el desarrollo del SM. Kaufman *et al.*²⁸⁹ sugieren el examen de estos huesos debido a que son los principales centros de osificación.

Algunos estudios declaran que el tipo de alimentación perinatal se asocia con alteraciones en la densidad ósea y los niveles de insulina en ratas *Wistar*.^{290,291} La obesidad en los progenitores también afecta la mineralización ósea de la descendencia.²⁹² El resultado obtenido permite inferir que el SM induce daño en tejido óseo fetal, específicamente en la fase del desarrollo embrionario, debido a que imposibilita el grado de osificación completa de las esternes y xifoides.

En la evaluación del tejido blando no se reportaron alteraciones significativas. Solo se observaron dilataciones de los ventrículos cerebrales en un feto proveniente de progenitores con SME (Fig. 14).

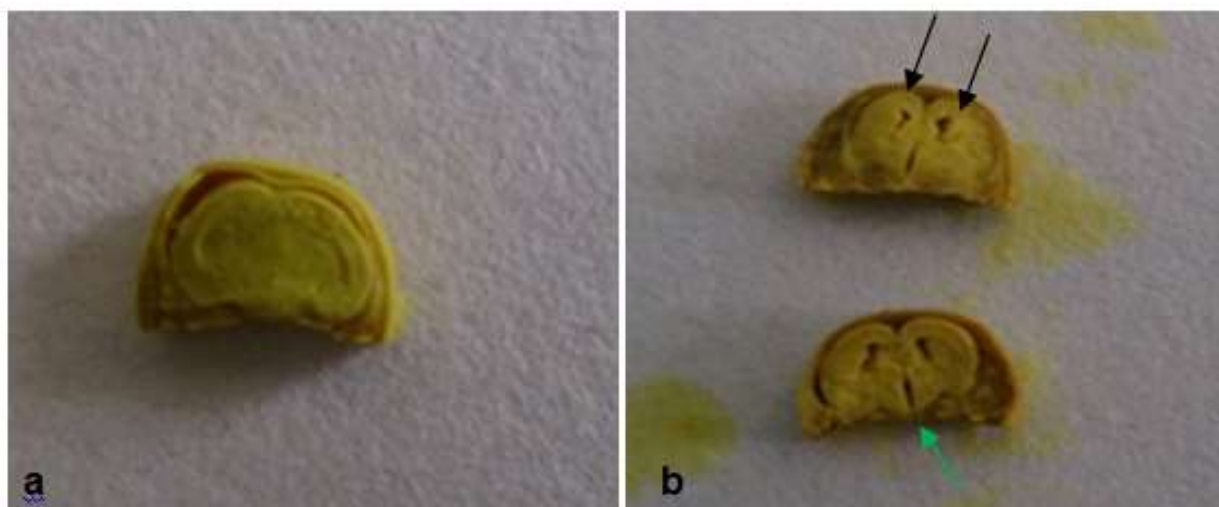


Fig. 14. Ventrículos cerebrales de fetos de progenitores sanos y con síndrome metabólico inducido hasta la semana 18 postnatal.

a: Ventrículos cerebrales normales en feto de progenitores sanos. b: Dilatación de los ventrículos cerebrales en feto de progenitores con SME. La flecha negra indica dilatación de los ventrículos laterales, la flecha verde indica dilatación del tercer ventrículo.

Este resultado puede estar asociado a hidrocefalia fetal, alteración causada en la mayoría de los casos por estenosis del acueducto de Silvio, lo que provocaría retención del líquido cefalorraquídeo (LCR) en los ventrículos cerebrales.²⁹³ La baja frecuencia de observación

de esta anomalía en este experimento, no permite asociar su aparición con el desarrollo del biomodelo. Estudios futuros serán necesarios para evaluar esta incidencia, posiblemente en fetos provenientes de progenitores con un SM más avanzado.

Los resultados obtenidos permiten identificar como las principales anomalías en los descendientes de progenitores con SM inducido por DRS hasta la semana 18 postnatal; al menor número y peso de fetos, mayor número de reabsorciones, presencia de hematomas y agenesia ósea.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

El biomodelo inducido por dieta rica en sacarosa desde la etapa intrauterina y hasta las 18 semanas postnatales define el establecimiento de un síndrome metabólico experimental en una etapa incipiente de su desarrollo, etapa extrapolable a la adolescencia en el ser humano.

El incremento del período de administración de la dieta rica en sacarosa hasta las 22 semanas de desarrollo postnatal, provocó agudización de las alteraciones fisiometabólicas y somáticas del síndrome metabólico experimental. Esta etapa, extrapolable a la adolescencia en el ser humano, se corresponde con un estado avanzado del SM y es susceptible a su diagnóstico a partir de la combinación de la hiperuricemia con la circunferencia abdominal.

En el modelo de síndrome metabólico experimental extrapolable a la adolescencia en el ser humano, se comprobó la efectividad de la actividad de la mieloperoxidasa sérica para evaluar la inflamación sistémica y de los parámetros histo-morfométricos que se utilizaron para determinar el daño endotelial, que define la disfunción endotelial aórtica.

Los fetos de progenitores con síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa y edad extrapolable a la adolescencia en el ser humano, tuvieron menor peso fetal y presentaron anomalías externas y defectos en la osificación, alteraciones que pueden afectar el desarrollo postnatal.

RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES

1. Diseñar una investigación que evalúe en la etapa postnatal el impacto del síndrome metabólico en descendientes de progenitores con síndrome metabólico experimental.
2. Diseñar y validar un Índice diagnóstico para el síndrome metabólico experimental que contemple los parámetros ácido úrico y circunferencia abdominal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martínez MP, Vergara ID, Molano KQ, Pérez MM, Ospina AP. Síndrome metabólico en adultos: Revisión narrativa de la literatura. Arch. de Medicina [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 28 mar]; 17(2): 4. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7848788>.
2. Lear S, Gasevic D. Ethnicity and metabolic syndrome: Implications for assessment, management and prevention. Nutrients [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 3 jul]; 12(1): 15. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/12/1/15>.
3. Myers J, Kokkinos P, Nyelin E. Physical activity, cardiorespiratory fitness, and the metabolic syndrome. Nutrients [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 3 jul]; 11(7): 1652. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/7/1652>.
4. Di Marzo V, Silvestri C. Lifestyle and metabolic syndrome: Contribution of the endocannabinoidome. Nutrients [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 3 jul]; 11: 1956. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31434293>.
5. McCracken E, Monaghan M, Sreenivasan S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. Dermatol Clin [serial on the Internet]. 2018 [cited 2023 25mar]; 36(1): 14-20. Disponible en: <https://pure.qub.ac.uk/en/publications/pathophysiology-of-the-metabolic-syndrome>.
6. Calcaterra V, Biganzoli G, Ferraro S, Verduci E, Rossi V, Vizzuso S, *et al.* A multivariate analysis of “metabolic phenotype” patterns in children and adolescents with obesity for the early stratification of patients at risk of metabolic syndrome. J. Clin. Med[serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 30 jun]; 11(7): 1856. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2077-0383/11/7/1856>.
7. Al-Hamad D, Raman V. Metabolic syndrome in children and adolescents. Translational pediatrics [serial on the Internet]. 2017 [cited 2023 22mar];6(4):397. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5682379/>.
8. Fall CH, Kumaran K. Metabolic programming in early life in humans. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol Sci [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 28mar]; 374(1770):20180123. Disponible en: <https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rstb.2018.0123>.
9. Rughani A, Friedman J, Tryggestad J. Type 2 diabetes in youth: the role of early life exposures. Curr Diab Rep [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 27mar]; 20(9): 45. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11892-020-01328-6>.
10. Zhu Z, Cao F, Li X. Epigenetic programming and fetal metabolic programming. Front. Endocrinol. [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 28mar]; 10: 764. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6901800/>.
11. Berrocal J, Gamez G, Martínez L, Redondo N, Diazgranados I, Acosta J. Epigenética y enfermedades crónicas no transmisibles. Arch de Medicina [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 28 mar]; 15(4):2. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7208783>.
12. Parra-Ruiz C, Prado G, Cerda D, Fernández J, Mallea C, Pardo V, *et al.* Obesidad parental y modificaciones epigenéticas en la descendencia. Rev Chil Nutr. [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 28mar]; 46(6):792-799. Disponible en:

- https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182019000600792&script=sci_arttext.
13. Méndez M, Ortega C, Soto M, AR T. Agnesia Sacra. Revista clínica de la escuela de medicina UCR-HSJD [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 3 jul]; 10(2): 1-8. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcliescmed/ucr-2020/ucr202a.pdf>.
14. França-Silva N, Oliveira N, Gonçalves D, Balbi A. Morphofunctional renal alterations in rats induced by intrauterine hyperglycemic environment. Arch Med Sci [serial on the Internet]. 2016 [cited 2022 23 nov];12(2):243-251. Disponible en: <https://www.termidia.pl/Journal/-19/pdf-24358-10?filename=morphofunctional.pdf>.
15. Persson M, Razaz N, Bonamy A, Villamor E, Cnattingius S. Maternal overweight, obesity, and risk of congenital heart defects. J Amer Col Card [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 12 jul]; 73(1):44-53. Disponible en: <https://www.jacc.org/doi/abs/10.1016/j.jacc.2018.10.050>.
16. Wang H, Lee D, Liu M, Portincasa P, Wang D. Novel Insights into the Pathogenesis and Management of the Metabolic Syndrome. Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 21 jun]; 23(3):189-230. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7231748/>.
17. Frangie C, Daher J. Role of myeloperoxidase in inflammation and atherosclerosis. Biomed Rep [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 22 may]; 16(6): 1-11. Disponible en: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/br.2022.1536>.
18. Davies M, Hawkins C. The Role of Myeloperoxidase in biomolecule modification, chronic inflammation, and disease. antioxid. redox signal [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 22 jun]; 32(13): 957-981. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ars.2020.8030>.
19. Ferri J, Navarro I, Alabadí B, Bosch-Sierra N, Benito E, Civera M, *et al*. Gender differences on oxidative stress markers and complement component C3 plasma values after an oral unsaturated fat load test. Clin Investig Arterioscler.(English Edition) [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 22 may]; 32(3):87-93. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2529912320300346>
20. Escalona J, Barajas A, Alfaro O, Estrada F, Ángeles M, Ubaldo-Reyes L. Modelos animales en el estudio del síndrome metabólico. Rev Esp Cienc Quím Biol [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 18 jun]; 24:1-12. Disponible en: <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.373>.
21. Battelli M, Bortolotti M, Polito L, Bolognesi A. Metabolic syndrome and cancer risk: the role of xanthine oxidoreductase. Redox Biol[serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 28 mar]; 21:101070. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213231718310528>.
22. Lasker S, Rahman M, Parvez F, Zamila M, Miah P, Nahar K, *et al*. High-fat diet-induced metabolic syndrome and oxidative stress in obese rats are ameliorated by yogurt supplementation. Sci Rep [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 21 may]; 9(1): 1-15. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1038/s41598-019-56538-0.pdf>.

23. Nishikawa M, Ohara N, Naito Y, Saito Y, Amma C, Tatematsu K, *et al.* Rape seed (canola) oil aggravates metabolic syndrome-like conditions in male but not in female stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP). *Toxicol Rep* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 28 jun]; 9:256-268. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35242585/>.
24. Xu S, Ilyas I, Little P, Li H, Kamato D, Zheng X, *et al.* Endothelial dysfunction in atherosclerotic cardiovascular diseases and beyond: from mechanism to pharmacotherapies. *Pharmacol Rev* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 28 jun]; 73(3):924-967. Disponible en: <https://pharmrev.aspetjournals.org/content/73/3/924.full>.
25. Tran V, De Silva T, Sobey C, Lim K, Drummond G, Vinh A, *et al.* The vascular consequences of metabolic syndrome: rodent models, endothelial dysfunction, and current therapies. *Front. Pharmacol* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 12 jul]; 11:148. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2020.00148/full>.
26. DeBoer M. Assessing and managing the metabolic syndrome in children and adolescents. *Nutrients* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 3 jul]; 11: 1788. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/8/1788>.
27. Kylien E. Studien Hypertonie-Hyperglykämie-Hyperurikämiesyndrome. *Zentralblatt für Innere Medizin*. 1923; 44:22-29.
28. Vague J. Sexual differentiation. A factor affecting the forms of obesity. *Presse Medicale*. 1947; 30:339–340.
29. Avogaro P, Crepaldi G. Essential hyperlipidemia, obesity and diabetes. *Diabetologia*. 1965; 1:137-137.
30. Reaven G. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* [serial on the Internet]. 1988 [cited 2023 12 jul]; 37(12):1597-1607. Disponible en: <https://diabetesjournals.org/diabetes/article/37/12/1595/8592/Role-of-Insulin-Resistance-in-Human-Disease>.
31. Zimmet P, Alberti K, Ríos M. Una nueva definición mundial del síndrome metabólico propuesta por la Federación Internacional de Diabetes: Fundamento y resultados. *Rev Esp de Cardiol* [serial on the Internet]. 2005 [cited 2023 12 jul]; 58(12): 1371-1376. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/s0300-8932\(05\)74065-3](https://doi.org/10.1016/s0300-8932(05)74065-3).
32. Grundy S, Cleeman J, Daniels S. Diagnosis and management of the metabolic syndrome. An American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* [serial on the Internet]. 2005 [cited 2018 16 ene]; 112: 5. Disponible en: <https://circ.ahajournals.org/content/112/17/2735.full.pdf+html>.
33. Alberti K, Eckel R, Grundy S, Zimmet P, Cleeman J, Donato K, *et al.* Harmonizing the Metabolic Syndrome A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention. *Circulation* [serial on the Internet]. 2009 [cited 2023 12 jul]; 120(16):1640-1645. Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>.
34. Alberti K, Zimmet P. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet. Med* [serial on the Internet]. 1998 [cited 2023 12 jul]; 15(7):539-553. Disponible en:

- [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/\(SICI\)1096-9136\(199807\)15:7%3C539::AID-DIA668%3E3.0.CO;2-S](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/(SICI)1096-9136(199807)15:7%3C539::AID-DIA668%3E3.0.CO;2-S).
35. Balkau B. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet. Med.* [serial on the Internet]. 1999 [cited 2023 13 agost]; 16:442-443. Disponible en: <https://cir.nii.ac.jp/crid/1571980074917580160>.
36. Expert Panel on Detection E. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on Detection, Evaluation, and Treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* [serial on the Internet]. 2001 [cited 2023 12 jul]; 285(19): 2486-2497. Disponible en: <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/193847>.
37. Grundy S, Brewer Jr H, Cleeman J, Smith Jr S, Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* [serial on the Internet]. 2004 [cited 2023 12 jul]; 109(3):433-438. Disponible en: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/01.CIR.0000111245.75752.C6>.
38. Organización Mundial de la Salud O. Aceleración mundial de las medidas para promover la salud de los adolescentes (Guía AA-HA!): Orientación para la aplicación en los países. Organización Panamericana de la Salud [serial on the Internet]. 2018 [cited 2023 23 may]: Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/49181>
39. Zimmet P, Alberti G, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, *et al.* The metabolic syndrome in children and adolescents. *Lancet* [serial on the Internet]. 2007 [cited 2023 13 jul]; 369(9579):2059-2061. Disponible en: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(07\)60958-1/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(07)60958-1/fulltext).
40. Carvajal-Carvajal C. Síndrome metabólico: definiciones, epidemiología, etiología, componentes y tratamiento. *Med Leg Costa Rica* [serial on the Internet]. 2017 [cited 2023 28mar]; 34(1): 175-193. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1409-00152017000100175&script=sci_arttext&tlng=en.
41. Gadekar T, Dudeja P, Basu I, Vashisht S, Mukherji S. Correlation of visceral body fat with waist-hip ratio, waist circumference and body mass index in healthy adults: A cross sectional study. *Med J. Armed Forces India* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 24 may]; 76(1):41-46. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0377123717311978>
42. Wei J, Liu X, Xue H, Wang Y, Shi Z. Comparisons of visceral adiposity index, body shape index, body mass index and waist circumference and their associations with diabetes mellitus in adults. *Nutrients* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 24 may]; 11(7):1580. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/7/1580>.
43. Wan H, Wang Y, Xiang Q, Fang S, Chen Y, Chen C, *et al.* Associations between abdominal obesity indices and diabetic complications: Chinese visceral adiposity index and neck circumference. *Cardiovasc. Diabetol* [serial on the Internet]. 2020; 19(1): 1-12. Disponible en: <https://cardiab.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12933-020-01095-4>.
44. Christakoudi S, Tsilidis K, Muller D, Freisling H, Weiderpass E, Overvad K, *et al.* A Body Shape Index (ABSI) achieves better mortality risk stratification than alternative indices of abdominal obesity: results from a large. *European Cohort Sci Rep* [serial

- on the Internet]. 2020 [cited 2023 23 may]; 10(1): 1-15. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1038/s41598-020-71302-5.pdf>.
45. Wang K, He G, Zhang Y, Yin J, Yan Y, Zhang Y, *et al*. Association of triglyceride-glucose index and its interaction with obesity on hypertension risk in Chinese: a population-based study. *J. Hum. Hypertens.* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 23 may]; 35(3): 232-239. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41371-020-0326-4>.
46. Ramírez C, Muñoz N, González E, Luna O, Santana A, Muñoz C. Adiposidad de la pared abdominal anterior en gestantes de peso adecuado y crecimiento fetal. *Acta Méd Centro* [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 13 jul];17(2):275-285. Disponible en: <https://revactamedicacentro.sld.cu/index.php/amc/article/view/1712>.
47. Noubiap J, Nansseu J, Lontchi-Yimagou E, Nkeck J, Nyaga U, Ngouo A, *et al*. Geographic distribution of metabolic syndrome and its components in the general adult population: A meta-analysis of global data from 28 million individuals. *Diabetes Res. Clin. Pract* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 3 jul]; 188:109924. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168822722007380>.
48. Ponte-Negretti C, Wyss Fernando S, Piskorz D, *et al*. Latin American Consensus on management of residual cardiometabolic risk. A consensus paper prepared by the Latin American Academy for the Study of Lipids and Cardiometabolic Risk (ALALIP) endorsed by the Inter-American Society of Cardiology (IASC), the International Atherosclerosis Society (IAS), and the Pan-American College of Endothelium (PACE). *Arch Cardiol Méx* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 3 jul];92(1):99-112. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-99402022000100099&lng=es.
49. Morseth B, Geelhoed B, Linneberg A, Johansson L, Kuulasmaa K, Salomaa V, *et al*. Age-specific atrial fibrillation incidence, attributable risk factors and risk of stroke and mortality: results from the MORGAM Consortium. *Open Heart* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 13 jul]; 8(2): e001624. Disponible en: <https://openheart.bmj.com/content/8/2/e001624.abstract>.
50. Ahmadi N, Sadr S, Mohammadi M, Mirzaei M, Mehrparvar A, Ardekani S, *et al*. Prevalence of abdominal obesity and metabolic syndrome in children and adolescents: a community based cross-sectional study. *Iran. J. Public Health* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 30 jun]; 49(2): 360. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7231702/>.
51. Qatanani M, Laza M. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. *Genes Dev* [serial on the Internet]. 2021 [citado 2023 12 jul]; 21:1443-55. Disponible en: <https://genesdev.cshlp.org/content/21/12/1443.short>
52. Hernandez- Tamayo M, Soca PEM, Hidalgo MM, Graña TR, & Escofet SN. Caracterización del síndrome metabólico en pacientes adultos con obesidad. *MEDISAN* [serial on the Internet]. 2012 [citado 2023 12 jul];16(3): 341-347. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192012000300005&lng=es&nrm=iso

53. Rivero-Sabournin D, Chávez-Vega R, Folgueiras-Pérez D. Prevalencia del síndrome metabólico en la población de dos consultorios del Policlínico “Primero de Enero”. *Rev Cubana Med* [serial on the Internet]. 2020 [citado 2023 12 jul];59(4):e1561-e1561. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232020000400008.
54. Negreira I, Sablón I, Castro R, Miño M. Comportamiento del síndrome metabólico en niños y adolescentes con malnutrición por exceso. *Municipio Camagüey. Panorama Cuba y Salud* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 12 jul]; 14(S1):6-9. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=96293>.
55. Artiles S, Sarasa M, Machado D, Álvarez G, Cañizares L, Orozco M. Adiposidad abdominal determinada por ultrasonido y antropometría en gestantes adolescentes y adultas. *Medicentro*. [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 21 agost]; 24(1):19-36. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=92422>.
56. Sinn D, Kang D, Choi S, Hong Y, Zhao D, Guallar E, *et al*. Nonalcoholic fatty liver disease without metabolic-associated fatty liver disease and the risk of metabolic syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 13 jul]; 21(7): 1873-1880. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1542356522009120>.
57. Borel A. Sleep apnea and sleep habits: Relationships with metabolic syndrome. *Nutrients* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 3 jul]; 11:2628. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31684029>.
58. Lechner K, McKenzie A, Kränkel N, Von-Schacky C, Worm N, Nixdorff U, *et al*. High-risk atherosclerosis and metabolic phenotype: the roles of ectopic adiposity, atherogenic dyslipidemia, and inflammation. *Metab Syndr Relat Disord* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 12 jul]; 18(4):176-185. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/full/10.1089/met.2019.0115>.
59. Gormez S, Erdim R, Akan G, Caynak B, Duran C, Gunay D, *et al*. Relationships between visceral/subcutaneous adipose tissue FABP4 expression and coronary atherosclerosis in patients with metabolic syndrome. *Cardiovasc Pathol* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 12 jul]; 46:107192. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1054880719303576>.
60. Quayle L, Owiredu W, Amidu N, Dapare P, Adams Y. Comparative abilities of Body Mass Index, waist circumference, abdominal volume Index, Body Adiposity Index and Conicity Index as predictive screening tools for metabolic syndrome among apparently healthy ghanaian adults. *J Obes* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 12 jul]; 8143179. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31565431/>.
61. Perona J, Schmidt Rio-Valle J, Ramírez-Vélez R, Correa-Rodríguez M, Fernández-Aparicio Á, González-Jiménez E. Waist circumference and abdominal volume index are the strongest anthropometric discriminators of metabolic syndrome in spanish adolescents. *Eur J Clin Invest* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 30 jun]; 49(3): e13060. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/eci.13060>.
62. Xi B, Zong X, Kelishadi R, Litwin M, Hong Y, Poh B, *et al*. International waist circumference percentile cutoffs for central obesity in children and adolescents aged

- 6 to 18 years. J Clin Endocrinol Metab [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 12 jul]; 105(4): e1569-e1583. Disponible en: <https://academic.oup.com/jcem/article/105/4/e1569/5625521>.
63. Ejtahed H, Kelishadi R, Qorbani M, Motlagh M, Hasani-Ranjbar S, Angoorani P, *et al*. Utility of waist circumference-to-height ratio as a screening tool for generalized and central obesity among Iranian children and adolescents: the CASPIAN-V study. Pediatr Diabetes [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 12 jul]; 20:530-537. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/pedi.12855>.
64. Gugliucci A, Rodríguez-Mortera R. Fructosa, un factor clave modificable en la patogenia del síndrome metabólico, la esteatosis hepática y la obesidad. Rev Méd Urug [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 21 jun]; 36(4):418-430. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?pid=S1688-03902020000400204&script=sci_arttext.
65. Ahmed B, Sultana R, Greene M. Adipose tissue and insulin resistance in obese. Biomed. Pharmacother, [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 13 jul]; 137: 111315. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332221001001>.
66. Kunz H, Hart C, Gries K, Parvizi M, Laurenti M, Dalla Man C, *et al*. Adipose tissue macrophage populations and inflammation are associated with systemic inflammation and insulin resistance in obesity. Am J Physiol Endocrinol Metab[serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 13 jul]; 321(1):E105-E121. Disponible en: <https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/ajpendo.00070.2021>.
67. Ndrepepa G. Myeloperoxidase-A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. Clin Chim Acta [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 13 jul]; 493:36-51. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0009898119300841>.
68. Theofilis P, Sagris M, Oikonomou E, Antonopoulos A, Siasos G, Tsioufis C, *et al*. Inflammatory mechanisms contributing to endothelial dysfunction. Biomedicines [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 28 jun]; 9: 781. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2227-9059/9/7/781>.
69. Urquiza G, Arteaga R, Chacón P. Utilidad de los reactantes de fase aguda en el diagnóstico clínico. Rev Med La Paz [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 26 jun]; 25(2): 91-98. Disponible en: http://scielo.org.bo/pdf/rmcmlp/v25n2/v25n2_a13.pdf.
70. Shim K, Begum R, Yang C, Wang H. Complement activation in obesity, insulin resistance, and type 2 diabetes mellitus. World J Diabetes [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 28 jun]; 11(1):1-12. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6927818/>.
71. Moreno-Nacarrete J, Fernández-Real J. The complement system is dysfunctional in metabolic disease: Evidences in plasma and adipose tissue from obese and insulin resistant subjects. Semin Cell Dev Biol [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 28 jun]; 85:164-172. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1084952117301325>.
72. Han J, Zhang X. Complement component C3: A novel biomarker participating in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. Front Med [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 28 jun]; 8:653293. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2021.653293/full>.

73. Aguilar-Salinas C, Viveros-Ruiz T. Recent advances in managing/understanding the metabolic syndrome. F1000Research [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 13 jul]; 8:370. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6449786/>.
74. Nolan C, Prentki M. Insulin resistance and insulin hypersecretion in the metabolic syndrome and type 2 diabetes: Time for a conceptual framework shift. Diab Vasc Dis Res [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 12 jul]; 16(2): 118-127. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1479164119827611>.
75. Petersen M, Shulman G. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. Physiol Rev [serial on the Internet]. 2018 [cited 2023 12 jul]; 98:2133–223. Disponible en: https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physrev.00063.2017?gh_jid=5284564003
76. Mancusi C, Izzo R, di Gioia G, Losi M, Barbato E, Morisco C. Insulin resistance the hinge between hypertension and type 2 diabetes. High Blood Press Cardiovasc Prev [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 2 jul]; 27:515-526. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40292-020-00408-8>.
77. Kuo F, Cheng K, Li Y, Cheng J. Oral glucose tolerance test in diabetes, the old method revisited. World J Diabetes [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 2 jul]; 12(6):786. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8192259/>.
78. Kaga H, Tamura Y, Takeno K, *et al*. Shape of the glucose response curve during an oral glucose tolerance test is associated with insulin clearance and muscle insulin sensitivity in healthy non-obese men. J Diabetes Investig. [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 2 jul]; 11:874-877. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jdi.13227>
79. Dikaiakou E, Athanasouli F, Fotiadou A, Kafetzi M, Fakiolas S, Michalacos S, *et al*. Hypertriglyceridemic waist phenotype and its association with metabolic syndrome components, among greek children with excess body weight. Metabolites [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 30 jun]; 13(2): 230. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2218-1989/13/2/230>.
80. Prieto G. El Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona. Arqueología conceptual de uno de los grandes paradigmas biomédicos de todos los tiempos. Venezolana de Medicina Interna [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 2 jul]; 38: 76-83. Disponible en: https://svmi.web.ve/wp-content/uploads/2022/12/Revista-Volumen-38-na-2_SVMI-4.pdf#page=13.
81. Franco L, Pérez D, Regal M, Martínez C, Leyva L, Olivero A. Mecanismos fisiopatológicos de asociación entre síndrome metabólico e hipertensión arterial: una actualización. Finlay [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 4 jul]; 13(1): 95-103. Disponible en: <https://revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/1078>.
82. Céspedes-Miranda E, Rodríguez-Guzmán R, Suárez-Castillo N. Ácido úrico en la disfunción endotelial y la insulinoresistencia en la enfermedad cardiovascular. Rev Cubana Invest Bioméd [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 28 jun]; 38(4):e241. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002019000400013&lng=es.
83. Carvajal-Carvajal C. El endotelio: estructura, función y disfunción endotelial. Med Leg Costa Rica [serial on the Internet]. 2017 [cited 2023 21 agost]; 34(2):90-100.

- Disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152017000200090&lng=en.
84. Krüger-Genge A, Blocki A, Franke R, Jung F. Vascular endothelial cell biology: an update. *Int J Mol Sci* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 21 agosto];20(18):4411. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/18/4411>.
 85. Ramírez-Guerrero J. El endotelio. *Rev Mex Anest* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 21 agosto]; 42(Suppl: 1):44-46. Disponible en: <https://www.mediagraphic.com/pdfs/rma/cma-2019/cmas191o.pdf>.
 86. Haybar H, Shahrabi S, Rezaeeyan H, Shirzad R, Saki N. Endothelial cells: from dysfunction mechanism to pharmacological effect in cardiovascular disease. *Cardiovasc Toxicol* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 21 agosto];19:13-22. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12012-018-9493-8>.
 87. Martín A, Gómez A, Lahoz A, Escudero J. Inflamación, activación del endotelio vascular y trombosis. *Medicina-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 4 jul]; 13(33):1906-1916. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304541221001293>
 88. Taskinen M, Packard C, Borén J. Dietary fructose and the Metabolic Syndrome. *Nutrients* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 12 jul]; 11(9): 1987. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/9/1987>.
 89. Sciolì M, Storti G, D'Amico F, Rodríguez R, Centofanti F, Doldo E, *et al.* Oxidative stress and new pathogenetic mechanisms in endothelial dysfunction: potential diagnostic biomarkers and therapeutic targets. *J Clin Med* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 4 jul]; 9(6): 1995. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/6/1995>.
 90. Mallick R, Duttaroy A. Modulation of endothelium function by fatty acids. *Mol. Cell. Biochem* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 12 jul]; 477(1):15-38. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11010-021-04260-9>
 91. Pinilla A. Papel del glicocáliz como marcador de la disfunción endotelial secundaria al daño por isquemia reperusión [Tesis Doctoral]: Universidad Complutense de Madrid; 2021 [cited 2023 13 jul]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/dctes?codigo=306043>
 92. Dubchenko E, Ivanov A, Spirina N, Smirnova N, Melnikov M, Boyko A, *et al.* Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in multiple sclerosis. *Brain Sci*[serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 4 jul]; 10(9): 637. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-3425/10/9/637>.
 93. Zeineddin A, Dong JF, Wu F, Terse P, Kozar R. Role of von Willebrand factor after injury: it may do more than we think. *Shock* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 13 jul]; 55(6):717-722. Disponible en: https://journals.lww.com/shockjournal/Fulltext/2021/06000/Role_of_Von_Willebrand_Factor_after_Injury_It_May.3.aspx?context=FeaturedArticles&collectionId=1.
 94. Tranidou A, Dagklis T, Tsakiridis I, Siargkas A, Apostolopoulou A, Mamopoulos A, *et al.* Risk of developing metabolic syndrome after gestational diabetes mellitus-a systematic review and meta-analysis. *J Endocrinol Invest* [serial on the Internet].

- 2021 [cited 2023 13 jul]; 44: 1139-1149. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40618-020-01464-6>.
95. León C, Bolaños N, Vallejo C, Vásquez J, Rivero A, González M. Diabetes gestacional: factores de riesgo y complicaciones perinatales. Rev Obstet Ginecol Venez [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 2 jul]; 82(1): 33-46. Disponible en: <https://www.sogvzla.org/wp-content/uploads/2022/04/6-AO-82-1-Diabetes-gestacionala.pdf>.
96. Parretti S, Caroli A, Torlone E. Nutrition and metabolic adaptations in physiological and complicated pregnancy: focus on obesity and gestational diabetes. Front Endocrinol [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 13 jul]; 11:611929. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2020.611929/full>.
97. Godfrey K, Reynolds R, Prescott S, Nyirenda M, Jaddoe V, *et al.* Influence of maternal obesity on the long-term health of offspring. Lancet Diabetes Endocrinol [serial on the Internet]. 2017 [cited 2023 12 jul]; 5(1):53-64. Disponible en: [https://www.thelancet.com/journals/landia/article/PIIS2213-8587\(16\)30107-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/landia/article/PIIS2213-8587(16)30107-3/fulltext).
98. Sarasa-Muñoz N, Cruz-Pérez B, Artiles-Santana A. Resistencia a la insulina y excesos ponderales al inicio de la gestación en mujeres sanas. Medicentro Electrónica [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 21 agosto]; 24(1):192-197. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30432020000100192&lng=es.
99. Al Hadid L, Z Al-Rajabi O, Al Barmawi M, AL-Sagarat A. The Relationship Between Maternal Obesity with Pregnancy-Associated Hypothyroidism, Fetal Health, and Pregnancy Outcomes. J Holist Nurs Midwifery [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 13 jul]; 33(3):31-40. Disponible en: https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:ELoxrz0x39MJ:scholar.google.com/+Maternal+obesity++risk+deffects+offspring&hl=es&as_sdt=0,5&as_ylo=2019.
100. Shrestha N, Ezechukwu H, Holland O, Hryciw D. Developmental programming of peripheral diseases in offspring exposed to maternal obesity during pregnancy. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 13 jul]; 319(5): R507-R516. Disponible en: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpregu.00214.2020>.
101. Padrón-Aguilera O, Santos-Solí M, Vázquez-Martínez V, Torres-González C, Barberis-Pérez G. Diabetes y malformaciones congénitas. Cienfuegos, 2005-2015. MediSur [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 13 jul]; 17(5):633-640. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2019000500633.
102. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, *et al.* Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. Cell. [serial on the Internet]. 2010 [cited 2023 13 jul]; 142(2): 296-308. Disponible en: [https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674\(10\)00621-5](https://www.cell.com/fulltext/S0092-8674(10)00621-5).
103. Hevia-Bernal D, Perea-Hevia L. Embarazo y adolescencia. Rev Cubana Pediatr [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 13 jul]; 92(4): 1290. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75312020000400002&script=sci_arttext&lng=es.

104. Vega L, Rivero T, Ygualada J, Ygualada S, Alemán A, Ley M. Embarazo en la adolescencia y factores de riesgo cardiovascular. *Acta Méd Centro* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 23 may]; 13(2):174-184. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medicadelcentro/mec-2019/mec192e.pdf>.
105. Anuario de Salud Pública de Cuba. Edición 49. Versión Digital. 2020 [cited 2023 23 may];22. Disponible en: <https://salud.msp.gob.cu>
106. Daniel-Díaz J, Pérez-de-Zayas K, Hernández-Rodríguez M, Carvajal-Rivero M, Ramos-Pérez M. Factores de riesgo para defectos congénitos en embarazadas adolescentes del municipio Camagüey. *Revista Electrónica Dr Zoilo E Marinello Vidaurreta* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 23 may]; 46(5):2861. Disponible en: <https://revzoilomarinellosld.sld.cu/index.php/zmv/article/view/2861>
107. Arrién M, Barrios M, Ceballos M, López M. Embarazo en la adolescencia y defectos congénitos. Estudio de 20 años en Matanzas. *Convención Internacional de Salud, Cuba Salud* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 23 may]: Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=0CAIQw7AJahcKEwiAmpaM9e2AAxUAAAAAHQAAAAAQAg&url=https%3A%2F%2Fconvencionsalud.sld.cu%2Findex.php%2Fconvencionsalud22%2F2022%2Fpaper%2Fdownload%2F2025%2F1539&psig=AOvVaw2XOQgvOuWyDtdkKdvDEgZY&ust=1692712839301580&opi=89978449>.
108. Robinson N, Krieger K, Khan F, Huffman W, Chang M, Naik A, *et al*. The current state of animal models in research: A review *Int J Surg* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 13 jul]; 72:9-13. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1743919119302808/pdf>.
109. Jota-Baptista C, Faustino-Rocha A, Oliveira P. Animal models in pharmacology: A brief history awarding the nobel prizes for physiology or medicine. *Pharmacol Ther* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 13 jul]; 106(7-8):356-368. Disponible en: <https://karger.com/pha/article/106/7-8/356/267653/Animal-Models-in-Pharmacology-A-Brief-History>.
110. Luján H. Medicina Traslacional: un nuevo nombre para una antigua práctica. *Methodo Investigación Aplicada a las Ciencias Biológicas* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 13 jul]; 4(4):106-107. Disponible en: <methodo.ucc.edu.ar/index.php/methodo/article/view/143/154>
111. Rodríguez-Correa E, González-Pérez I, Clavel-Pérez P, Contreras-Vargas Y, Carvajal K. Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: what is the best choice? *Nutr. Diabetes* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 4 jul]; 10(1):24. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41387-020-0127-4>.
112. Mukherjee P, Roy S, Ghosh D, Nandi S. Role of animal models in biomedical research: a review. *Lab Anim Res* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 14 jul]; 38(1): 18. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1186/s42826-022-00128-1>.
113. Regufe V, Pinto C, Perez P. Metabolic syndrome in type 2 diabetic patients: A review of current evidence. *Porto Biomed J* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 4 jul]; 5(6): e101-e101. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7721212/>.
114. Ramírez-López L, Aguilera A, Rubio C, Aguilar-Mateus Á. Síndrome metabólico: una revisión de criterios internacionales. *Rev Colomb de Cardiol* [serial on the Internet].

- 2021 [cited 2023 14 jul]; 28(1):60-66. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-56332021000100060&script=sci_arttext.
115. Clifton P. Metabolic syndrome-role of dietary fat type and quantity. *Nutrients* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 3 jul]; 11(7): 1438. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/7/1438>.
116. Carvallo P, Carvallo E, arbosa-da-Silva S, Mandarim-de-Lacerda C, Hernández A, del-Sol M. Efectos metabólicos del consumo excesivo de fructosa añadida. *Int J Morphol* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 13 jul]; 37(3):1058-1066. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-95022019000301058&script=sci_arttext.
117. Vrana A, Fabry P, Slabochova Z, Kazdova L. Effect of dietary fructose on free fatty acid release from adipose tissue and serum free fatty acid concentration in the rat. *Ann Nutr Metab* [serial on the Internet]. 1974 [cited 2023 13 jul]; 17(2): 74-83. Disponible en: <https://karger.com/anm/article-abstract/17/2/74/379671/Effect-of-Dietary-Fructose-on-Free-Fatty-Acid>.
118. Softic S, Stanhope K, Boucher J, Divanovic S, Lanaspa M, Johnson R, *et al*. Fructose and hepatic insulin resistance. *Crit Rev Clin Lab Sci* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 13 jul]; 57(5):308-322. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408363.2019.1711360>.
119. Carvajal C. Síndrome metabólico: definiciones, epidemiología, etiología, componentes y tratamiento. *Med Leg Costa Rica* [serial on the Internet]. 2017 [cited 2023 13 jul];34(1):175-93. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1409-00152017000100175&script=sci_arttext&lng=en
120. Mortera R, Bains Y, Gugliucci A. Fructose at the crossroads of the metabolic syndrome and obesity epidemics. *Front Biosci* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 4 jul]; 24(2):186-211. Disponible en: <https://www.imrpress.com/journal/FBL/24/2/10.2741/4713/htm>.
121. Chan A, Ng A, Mohd Yunus M, Idrus R, Law J, Yazid M, *et al*. Recent developments in rodent models of high-fructose diet-induced metabolic syndrome: A systematic review. *Nutrients* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 14 jul]; 13(8): 2497. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/8/2497>.
122. Souza-Cruz E, Bitencourt de Moraes J, Dalto da Rosa C, *et al*. Long-term sucrose solution consumption causes metabolic alterations and affects hepatic oxidative stress in Wistar rats. *Biology Open* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 14 jul];9(3):bio047282. Disponible en: <https://journals.biologists.com/bio/article/9/3/bio047282/222748/Long-term-sucrose-solution-consumption-causes>.
123. Miyazaki M, Dobrzyn A, Man W, Chu K, Sampath H, Kim H, *et al*. Stearoyl-CoA desaturase 1 gene expression is necessary for fructose-mediated induction of lipogenic gene expression by sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent an independent mechanisms. *J Biol Chem* [serial on the Internet]. 2004 [cited 2023 13 jul]; 279(24): 25164-25171. Disponible en: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(20\)66413-4/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(20)66413-4/fulltext).
124. D'Alessandro M, Chicco A, Basabe J, Lombardo Y. Relación lípidos y resistencia insulínica en un modelo experimental de dislipemia inducido por dieta rica en

- sacarosa. Rev Argent Endocrinol Metab [serial on the Internet]. 2006 [cited 2022 23 nov]; 43(1):3-15. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Maria-D-Alessandro/publication/286839787_Relationship_between_lipid_and_insulin_resistance_in_an_experimental_model_of_dyslipidemia/links/5d61a628299bf1f70b0aa1c9/Relationship-between-lipid-and-insulin-resistance-in-an-experimental-model-of-dyslipidemia.pdf.
125. Pedro PF, Tsakmaki A, Bewick G. The glucose tolerance test in mice. Animal Models of Diabetes: Methods and Protocols [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 24 may]:207-216. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32180195/>.
126. Jagannathan R, Neves J, Dorcely B, Chung, ST, Tamura, K, Rhee, Met *al*. The oral glucose tolerance test: 100 years later. Diabet Metab Syndr Ob [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 24 may]:3787-3805. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2147/DMSO.S246062>.
127. Geißler C, Krause C, Neumann A, Britsemmer J, Taege N, Grohs M, *et al*. Dietary induction of obesity and insulin resistance is associated with changes in Fgf21 DNA methylation in liver of mice. J Nutr Biochem [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 24 may]; 100:108907. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955286321003272>.
128. Daniels T, Sadovnikoff A, Ridout K, Lesseur C, Marsit C, Tyrka A. Associations of maternal diet and placenta leptin methylation. Mol Cell Endocrinol [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 23 may]; 505:110739. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720720300393>
129. Rasmussen L, Knorr S, Antoniussen C, Bruun J, Ovesen P, Fuglsang J, *et al*. The impact of lifestyle, diet and physical activity on epigenetic changes in the offspring- A systematic review. Nutrients [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 24 may]; 13(8): 2821. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/13/8/2821>.
130. Nájera G, Barquero F, Bermúdez C. Relación epigenética entre la desnutrición materna y la diabetes mellitus tipo 2. Rev Méd Sinerg [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 13 jul]; 4(10):e278-e278. Disponible en: <https://www.revistamedicasinergia.com/index.php/rms/article/view/278>.
131. Hardy A, Quay R, Huson L. Estimation of age in the Norway rat (*Rattus norvegicus*) from the weight of the eye lens. J Appl Eco [serial on the Internet]. 1983 [cited 2023 23 may]; 20 (1):97-102. Disponible en: <https://www.jstor.org/stable/2403378>
132. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age with Human's. Int J Prev Med [serial on the Internet]. 2013 [cited 2023 13 jul]; 4(6):624 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3733029/>.
133. Tveden-Nyborg P, Bergmann T, Jessen N, Simonsen U, Lykkesfeldt J. BCPT policy for experimental and clinical studies. Basic Clin Pharmacol Toxicol [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 23 may]; 128(1):4-8. Disponible en: <https://findresearcher.sdu.dk/ws/portalfiles/portal/174126764/bcpt.13492.pdf>.
134. Pankakoski E. An improved method for age determination in the muskrat, *Ondatra zibethica* (L.). Ann Zool Fennici [serial on the Internet]. 1980 [cited 2023 13 jul]; (17): 113-121. Disponible en: <https://www.jstor.org/stable/23733736>.
135. Kohn L, Olson P, Cheverud J. Age of epiphyseal closure in tamarins and marmosets. Am J Primatol [serial on the Internet]. 1997 [cited 2023 13 jul]; 41: 129-139. Disponible en: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/\(SICI\)1098-2345\(1997\)41:2%3C129::AID-AJP5%3E3.0.CO;2-Z](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/(SICI)1098-2345(1997)41:2%3C129::AID-AJP5%3E3.0.CO;2-Z).

136. Sengupta P. Scientific review of age determination for a laboratory rat: How old is it in comparison with human age? Biomed Int [serial on the Internet]. 2011 [cited 2023 13 jul]; 2:81-89. Disponible en: https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:KLDPVmYkUZMJ:scholar.google.com/+Scientific+Review+of+Age+Determination+for+a+Laboratory+Rat:+How+old+is+it+in+comparison+with+Human+age%3F&hl=es&as_sdt=0,5.
137. Viera K, Márquez P. Utilización de animales en la investigación biomédica y médica. Revista Iberoamericana de Bioética [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 13 jul]; (12):1-19. Disponible en: <https://revistas.comillas.edu/index.php/bioetica-revista-iberoamericana/article/view/11780>.
138. Nguemfo E, Mbock A, Zangueu B, Magne A, Belle P, Dongmo A. Acute and subacute toxicity assessment of aqueous leaves extract of *Crassocephalum crepidioides* (Asteraceae) in Wistar rats. J Complement Integr Med [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 13 jul]; 18(2): 295-302. Disponible en: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/jcim-2020-0018/html>.
139. Quinn R. Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? Nutrition [serial on the Internet]. 2005 [cited 2023 13 jul]; 21:775-777. Disponible en: <https://www.proquest.com/openview/e19c9e1b9d5c9ee67377f83abc5764a1/1?pg-origsite=gscholar&cbl=105601>.
140. Baker H, Lindsey J, Weisbroth S. Appendix 1: selected normative data. En: Biology and diseases. The laboratory rat. [Internet]. New York: Academic Press; 1979 [cited 2023 13 jul]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/C2013-0-10325-x>
141. OECD. Test No. 421: Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4 OECD [Internet]; 2016 [cited 2023 13 oct]. Disponible en: <https://doi.org/10.1787/9789264264380-en>
142. Kilkenny C, Browne WC, IC, Emerson M, Altman D. Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE guidelines for Reporting Animal Research. Osteoarthritis Cartilage [serial on the Internet]. 2012 [cited 2023 13 jul]; 20(4):256-260. Disponible en: [https://www.oarsijournal.com/article/S1063-4584\(12\)00082-9/fulltext](https://www.oarsijournal.com/article/S1063-4584(12)00082-9/fulltext).
143. Decreto-Ley No. 31 de Bienestar Animal. Publicado en la Gaceta Oficial de la República de Cuba. 2021:37. Disponible en: <https://www.mined.gob.cu/wp-content/uploads/2022/01/goc-2021-ex25-.pdf>
144. Vercellini M, Principi G, Carbone C, Ayala M, Cagliada M. Analgesia, anestesia y eutanasia en animales de experimentación: Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP; 2021 [cited 2023 13 jul]. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/132350/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
145. González-Madariaga Y, Castillo-Alfonso O, Llerena-Bernal T, Alfonso-Perdomo O, de la Barca-Barrera M, González-Machado Y. Síndrome metabólico en ratas Wistar inducido por dieta rica en sacarosa. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana [serial on the Internet]. 2015 [cited 2023 08 oct]; 49(3):301-309. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/535/53542622003.pdf>.
146. Olfert E, Cross B, McWilliam A, et al. Anexo III: Physiological and nutritional parameters. In: Guide to the care and use of experimental animals. Canadian Council on Animal Care [serial on the Internet]; 1993 [cited 2023 08 oct]; 1. Disponible en: <http://www.ccac.ca>

147. Wong SK, Chin K-Y, Suhaimi FH, Ahmad F, Ima-Nirwana S. The effects of a modified high-carbohydrate high-fat diet on metabolic syndrome parameters in male rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* [serial on the Internet]. 2018 [cited 2023 16 may]; 126(04): 205-212. Disponible en: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0043-119352>.
148. Clemmensen KKB, Quist JS, Vistisen D, Witte DR, Jonsson A, Pederson O, Hansen T, Holst JJ, Lauritzen T, Jorgensen ME, Toreko S, Faerch K. Role of fasting duration and weekday in incretin and glucose regulation. *Endocrine Connections* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 16 oct]; 9(4):279-288. Disponible en: <https://doi.org/10.1530/EC-20-0009>.
149. Antunes L, Elkfury J, Jornada M, Foletto K, Bertoluci M. Validation of HOMA-IR in a model of insulin-resistance induced by a high-fat diet in Wistar rats. *Arch Endocrinol Metab* [serial on the Internet]. 2016 [cited 2023 16 may]; 60:138-142. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/aem/a/h4B3P8qNqYnRvL5vGT6rgSj/abstract/?lang=en>
150. Artiles A, Sarasa N, Del Pino U, Álvarez-Guerra E, Izaguirre E. Asociación entre variables ecográficas de adiposidad abdominal y variables analíticas y antropométricas aplicando análisis de correlación canónica en gestantes normopeso. *Gaceta Médica Espirituana* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 14 jul]; 23(2):39-52. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1608-89212021000200039&script=sci_arttext.
151. Nisa L, Waluya S, Mariani S. Implementation of APOS theory to encourage reflective abstraction on Riemann Sum. In *Journal of Physics: Conference Series* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 27 may]; 1567(3): 032014. Disponible en: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/1567/3/032014/meta>.
152. Woods A, Stirling J, Suvarna S. Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques. 2019:434-75.
153. Torregroza-Díazgranados E. Pruebas diagnósticas: Fundamentos de los estudios diagnósticos, evaluación de la validez e interpretación clínica de sus resultados. *Rev Colomb Cir* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 14 jul]; 36(2): 193-204. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S2011-75822021000200193&script=sci_arttext.
154. Graff G, Gamache, Brady M, Spellman J, Yanni J. Improved myeloperoxidase assay for quantitation of neutrophil influx in a rat model of endotoxin-induced uveitis. *J Pharmacol Toxicol Methods* [serial on the Internet]. 1998 [cited 2019 15 feb]; 39(3): 169-178. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9741392>.
155. Prada-Santana J, González-Madariaga Y, Cabrera-Llano J, Boffill-Cárdenas M, Ruiz-Moré A, Hernández-Díaz Y. Actividad de la mieloperoxidasa en un modelo experimental de síndrome metabólico. *Acta Médica del Centro*. [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 08 oct]; 14(4):432-445. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2709-79272020000400432&script=sci_arttext&lng=en.
156. Bishop ML. *Clinical Chemistry: Principles, Techniques, and Correlations*. [Internet]. 9thed. Massachusetts: Jones & Bartlett Learning; 2022 [cited 2023 13 jul]; Disponible en: https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=VTXsDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Clinical+Chemistry:+Principles,+Techniques,+and+Correlations&ots=x1_HO1XTWx&sig=Rs2AzTz90aDSNo9Sdrs3UvTNe0

157. González-Madariaga Y, Valido-Díaz A, Caieme-Fernandes M, Martínez-Lima M. Morphological changes in *Wistar* rat fetuses from progenitors with sucrose-induced metabolic syndrome. *Explor Anim Med Res* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 08 oct];10(2). Disponible en: https://www.animalmedicalresearch.org/Vol.10_Issue-2_December_2020/MORPHOLOGICAL%20CHANGES%20IN%20WISTAR.pdf.
158. Liao Y, Tang P, Chen L, Yang J. A protocol for differential staining of cartilages and ossified bones in fetal and adult mouse skeletons using alcian blue and alizarin red S. *J Histotechnol* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 14 jul]; 43(4): 204-209. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01478885.2020.1756081>.
159. York RG, Parker R, Haber L. Test methods for assessing female reproductive and developmental toxicology. Hayes W, Kruger CL, editores. 6th ed. En: Hayes' Principles and Methods of Toxicology. Boca de Ratón: Taylor & Francis. 2014: 1637-1722.
160. Sadowska J, Rygielska M. The effect of high fructose corn syrup on the plasma insulin and leptin concentration, body weight gain and fat accumulation in rat. *Adv Clin Exp Med* [serial on the Internet]. 2019[cited 2023 23 jul]; 28(7): 879-884. Disponible en: <https://advances.umw.edu.pl/en/article/2019/28/7/879/>
161. Oliva M, Ferreira M, Aiassa V, D'Alessandro M. Lipotoxicidad en músculo esquelético y su relación con la resistencia insulínica. Estudios en un modelo experimental de síndrome metabólico. *Revista de la Sociedad Argentina de Diabetes* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 23 jul]; 53(2):53-62. Disponible en: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/115754>.
162. González-Madariaga Y, Boffill-Cárdenas M, Tamayo-Irsula M, Castillo-Alfonso O, Alfonso-Cáceres B, Betancourt-Morgado E. Assessment of four experimental models of hyperlipidemia. *Lab Anim* [serial on the Internet]. 2015 [cited 2023 23 oct]; 44(4):135-140. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25793679/>.
163. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Endocrinology* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 21 jul]; 15(5): 288-298. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41574-019-0176-8>
164. Rinaman L. Ontogeny of hypothalamic-hindbrain feeding control circuits. *Dev Psychobiol* [serial on the Internet]. 2006 [cited 2023 14 jul]; 48(5): 389-396. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/dev.20146>.
165. Panduro-Barón J, Barrios-Prieto E, Pérez-Molina J, Panduro-Moore E, Rosas-Gómez E, Quezada-Figueroa N. Obesidad y sus complicaciones maternas y perinatales. *Ginecol Obstet Mex* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 2 jul]; 89(7): 530-539. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0300-90412021000700005&script=sci_arttext.
166. Roberts B, Bennett C, Carroll J, Lindsley S, Kievit P. Early overnutrition alters synaptic signaling and induces leptin resistance in arcuate proopiomelanocortin neurons. *Physiol Behav* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 14 jul]; 206: 166-174. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031938418309491>
167. Bjune J, Strømmand P, Jersin R, Mellgren G, Dankel S. Metabolic and epigenetic regulation by estrogen in adipocytes. *Front Endocrinol* [serial on the Internet]. 2022

- [cited 2023 21 jul]; 13:828780 Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2022.828780/full>.
168. Zhou Z, Moore T, Drew B, Ribas V, Wanagat J, Civelek M, *et al*. Estrogen receptor α controls metabolism in white and brown adipocytes by regulating Polg1 and mitochondrial remodeling. *Sci Transl Med* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 30 jun]; 12(555): eaax8096. Disponible en: <https://www.science.org/doi/full/10.1126/scitranslmed.aax8096>.
 169. Gómez-García I, Trepiana J, Fernández-Quintela A, Giralt M, Portillo M. Sexual dimorphism in brown adipose tissue activation and white adipose tissue browning. *Int J Mol Sci* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 14 jul]; 23(15):8250. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/15/8250>.
 170. Kaliannan K, Robertson R, Murphy K, Stanton C, Kang C, Wang B, *et al*. Estrogen-mediated gut microbiome alterations influence sexual dimorphism in metabolic syndrome in mice. *Microbiome* [serial on the Internet]. 2018 [cited 2023 13 jul]; 6: 1-22. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1186/s40168-018-0587-0>.
 171. Amanda E, Staiano A, Katzmarzyk P. Visceral, subcutaneous, and total fat mass accumulation in a prospective cohort of adolescents. *Am J Clin Nutr* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 28 jun]; 116(3): 780-785. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajcn/article/116/3/780/6584387>
 172. Voelkl B, Altman N, Forsman A, *et al*. Reproducibility of animal research in light of biological variation. *Nat Rev Neurosci* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 09 oct]; 21(7):384-393. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41583-020-0313-3>.
 173. Karimi I. Animal Models as Tools for Translational Research: Focus on Atherosclerosis, Metabolic Syndrome and Type-II Diabetes Mellitus. [Internet] En: Frank S and Kostner G, editores. *Lipoproteins. Role in Health and Diseases*. InTech. 2012 [cited 2023 28 jun]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5772/47769>
 174. DiNicolantonio J, Mehta V, Onkaramurthy N, O'Keefe J. Fructose-induced inflammation and increased cortisol: a new mechanism for how sugar induces visceral adiposity. *Prog Cardiovasc Dis* [serial on the Internet]. 2018 [cited 2023 30 jun]; 61(1):3-9. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0033062017301627>
 175. Kobayashi A, Suzuki Y, Sugai S. Specificity of transaminase activities in the prediction of drug-induced hepatotoxicity. *J Toxicol Sci* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 30 jun]; 45(9):515-537. Disponible en: https://www.istage.jst.go.jp/article/jts/45/9/45_515/article-char/ja Mašek T, Barišić J,
 176. Dereje D. Using microalbuminuria as early screening tool for prevention of renal disease progression in diabetes mellitus: a review article of current insights. *EC Microbiol* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 30 jun]; 17:35-40. Disponible en: https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:f_Gnp5enp14J:scholar.google.com/+microalbuminuria+injury+renal+early&hl=es&as_sdt=0,5&as_ylo=2019.
 177. Oz-Sig O, Kara O, Erdogan H. Microalbuminuria and serum cystatin C in prediction of early-renal insufficiency in children with obesity. *Indian J Pediatr* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 30 jun]; 87:1009-1013. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12098-020-03294-z>.

178. Pourghazi F, Mohammadi S, Eslami M, Zoshk M, Asadi S, Ejtahed H, *et al.* Association between childhood obesity and later life kidney disorders: a systematic review. *J Ren Nutr* [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 30 jun]:1051-2276. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36963736/>.
179. Olfert E, Cross B, McWilliam A, *et al.* Anexo V: Hematology. In: Guide to the care and use of experimental animals. Canadian Council on Animal Care [serial on the Internet]; 1993 [cited 2023 08 oct]; 1. Disponible en: <http://www.ccac.ca>
180. Najafzadeh M, Baniasad A, Shahabinejad R, Mashrooteh M, Najafipour H, Gozashti M. Investigating the relationship between haematological parameters and metabolic syndrome: A population-based study. *EndocrinolDiabetes Metab* [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 5 jul]; 6(2): Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/edm2.407>.
181. Ranjbar F, Karimi I, Yakhchalian N. Hematological profile of high-fat diet-induced murine model of metabolic syndrome. *Biomed Rev* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 5 jul]; 33: 77-88. Disponible en: <https://journals.mu-varna.bg/index.php/bmr/article/view/9123>.
182. Tahapary D, Pratisthita L, Fitri N, Marcella C, Wafa S, Kurniawan F, *et al.* Challenges in the diagnosis of insulin resistance: focusing on the role of HOMA-IR and Tryglyceride/glucose index. *Diabetes Metab Syndr: Clinical Research & Reviews* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 14 jul]; 16(8):102581. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1871402122001953>
183. Topp B, Atkinson L, Finegood D. Dynamics of insulin sensitivity, β -cell function, and β -cell mass during the development of diabetes in fa/fa rats. *Am J Physiol Endocrinol* [serial on the Internet]. 2007 [cited 2023 22 jul]; 293(6):E1730-E1735. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572015000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=es#no.
184. Pick A, Clark J, Kubstrup C, Levisetti M, Pugh W, Bonner- Weir S, *et al.* Role of apoptosis in failure of beta-cell mass compensation for insulin resistance and beta-cell defects in the male Zucker diabetic fatty rat. *Diabetes* [serial on the Internet]. 1998 [cited 2023 22 jul]; 47(3): 358-364. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9519740/>
185. Sharma G, Prossnitz E. Mechanism of estradiol-induced insulin secretion by the G protein-coupled estrogen receptor GPR30/GPER in pancreatic beta-cells. *Endocrinology* [serial on the Internet]. 2011 [cited 2023 22 jul]; 152(8):3030-3039. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572015000300003&lng=es&nrm=iso&tlng=es#no.
186. Moreno-Fernández S, Garcés-Rimón M, Vera G, Astier J, Landrier J, Miguel M. High fat/high glucose diet induces metabolic syndrome in an experimental rat model. *Nutrients* [serial on the Internet]. 2018 [cited 2023 21 may]; 10(10):1502. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6643/10/10/1502>.
187. Bogdanet D, O'Shea P, Lyons, C , Shafat A, Dunne F. The oral glucose tolerance test-is it time for a change?-A literature review with an emphasis on pregnancy. *J Clin Med* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 13 jul]; 9(11):3451. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2077-0383/9/11/3451>.

188. Rakvaag E, Lund M, Wiking L, Hermanensen K, Gregersen S. Effects of different fasting durations on glucose and lipid metabolism in *Sprague Dawley* rats. *Horm Metab Res*. [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 12 oct]; 51(8):546-553. Disponible en: <https://doi: 10.1055/a-0897-2496>.
189. Pizano D, Hernández Á, Watty A, Mata D, Reséndiz R. Medición de glicemia en hurones: evaluación de tres métodos portátiles de uso humano. *J Negat No Posit Results*. [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 12 oct]; 4(8):785-795. Disponible en: <https://ecozona.eu/index.php/jonnpr/article/view/3044>.
190. Vizcarra A, Piero F. Comparación de los valores de glucosa en caninos obtenidos con glucómetros portátiles y la prueba estándar de laboratorio. *Rev Bras Cienc Vet*[serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 12 oct]; 29 (3):125-129. Disponible en: <https://repositorio.cientifica.edu.pe/handle/20.500.12805/1961>
191. Lv X, Fang K, Hao W, Han Y, Yang N, Yu Q. identification of reactive hypoglycemia with different basic bmi and its causes by prolonged oral glucose tolerance test. *Diabetes Metab Syndr Obes*. [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 23 jul]; 13:4717-4726. Disponible en: <https://doi: 10.2147/DMSO.S280084>.
192. Galderis iA, Giannini C, Van-Name M, Caprio S. Fructose consumption contributes to hyperinsulinemia in adolescents with obesity through a GLP-1–mediated mechanism. *J Clin Endocrinol Metab* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 5jul]; 104(8):3481-3490. Disponible en: <https://academic.oup.com/jcem/article/104/8/3481/5423569>.
193. Magnone M, Spinelli S, Begani G, Guida L, Sturla L, Emionite L, *et al*. Absciscic Acid Improves Insulin Action on Glycemia in Insulin-Deficient Mouse Models of Type 1 Diabetes. *Metabolites* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 5 jul]; 12:523. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/metabo12060523https://www.mdpi.com/2218-1989/12/6/523>.
194. De Sanctis V, Soliman AT, Daar S, Tzoulis P, Di Maio S, Kattamis C.Oral glucose tolerance test: how to maximize its diagnostic value in children and adolescents. *Acta Bio Medica: Atenei Parmensis* [serial on the Internet]. 2022; [cited 2023 14 jul]; 93(5):e2022318 Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9686143/pdf/ACTA-93-318.pdf>.
195. Al-Beltagi M, Bediwy A, Saeed N. Insulin-resistance in paediatric age: Its magnitude and implications. *World J Diabetes* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 5 jul]; 13 (4):282. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9052009/>
196. Sergi G, Dianin M, Bertocco A, Zanforlini B, Curreri C, Mazzochin M, *et al*. Gender differences in the impact of metabolic syndrome components on mortality in older people: A systematic review and meta-analysis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 14 jul]; 30(9):1452-1464. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0939475320301575>
197. Loor J, Diaz S. Síndrome metabólico en mujeres en etapa reproductiva y de climaterio y su asociación con riesgo cardiovascular. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS* [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 30 jun]; 5(3): 551-566. Disponible en: <http://www.editorialalema.org/index.php/pentaciencias/article/view/574>.

198. Flemming G, Bussler S, Körner A, Kiess W. Definition and early diagnosis of metabolic syndrome in children. *J Pediatr Endocrinol Metab* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 13 jul]; 33(7):821-833. Disponible en: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/jpem-2019-0552/html>.
199. Gepstein V, Weiss R. Obesity as the Main Risk Factor for Metabolic Syndrome in Children. *Front Endocrinol* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 13 jul]; 10: 568-568. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2019.00568/full>.
200. Anderson H, Reyna N, Beltrán Y, Bermúdez V, Chacín M, Carrillo S, *et al.* Obesidad Infantil: Un problema de pequeños que se está volviendo grande. *Rev Latinoam de Hipertens* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 5 jul]; 14(5): 616-623. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/1702/170262877016/170262877016.pdf>.
201. Kwitek A. Rat models of metabolic syndrome. *Rat Genomics* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 5 jul]; 269-285. Disponible en: https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-4939-9581-3_13.
202. Li J, Wu H, Liu Y, Yang L. High fat diet induced obesity model using four strains of mice: Kunming, C57BL/6, BALB/c and ICR. *Exp Anim* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 30 jun]; 69(3):326-335. Disponible en: https://www.istage.jst.go.jp/article/expanim/69/3/69_19-0148/article-char/ja/.
203. Smith G, Shankaran M, Yoshino M, Schweitzer G, Chondronikola M, Beals J, *et al.* Insulin resistance drives hepatic de novo lipogenesis in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Investig* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 30 jun]; 130(3):1453-1460. Disponible en: <https://www.jci.org/articles/view/134165>.
204. Çin N, Yardımcı H, Koç N, Uçaktürk S, Ok M. Triglycerides/high-density lipoprotein cholesterol is a predictor similar to the triglyceride-glucose index for the diagnosis of metabolic syndrome using International Diabetes Federation criteria of insulin resistance in obese adolescents: a cross-sectional study. *J Pediatr Endocrinol Metab* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 14 jul]; 33(6):777-784. Disponible en: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/jpem-2019-0310/html>.
205. Sun S, Araki Y, Hanzawa F, Umeki M, Kojima T, Nishimura N, *et al.* High sucrose diet-induced dysbiosis of gut microbiota promotes fatty liver and hyperlipidemia in rats. *J Nutr Biochem*, [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 14 jul]; 93:108621. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0955286321000413>
206. Birulina J, Vanov V, Buyko E, Bykov V, Smaglyi L, Nosarev A, *et al.* High-fat, high-carbohydrate diet-induced experimental model of metabolic syndrome in rats. *Bull Sib Med* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 14 jul]; 19(4):14-20. Disponible en: https://bulletin.ssmu.ru/jour/article/view/4142?locale=en_US.
207. Williams S, Kivimaki M, Langenberg C, Hingorani A, Casas J, Bouchard C, *et al.* Plasma protein patterns as comprehensive indicators of health. *Nature medicine* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 30 jun]; 25(12):1851-1857. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41591-019-0665-2>.
208. Domínguez M, González M, Muñoz E, Varela V, Nájera C, Robledo N, *et al.* Marcadores aterogénicos y de inflamación en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Clin Investig Arterioscler* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 30 jun]; 34(3):105-112. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0214916821000760>.

209. Chang D, Xu X, Ferrante A, Krakoff J. Reduced plasma albumin predicts type 2 diabetes and is associated with greater adipose tissue macrophage content and activation. *Diabetol Metab Syndr* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 20 jun]; 11:14. Disponible en: <https://dmsjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13098-019-0409-y>.
210. Sumner A, Duong M, Aldana P, Ricks M, Tulloch-Reid M, Lozier J, *et al*. A1C Combined with glycated albumin improves detection of prediabetes in Africans: the Africans in America study. *Diabetes Care* [serial on the Internet]. 2016 [cited 2023 13 jul]; 39(2):271-277. Disponible en: <https://diabetesjournals.org/care/article/39/2/271/37168/A1C-Combined-With-Glycated-Albumin-Improves>.
211. Kunutsor S, Khan H, Laukkanen J. Serum albumin concentration and incident type 2 diabetes risk: new findings from a population-based cohort study. *Diabetologia* [serial on the Internet]. 2015 [cited 2023 13 jul]; 58(5):961-967. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-015-3520-0>.
212. Jun J, Lee S, Lee Y, Jee J, Bae J, Jin S, *et al*. Increase in serum albumin concentration is associated with prediabetes development and progression to overt diabetes independently of metabolic syndrome. *PLoS ONE* [serial on the Internet]. 2017 [cited 2023 13 jul]; 12(4):e0176209. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0176209>.
213. Adnan E, Rahman I, Faridin H. Relationship between insulin resistance, metabolic syndrome components and serum uric acid. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 09 oct]; 13(3):2158-2162. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871402119301845>.
214. Kashani K, Rosner M, Ostermann M. Creatinine: From physiology to clinical application. *Eur J Intern Med* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 09 oct]; 72:9-14. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0953620519303772>.
215. Locateli J, Lopes W, Simões C, de Oliveira G, Oltramari K, Bim R, *et al*. Triglyceride/glucose index is a reliable alternative marker for insulin resistance in South American overweight and obese children and adolescents. *J Pediatr Endocrinol Metab* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 30 jun]; 32(10):1163-1170. Disponible en: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/jpem-2019-0037/htm>.
216. Hudish L, Reusch J, Sussel L. β Cell dysfunction during progression of metabolic syndrome to type 2 diabetes. *The J Clin Investig* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 21jul]; 129(10): 4001-4008. Disponible en: <https://www.jci.org/articles/view/129188>.
217. Lee J, Lee J. Endoplasmic reticulum (ER) stress and its role in pancreatic β -cell dysfunction and senescence in type 2 diabetes. *Int J Mol Sci* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 21 jul]; 23(9): 4843. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/9/4843>.
218. Ghasemi A. Uric acid-induced pancreatic β -cell dysfunction. *BMC Endocrine Disorders* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 21 jul]; 21(1):1-5. Disponible en: <https://bmccendocrdisord.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12902-00698-6>.

219. Magnone M, Spinelli S, Begani G, Guida L, Sturla L, Emionite L, *et al.* Absciscic acid improves insulin action on glycemia in insulin-deficient mouse models of type 1 diabetes. *Metabolites* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 23jul]; 12(6):523. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/metabo12060523>.
220. Ennequin G, Boisseau N, Caillaud K, Chavanelle V, Etienne M, Li X, *et al.* Neuregulin 1 Improves Glucose Tolerance in db/db Mice. *PLoS ONE* [serial on the Internet]. 2015 [cited 2023 23 jul]; 10(7): e0130568. Disponible en: <https://doi:10.1371/journal.pone.0130568>.
221. Bequer L, Quintero M, Gómez T, Guerra I, Molina J, Freire C, *et al.* Efectos de la inyección neonatal de estreptozotocina sobre indicadores bioquímicos y de estrés oxidativo en ratas en un período de 90 días. *Rev Cubana Invest Bioméd* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 23 jul]; 40(3):1-18. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03002021000400002&script=sci_arttext&tlng=en.
222. de Goede P, Foppen E, Ritsema W, Korpel N, Yi C, Kalsbeek A. Time-restricted feeding improves glucose tolerance in rats, but only when in line with the circadian timing system. *Front Endocrinol* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 23 jul]; 10:554 Disponible en: <http://doi: 10.3389/fendo.2019.00554>.
223. Abbas H, Alic L, Erraguntla M, Ji J, Abdul-Ghani M, Abbasi Q, *et al.* Predicting long-term type 2 diabetes with support vector machine using oral glucose tolerance test. *PLoS One* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 23 jul]; 14:e0219636. Disponible en: <http://doi:10.1371/journal.pone.0219636>.
224. Liu K, Niu C, Tsai J, Yang C, Peng W, HS. Comparison of area under the curve in various models of diabetic rats receiving chronic medication. *Arch Med Sci* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 21 jul]; 18(4):1078. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9266878/>.
225. García-Gómez M, González-Madariaga Y, Llerena-Bernal T. Hallazgo necróptico de nefroblastoma asociado a síndrome metabólico experimental. *Rev Cubana Invest Bioméd* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 30 jun]; 39(3):1-14. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=101360>
226. Cone E, Van Noord M, Tracy E, Rice H, Routh J. Biomarkers for Wilms tumor: a systematic review. *J Urol* [serial on the Internet]. 2016[cited 2023 30 jun]; 196(5):1530-1535.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022534716305493>
227. Loomba R, Friedman S, Shulman G. Mechanisms and disease consequences of nonalcoholic fatty liver disease. *Cell* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 30 jun]; 184(10):2537-2564. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867421004943>.
228. Cariou B, Byrne C, Loomba R, Sanyal A. Nonalcoholic fatty liver disease as a metabolic disease in humans: a literature review. *Diabetes Obes Metab* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 30 jun]; 23(5):1069-1083. Disponible en: <https://dom-pubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/dom.14322>.
229. Chin J, Mori T, Adams L, Beilin L, Huang RC, Olynyk J, *et al.* Association between remnant lipoprotein cholesterol levels and non-alcoholic fatty liver disease in adolescents. *JHEP Reports* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 30 jun];

- 2(6):100150. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2589555920300847>.
230. Ramos N, de la Paz I, Freire P, Milián B, Ramírez O, Luna Y. Afectaciones hepáticas según morfometría en ratas con síndrome metabólico. Acta Méd Centro [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 30 jun]; 15(4): 580-590. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S2709-79272021000400580&script=sci_arttext&lng=en
231. McPherson K, Shields C, Poudel B, Fizer B, Pennington A, Szabo-Johnson A, *et al.* Impact of obesity as an independent risk factor for the development of renal injury: implications from rat models of obesity. Am J Physiol – Ren [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 30 jun]; 316(2):F316-F327. Disponible en: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajprenal.00162.2018>.
232. Tocora D, del Valle K, Sevillano B, de la Fuente G. Nefropatías vasculares: hipertensión vascularrenal y nefropatía isquémica. Medicina-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado [serial on the Internet]. 2019; 12(81):4779-4785. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304541219301581>
233. Milián B, Pérez R, de la Paz I, Ramos N, Hernández E, Ramírez O. Alteraciones morfométricas cardíacas en ratas con síndrome metabólico. Acta Méd Centro [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 30 jun]; 15(2):204-214. Disponible en: <https://revactamedicacentro.sld.cu/index.php/amc/article/view/1277>.
234. Quero F, Bouza R, Barbeito T, Quesada M, Quesada M. Utilidad de las clasificaciones diagnósticas del síndrome metabólico para detectar daño vascular e insulinoresistencia. Acta Médica de Cuba [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 30 jun]; 22(4): 1-18. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=111127>.
235. Gaytán-Rivera J, Guerrero-Alba R, Ochoa-Cortes F, Barajas-Espinosa A. Efectos perjudiciales de la inflamación de bajo grado ocasionada por la obesidad. Boletín Científico de la Escuela Superior de Huejutla [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 2 jul]; 10(20):1-8. Disponible en: <https://repository.uaeh.edu.mx/revistas/index.php/huejutla/article/view/8824>.
236. Jialal I, Adams-Huet B, Devaraj S. Increased adipocyte hypertrophy in patients with nascent metabolic syndrome. J Clin Med [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 13 jul]; 12(13): 4247. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2077-0383/12/13/4247>.
237. Faienza M, Chiarito M, Molina-Molina E, Shanmugam H, Lammert F, Krawczyk M, *et al.* Childhood obesity, cardiovascular and liver health: a growing epidemic with age. World J Pediatr [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 13 jul];16:438-445. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12519-020-00341-9>.
238. Souza A, Miranda R, Andrade C, Woyames, Oliveira L, Trevenzoli I, *et al.* Perinatal exposure to isocaloric diet with moderate-fat promotes pancreatic islets insulin hypersecretion and susceptibility to islets exhaustion in response to fructose intake in adult male rat offspring. Life Sci [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 22 jul]; 307:120873. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0024320522005732>
239. Inaishi J, Saisho Y. Beta-cell mass in obesity and type 2 diabetes, and its relation to pancreas fat: a mini-review. Nutrients [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 22

240. Larqué C, Velasco M, Navarro-Tableros V, Duhne M, Aguirre J, Gutiérrez-Reyes G, *et al.* Early endocrine and molecular changes in metabolic syndrome models. IUBMB Life [serial on the Internet]. 2011 [cited 2023 24 jul]; 63(10):831-839. Disponible en: <https://doi:10.1002/iub.544>.
241. Lozano W, Arias-Mutis O, Calvo C, Chorro F, Zarzoso M. Diet-induced rabbit models for the study of metabolic syndrome. animals: An Open Access Journal from MDPI [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 24jul]; 9(7):E463. Disponible en: <https://doi:10.3390/ani9070463>.
242. Sinche-Rodríguez M. Medidas antropométricas como predictores para elsíndrome metabólico. Polo del Conocimiento [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 13 jul]; 8(6):1227-1243. Disponible en: <https://mail.polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/5740>.
243. Weihe P, Weihrauch-Blueher S. Metabolic syndrome in children and adolescents: diagnostic criteria, therapeutic options and perspectives. Curr Obes Rep [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 5 jul]; 8:472-479. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13679-019-00357-x>.
244. Lee J. Prevalence of hyperuricemia and its association with metabolic syndrome and cardiometabolic risk factors in Korean children and adolescents: analysis based on the 2016-2017 Korea National Health and Nutrition Examination Survey. Korean J Pediatr [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 30 jun]; 62(8):317. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6702117/>.
245. Pugliese N, Mengozzi A, Virdis A, Casiglia E, Tikhonoff V, Cicero A, *et al.* The importance of including uric acid in the definition of metabolic syndrome when assessing the mortality risk. Clin Res Cardiol [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 30 jun]; 110: -1082. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00392-021-01815-0>.
246. Filippini F. El síndrome metabólico como epidemia mundial. Salud (i) ciencia [serial on the Internet]. 2018 [cited 2019 15 feb]; 23(2):149-153 Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1667-89902018000300006&lng=es
247. Garagiola M, Tarán M, Scribano M, Balceda A, García E, Fonseca I, *et al.* Myeloperoxidase as an indicator of oxidative stress in metabolic syndrome. Rev Argent Cardiol [serial on the Internet]. 2016 [cited 2022 3 mar]; 84(6):514-518.Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/3053/305350076004.pdf>
248. Gonzalez-Fanjul A, Cabrera-Llano JL, Barreto-Fiu E, Fanjul-Losada NM, Rodríguez-Hernández M, Jaime-Valdés L. Mieloperoxidasa como marcador de daño vascular. Acta Méd Centro [serial on the Internet]. 2018 [cited 2023 22 jun];12(2): 119-129. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/medicadelcentro/mec-2018/mec182b.pdf>.
249. Hernández-Díaz A, Arana-Martínez J, Carbó R, Espinosa-Cervantes R, Sánchez-Muñoz F. Omentina: papel en la resistencia a la insulina, inflamación y protección cardiovascular. Arch Cardiol Mex [serial on the Internet]. 2015 [cited 2023 22 jun];86(3): 233-243. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-99402016000300233&script=sci_arttext

250. Siachoque SH. Inmunología. Diagnóstico e interpretación de pruebas de laboratorio. Bogotá: Ed. Universidad del Rosario. 2006. [cited 2023 22 jun] Disponible en: <https://editorial.rosario.edu.co/gpd-inmunologia-diagnostico-e/interpretacion-de-pruebas-delaboratorio.html>
251. Liu Q, Liu Y, Shi J, Gao M, Liu Y, Cong Y, *et al.* Entire peroxidation reaction system of myeloperoxidase correlates with progressive low-density lipoprotein modifications via reactive aldehydes in atherosclerotic patients with hypertension. *Cell Physiol Biochem (Karger AG)* [serial on the Internet]. 2018 [cited 2023 22 jun]; 51(2): 1245-1254. Disponible en: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=133279030&lang=es&site=ehost-live>.
252. Escamilla-Rivera V, Santhanakrishnan M, Liu J, Gibb D, Forsmo J, Foxman E, *et al.* Complement plays a critical role in inflammation-induced immunoprophylaxis failure in mice. *Front Immunol* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 30 jun]; 12: 704072. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2021.704072/full>.
253. Theofilis P, Sagris M, Oikonomou E, Antonopoulos A, Siasos G, Tsioufis C, *et al.* Inflammatory mechanisms contributing to endothelial dysfunction. *Biomedicines* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 28 jun]; 9(7): 781. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2227-9059/9/7/781>
254. Tene D, Robalino J, Pedrañez A. Marcadores inflamatorios y de disfunción endotelial en pacientes hipertensos y con diabetes mellitus tipo 2. *Int J Med Surg Sci* [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 2 jul]; 10(2):1-12. Disponible en: <https://revistas.uautonoma.cl/index.php/ijmss/article/view/2190>.
255. Agbaje A, Zachariah J, Bamsa O, Odili A, Tuomainen T. Cumulative insulin resistance and hyperglycemia with arterial stiffness and carotid IMT progression in 1,779 adolescents: a 9-yr longitudinal cohort study. *Am J Physiol - Endocrinol* [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 30 jun]; 324(3):E268-E278. Disponible en: <https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/ajpendo.00008.2023>.
256. Muniyappa R, Chen H, Montagnani M, Sherman A, Quon M. Endothelial dysfunction due to selective insulin resistance in vascular endothelium: insights from mechanistic modeling. *Am J Physiol - Endocrinol* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 2 jul]; 319(3): E629-E646. Disponible en: <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/ajpendo.00247.2020>.
257. Evans B, Yerly A, van der Vorst E, Baumgartner I, Bernhard S, Schindewolf M, *et al.* Inflammatory mediators in atherosclerotic vascular remodeling. *Front Cardiovasc Med* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 14 jul]; 9:868934. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcvm.2022.868934/full>.
258. Lupu F, Kinasewitz G, Dormer K. The role of endothelial shear stress on haemodynamics, inflammation, coagulation and glycocalyx during sepsis. *J Cell Mol Med* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 2 jul]; 24(21):12258-12271. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jcmm.15895>.
259. Alexander Y, Osto E, Schmidt-Trucksäss A, Shechter M, Trifunovic D, Duncker D, *et al.* Endothelial function in cardiovascular medicine: a consensus paper of the European Society of cardiology working groups on atherosclerosis and vascular biology, aorta and peripheral vascular diseases, coronary pathophysiology and microcirculation, and thrombosis. *Cardiovasc Res* [serial on the Internet]. 2021 [cited

- 2023 1 jul]; 117(1): 29-42. Disponible en: <https://academic.oup.com/cardiovascres/article/117/1/29/5819549>.
260. Kumar V, Abbas A, Aster J, Deyrup A. Robbins Essential Pathology E-Book. Elsevier Health Sciences. 2020 [cited 2023 2 jul]. Disponible en: <https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=3OreDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=robbins+basic+pathology&ots=hzHwUqf47t&sig=k6vBfKGVp8U-Jsn6oDEzefFTEXo>.
261. Soehnlein O, Libby P. Targeting inflammation in atherosclerosis-from experimental insights to the clinic. Nat Rev Drug Discov [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 2 jul]; 20(8):589-610. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41573-021-00198-1>.
262. Leung S, Shi Y. The glycolytic process in endothelial cells and its implications. Acta Pharmacol Sin [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 2 jul]; 43(2): 251-259. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41401-021-00647-y>.
263. Méndez-Barbero N, Gutiérrez-Muñoz C, Blanco-Colio LM. Cellular crosstalk between endothelial and smooth muscle cells in vascular wall remodeling. Int J Mol Sci [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 2 jul]; 22(14): 7284. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/14/7284>.
264. Humphrey J. Mechanisms of vascular remodeling in hypertension. Am J Hypertens [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 2 jul]; 34(5):432-441. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajh/article-abstract/34/5/432/6007488>.
265. Alcántara-Ortiz MG, Campos-Serrano J, Ibarra-Sánchez A. Desregulación metabólica y consecuencias clínicas por el consumo de fructosa. TIP Rev Espec Cienc Quím-Biol [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 13 jul]; 24:e332. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2021000100207&lng=es.
266. Leite A, Borges-Canha M, Cardoso R, Neves JS, Castro-Ferreira R, Leite-Moreira A. Novel biomarkers for evaluation of endothelial dysfunction. Angiology [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 2 jul]; 71(5):397-410. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/0003319720903586>.
267. Kwaifa I, Bahari H, Yong Y, Noor S. Endothelial dysfunction in obesity-induced inflammation: molecular mechanisms and clinical implications. Biomolecules [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 2 jul]; 10(2): 291. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2218-273X/10/2/291>.
268. Dalal P, Muller W, Sullivan D. Endothelial cell calcium signaling during barrier function and inflammation. Am J Pathol [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 2 jul]; 190(3): 535-542. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0002944019308636>.
269. Humphrey J. Mechanisms of vascular remodeling in hypertension. Am J Hypertens [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 2 jul]; 34(5):432-441. Disponible en: <https://academic.oup.com/ajh/article-abstract/34/5/432/6007488>.
270. Shrestha A, Prowak M, Berlandi-Short V, Garay J, Ramalingam L. Maternal obesity: A focus on maternal interventions to improve health of offspring. Front Cardiovasc Med [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 13 jul]; 8: 696812. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcvm.2021.696812/full>.
271. Sarasa-Muñoz N, Artilles-Santana A, Álvarez-Guerra EG, Cañizares-Luna O, Orozco-Muñoz C, Martínez-Artiles H. Adiposidad abdominal y resistencia a la

- insulina al finalizar el primer trimestre de la gestación. *Rev Cubana Med General Integral* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 2 jul]; 38(3):e1973. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-21252022000300013&script=sci_arttext.
272. Martínez-Cignoni M, González-Vicens A, Morán-Costoya A, Proenza A, Gianotti M, Valle A, *et al*. Estrogen impairs adipose tissue expansion and cardiometabolic profile in obese-diabetic female rats. *Int J Mol Sci* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 24 jul]; 22(24): 13573. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/24/13573>.
 273. Fabian D, Kubandová-Babeřová J, Kšiňanová M, Waczulíková I, Fabianová K, Koppel J. Overweight and fertility: What we can learn from an intergenerational mouse obesity model. *Int J Environ Res* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 14 jul]; 19(13): 7918. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1660-4601/19/13/7918>.
 274. Garduño J, Cánovas Y, Herrera J, de León Ponce M, Cano A, Vega C. Eclampsia. *Revista CONAMED* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 2 jul]; 27(S1):s14-19. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=108518>.
 275. Bequer L, Fuentes E, Freyre C, Molina J, Álvarez A, Gómez T. Embriopatía diabética y trastornos en el desarrollo reproductivo materno en ratas con diabetes pregestacional. *Ginecol Obstet Mex* [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 2 jul]; 91(1): 21-31. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0300-90412023000100004&script=sci_arttext.
 276. Hernández-González A, Quintana-Utra M. Interpretación diagnóstica de las anomalías congénitas en ensayos preclínicos. *Rev CENIC Cien Biol* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 2 jul]; 51(1):20-34. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24502020000100020&lng=es.
 277. Sinha N, Walker L, Sen A. Looking at the Future Through the Mother's Womb: Gestational Diabetes and Offspring Fertility. *Endocrinology* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 5 jul]; 162(12):bqab209. Disponible en: <https://academic.oup.com/endo/article-abstract/162/12/bqab209/6379047>.
 278. Bravo-Benítez J, Rojas A, Mirto-Aguilar N, Gómez Y, Raya C. El cuerpo lúteo, nuevos mecanismos de regulación y su asociación con la infertilidad. *Rev eNeurobiología* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 5 jul]; 12(30). Disponible en: <https://eneurobiologia.uv.mx/index.php/eneurobiologia/article/view/2555>.
 279. Enríquez-Reyes R. Obesidad: epidemia del siglo XXI y su relación con la fertilidad. *Revista Médica Clínica Las Condes* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 23 jul]; 32(2):161-165. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864021000201>.
 280. Becerril-Negrete J, Domínguez-Hernández C, Velázquez-López L, Vázquez-Rodarte T, Bravo-López M, Medina-Bravo P. Association of low birth weight with the components of the metabolic syndrome in children with obesity. *Lat Am J Pediatr Gastroenterol Nutr* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 2 jul]; 1(1):29-36. Disponible en: https://web.archive.org/web/20221011130732id_/https://www.lajpgn.com/files/lajpgn_22_1_1_029-036.pdf.

281. Agudelo-Espitia V, Parra-Sosa B, Restrepo-Mesa S. Factores asociados a la macrosomía fetal. *Rev Saude Publica*. 2019 [cited 2023 2 jul]; 53:100. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/rsp/a/m6GPfPYgHkkRTgz9DFffmpN/?lang=es>.
282. Castillo-Castrejon M, Yamaguchi K, Rodel R, Erickson K, Kramer A, Hirsch N, *et al*. Effect of type 2 diabetes mellitus on placental expression and activity of nutrient transporters and their association with birth weight and neonatal adiposity. *Mol Cell Endocrinol* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 22 jul]; 532:111319. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0303720721001635>
283. Gómez T, García M, Bequer L, Freire C, Vila M, Clapés S. Malformaciones esqueléticas y alteraciones del crecimiento en fetos de ratas con diabetes moderada. *Biomédica* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 22 jul]; 41(3):493-503. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-41572021000300493&script=sci_arttext.
284. Parra-Ruiz C, Prado G, Cerda D, Fernández J, Mallea C, Pardo V, *et al*. Obesidad parental y modificaciones epigenéticas en la descendencia. *Rev Chil Nutr* [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 22 jul]; 46(6):792-799. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182019000600792&script=sci_arttext.
285. Lewandowska M. Maternal obesity and risk of low birth weight, fetal growth restriction and macrosomia: multiple analyses. *Nutrients*. [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 18 agost]; 13(4):1213. Disponible en: <http://doi:10.3390/nu13041213>
286. Gavilán Y, Cruz P, Cordero Y, Grenier O, Acosta E. Defectos congénitos presentes en la descendencia de mujeres diabéticas, obesas e hipertensas, Artemisa 2016. *Revista Cubana de Genética Comunitaria* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 2 jul]; 13(1):92. Disponible en: <https://revgenetica.sld.cu/index.php/gen/article/view/92>.
287. Ricci A, Neunert C. Hematological manifestations of systemic disease. *Pediatric Hematology & Oncology Secrets-E-Book* [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 14 jul]; 54: Disponible en: https://books.google.com.cu/books?hl=es&lr=&id=Q-KzEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA54&dq=COAGULATION+DEFECTS+OFFSPRING+DIABETES+MOTHERS&ots=ldxJ0acdYs&sig=1bEagpaom7FDLOqL8MBbO27bQ-k&redir_esc=y.
288. Warren BB, Moyer GC, Manco-Johnson MJ. Hemostasis in the pregnant woman, the placenta, the fetus, and the newborn infant. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. New York, NY 10001, USA: Thieme Medical Publishers, Inc; [serial on the Internet]. 2023 [cited 2023 13 jul]; 49(4): 319-29. Disponible en: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0042-1760332>
289. Kaufman MH, Bard, JB. The anatomical basis of mouse development. San Diego, CA, EUA: Gulf Professional Publishing. 1999.
290. Syggelos N, Augoulea A, Armeni E, Kaparos G, Vafaei H, Dontas I, *et al*. Impact of prenatal and postnatal nutritional manipulation on bone quality in adult Wistar rats offspring. *Clin Nutr Open Sci* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 2 jul]; 35: 34-47. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667268520300048>.

291. Brickley M, Simon M. Metabolic disease. Buikstra, JE., ed. Ortners identification of pathological conditions in human skeletal remains. Academic Press [serial on the Internet]. 2019 [cited 2023 2 jul]:531-566. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128097380000156>.
292. Radzki R, Bienko M, Wolski D, Ostapiuk M, Polak P, Manastyrska M, *et al.* Programming effect of the parental obesity on the skeletal system of offspring at weaning day. *Animals* [serial on the Internet]. 2021 [cited 2023 2 jul]; 11(2): 424. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/2/424>.
293. Nazar N, Nazar HD. Hidrocefalia: Patogenia y Fisiopatología. *Rev Med Hondur* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 2 oct]; 204-211. Disponible en: <https://revistamedicahondurena.hn/assets/Uploads/Vol53-3-1985-5.pdf>.
294. García-Fernández A, Navas-Ruiz I. Toxicología experimental: evaluación de la toxicidad y el riesgo. 2021. Disponible en: <https://digitum.um.es/digitum/bitstream/10201/104681/1/Toxicologi%CC%81a%20Experimental.%20Evaluacio%CC%81n%20de%20la%20Toxicidad%20y%20el%20Riesgo.pdf>.
295. Widdop R, Li X. A simple versatile method for measuring tail cuff systolic blood pressure in conscious rats. *Clin Sci* [serial on the Internet]. 1997 [cited 2023 30 sept]; 93:91-4. Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/9337632>
296. Hernández AG, ed. Principios de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Elsevier Health Sciences 2019. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=737051>.
297. Machado-Martínez A, Herrera-Moya V, González-Madariaga Y, García-Gómez M. Daño en la pared arterial de las ratas Wistar sometidas a dieta hiperglucídica *Medicent Electrón* [serial on the Internet]. 2022 [cited 2023 30 sept]; 26(4). Disponible en: <https://medicentro.sld.cu/index.php/medicentro/article/view/3065>.
298. Hernández-González A, Quintana-Utra M. Interpretación diagnóstica de las anomalías congénitas en ensayos preclínicos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas* [serial on the Internet]. 2020 [cited 2023 30 sept]; 51(1):20-34. Disponible en: https://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24502020000100020.
299. Vigneshwar R, Arivuchelvan A, Mekala P, Imayarasi K. Sex-specific reference intervals for Wistar albino rats: hematology and clinical biochemistry. *Indian J Anim Health*. [serial on the Internet]. 2021[cited 2023 30 sept]; 60(1):58-65. Disponible en: http://www.ijah.in/upload/snippet/342_71.pdf
300. Pagana K, Pagana T. Laboratorio clínico: indicaciones e interpretación de resultados: Editorial El Manual Moderno; 2015 [cited 2023 30 sept]: Disponible en: https://books.google.com/cu/books?hl=es&lr=&id=WtOuEAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Pagana+laboratorio+cl%C3%ADnico:+indicaciones+e+interpretaci%C3%B3n+de+resultados&ots=5dKVYEG-OW&sig=-BcECXOJV1A4w1bGjw49c2TU0&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false.

ANEXOS

ANEXOS

ANEXO 1. Definición operacional de variables

Variables Somatométricas

Peso corporal: cuantitativa continua. Se definió como el peso del animal en gramos medido semanalmente en horario de la mañana, antes del suministro de la DRS y el alimento concentrado.^{145,294} Se determinó en balanza analítica digital Sartorius BP160P (Gottingen, Alemania) con sensibilidad 0,001 g.

Ganancia de peso corporal (g): cuantitativa continua. Se definió como la diferencia entre el peso corporal en gramos de una semana y el registro de la semana anterior.¹⁵⁷ Se determinó en balanza analítica digital Sartorius BP160P (Gottingen, Alemania) con sensibilidad 0,001 g.

Circunferencia abdominal (cm): cuantitativa continua. Se definió como la circunferencia abdominal en centímetros medida por debajo de la última costilla, en horario de la mañana, antes del suministro de la DRS y el alimento concentrado. Se determinó con el empleo de cinta métrica flexible.¹⁴⁵

Longitud cabeza-cola: cuantitativa continua. Se definió como la longitud en centímetros desde la punta del hocico hasta la inserción de la cola al cuerpo.¹⁵⁷ Se determinó con el empleo de pie de rey al concluir el estudio.

Peso de grasa visceral (g): cuantitativa continua. Se definió como el peso de la grasa visceral en gramos (principalmente grasa omental), extraída de la cavidad abdominal post-mortem.¹⁴⁵ Se determinó en balanza analítica digital Sartorius BP160P (Gottingen, Alemania) con sensibilidad 0,001 g.

Peso de órganos (g): cuantitativa continua. Se definió como el peso de los órganos: corazón, hígado y riñón izquierdo, extraídos post-mortem y posterior lavado con SSF 0.9 % y eliminación de tejido graso adherido.²⁹⁴ Se determinó en balanza analítica digital Sartorius BP160P (Gottingen, Alemania) con sensibilidad 0,001 g.

Presión Arterial: cuantitativa continua. Se definió como la fuerza ejercida por la sangre sobre la pared de los vasos sanguíneos determinada en mm Hg. Método no invasivo

propuesto por Widdop y Li,²⁹⁵ que se basa en la medición indirecta de la presión por la cola de la rata. Se determinó entre las 14:00 y las 16:00 horas en equipo de medición de presión arterial marca (CODA-UEA), que contiene sensor para captar y registrar valores de PAS y PAD.

IMC (g/cm^2): Índice de Masa Corporal. Se calculó la relación entre el peso corporal de los animales en gramos y el cuadrado de la longitud cabeza-cola en cm.³² Este parámetro se determinó al concluir el estudio.

Variables Analíticas (bioquímicas y hematológicas)

Marcadores de química clínica: cuantitativas continuas. Se definieron como las concentraciones en suero de glucosa, colesterol total, TAG, VLDL, HDLc, proteínas totales, creatinina, albúmina, ácido úrico, TGP y TGO; determinadas por métodos colorimétricos a excepción de las transaminasas TGP y TGO que se emplearon métodos cinéticos;^{145,156} en todos los casos con el empleo de kits diagnósticos Helfa (EPB Carlos J. Finlay, Habana, Cuba). Los parámetros se determinaron automáticamente en autoanalizador Hitachi (Roche Diagnostic, Tokio, Japón) a las 18 y 22 semanas.

La glucosa que se registró en la prueba de la PTGO y para verificar la reproducibilidad del experimento **2.4.1** a las 18 semanas, se determinó en sangre obtenida por punción venosa de la cola y con el empleo de glucómetro Sumasensor (Cuba) y los biosensores correspondientes.²⁹⁶

Los TAG y la glucemia en ayunas, que se determinaron para verificar la reproducibilidad del experimento **2.4.1** a las 18 semanas, se registraron en sangre obtenida por punción del seno retroorbital, con el empleo de kits diagnósticos Helfa (EPB Carlos J. Finlay, Habana, Cuba) y medidos en espectrofotómetro photoLab 6100vis.¹⁵⁶

Se expresaron en mmol/L la glucosa sanguínea, el colesterol, los TAG, las VLDL y el HDLc. La creatinina y el ácido úrico se expresaron en $\mu\text{mol}/\text{L}$. Las proteínas totales y sus fracciones; albúmina y globulinas se expresaron en g/L. Finalmente las transaminasas TGP y TGO se expresaron en U/L.

Insulina: cuantitativa continua. Se definió como la concentración en suero de insulina determinada por técnica de radioinmunoensayo (RIA), con el empleo de juego de

reactivos Insulina IRMA kit RK-400CT. Se determinó en Radiómetro SRN1C-02 y se expresó en $\mu\text{U/mL}$.¹⁴⁵

HOMA-IR: cuantitativa continua. Se definió como la relación matemática del producto de los valores de glucemia (mmol/L) e insulina ($\mu\text{U/mL}$) en ayunas entre el factor 22,5.¹⁴⁹ La fórmula empleada según modelo de homeostasis HOMA fue:

$$\text{HOMA-IR} = \frac{\text{glucosa (mmol/L)} \times \text{insulina (}\mu\text{U/mL)}}{22,5}$$

HOMA-FC β : cuantitativa continua. Se definió como la relación matemática que incluye los valores de insulina ($\mu\text{U/mL}$) y glucemia (mmol/L) en ayunas.¹⁴⁵ La fórmula empleada según modelo de homeostasis HOMA fue:

$$\text{HOMA-FC}\beta = \frac{\text{insulina (}\mu\text{U/mL)} \times 20}{\text{glucosa (mmol/L)} - 3,5}$$

IGTAG: cuantitativa continua. Se definió como el logaritmo natural de la mitad del producto de la Glucemia (mg/dL) en ayunas y los TAG (mg/dL)¹⁵⁰

$$\text{IGTAG} = \text{Ln} \frac{\text{Glucosa (mg/dL)} \times \text{TAG (mg/dL)}}{2}$$

ABC: cuantitativa continua. Se definió como la suma de los valores de glucemia obtenidos en la prueba de tolerancia oral a la glucosa en el tiempo inicial (0), a los 30, 60 y 120 minutos, según el método de los trapecios, definido en la siguiente fórmula:¹⁸⁹

$$\text{ABC (mmol/L)} = \text{Glu}(0) + \text{Glu}(30) \times 2 + \text{Glu}(60) \times 3 + \text{Glu}(120) \times 2/4$$

Micro-albuminuria: cuantitativa discreta. Se definió como la albúmina excretada de 30 a 300 mg por la orina en 24 h. Se determinó con el test semicuantitativo por aglutinación de partículas de látex (Micral Test, Roche). Los animales con menos de 30 mg/L en 24 h se clasifican con normo-albuminuria, de 30-300 mg/L/24 h micro-albuminuria y más de 300 mg/L / 24 h macro-albuminuria.¹⁵⁶

Hemoglobina (Hb): cuantitativa continua. Se definió como la concentración de Hb determinada en sangre por el método colorimétrico de la cianometahemoglobina¹⁵⁶ y

se utilizó kits diagnósticos Helfa (EPB Carlos J. Finlay, Habana, Cuba). Se determinó automáticamente en Analizador de Hematología y se expresó en g/L.

Plaquetas: cuantitativa discreta. Se definió como la cantidad de plaquetas determinada en sangre por conteo diferencial.¹⁵⁶ Se determinó automáticamente en Contador Electrónico de Células (CEC) y se expresó en células x 10⁹/L.

Leucocitos: cuantitativa discreta. Se definió como la cantidad de leucocitos determinada en sangre por conteo diferencial.¹⁵⁶ Se determinó automáticamente en Contador Electrónico de Células (CEC) y se expresó en células x 10⁹/L.

Linfocitos: cuantitativa discreta. Se definió como la concentración de linfocitos determinada en sangre por conteo diferencial.¹⁵⁶ Se determinó automáticamente en Contador Electrónico de Células (CEC) y se expresó en células/L.

Segmentados: cuantitativa discreta. Se definió como la cantidad de segmentados determinada en sangre por conteo diferencial.¹⁵⁶ Se determinó automáticamente en Contador Electrónico de Células (CEC) y se expresó en células/L.

Variables histológicas ^{152,294}

Descripción histológica de hígado, aorta abdominal, riñón, corazón, tejido adiposo y páncreas endocrino: Cualitativa nominal politómica. Se definió como la identificación, por observación microscópica, de cambios grasos en los tejidos evaluados, necrosis, inflamación, atrofia e hipertrofia de las células. Se empleó microscopio óptico binocular OPTECH (Optical Technology Japan), con ocular 10x y objetivo 4x, 10x y 40x. La captación de imágenes se efectuó con una cámara digital Cannon Power Shot G11 (Japón), acoplada a dicho microscopio.

Variables marcadoras de inflamación

Actividad de la enzima MPO (EC 1.11.2.2): cuantitativa continua. Se definió una unidad de actividad de MPO como la cantidad de enzima necesaria para catalizar un incremento en la absorbancia de 0,1 a 460 nm por minuto a 25°C.¹⁵⁵ Se determinó en espectrofotómetro (Photolab 6100 vis) y se expresó en U/mL.

Concentración de Fracciones del complemento C3 y C4: cuantitativa continua. Se definió como la concentración de las fracciones proteicas del complemento C3 y C4 en suero. Se determinó por formación de compuestos insolubles al mezclar el suero sanguíneo con anticuerpos anti-C3 (Tina-quantComplement C3c ver.2 Roche®), y anti-C4 (Tina-quantComplement C4 ver.2 Roche®) y comparar por espectrofotometría con un calibrador C3 y C4 de concentración conocida (Calibratorf.a.s).¹⁵⁶ Se determinó en autoanalizador químico Roche/Hitachi – cobas c 311 y se expresaron en g/L.

Variables para evaluar disfunción endotelial²⁹⁷

Histológicas: Se clasifican como cualitativas ordinales dicotómicas

Tumefacción endotelial. Se utilizaron las láminas teñidas con hematoxilina-eosina para identificar la presencia o no de la alteración del protoplasma celular.

Si: se aprecia aumento de volumen y aspecto opaco del citoplasma y núcleo de la célula endotelial, la cual protruye hacia la luz vascular.

No: la célula endotelial muestra un aspecto normal, no protruye hacia la luz vascular.

Denudación endotelial. Se utilizaron las láminas teñidas con hematoxilina-eosina para observar la presencia o no del daño endotelial.

Si: se observan zonas desprovistas de células que indican pérdida de la continuidad del endotelio.

No: se observa el endotelio conservado sin pérdida de la continuidad.

Proliferación subendotelial. Se utilizaron las láminas teñidas con la técnica de van Gieson para determinar la presencia o no de engrosamiento de la matriz subendotelial.

Si: se observan zonas engrosadas del subendotelio, positivas para fibras colágenas con la técnica de van Gieson.

No: no se observa engrosamiento subendotelial.

Integridad de la lámina elástica interna. Se utilizaron las láminas teñidas con Verhoeff para observar el aspecto de esta lámina.

Conservada: la lámina elástica interna se observa bien definida, continua, coloreada de forma intensa y homogénea.

Fragmentada: la lámina elástica interna se observa disgregada, discontinua, con fibras elásticas dispersas.

Organización de las fibras elásticas de la media. Se utilizaron las láminas teñidas con Verhoeff para observar la orientación de las fibras elásticas de la media.

Organizadas: se observan bien definidas y cumplen con el patrón circunferencial del vaso.

Desorganizadas: se observan dispersas, sin mantener el patrón circunferencial del vaso.

Tumefacción de la célula muscular lisa vascular: se utilizaron las láminas teñidas con hematoxilina-eosina para identificar la presencia o no de la alteración del protoplasma celular.

Si: se aprecia aumento de volumen y aspecto opaco del citoplasma y núcleo de la célula muscular lisa vascular.

No: la célula muscular lisa muestra un aspecto normal.

Morfométricas: se clasifican como variables cuantitativas continuas.

Grosor de la pared vascular (GPV): se utilizaron las láminas teñidas con la técnica de Verhoeff y objetivo de 40x. Se definió como la distancia, expresada en micrómetros (μm), delimitada por la lámina elástica externa y la lámina elástica interna. Se realizaron 40 mediciones para cada anillo aórtico.

Área del lumen del vaso (ALV): se utilizaron las láminas teñidas con hematoxilina-eosina o con la técnica de Verhoeff y objetivo de 4x. Se definió como el área expresada en milímetros cuadrados (mm^2), delimitada por el contorno endotelial. Se realizaron 15 mediciones para cada anillo aórtico.

Área total del vaso (ATV): se utilizaron las láminas teñidas con hematoxilina-eosina o con la técnica de Verhoeff y objetivo de 4x. Se definió como el área, expresada en milímetros cuadrados (mm^2), delimitada por el contorno de la lámina elástica externa. Se realizaron 15 mediciones para cada anillo aórtico.

Área de la pared vascular (APV): parámetro obtenido mediante la diferencia del área total y del área del lumen del vaso, expresado en mm^2 ($\text{APV} = \text{ATV} - \text{ALV}$).

Variables morfológicas en estudio de reproducción ^{157, 298}

Peso corporal materno: cuantitativa continua. Se definió como el peso de la rata gestada en gramos, medido en el día 0 y 20 de la preñez y con ayuno de 12 h. Se

determinó en balanza analítica digital Sartorius BP160P (Gottingen, Alemania) con sensibilidad 0,001 g.

Peso del útero grávido: cuantitativa continua. Se definió como el peso del útero en gramos inmediatamente después de su extracción por cesárea (día 20 de la gestación), posterior lavado con SSF 0,9 % y eliminación solo del tejido graso adherido. Se determinó en balanza analítica digital Sartorius BP160P (Gottingen, Alemania) con sensibilidad 0,001 g.

Ganancia ajustada de peso materno: cuantitativa continua. Se definió como la diferencia entre el peso corporal en gramos de la rata gestada el día 20 antes de la cesárea y el peso del útero grávido. Se determinó en balanza analítica digital Sartorius BP160P (Gottingen, Alemania) con sensibilidad 0,001 g.

Número de cuerpos lúteos (CL): cuantitativa discreta. Se definió como la cantidad total de CL en ovarios derecho e izquierdo. Un CL se identificó como una hinchazón discreta, redonda, ligeramente rosada en la superficie del ovario.

Total de sitios de implantación: cuantitativa discreta. Se definió como la cantidad total de sitios de implantación en los cuernos uterinos derecho e izquierdo.

Número de reabsorciones: cuantitativa discreta. Se definió como la cantidad total de reabsorciones tempranas (ausencia de estructuras embrionarias reconocibles al microscopio) y tardías (presencia de restos o tejidos fetales) en los cuernos uterinos derecho e izquierdo.

Número de sacos gestacionales: cuantitativa discreta. Se definió como la cantidad total de sacos gestacionales en cuernos derecho e izquierdo, se incluyó las estructuras que portaban fetos vivos o muertos y las reabsorciones tempranas o tardías.

Número total de fetos: cuantitativa discreta. Se definió como la cantidad total de fetos vivos (presencia de latidos cardiacos o respuesta a estímulos táctiles) y muertos.

Peso fetal: cuantitativa continua. Se definió como el peso del feto en gramos medido después de ser extraído mediante cesárea. Se determinó en balanza analítica digital Sartorius BP160P (Gottingen, Alemania) con sensibilidad 0,001 g.

Talla fetal: cuantitativa continua. Se definió como la longitud en centímetros desde la punta del hocico del feto hasta la inserción de la cola al cuerpo. Se determinó con el empleo de pie de rey al concluir el estudio.

Sexo: cualitativa nominal. Se definió como la condición orgánica que distingue y clasifica a ratas hembras de machos, según el examen físico de la zona perianal del feto. Se evaluó la distancia entre la papila genital y la apertura anal (en la hembra es aproximadamente la mitad que en el macho).

Anomalías externas: cualitativa nominal politómica. Se definieron como malformaciones o variaciones externas identificadas por observación macroscópica.

Anomalías óseas del cráneo: cualitativa nominal politómica. Se definieron como malformaciones o variaciones observadas en los huesos de la cabeza, en cuanto al tamaño, forma, adición o ausencia ósea. Se determinaron por observación macroscópica con estéreo microscopio (MGC-1-Russia).

Anomalías óseas del tronco: cualitativa nominal politómica. Se definieron como malformaciones o variaciones observadas en vértebras, costillas, esternones y xifoide, en cuanto a número, tamaño, localización, fusión, omisión, adición y calcificación incompleta. Se determinaron por observación macroscópica con estéreo microscopio (MGC-1-Russia).

Anomalías óseas de extremidades: cualitativa nominal politómica. Se definieron como malformaciones o variaciones observadas en extremidades anteriores y posteriores, en cuanto al tamaño, forma, adición o ausencia ósea. Se determinaron por observación macroscópica con estéreo microscopio (MGC-1-Russia).

Anomalías del tejido blando: cualitativa nominal politómica. Se definieron como malformaciones o variaciones observadas en cortes de órganos internos (según la técnica de Wilson), en cuanto a presencia o ausencia de estructuras, tamaño y localización. Se determinaron por observación con estéreo microscopio (MGC-1-Russia).

Anexo 2. Certificado de la calidad genética y sanitaria de los animales de laboratorio empleados

CC.CC.10.13 Dirección de Aseguramiento de la Calidad										CENPALAB		
Folio: 0019 Grupo de Aseguramiento de la Calidad												
CERTIFICADO DE CALIDAD DE ROEDORES SPF. Salud y Zootecnia												
Especie	Banco Genético	Colonia Expansión	Colonia Producción	Línea	Lote	Total de cajas						
Rata					Cenp-SD	02001916	2					
Machos	Hembras	Total	Peso	Edad	Centro de destino	Fecha Expedición	Hora					
14	—	14	180-200g	2-3m	F.O. U. V. H. E. G. n.	19/02/16	1:40					
Dictamen Zootécnico e Inspección Clínica												
Los animales en el momento de la expedición se encuentran clínicamente sanos, sus características morfológicas, fisiológicas y reproductivas se corresponden con la especificación de calidad de este producto. Proceden de una colonia con ambiente controlado y mantenidos en un sistema de producción intensivo aprobados para la línea, la alimentación se realiza con alimentos concentrados fórmula ALYCO EMO 1002 esterilizable a razón de 22.4 a 30 g diarios. Dicha producción se encuentra bajo las BPP y un Sistema de Gestión de la Calidad que garantiza el estado higiénico sanitario de los animales que se expiden.												
Resultados de Bacteriología *												
Entidad	Método	Pos. Neg.	No Test.	Fecha	Entidad	Método	Pos. Neg.	No Test.	Fecha			
Salmonella sp.	Cult/ Serot	X		18/10/15	Streptococcus (Streptococcus)	Cult/ Serot	X		20/07/15			
Streptobacillus moniliformis	Cultivo	X		—	Pasteurella pneumotropica	Cult/ELISA	X		20/11/15			
Streptococcus β hemolítico	Cult/ Serot	X		25/07/15	Clostridium piliformis	Insp. Clínica		X	—			
Bordetella bronchiseptica	Cult/ ELISA	X		26/11/15	Leptospira sp.	ELISA/ Micg	X		21/05/15			
Helicobacter sp.	Cultivo	X		05/02/15	Mycoplasma arthritidis	Cult/ELISA	X		30/10/14			
Corynebacterium kutscheri	Cult/ ELISA	X		18/10/15	Mycoplasma pulmonis	Cult/ELISA	X		18/10/15			
Dermatofitos	Insp. Clínica/Cultivo	X		06/02/15								
Resultados de Parasitología *												
Entidad	Método	Pos. Neg.	No Test.	Fecha	Fecha: 06/10/15							
Endoparásitos	DIR/ FLOT	X		06/10/15	Examen macroscópico: No se observan lesiones macroscópicas compatibles con alteraciones patológicas.							
Toxoplasma gondii	ELISA	X		14/07/15								
Trichosomoides crassicauda	Sedimentación	X		06/10/15								
Ectoparásitos	Insp. Clínica	X		06/10/15								
Resultados de Virología * (Serología)												
Entidad	Método	Pos. Neg.	No Test.	Fecha	Entidad	Método	Pos. Neg.	No Test.	Fecha			
Virus Sialodacryadenitis/ Virus corona (SDA/RCV)	IFA	X		19/10/15	Coriomeningitis linfocitaria (LCM)	IFA	X		12/10/15			
Virus Sendai	ELISA/IFA	X		19/10/15	Virus Kildam (KRV)	IFA	X		15/05/18			
Virus Pneumonia (PVM)	IFA	X		15/05/18	Reovirus Tipo 3 (REC 3)	IFA	X		15/05/18			
Virus Encefalomielitis Thiller (TMEV)	IFA	X		15/05/18	Virus Hantaan	IFA	X		15/05/18			
Virus Toxigen (H-1)	IFA	X		15/05/18								
* Según lo certificado por la Dirección de Aseguramiento de la Calidad del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, de acuerdo al cronograma de monitoreo de los roedores criados y mantenidos en sistemas protegidos y que consta en los expedientes de la línea archivados en la Dirección de Calidad. Documento de referencia "Recomendaciones del monitoreo microbiológico para Roedores mantenidos y criados en condiciones controladas".												
Válido a partir de ENERO /2016 hasta MARZO /2016												
Este certificado es copia fiel de la original que se elabora a partir de la liberación de la línea para su comercialización.												
Cargo	Realizado por: Realizado por: Aseguramiento de la Calidad				Aprobado por: Aprobado por: Dirección de Producción				Revisado por: Revisado por: Distribuidor			
Firma												

CC.CC.10.13 Dirección de Aseguramiento de la Calidad										CENPALAB		
Folio: 174 Grupo de Aseguramiento de la Calidad												
CERTIFICADO DE CALIDAD DE ROEDORES SPF. Salud y Zootecnia												
Especie	Banco Genético	Colonia Expansión	Colonia Producción	Línea	Lote	Total de cajas						
Rata					Cenp-WI	40000418	4					
Machos	Hembras	Total	Peso	Edad	Centro de destino	Fecha Expedición	Hora					
10	30	40	100-200	2-3m	U. H. U. H. E. G. n.	15/11/18	8:30pm					
Dictamen Zootécnico e Inspección Clínica												
Los animales en el momento de la expedición se encuentran clínicamente sanos, sus características morfológicas, fisiológicas y reproductivas se corresponden con la especificación de calidad de este producto. Proceden de una colonia con ambiente controlado y mantenidos en un sistema de producción intensivo aprobados para la línea, la alimentación se realiza con alimentos concentrados fórmula ALYCO EMO 1002 esterilizable a razón de 22.4 a 30 g diarios. Dicha producción se encuentra bajo las BPP y un Sistema de Gestión de la Calidad que garantiza el estado higiénico sanitario de los animales que se expiden.												
Resultados de Bacteriología *												
Entidad	Método	Pos. Neg.	No Test.	Fecha	Entidad	Método	Pos. Neg.	No Test.	Fecha			
Salmonella sp.	Cult/ Serot	X		24/07/18	Streptococcus pneumoniae	Cult/ Serot	X		24/07/18			
Streptobacillus moniliformis	Cultivo	X		—	Pasteurella pneumotropica	Cult/ELISA	X		24/07/18			
Streptococcus β hemolítico	Cult/ Serot	X		24/07/18	Clostridium piliformis	Insp. Clínica	X		08/02/18			
Bordetella bronchiseptica	Cult/ ELISA	X		22/06/18	Leptospira sp.	ELISA/ Micg	X		22/06/18			
Helicobacter sp.	Cultivo	X		27/04/18	Mycoplasma arthritidis	Cult/ELISA	X		27/04/18			
Corynebacterium kutscheri	Cult/ ELISA	X		24/07/18	Mycoplasma pulmonis	Cult/ELISA	X		27/04/18			
Dermatofitos	Insp. Clínica/Cultivo	X		24/07/18								
Resultados de Parasitología *												
Entidad	Método	Pos. Neg.	No Test.	Fecha	Fecha: 18/07/18							
Endoparásitos	DIR/ FLOT	X		18/07/18	Examen macroscópico: No se observan lesiones macroscópicas compatibles con alteraciones patológicas.							
Toxoplasma gondii	ELISA	X		17/08/18								
Trichosomoides crassicauda	Sedimentación	X		18/07/18								
Ectoparásitos	Insp. Clínica	X		18/07/18								
Resultados de Virología * (Serología)												
Entidad	Método	Pos. Neg.	No Test.	Fecha	Entidad	Método	Pos. Neg.	No Test.	Fecha			
Virus Sialodacryadenitis/ Virus corona (SDA/RCV)	IFA	X		15/05/18	Coriomeningitis linfocitaria (LCM)	IFA	X		15/05/18			
Virus Sendai	ELISA/IFA	X		15/05/18	Virus Kildam (KRV)	IFA	X		15/05/18			
Virus Pneumonia (PVM)	IFA	X		15/05/18	Reovirus Tipo 3 (REC 3)	IFA	X		15/05/18			
Virus Encefalomielitis Thiller (TMEV)	IFA	X		15/05/18	Virus Hantaan	IFA	X		15/05/18			
Virus Toxigen (H-1)	IFA	X		15/05/18								
* Según lo certificado por la Dirección de Aseguramiento de la Calidad del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio, de acuerdo al cronograma de monitoreo de los roedores criados y mantenidos en sistemas protegidos y que consta en los expedientes de la línea archivados en la Dirección de Calidad. Documento de referencia "Recomendaciones del monitoreo microbiológico para Roedores mantenidos y criados en condiciones controladas".												
Válido a partir de OCTUBRE /2018 hasta DICIEMBRE /2018												
Este certificado es copia fiel de la original que se elabora a partir de la liberación de la línea para su comercialización.												
Cargo	Realizado por: Realizado por: Aseguramiento de la Calidad				Aprobado por: Aprobado por: Dirección de Producción				Revisado por: Revisado por: Distribuidor			
Firma												

Anexo 3. Procedimientos Normalizados de Operación (PNO) utilizados en la investigación y establecidos por la UTEX como parte de su sistema integrado de gestión de la calidad.

1. PNO/ANI/0001. Recepción de los animales provenientes del centro suministrador
2. PNO/ANI/0004. Condiciones de alojamiento para los animales de laboratorio
3. PNO/ANI/0005. Marcaje de roedores
4. PNO/ANI/0007. Observación de roedores
5. PNO/ANI/0008. Realización de la palpación e inspección clínica.
6. PNO/ANI/0009. Selección al azar de los animales
7. PNO/ANI/00010. Suministro de agua para los animales de laboratorio
8. PNO/ANI/0011. Suministro de Alimentos para los Animales de Laboratorio
9. PNO/ANI/0012. Sacrificio de los animales
10. PNO/ANI/0016. Método de extracción de sangre por senos orbitales
11. PNO/ANI/0017. Método de extracción de sangre por la cola
12. PNO/ANI/0019. Método de extracción de sangre por la aorta abdominal
13. PNO/ LC 04. Determinación de glucemia
14. PNO/ LC 07. Determinación de Triacilglicéridos
15. PNO/REP/002. Estudio de embriotoxicidad y/o teratogénesis
16. PNO/REP/013. Apareamiento de las diferentes especies
17. PNO/REP/014. Confirmación del día cero de la preñez
18. PNO/REP/015. Sacrificio de las diferentes especies para estudios de teratogénesis.
19. PNO/REP/016. Cesárea
20. PNO/REP/017. Examen del útero y extracción de los fetos
21. PNO/REP/018. Conteo de los sitios de implantación
22. PNO/REP/019. Conteo de cuerpos lúteos
23. PNO/REP/020. Sexaje de los fetos
24. PNO/REP/021. Pesaje de los fetos
25. PNO/REP/024. Metodología para el examen de las malformaciones externas
26. PNO/REP/029. Técnica para el procedimiento del examen de los tejidos blandos.
27. PNO/ ASI / 001. Limpieza y desinfección del área protegida y la cuarentena.
28. PNO/ ASI / 003. Registro de variables ambientales (temperatura y humedad relativa)

- 29. PNO/ ASI / 004. Tarjeta de identificación para las cajas.
- 30. PNO/ ASI /007. Limpieza de los pomos para agua.
- 31. PNO / ASI / 008. Limpieza de las cajas, fondo de rejillas y las bandejas.
- 32. PNO / ASI / 011. Fregado de cristalería.

Anexo 4. Certificados de autorizo de alimento animal expedidos por el centro suministrador (Cenpalab) y recepcionado en la Unidad de Garantía de la Calidad (UGC) de la UTEX .

FP-CA.01.14 **Dirección de Alimentación y Nutrición**
Grupo de Producción de Alimentos Concentrados
CENPALAB
CENTRO NACIONAL PARA LA PRODUCCIÓN DE ANIMALES DE LABORATORIO

CERTIFICADO DE AUTORIZO DE ALIMENTO CONCENTRADO

Fórmula	Ciclo	Lote	Fecha de Producción	Presentación
CMO 1000	I	0492016	05/02/2016	Pellet Ø 16 mm

Especificaciones para su uso

Dieta completa para el mantenimiento de ratas y ratones. Todo propósito. No esterilizable. Conservar en lugar fresco y ventilado, protegido de la humedad y de vectores. Este alimento conserva sus propiedades nutritivas durante 60 días a partir de la fecha de fabricación.

Componentes

Maiz, Trigo, Cebada, Soya, Azucar, Fosfato dicálcico, Carbonato de calcio, Sal común, Premezcla de Vitaminas y Minerales y Biotinico.

Análisis calculado *

Descripción	UM	Valor	Descripción	UM	Valor
Proteína bruta (Min.)	%	16.00	Calcio	%	0.39
Energía Metabolizable (Min.)	kcal/g	2.80	Fósforo	%	0.49
Fibra bruta (Máx.)	%	3.40	Relación Calcio/ Fósforo	%	0.79
Grasa bruta (Min.)	%	1.50			

* Según análisis calculado por la Dirección de Alimentación - Nutrición del Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio.

Recibirá el Certificado de Calidad en un periodo de 10 días posteriores a este documento a través de la Dirección de Comercialización.

Realizado por: **Dirección de Producción**
Revisado por: **Distribuidor**

Factura-Conduce 1396

CENPALAB
CENTRO NACIONAL PARA LA PRODUCCIÓN DE ANIMALES DE LABORATORIO

Dirección: Calle 3ra, No. 48759, e/ 5ta y Carretera de Tírbique, Reparto La Unión, Municipio Boyeros, Provincia La Habana | Código: 305.0.06668 | Fax: 7 683 9058
Teléfonos: Comercialización: 7 683 9072/ Ventas: 7 683 9057/ Finanzas: 7 683 7434
Correo electrónico: comercial@cenpalab.cu | NIT-01000226610

Código	Descripción del Producto/Servicio	UM	Precio	Cantidad	Importe
CMO1000	Maquinismo C/P Rata y Ratones (Pellet 15-16 mm) 1000	Tm	83.55	0.1000	83.55
Total					83.55

Observaciones:

Facturación: ☐ CUP ☐ Transferencia Bancaria ☐ CUC ☐ Cheque

CUP: 0532320046750116
Título: CENPALAB (Certificar si > \$100,000.00)
Agencia Bancaria: 323. Banco Metropolitano

CUC: 0300000002660620
Título: Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (Certificar si > \$5,000.00)

Transportista: **Ismael Aguilar Campesino** Licencia: **0492024** Matrícula: **0661094**

Suministrador: **Ismael Aguilar Campesino** Distribuidor: **Daniel Nery A.** Cliente: **Alfredo Fernández Zamora**

Lugar de Entrega: **6302241624**

Documento No.: **1396/2016** Fecha: **19/03/2016**

Anexo 5. Aprobación del Comité de Ética de la investigación UTEX

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE VILLA CLARA
UNIDAD DE TOXICOLOGÍA EXPERIMENTAL (UTEX)
AVAL DE LA COMISIÓN DE ÉTICA DE LAS INVESTIGACIONES (CEI)

La investigación titulada: **Cambios morfofuncionales en un biomodelo experimental de Síndrome Metabólico en diferentes etapas del desarrollo**, de la MSc. Yisel González Madariaga, incluye una serie de investigaciones efectuadas en la Unidad de Toxicología Experimental desde el año 2014. Todas estas investigaciones se han articulado en proyectos de investigación de alcance institucional y nacional, dirigidos por la autora principal de la investigación, que han respondido a demandas específicas del sector salud a diferentes niveles y que se han realizado dentro de las líneas aprobadas por la Universidad Médica de Villa Clara.

La CEI de la UTEX declara que en todo momento las investigaciones fueron aprobadas por el CEI de la unidad. Las investigaciones se realizaron con la observancia requerida de las normas bioéticas para el trabajo con animales de experimentación que se encuentran recogidas en el Manual para el trabajo experimental de la UTEX y que se rigen por la legislación nacional y las recomendaciones internacionales sobre el tema. Los protocolos que fueron presentados para cada una de los estudios efectuados, cumplieron con las normas ARRIVE (Animal Research: Reporting of in Vivo Experiments) y se constató en sistemáticas inspecciones efectuadas en la etapa experimental y posteriormente de confección del informe, el cumplimiento de los principios éticos para la investigación.

Los resultados obtenidos tienen un alto valor teórico y práctico. Permiten reproducir un biomodelo experimental que aborda una problemática de salud de gran sensibilidad e impacto y evaluar la calidad de la generación del modelo. Esto permite interpretar con mayor fidelidad los resultados y extrapolarlos a la medicina humana.



Santa Clara, 17 de Enero, 2023

MSc. Arelia Pizarro Espin
Presidenta del CEI
Unidad de Toxicología Experimental.
Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara

Anexo 6. Comparación de parámetros de química sanguínea reportados para ratas Wistar de 17 semanas o más ²⁹⁹ y humanos ³⁰⁰

PARÁMETROS	MACHOS	HEMBRAS	HOMBRES	MUJERES
Glu (mmol/L)	5,88 – 10,22	4,94 – 9,05	4,33 – 6,11	4,22 – 6,00
TAG (mmol/L)	0,30 – 1,81	0,18 – 1,97	0,62 – 3,01	0,59 – 2,34
Colesterol (mmol/L)	0,96 – 2,46	0,59 – 2,51	2,97 – 6,57	3,02 – 6,52
TGP (U/L)	19,00 – 48,00	14,00 – 64,00	15,00– 74,00	10,00 – 37,00
Proteínas Totales (g/L)	56,00 – 76,00	63,00 – 5,00	68,00 – 85,00	67,00 – 85,00
Albumina (g/L)	36,00 – 47,00	37,00 – 58,00	34,00 – 54,00	34,00 – 50,00
Globulinas (g/L)	18,00 – 25,00	16,00– 23,00	23,00 – 35,00	23,00 – 35,00
Creatinina (μmol/L)	33,9 – 56,5	33,9 – 67,9	61,95 – 106,19	53,10 – 79,65

Glu: glucosa, TAG: triacilglicéridos, TGO: transaminasa glutámico pirúvica.

Anexo 7. Determinación de la MPO.¹⁵⁵

- 1- Obtención de las muestras de sangre por venopunción.
- 2- Separación del suero de las muestras a temperatura ambiente.
- 3- Centrifugación durante 10 minutos a 4000 g y a 4 °C, y decantación del suero.
- 4- Recolección de 1 mL de suero en microtubos de 1,5 mL y almacenamiento a -70 °C hasta posterior análisis.
- 5- Adición de 100 µL de suero a 2.85 mL de buffer fosfato 0.05 M y pH= 6,0 que contenía 0,65 mmol/L de cloruro de ortodianisidina.
- 6- Adición a la mezcla en 5 de peróxido de hidrógeno a una concentración final de 0,14 mM.
- 7- Registro de la absorbancia de la muestra a 460 nm durante 3 minutos a intervalos de 1 minuto. Se utilizó como blanco al buffer fosfato de potasio.
- 8- Construcción de una curva patrón de peroxidasa de rábano (HRP) liofilizada para el cálculo de la actividad enzimática. La actividad de la enzima se expresó en U/mL.

Anexo 8. Examen del tejido esquelético. Huesos examinados

I. Cráneo

- Nasal
- Frontal
- Parietal
- Interparietal
- Supra-occipital.
- Pre-Maxilar
- Maxilar
- Zigomático
- Escamoso
- Exoccipital

II. Tronco

- Vértebras
- Costillas
- esternones
- Xifoides

III. Extremidades anteriores y posteriores

- Clavícula
- Húmero
- Radio
- Tibia
- Fémur

Anexo 9. Examen del tejido blando. Cortes realizados según la técnica de Wilson y las estructuras que se inspeccionaron en cada uno.

Descripción del corte	Estructuras y órganos observados
Corte efectuado en la región cefálica en línea recta por dentro de la boca y a través de las orejas	<ul style="list-style-type: none"> - Paladar - Bóveda platina - Canales palatinos - Orofaringe - Cerebelo
Corte sobre el hocico dos o tres milímetros después del corte anterior	<ul style="list-style-type: none"> - Canales nasales - Puente palatino - Septum nasal - Conchas nasales
Corte delante y detrás del ojo	<ul style="list-style-type: none"> - Bulbo olfatorio - Párpados - Cristalinos - Retina - Cuerpo vítreo - Cámara anterior - Tracto nasal - Maxilar
Centro de la cabeza	<ul style="list-style-type: none"> - Seno sagital superior - Ventrículos laterales - Tercer ventrículo - Indicación de los oídos internos
Sobre el cuello	<ul style="list-style-type: none"> - Timo - Tráquea - Vasos que irrigan esa región
Encima de las extremidades anteriores	<ul style="list-style-type: none"> - Esófago - Tráquea - Corazón - Parte de los pulmones - Médula ósea
Debajo de las extremidades anteriores	<ul style="list-style-type: none"> - Corazón - Pulmones - Bronquios
Cortes efectuados en la región abdominal	<ul style="list-style-type: none"> - Hígado con los cuatro lóbulos - Estómago - Bazo - Riñones - Glándulas suprarrenales - Asas intestinales - Sistema reproductor (útero y ovarios o testículos y conductos deferentes)

Anexo 10 Tabla 7. Parámetros determinados a las 18 semanas de vida postnatal para verificar la instauración del biomodelo de SM en experimento **3.2**

Grupos (n=20)	Glu mmol/L	TAG mmol/L	CA cm
Sanos	5,84 ± 0,51	0,62 ± 0,17	14,95 ± 0,23
SME	7,67 ± 1,55	1,33 ± 0,29	17,07 ± 0,33
p	< 0,001	< 0,001	< 0,001

SME: síndrome metabólico experimental, Glu: glucosa, TAG: triacilglicéridos, CA: circunferencia abdominal. La comparación se realizó con el test T de Student. Los datos se expresan como la media y la desviación estándar. Fuente: registro de recogida de datos.

Anexo 11 Tabla 13. Registro de la observación macroscópica de la región toraco-abdominal al término de la inducción del SME en la semana 22 postnatales

GRUPO SME					
	Cav. Abdominal	CORAZÓN	PÁNCREAS	RIÑONES	HÍGADO
1	Exceso GAb	AN	AN	AN	AN
2	Exceso GAb	AN	AN	AN	CP
3	Exceso GAb	GE	AN	AN	CP
4	Exceso GAb	GE	AN	AN	CP
5	Exceso GAb	AN	AN	AN	AN
6	Exceso GAb	GE	AN	AN	AN
7	Exceso GAb	AN	AN	AN	CP
8	Exceso GAb	AN	AN	AN	CP
9	Exceso GAb	AN	AN	AN	AN
10	Exceso GAb	GE	AN	AN	AN
11	Exceso GAb	AN	AN	AN	AN
12	Exceso GAb	AN	AN	AN	AN
13	Exceso GAb	GE	AN	AN	CP
14	Exceso GAb	GE	AN	AN	CP
15	Exceso GAb	GE	AN	AN	CP
16	Exceso GAb	AN	AN	AN	AN
17	Exceso GAb	GE	AN	AN	AN
18	Exceso GAb	AN	AN	AN	CP
19	Exceso GAb	GE	AN	AN	AN
20	Exceso GAb	GE	AN	AN	CP
GRUPO Sanos					
1	AN	AN	AN	AN	AN
2	AN	AN	AN	AN	AN
3	AN	AN	AN	AN	AN
4	AN	AN	AN	AN	AN
5	AN	AN	AN	AN	AN
6	AN	AN	AN	AN	AN
7	AN	AN	AN	AN	AN
8	AN	AN	AN	AN	AN
9	AN	AN	AN	AN	AN
10	AN	AN	AN	AN	AN
11	AN	AN	AN	AN	AN
12	AN	AN	AN	AN	AN
13	AN	AN	AN	AN	AN
14	AN	AN	AN	AN	AN
15	AN	AN	AN	AN	AN
16	AN	AN	AN	AN	AN
17	AN	AN	AN	AN	AN
18	AN	AN	AN	AN	AN
19	AN	AN	AN	AN	AN
20	AN	AN	AN	AN	AN

SME: síndrome metabólico experimental, Cav. Abdominal: cavidad abdominal, AN: aspecto normal, GAb: grasa abdominal, GE: grasa epicárdica. Fuente: registro de recogida de datos.

Anexo 12. Aspecto del nefroblastoma mixto o tumor de Wilms en un reporte de caso del grupo de SME. Estudio: Parámetros somatométricos, analíticos e histológicos en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas machos desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas

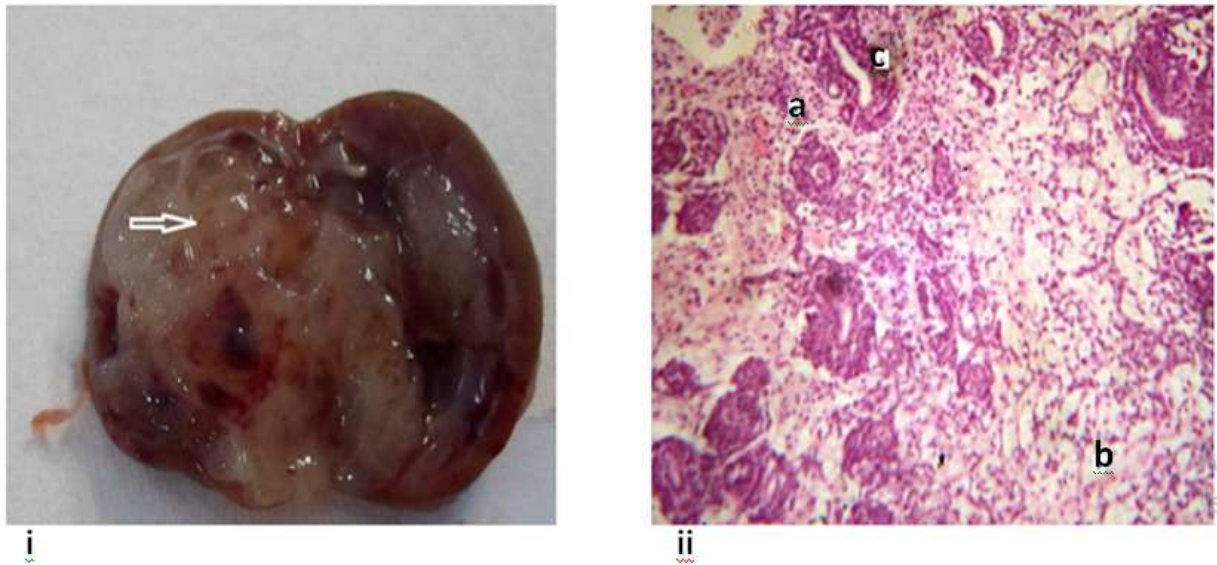


Fig. 3. Aspecto macroscópico i), Aspecto microscópico ii): a) clásica combinación trifásica, b) blastemal, mesenquimal y c) tubular. (40x, H/E).

7		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x
8		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x
9		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x
10		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x
11		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x
12		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x
13		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x
14		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x
15		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x
16		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x
17		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x
18		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x
19		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x
20		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x		x

EMAC: esteatosis macrovacuolar, EMIC: esteatosis microvacuolar, EEAR: engrosamiento endotelial de arteriolas renales, GA: glomérulos atróficos, GH: glomérulos hipertróficos, TA: tubulis atróficos, TH: tubulis hipertróficos, PGM: penetración grasa en miocitos, HM: hipertrofia de miocitos, PL: presencia de lipoblastos, AL: acúmulo de linfocitos, IA: islotes atróficos, IH: islotes hipertróficos

Anexo 14 Tabla 17. Diagnóstico de SME según los criterios de NCEP-ATP III ajustados al modelo biológico roedor. Estudio: Parámetros somatométricos, analíticos e histológicos en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas machos desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas.

GRUPOS	CASO	Diagnóstico
SME	159	1
SME	1521	1
SME	1543	1
SME	1545	1
SME	1546	1
SME	1549	0
SME	1652	1
SME	161	0
SME	162	0
SME	163	0
SME	165	0
SME	168	1
SME	169	1
SME	1610	1
SME	1645	1
SME	1621	1
SME	191	1
SME	194	1
SME	196	1
SME	1910	0
T. DE CASOS	20	14
%		70
Sanos	1501	0
Sanos	1502	0
Sanos	1503	0
Sanos	1504	0
Sanos	1505	0
Sanos	1506	0
Sanos	1507	1
Sanos	1508	1
Sanos	1509	0
Sanos	15010	0
Sanos	1902	0
Sanos	1907	0
Sanos	1909	0
Sanos	19010	0
Sanos	19026	0
Sanos	19027	0
Sanos	19034	0
Sanos	19041	0
Sanos	19043	0
Sanos	19013	0
T. DE CASOS	20	2
%		10

1- diagnóstico positivo de SM

0- diagnóstico negativo de SM

Anexo 15. Modelos de regresión logística obtenidos a partir de la re-codificación de los parámetros seleccionados por su correlación positiva con la grasa abdominal.

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 ^a FGLIC	2.140	.748	8.196	1	.004	8.500	1.964	36.790
Constant	-.531	.399	1.773	1	.183	.588		

a. Variable(s) entered on step 1: FGLIC.

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 ^a FTAG	2.488	.759	10.750	1	.001	12.042	2.721	53.296
Constant	-.754	.429	3.091	1	.079	.471		

a. Variable(s) entered on step 1: FTAG.

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 ^a FAU	3.520	1.107	10.103	1	.001	33.778	3.855	295.949
Constant	-.747	.405	3.410	1	.065	.474		

a. Variable(s) entered on step 1: FAU.

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 ^a FCA	2.679	.768	12.153	1	.000	14.571	3.231	65.711
Constant	-.887	.449	3.904	1	.048	.412		

a. Variable(s) entered on step 1: FCA.

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 ^a FCREAT	22.001	10048.242	.000	1	.998	3589944095.225	.000	.
Constant	-.799	.401	3.958	1	.047	.450		

a. Variable(s) entered on step 1: FCREAT.

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 ^a FPAS	22.119	9748.227	.000	1	.998	4038687107.128	.000	.
Constant	-.916	.418	4.798	1	.028	.400		

a. Variable(s) entered on step 1: FPAS.

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 ^a FPAD	21.896	10377.780	.000	1	.998	3230949685.702	.000	.
Constant	-.693	.387	3.203	1	.074	.500		

a. Variable(s) entered on step 1: FPAD.

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 ^a FAU	4.644	1.460	10.121	1	.001	104.002	5.948	1818.518
FCA	3.808	1.218	9.780	1	.002	45.055	4.143	489.970
Constant	-2.811	1.030	7.452	1	.006	.060		

a. Variable(s) entered on step 1: FAU, FCA.

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 ^a FAU	4.458	1.481	9.062	1	.003	86.328	4.737	1573.137
FCA	3.460	1.252	7.632	1	.006	31.812	2.733	370.349
FTAG	1.120	1.101	1.036	1	.309	3.066	.354	26.521
Constant	-3.006	1.071	7.879	1	.005	.050		

a. Variable(s) entered on step 1: FAU, FCA, FTAG.

Variables in the Equation

	B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95% C.I. for EXP(B)	
							Lower	Upper
Step 1 ^a FAU	4.576	1.575	8.436	1	.004	97.088	4.428	2128.906
FCA	3.859	1.345	8.226	1	.004	47.396	3.393	662.051
FGLIC	2.128	1.252	2.889	1	.089	8.397	.722	97.655
Constant	-3.561	1.266	7.911	1	.005	.028		

a. Variable(s) entered on step 1: FAU, FCA, FGLIC.

Anexo 16. Tabla 20. Diagnóstico de SME según el criterio declarado en el acápite 3.2.5 Estudio: Parámetros de inflamación en el síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas *Wistar*.

GRUPOS	CASO	Diagnóstico
SME	161	1
SME	162	1
SME	163	1
SME	165	1
SME	168	1
SME	169	1
SME	1610	1
SME	1645	1
SME	1621	1
SME	191	1
T. DE CASOS	10	10
%		100
Sanos	1902	0
Sanos	1907	0
Sanos	1909	0
Sanos	19010	0
Sanos	19026	0
Sanos	19027	0
Sanos	19034	0
Sanos	19041	0
Sanos	19043	0
Sanos	1905	0
T. DE CASOS	10	0
%		0

1- diagnóstico positivo de SM

0- diagnóstico negativo de SM

Anexo 17. Tabla 24. Diagnóstico de SME según el criterio declarado en el acápite 3.2.5. Estudio: Parámetros de disfunción endotelial en aorta abdominal en un biomodelo de síndrome metabólico inducido por dieta rica en sacarosa en ratas Wistar desde la etapa intrauterina hasta las 22 semanas postnatales

GRUPOS	CASO	Diagnóstico
SME	159	1
SME	1521	1
SME	1543	1
SME	1545	1
SME	1546	1
SME	1549	1
SME	1562	1
SME	151	1
SME	152	1
SME	153	1
T. DE CASOS	10	10
%		100
Sanos	1501	0
Sanos	1502	0
Sanos	1503	0
Sanos	1504	0
Sanos	15012	0
Sanos	1507	0
Sanos	1509	0
Sanos	15010	0
Sanos	1506	0
Sanos	15011	0
T. DE CASOS	10	0
%		0

1- diagnóstico positivo de SM

0- diagnóstico negativo de SM

Anexo 18. Ficha de recogida de resultados de parámetros histológicos. Estudio: Parámetros de disfunción endotelial en aorta abdominal en un biomodelo de SME inducido por dieta rica en sacarosa en ratas *Wistar* desde la etapa intrauterina hasta la adolescencia

		TE		DEnd		PSE		LEIF		FEMD		TCMLV	
		Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No	Si	No
20 Semanas	Sanos												
	1		x		x		x		x		x		x
	2		x		x		x		x		x		x
	3		x		x		x		x		x		x
	4		x		x		x		x		x		x
	5		x		x		x		x		x		x
	6		x		x		x		x		x		x
	7		x		x		x		x		x		x
	8		x		x		x		x		x		x
	9		x		x		x		x		x		x
	10		x		x		x		x		x		x
	SME												
	1		x		x		x		x	x		x	
	2	x			x		x	x		x		x	
	3	x			x		x		x	x		x	
	4	x			x	x			x	x		x	
	5	x			x		x		x	x		x	
	6	x			x	x		x		x		x	
	7	x			x		x		x	x		x	
	8	x			x	x		x		x		x	
	9	x			x		x		x	x		x	
	10	x		x		x			x	x		x	
	Sanos												
	1		x		x		x		x		x		x

	2		x		x		x		x		x		x
	3		x		x		x		x		x		x
	4		x		x		x		x		x		x
	5		x		x		x		x		x		x
	6		x		x		x		x		x		x
	7		x		x		x		x		x		x
	8		x		x		x		x		x		x
	9		x		x		x		x		x		x
	10		x		x		x		x		x		x
	SME												
22 Semanas	1	x		x				x		x		x	
	2	x		x		x		x		x		x	
	3	x			x	x		x		x		x	
	4	x			x		x		x	x		x	
	5	x			x	x	x	x		x		x	
	6	x			x		x		x	x		x	
	7	x		x		x		x		x		x	
	8	x			x	x		x		x		x	
	9	x			x	x		x		x		x	
	10	x			x		x		x	x		x	

TE: tumefacción endotelial, DEnd: denudación endotelial, PSE: proliferación subendotelial, LEIF: lámina elástica interna fragmentada, FEMD: fibras elásticas de la media desorganizada, VCML: tumefacción de la célula muscular lisa vascular

