



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
QUÍMICO-BIOLÓGICAS**

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Estudio del efecto de la biotina en el
síndrome metabólico

TESIS

PRESENTA:

Q.F.B. María Guadalupe Hernández Equihua

PARA OBTENER EL GRADO DE:

Maestra en Ciencias en Biología Experimental

DIRECTORES DE TESIS:

D.C. Asdrúbal Aguilera Méndez

D.C. Daniel Godínez Hernández

Morelia, Michoacán, México. Agosto 2017.



**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
QUÍMICO BIOLÓGICAS**

El presente trabajo se realizó en él:

**Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas
Laboratorio de Bioquímica de la Nutrición
Laboratorio de Farmacología
Edificio B3, Ciudad Universitaria
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo**



Dedicatoria

A mis padres Ana Bertha Equihua Equihua y Antonio Hernández Montañez, por todo su amor, sus consejos, su apoyo y comprensión. Son mi ejemplo de esfuerzo y trabajo, sin ustedes no estaría aquí.

A mis hermanos, Marlene, María Inés, Eduardo y Antonio por todo su apoyo y compañía siempre.

“La simplicidad es lo más difícil de conseguir en este mundo, es el último límite de la experiencia y el último esfuerzo del genio”

George Sand

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a los asesores de tesis D.C. Asdrúbal Aguilera Méndez y D.C. Daniel Godínez Hernández por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto, por su paciencia y por dirigir este trabajo.

A los sinodales D.C. Alfredo Saavedra Molina, D.C. Christian Cortés Rojo y D.C. León Francisco Ruíz Herrera por acceder a ser parte del comité de evaluación.

Agradezco especialmente a la Dra. Esperanza Meléndez Herrera por permitirme realizar las histologías y tomar las microfotografías en el laboratorio de Eco-Fisiología animal del Instituto de Investigaciones sobre Recursos Naturales (INIRENA).

A los compañeros del laboratorio de Eco-Fisiología animal por apoyarme en cualquier duda y especialmente a Alejandra y a Edel por sus tips y consejos a la hora de realizar los cortes y las técnicas histoquímicas.

Al D.C. Zurisaddai Hernández Gallegos por todas sus sugerencias durante la realización de este proyecto.

A la maestra Blanquita por brindarme su apoyo y sus consejos siempre.

A mis amigas Jessica, Vanessa y Zaira, por brindarme animo durante los momentos difíciles.

A mis padres Bertha y Antonio, a mis hermanos Marlene, María Inés, Eduardo y Antonio por todo su apoyo y compañía siempre.

Al Consejo Nacional de Ciencia y tecnología (CONACYT), por concederme la beca para mi manutención durante la realización de este trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN	V
ABSTRACT	VI
ABREVIATURAS.....	VII
1.-INTRODUCCIÓN	1
1.1. Síndrome metabólico	1
1.1.1. Diagnóstico clínico del síndrome metabólico	2
1.2. Componentes del síndrome metabólico	6
1.2.1. Resistencia a la insulina	6
1.2.2. Hiperglucemia	8
1.2.3. Obesidad abdominal.....	9
1.2.4. Dislipidemias	12
1.2.5. Presión arterial elevada.....	16
1.3. Epidemiología del síndrome metabólico.....	18
1.4. Fisiopatología del síndrome metabólico	20
1.4.1. Mecanismos de acción de la insulina.....	20
1.4.2. Mecanismos involucrados en la inhibición de la señal de insulina	23
1.4.3. Moduladores negativos de la señal de insulina.....	26
1.5. Enfermedad hepática no alcohólica	27
1.5.1. Acumulación de lípidos en el hígado	28
1.6. Hipertensión arterial.....	29
1.6.1. Endotelio vascular e hipertensión arterial	30
1.6.1.1. Señalización por óxido nítrico	31
1.7. Consumo de fructosa y síndrome metabólico	33
1.7.1. Fructosa	33
1.7.2. Absorción intestinal de la fructosa	34
1.7.3. Metabolismo hepático de la fructosa.....	34
1.7.4. Alimentación con fructosa en ratas como modelo de síndrome metabólico	37
1.8. Tratamiento farmacológico del síndrome metabólico	39
1.8.1. Metformina	39
1.8.2. Tiazolidinedionas.....	40
1.8.3. Estatinas	41
1.8.4. Antihipertensivos	42
1.9. Vitaminas y su uso como coadyuvantes en el tratamiento de enfermedades.....	43
1.9.1. Biotina	43

1.9.1.1. Estructura de la biotina	44
1.9.1.2. Ingesta adecuada de biotina	45
1.9.1.3. Absorción, metabolismo y eliminación de la biotina	45
1.9.1.4. Función de la biotina como cofactor enzimático	48
1.9.1.5. Función de la biotina en la regulación de la expresión de genes.....	49
1.9.1.5.1. Señalización a través de la guanilato ciclase soluble.....	49
1.9.1.5.2. Biotinilación de histonas	50
2.-ANTECEDENTES	51
3.-JUSTIFICACIÓN	54
4.-HIPÓTESIS	55
5.-OBJETIVOS	55
5.1. General	55
5.2. Específicos	55
6.-MATERIALES Y MÉTODOS	56
6.1. Preparación de la solución de biotina inyectable y de fructosa 30% (p/V)	56
6.2. Animales experimentales, inducción de síndrome metabólico y tratamientos	56
6.3. Prueba de tolerancia intraperitoneal a la glucosa.....	57
6.4. Prueba de tolerancia intraperitoneal a la insulina	57
6.5. Medición de la presión arterial	58
6.6. Medición de colesterol y triacilglicéridos en sangre.....	58
6.7. Recolección de las muestras	58
6.8. Estudios de reactividad vascular.....	59
6.9. Cuantificación de colesterol LDL y HDL	60
6.10. Contenido de triacilglicéridos hepáticos	60
6.11. Tinción histopatológica.....	61
6.12. Análisis estadístico	61
7.-RESULTADOS.....	62
7.1. Parámetros fisiológicos	62
7.2. Efecto de la biotina sobre la tolerancia a la glucosa.....	64
7.3. Efecto de la biotina sobre las dislipidemias.....	67
7.4. Efecto de la biotina en el hígado graso no alcohólico.....	69
7.5. Efecto cardiovascular de la biotina en ratas alimentadas con fructosa.....	71
8.-DISCUSIÓN	74
9. CONCLUSIONES.....	82
10. REFERENCIAS.....	83

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos implicados en la relación entre obesidad visceral y síndrome metabólico	11
Figura 2. Mecanismos involucrados en las dislipidemias presentes en el síndrome metabólico.	15
Figura 3. Esquema de las vías de señalización activadas por la insulina para el transporte de glucosa en las células	21
Figura 4. Esquema de la vía de señalización PI3K/PKB activada por la insulina para regular el metabolismo de la glucosa y de lípidos.	22
Figura 5. Mecanismos de regulación negativa de la señalización de insulina.....	25
Figura 6. Producción de óxido nítrico y su acción en las células del músculo liso vascular	32
Figura 7. Estructura de la sacarosa y composición del jarabe de maíz de alta fructosa.....	33
Figura 8. Pasos cruciales del metabolismo hepático de la fructosa y de la glucosa.....	35
Figura 9. Esquema de la lipogénesis de novo hepática.....	36
Figura 10. Estructura de la d-biotina.....	44
Figura 11. Metabolismo, función, degradación y reciclamiento de biotina en mamíferos.	47
Figura 12. Esquema de la interrelación de las reacciones catalizadas por las carboxilasas dependientes de biotina	49
Figura 13. Mecanismo propuesto de señalización de biotina a través de la vía de la GC/GMPc/PKG	50
Figura 14. Efectos del consumo de fructosa y del tratamiento con biotina sobre algunas variables fisiológicas	63
Figura 15. Efecto del tratamiento con biotina sobre los niveles de glucosa en ayuno y la tolerancia a la glucosa en ratas con suplementación con fructosa al 30% como agua de beber durante 14 semanas.....	65
Figura 16. Efecto del tratamiento con biotina sobre la sensibilidad a la insulina en ratas con suplementación con fructosa al 30% como agua de beber durante 14 semanas.....	66
Figura 17. Efecto del tratamiento con biotina sobre las dislipidemias en ratas con suplementación con fructosa al 30% como agua de beber durante 14 semanas	68
Figura 18. Efecto del tratamiento con biotina en la concentración de triacilglicéridos hepáticos en ratas con suplementación con fructosa al 30% como agua de beber durante 14 semanas .	69
Figura 19. Secciones hepáticas de ratas alimentadas con fructosa y tratadas con biotina teñidas con rojo oleoso.....	70
Figura 20. Efecto del tratamiento con biotina sobre la presión arterial sistólica en ratas con suplementación de fructosa al 30% como agua de beber	71
Figura 21. Efecto del tratamiento con biotina sobre la contracción vascular in vitro en aorta torácica de ratas con suplementación de fructosa al 30% como agua de beber	73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales definiciones clínicas y sus criterios para el diagnóstico de síndrome metabólico.....	5
Tabla 2. Criterios para diagnosticar diabetes mellitus.....	8
Tabla 3. Valores de presión arterial de acuerdo al Séptimo Informe del Comité Nacional Conjunto de Estados Unidos	17
Tabla 4. Ingesta diaria recomendada de biotina en diferentes etapas de la vida	45

RESUMEN

En México y en el mundo, las enfermedades cardiovasculares constituyen la primera causa de morbimortalidad en la población adulta. Los principales factores de riesgo cardiovascular incluyen hipertensión arterial, dislipidemias, tolerancia a la glucosa alterada y diabetes tipo 2, los cuales tienden a coexistir en un mismo individuo constituyendo el síndrome metabólico. Adicionalmente, el hígado graso no alcohólico es la mayor manifestación hepática del síndrome metabólico, el cual no solo se relaciona con mayor morbimortalidad de causa hepática sino también contribuye a la mortalidad por enfermedad cardiovascular. Estudios en humanos y en roedores han demostrado que el consumo frecuente de cantidades altas de fructosa induce las alteraciones del síndrome metabólico, relacionándose así el consumo incrementado de fructosa con la elevada prevalencia de síndrome metabólico. Por otra parte, se ha evidenciado que la biotina, una vitamina hidrosoluble perteneciente al complejo B, presenta efecto hipoglucémico, hipotriglicéridémico y antihipertensivo, cuando se administra a dosis farmacológica. Sin embargo, hasta el momento, estos efectos no se habían estudiado en una condición donde coexistieran alteraciones metabólicas, cardiovasculares y hepáticas, resultantes de una dieta alta en fructosa. En el presente trabajo, se estudió el efecto de la biotina a dosis farmacológica en el síndrome metabólico en rata inducido por suplementación con fructosa 30% (p/V) en el agua de beber. Se observó que la suplementación con fructosa durante 14 semanas indujo resistencia a la insulina, incrementó la presión arterial y la respuesta contráctil a fenilefrina en aorta torácica, produjo dislipidemias, incrementó el contenido de triacilglicéridos en el hígado y redujo la tolerancia a la glucosa en el modelo experimental. Por otra parte, el tratamiento con biotina durante las últimas 4 semanas de suplementación con fructosa mejoró la tolerancia a la glucosa, redujo la resistencia a la insulina, redujo la dislipidemia y previno la acumulación de lípidos en el hígado, evitando así la progresión de la esteatosis no alcohólica. Además, la administración de biotina redujo la presión arterial en las ratas alimentadas con fructosa y corrigió la respuesta contráctil a fenilefrina en aorta torácica. En conjunto, los resultados obtenidos indican que la biotina podría ser utilizada como coadyuvante en el tratamiento farmacológico del síndrome metabólico.

Palabras clave: biotina, fructosa, síndrome metabólico riesgo cardiovascular

ABSTRACT

In Mexico and the world, cardiovascular diseases are the first cause of morbidity and mortality in the adult population. Main cardiovascular risk factors include hypertension, dyslipidemia, impaired glucose tolerance and type 2 diabetes, which tend to coexist in the same individual constituting the metabolic syndrome. In addition, non-alcoholic fatty liver is the major hepatic manifestation of the metabolic syndrome, which is not only related to increased morbidity and mortality of liver disease but also contributes to mortality due to cardiovascular disease. Studies in humans and rodents have shown that constant consumption of high amounts of fructose induces alterations of the metabolic syndrome, thus relating the increased consumption of fructose with the high prevalence of metabolic syndrome. On the other hand, although it has been shown that biotin a water soluble vitamin that belongs to the B complex, at pharmacological doses has hypoglycemic, hypotriglyceridemic and antihypertensive effects. However, to date, these effects have not been studied in a condition where metabolic, cardiovascular and hepatic signs coexist, resulting from a diet high in fructose. In the present work, the effect of biotin at pharmacological dose in the metabolic syndrome in rats induced by 30% (w/v) fructose supplementation in drinking water was studied. It was observed, that fructose supplementation for 14 weeks induced insulin resistance, increased blood pressure and altered contractile response to phenylephrine in the thoracic aorta, besides caused dyslipidemia, increased content of triacylglycerides in the liver and reduced glucose tolerance on the experimental model. On the other hand, biotin treatment during the last 4 weeks of fructose supplementation improved glucose tolerance, reduced insulin resistance, reduced dyslipidemia and prevented the accumulation of lipids in the liver, thus preventing the progression of liver steatosis. In addition, administration of biotin reduced blood pressure in fructose-fed rats and normalized the contractile response to phenylephrine in thoracic aorta. Overall, the results indicate that biotin might be used as adjuvant in the pharmacological treatment of the metabolic syndrome.

Key words: biotin, fructose, metabolic syndrome

ABREVIATURAS

ACC	Acetil-CoA carboxilasa	G-6-Pasa	Glucosa-6-fosfatasa
ACL	ATP citrato liasa	GAA	Glucosa en ayuno alterada
ADN	Ácido desoxirribonucleico	GA3P	Gliceraldehído-3-fosfato
AGL	Ácidos grasos libres	GCs	Guanilato ciclasa soluble
AGPAT	Acilglicerol-3-fosfatoaciltransferasa	GMPc	Guanosín monofosfato cíclico
AMP	Adenosín monofosfato	GPAT	Glicerol 3 fosfato aciltransferasa
AMPK	Proteína cinasa activada por AMP	GPCR	Receptor acoplado a proteína G
ApoB100	Apolipoproteína B100	GS	Glucógeno sintasa
ATP	Adenosín trifosfato	Gsk3	Glucógeno sintasa cinasa 3
ATPasa	Adenosintrifosfatasa	HCLS	Holocarboxilasa
B-AMP	Biotinil-5'-AMP	HDL	Lipoproteínas de alta densidad
CAP	Proteína asociada a la proteína Cbl	HDLpd	Lipoproteína de alta densidad pequeña y densa
CETP	Proteína de transferencia de esterol de colesterol	HMG-CoA	3-hidroxi-3-metil-glutacoril-CoA reductasa
CREB	Proteína de unión al elemento de respuesta al cAMP	IECA	Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina
CTP1α	Carnitina palmitoiltransferasa 1alfa	IKKβ	Factor nuclear kappa beta
DAG	Diacilglicerol	IL-6	Interleucina-6
DAP	Dihidroxiacetona fosfato	IMC	Índice de masa corporal
DGAT	Diacilglicerol aciltransferasa	IP3	Inositol trifosfato
DHAP	Dihidroxiacetona fosfato	IP3R	Receptor de fosfatidilinositol trifosfato
eNOS	Sintasa de óxido nítrico endotelial	IR	Receptor de insulina
ELOVL6	Elongasa de ácidos grasos de cadena muy larga	IRS	Sustrato del receptor de insulina
ET-1	Endotelina-1	JNK	Cinasa aminoterminal de c-Jun
F-1,6-Pasa	Fructosa-1,6-bisfosfatasa	LCAT	Lecitina colesterol aciltransferasa
FAS	Sintasa de ácidos grasos	LDL	Lipoproteínas de baja densidad

LDLpd	Lipoproteína de baja densidad pequeña y densa	PKC	Proteína cinasa C
LH	Lipasa hepática	PKG	Proteína cinasa G
LKB1	Cinasa hepática B1	PP2A	Proteína fosfatasa 2A
LPA	Ácido lisofosfatídico	PP2B	Proteína fosfatasa 2B
LPL	Lipoproteína lipasa	PPAR	Receptor activado por proliferadores peroxisomales
MCC	Metilcrotonil-CoA carboxilasa	PPI	Pirofosfato inorgánico
NAFLD	Enfermedad de hígado graso no alcohólico	PTEN	Proteína homóloga de la fosfatasa y tensina
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato en su forma reducida	PTP1B	Proteína tirosina fosfatasa 1B
NASH	Esteatohepatitis no alcohólica	PTPasa	Proteína fosfatasa de tirosina
NO	Óxido nítrico	p/V	Peso/Volumen
NOS	Óxido nítrico sintasa	RCC	Relación cintura/cadera
nPKC	Proteína cinasa C nueva	SCD1	Estearoil-CoA desaturasa 1
PAD	Presión arterial diastólica	SHP-2	Tirosina fosfatasa con un dominio de homología Src 2 (SH2)
PAS	Presión arterial sistólica	SHIP2	Fosfatasa 2 del inositol en posición 5' con un dominio SH2
PBS	Buffer fosfato salino	SMVT	Transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio
PC	Piruvato carboxilasa	SOCs	Proteínas supresoras de la señalización de citocinas
PCC	Propionil-CoA carboxilasa	SR-BI	Receptor <i>scavenger</i> clase B tipo I
PDE	Fosfodiesterasa	TG	Triacilglicéridos
PDK	Fosfoinositidos-1	TGA	Tolerancia a la glucosa alterada
PEPCK	Fosfoenolpiruvato carboxicinasa	TLR	Receptores tipo Toll
PFK	Fosfofructocinasa	TNFα	Factor de necrosis tumoral- α
PI3K	Fosfatidilinositol-3 cinasa	TZD	Tiazolidinedionas
PIP2	Fosfatidilinositol-4,5-bifosfato	UI/Kg	Unidad Internacional / Kilogramo
PIP3	Fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato	VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad
PK	Fosfofructocinasa		
PKB	Proteína cinasa B (también conocida como Akt)		

1.-INTRODUCCIÓN

1.1. Síndrome metabólico

El síndrome metabólico es un conjunto de padecimientos que se presentan en un mismo individuo de forma simultánea o secuencial. Estos incluyen: obesidad abdominal, resistencia a la insulina o hiperinsulinemia, hiperglucemia, concentraciones elevadas de triacilglicéridos, niveles disminuidos de HDL, esteatosis hepática e hipertensión (Farooqui, 2013; Coltuc y Stoica, 2016).

En la actualidad, el síndrome metabólico es un problema de salud pública a nivel mundial, pues sus componentes incrementan el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, principales causas de morbilidad a nivel mundial (Rhee *et al.*, 2014). Otro componente es la esteatosis hepática, la cual constituye la principal causa de enfermedad hepática crónica en el mundo occidental (Beck-Nielsen, 2013; Genel *et al.*, 2015).

Aunque la definición actual de síndrome metabólico fue adoptada del síndrome X propuesto por Reaven (Reaven, 1988), desde décadas atrás otros investigadores ya habían reportado la coexistencia de ciertos padecimientos que incrementan el riesgo cardiovascular. Durante la segunda década del siglo pasado Kylin (Kylin, 1923) y Maraño (Maraño, 1927), describieron independientemente la coexistencia frecuente de hiperglucemia e hipertensión. Posteriormente, Vague (Vague, 1947) describió que la obesidad abdominal estaba relacionada a alteraciones metabólicas asociadas con enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2. Después, Avogaro y Crepaldi (Avogaro y Crepaldi, 1965) propusieron el concepto “síndrome plurimetabólico” para referirse a la asociación de obesidad, dislipidemia, hipertensión e hiperglucemia. Luego el término “síndrome metabólico” fue introducido en la literatura científica en 1975 por Haller y Hanefeld (Haller y Hanefeld, 1975) y dos años después el mismo Haller (Haller, 1977) utilizó dicho término para referirse a la combinación de obesidad, hiperglucemia, dislipidemia e hipertensión. Además, propuso que la obesidad era el factor causal común

del síndrome metabólico y reconoció que el hígado graso era una consecuencia de dicho síndrome (Rossi *et al.*, 2006). Finalmente, Modan y colaboradores (Modan *et al.*, 1985) propusieron que la hiperinsulinemia era el vínculo entre obesidad, intolerancia a la glucosa e hipertensión (Balkau *et al.*, 2007).

La definición actual de síndrome metabólico comenzó en 1988 cuando Reaven (Reaven, 1988) postuló que la resistencia a la insulina era el factor etiológico de un conjunto de alteraciones metabólicas que incrementan el riesgo de padecer diabetes tipo 2 y que contribuyen al desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Després *et al.*, 2008). Así, Reaven introdujo el término “síndrome X” para describir la coexistencia de resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, hiperglucemia, concentraciones elevadas de triacilglicéridos, disminución del colesterol HDL e hipertensión arterial (Reaven, 1988). Aunque inicialmente Reaven no incluyó la obesidad abdominal dentro del síndrome X, después de varios años él mismo Reaven y otros investigadores integraron este componente al conjunto de alteraciones metabólicas (Kaplan, 1989; Reaven, 1995).

Posteriormente, otros investigadores emplearon diferentes denominaciones para referirse al conjunto de factores de riesgo cardiovascular (Bray, 2007). Así, el término “síndrome X” fue reemplazado por otros términos entre los que se incluyen el cuarteto mortal (Kaplan, 1989), síndrome de resistencia a la insulina (Ferrannini *et al.*, 1991; Haffner *et al.*, 1992), síndrome de Reaven (Bray, 2007), etc. Finalmente, el término “síndrome metabólico” fue aceptado internacionalmente por diferentes organizaciones que establecieron los componentes, así como los parámetros clínicos y antropométricos para diagnosticarlo (Balkau *et al.*, 2007; Grundy, 2011; Parikh y Mohan, 2012).

1.1.1. Diagnóstico clínico del síndrome metabólico

No existe una definición clínica aceptada universalmente para diagnosticar el síndrome metabólico, en su lugar varias organizaciones internacionales han propuesto diferentes definiciones clínicas para diagnosticarlo (Parikh y Mohan, 2012). De éstas, las más utilizadas son:

1. La definición clínica propuesta por la organización mundial de la salud (OMS).
2. La definición clínica propuesta por el tercer Panel estadounidense para el Tratamiento de Adultos del programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (en inglés, *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III*, NCEP: ATPIII).
3. La definición clínica propuesta por la federación internacional de la diabetes (en inglés, *International Diabetes Federation*, IDF).

La OMS fue el primer organismo que estableció los criterios clínicos y antropométricos para diagnosticar síndrome metabólico (Alberti y Zimmet, 1998). De acuerdo con la OMS, el diagnóstico de síndrome metabólico requiere la presencia obligatoria de resistencia a la insulina o de sus subrogados (glucosa en ayunas alterada, tolerancia a la glucosa alterada) incluyendo así personas propensas a desarrollar diabetes tipo 2 (prediabéticos) o con diabetes tipo 2 (Chaiken y Banerji, 2006; Reaven, 2008; Sharma *et al.*, 2015). Además de la resistencia a la insulina, deben estar presentes dos o más criterios pudiendo ser cualquiera de los siguientes: obesidad, concentraciones elevadas de triacilglicéridos, colesterol HDL disminuido y presión sanguínea elevada (Tabla 1) (O' Neill y O' Driscoll, 2015).

En 2001, el NCEP: ATPIII publicó sus criterios para el diagnóstico del síndrome metabólico cuyo enfoque fue diferente al propuesto por la OMS, pues éste grupo no consideró imprescindible la resistencia a la insulina en el diagnóstico del síndrome metabólico. Además, confirió importancia a la obesidad abdominal y no incluyó la microalbuminuria. Así, según la definición revisada del NCEP-ATP III en 2004, una persona tiene síndrome metabólico si presenta tres o más de los siguientes criterios: obesidad abdominal, triacilglicéridos en sangre elevados, niveles reducidos de colesterol HDL, presión sanguínea elevada y glucosa en ayunas elevada (Tabla 1) (Huang, 2009).

En 2005, la IDF propuso una nueva definición clínica para diagnosticar el síndrome metabólico. Éste panel identificó la obesidad abdominal como requisito necesario para el diagnóstico del síndrome metabólico y sugirió se determinara mediante umbrales de

circunferencia de cintura específicos dependiendo de género y etnia. De esta manera, según la IDF el diagnóstico de síndrome metabólico requiere la presencia necesaria de obesidad abdominal aunada a dos o más criterios, los cuales pueden ser, concentraciones elevadas de triacilglicéridos en sangre, colesterol HDL disminuido, presión sanguínea elevada y glucosa en ayunas elevada (Tabla 1) (Zimmet *et al.*, 2005).

Por otra parte, en 2009 representantes de organizaciones como la IDF, la Asociación Americana del Corazón junto al Instituto de Corazón, Pulmón y Sangre (en inglés *American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute, AHA/NHLBI*), la federación mundial del corazón (en inglés, *World Heart Federation, WHF*), la sociedad internacional de aterosclerosis (en inglés, *International Atherosclerosis Society, IAS*) y la asociación internacional para el estudio de la obesidad (en inglés, *International Association for the Study of Obesity, ASO*) unificaron los criterios para diagnosticar el síndrome metabólico. Estas organizaciones acordaron utilizar una definición clínica similar a la propuesta por la NCEP: ATPIII, pero tomando en cuenta umbrales de circunferencia de cintura establecidos de acuerdo a las características fenotípicas de la población, como lo había propuesto la IDF en su definición (Alberti *et al.*, 2009; Huang, 2009; Parikh y Mohan, 2012). Así, el diagnóstico de síndrome metabólico según la unificación de criterios titulada *Armonización del Síndrome Metabólico*, requiere simplemente la presencia de tres o más criterios de los siguientes: obesidad abdominal, triacilglicéridos elevados, colesterol HDL disminuido, presión sanguínea elevada o glucosa en ayuno elevada (Tabla 1) (Alberti *et al.*, 2009).

OMS (1998)	NCEP-ATPIII (2005)	IDF (2005)	IDF, AHA/NHLB, WHF, IAS, IASO (2009)
Resistencia a la insulina^a Sensibilidad a la insulina disminuida ^b GAA \geq 110 mg/dL (6.1 mmol/L) TGA \geq 140 mg/dL (7.8 mmol/L) Diabetes tipo 2	Ninguno	Obesidad abdominal^a Circunferencia de la cintura de acuerdo al país ^c Hombres \geq 90 cm Mujeres \geq 80 cm	
+ Dos de las siguientes	Tres de las siguientes	+ Dos de las siguientes	Tres de las siguientes
Obesidad RCC Hombres $>$ 0.9 Mujeres $>$ 0.85 ÍMC $>$ 30 kg/m ²	Obesidad abdominal Circunferencia de la cintura Hombres \geq 102 cm Mujeres \geq 88 cm	Glucosa en ayuno elevada \geq 100 mg/dL (5.6 mmol/L) o en tratamiento para reducir la hiperglucemia	Obesidad abdominal Circunferencia de la cintura de acuerdo al país (México) Hombres \geq 90 cm Mujeres \geq 80 cm
Triacilglicéridos elevados \geq 150 mg/dL (1.7 mmol/L)	Triacilglicéridos elevados \geq 150 mg/dL (1.7 mmol/L) o en tratamiento para reducir TG	Triacilglicéridos elevados \geq 150 mg/dL (1.7 mmol/L) o en tratamiento hipolipemiante	Triacilglicéridos elevados \geq 150 mg/dL (1.7 mmol/L) o en tratamiento para reducir TG
Colesterol HDL disminuido Hombres <40 mg/dL (1 mmol/L) Mujeres <50 mg/dL (1.3 mmol/L)	Colesterol HDL disminuido Hombres <40 mg/dL (1 mmol/L) Mujeres <50 mg/dL (1.3 mmol/L) o en tratamiento farmacológico	Colesterol HDL disminuido Hombres < 40 mg/dL (1 mmol/L) Mujeres < 50 mg/dL (1.3 mmol/L) o en tratamiento farmacológico	Colesterol HDL disminuido Hombres < 40 mg/dL (1 mmol/L) Mujeres < 50 mg/dL (1.3 mmol/L) o en tratamiento farmacológico
Presión arterial elevada PAS \geq 140 mmHg PAD \geq 90 mmHg	Presión arterial elevada PAS \geq 130 mmHg PAD \geq 85 mmHg o en tratamiento antihipertensivo	Presión arterial elevada PAS \geq 130 mmHg PAD \geq 85 mmHg o en tratamiento antihipertensivo	Presión arterial elevada PAS \geq 130 mmHg PAD \geq 85 mmHg o en tratamiento antihipertensivo
Microalbuminuria Albumina en orina \geq 20 μ g/min o cociente albumina/creatinina \geq 30 mg/g	Glucosa en ayuno \geq 100 mg/dL (5.6 mmol/L) o en tratamiento para reducir la hiperglucemia		Glucosa en ayuno \geq 100 mg/dL (5.6 mmol/L) o en tratamiento para reducir la hiperglucemia

5 **Tabla 1. Principales definiciones clínicas y sus criterios para el diagnóstico de síndrome metabólico.** ^aCriterio absolutamente necesario. ^bDeterminada mediante estudios directos como el clamp hiperinsulinémico euglicémico. ^cAjustado para la población de Centro y Sudamérica. IMC: índice de masa corporal, GAA: glucosa en ayuno alterada, TGA: tolerancia a la glucosa alterada, RCC: relación cintura/cadera, TG: triacilglicéridos, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica. Tomado de Reaven, 2006; Alberti *et al.*, 2009; Ahima, 2016a.

1.2. Componentes del síndrome metabólico

1.2.1. Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina fue reconocida desde la década de 1930 cuando Himsworth observó que algunos pacientes diabéticos presentaban insensibilidad a la insulina y no su deficiencia (Himsworth, 1936). En la actualidad, la resistencia a la insulina se define comúnmente como una condición en la cual, las concentraciones normales de insulina no son adecuadas para producir una respuesta normal en los tejidos periféricos comparada con sujetos con tolerancia normal a la glucosa y sin historial familiar de diabetes (DeFronzo y Tripathy, 2009; Kaur, 2014; Muniyappa *et al.*, 2015).

En estados tempranos de resistencia a la insulina, el páncreas incrementa la secreción de insulina para compensar el defecto en la acción tisular de la hormona y mantener la homeostasis de glucosa. Por esta razón, la hiperinsulinemia compensatoria es característica de los pacientes con resistencia a la insulina. Además, como consecuencia de la resistencia a la insulina se produce intolerancia a la glucosa, es decir, incapacidad para absorber y metabolizar la glucosa apropiadamente en condiciones postprandiales (Roberts *et al.*, 2013). De esta forma, los pacientes con resistencia a la insulina responden deficientemente a los cambios de glucosa en sangre y presentan supresión disminuida de la producción de glucosa hepática, resultando hiperglucemia (Kaur, 2014).

Se han propuesto varios métodos para determinar la resistencia a la insulina. El clamp euglucémico hiperinsulinémico desarrollado por DeFronzo (DeFronzo *et al.*, 1979) es el “estándar de oro” para determinar directamente la sensibilidad a la insulina en humanos. El método se realiza en ayuno, consiste en inducir insulinemia arriba de lo correspondiente al periodo de ayuno, simultáneamente se determina la glucemia en intervalos de 5-10 minutos y se administra glucosa para mantener la normoglucemia. Después de varias horas se analiza el registro de las concentraciones en sangre de insulina y de glucosa, además de la velocidad de infusión de glucosa. Así pues,

asumiendo que el estado hiperinsulinémico detiene completamente la producción hepática de glucosa y por tanto, no hay cambio neto en la concentración de glucosa. La velocidad de infusión de glucosa debe ser igual a la disminución de glucosa en sangre. De esta forma, se puede determinar la disminución de glucosa en sangre en un nivel dado de hiperinsulinemia (Muniyappa *et al.*, 2015).

Otro método para medir directamente la resistencia a la insulina es la prueba de supresión de insulina. Esta prueba se realiza en ayuno y se basa en detener la producción endógena de insulina y de glucagón mediante la infusión intravenosa de somatostatina o de algún fármaco como el propranolol o la epinefrina. Durante tres horas se infunde vía intravenosa insulina y glucosa. Además, se toman muestras sanguíneas cada 30 minutos durante los primeros 150 minutos y posteriormente cada diez minutos hasta los 180 minutos. La infusión constante de insulina y de glucosa determinan las concentraciones de insulina y glucosa en sangre en estado estacionario (150-180 minutos). La concentración de insulina en sangre generalmente es similar entre los individuos, por lo que la concentración de glucosa en el estado estacionario será mayor en los individuos con resistencia a la insulina (Muniyappa *et al.*, 2015).

Aunque los métodos directos son los más confiables para diagnosticar la resistencia a la insulina, son complejos, costosos, requieren la toma de varias muestras y se dificulta su aplicación en poblaciones grandes (Katz *et al.*, 2000; Pérez-Maraver y Montanya-Mias, 2001). No obstante, existen varios métodos indirectos que permiten estimar la resistencia a la insulina como la prueba de tolerancia oral a la glucosa (Meshkani y Adeli, 2009).

La prueba de tolerancia oral a la glucosa es una prueba ampliamente usada en la práctica clínica para diagnosticar intolerancia a la glucosa y diabetes mellitus tipo 2. Esta prueba se realiza en ayuno, consiste en tomar muestras sanguíneas para medir las concentraciones de insulina y glucosa a los 0, 30, 60 y 120 minutos posteriores a una carga oral de glucosa (75 g) (Meshkani y Adeli, 2009).

1.2.2. Hiperglucemia

La mayoría de los individuos con síndrome metabólico presentan concentraciones elevadas de glucosa en sangre o hiperglucemia, la cual se puede encontrar en el rango entre prediabetes y diabetes (Goldenberg y Punthakee, 2013; Grundy, 2015). La prediabetes y la diabetes se pueden diagnosticar determinando el porcentaje de hemoglobina glucosilada, asimismo midiendo las concentraciones de glucosa en sangre en ayuno o mediante la prueba de tolerancia oral a la glucosa (Tabla 2) (Grundy, 2011).

Categoría	Hemoglobina A1c	Concentración de glucosa en sangre en ayuno	Prueba de tolerancia a la glucosa oral de 2 horas
Normal	< 5.7%	< 100 mg/dL (< 5.6 mmol/L)	< 140 mg/dL (< 7.8 mmol/L)
Prediabetes	5.7%–6.4%	100–125 mg/dL (5.6–6.9 mmol/L)	140–199 mg/dL (7.8–11 mmol/L)
Diabetes	> 6.4%	> 125 mg/dL (> 7 mmol/L)	> 199 mg/dL (> 11 mmol/L)

Tabla 2. Criterios para diagnosticar diabetes mellitus. Según la Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés) el diagnóstico de diabetes mellitus está dado por porcentaje de Hemoglobina A1 mayor a 6.4%, concentraciones de glucosa en sangre en ayuno mayor o igual a 125 mg/dL o concentraciones de glucosa en sangre mayores a 199 mg/dL a las 2 horas posteriores a la carga oral de 75 g de glucosa. Tomado de Grundy, 2011.

La resistencia a la insulina en el músculo esquelético y en el hígado es la principal causa de hiperglucemia en el síndrome metabólico (Rask-Madsen y Kahn, 2012). En etapas tempranas del síndrome metabólico, la hiperglucemia puede ser eludida debido a la hiperinsulinemia compensatoria que resulta de la respuesta adaptativa de las células β pancreáticas (Reaven, 1988; Kahn *et al.*, 2006). Sin embargo, esta situación no es necesariamente benigna, pues la hiperinsulinemia tiene efectos profundos sobre la inducción de la resistencia a la insulina. Además, se ha propuesto que la hipersecreción crónica de insulina conduce al deterioro de la función y pérdida de la masa de las células β pancreáticas (Muio y Newgard, 2008; Guo, 2014).

1.2.3. Obesidad abdominal

La obesidad es una enfermedad crónica multifactorial (incluye una serie de mecanismos genéticos, hormonales, inmunológicos, psicológicos, sociales, etc.). Se caracteriza por la acumulación anormal o excesiva de tejido adiposo que resulta de un balance positivo de energía producido cuando la cantidad de energía ingerida excede a la cantidad de energía gastada (Chan y Woo, 2010; Jung y Choi, 2014).

El tejido adiposo es un órgano complejo que responde a señales hormonales almacenando energía durante periodos de balance energético positivo y liberando ácidos grasos a tejidos que requieren energía durante periodos de balance energético negativo (Rutkowski *et al.*, 2015). Está constituido por varios tipos de células, entre las que incluyen adipocitos (componentes mayoritarios), preadipocitos, células endoteliales, fibroblastos, células inflamatorias y células inmunes (Jung y Choi, 2014). Además de su función metabólica actúa como un órgano endocrino que secreta adipocinas (incluyendo hormonas y citocinas) involucradas en la regulación del balance energético, presión sanguínea e inflamación (Bray, 2007).

Existen dos principales depósitos de tejido adiposo en humanos: tejido adiposo subcutáneo y tejido adiposo visceral conocido también como abdominal (localizado dentro de la cavidad peritoneal entre los órganos internos) (Lusis *et al.*, 2008). Estos depósitos difieren en composición celular, capacidad metabólica, capacidad para secretar adipocinas, tamaño y capacidad de expansión (Coelho *et al.*, 2013).

El tejido adiposo subcutáneo es el sitio por excelencia de almacenamiento de energía, su crecimiento o expansión ocurre a través del incremento de tamaño (hipertrofia) de los adipocitos maduros y generación de nuevos adipocitos (hiperplasia o adipogénesis). No obstante, esta capacidad de expansión del tejido adiposo subcutáneo tiene una gran variación entre los individuos y depende de factores genéticos (Hardy *et al.*, 2012). Por otra parte, el tejido adiposo visceral es un sitio adicional de almacenamiento de energía pero de capacidad limitada debido a que está formado mayormente de adipocitos maduros que almacenan la energía excedente incrementando su tamaño y escasamente su número (Després y Lemieux, 2006; Hardy *et al.*, 2012).

Muchos estudios han mostrado que el crecimiento excesivo del tejido adiposo visceral esta muy relacionado con el desarrollo de resistencia a la insulina y demás componentes del síndrome metabólico (Mittelman *et al.*, 2002; Ross *et al.*, 2002; Shrestha y Shrestha, 2014). Con base a la evidencia existente, se han planteado varios mecanismos implicados en la relación entre la obesidad visceral y el síndrome metabólico, los cuales se mencionan a continuación:

- A. En la obesidad visceral, los adipocitos hipertróficos presentan elevada actividad lipolítica relacionada principalmente, con la disminución del efecto antilipolítico de la insulina, actividad incrementada de receptores β adrenérgicos y actividad disminuida de receptores adrenérgicos α_2 (Arner *et al.*, 1990; Hellmér *et al.*, 1992; Ibrahim, 2009; Laurencikiene *et al.*, 2011; Roberts *et al.*, 2013; Klöting y Blüher, 2014). El estado hiperlipolítico de los adipocitos conduce a la exposición del hígado a concentraciones elevadas de ácidos grasos libres, los cuales alteran el metabolismo hepático produciendo hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa y liberación elevada de triacilglicéridos a la circulación sanguínea (Fig. 1A) (Després *et al.*, 2008; Nolan y O’Gorman, 2013; Han y Lean, 2016).
- B. El tejido adiposo visceral tiene función endocrina y secreta adipocinas, entre las que se incluyen hormonas (leptina y la adiponectina) y citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral- α (TNF α) e interleucina-6 (IL-6). Estos productos del tejido adiposo tienen función importante en el balance energético, presión sanguínea y procesos inflamatorios. Por lo tanto, su desequilibrio durante la expansión del tejido adiposo visceral contribuye a la resistencia a la insulina, hipertensión e inflamación presentes en el síndrome metabólico (Fig. 1B) (Després *et al.*, 2008; Han y Lean, 2016).
- C. El exceso de tejido adiposo visceral es un marcador total o parcial de la incapacidad del tejido adiposo subcutáneo para almacenar la energía excedente. Esto puede deberse a la incapacidad del tejido adiposo subcutáneo para crecer (lipodistrofia) o porque se halle hipertrofiado, presente resistencia a la insulina o disfunción. Bajo este panorama, los individuos con estilo de vida sedentario no pueden almacenar el exceso de energía en el tejido adiposo subcutáneo y

presentan acumulación ectópica de lípidos (Després *et al.*, 2008; Hardy *et al.*, 2012) (Fig. 1C).

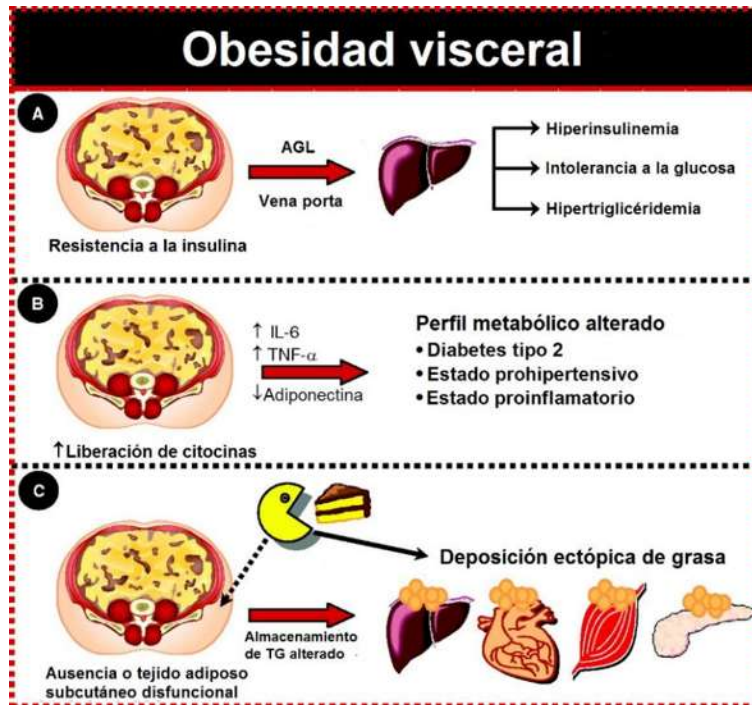


Figura 1. Mecanismos implicados en la relación entre obesidad visceral y síndrome metabólico. (A) Los adipocitos viscerales liberan cantidades elevadas de ácidos grasos libres a la circulación, los cuales son captados por el hígado alterando la eliminación hepática de insulina, la tolerancia a la glucosa y la síntesis de triacilglicéridos. (B) Durante la expansión del tejido adiposo visceral se produce un perfil de secreción de adipocinas diabotogénico, proinflamatorio y prohipertensivo. (C) La falta de tejido adiposo subcutáneo o su disfunción conducen a la acumulación de lípidos en tejidos no adiposos. AGL, ácidos grasos libres; IL-6, interleucina-6; TG, triacilglicéridos; TNF- α , factor de necrosis tumoral- α . Tomado de Després *et al.*, 2008.

El cálculo del IMC y la medida de la circunferencia de la cintura son los métodos más utilizados para determinar la obesidad y la obesidad visceral, respectivamente. El IMC se obtiene dividiendo el peso corporal sobre el cuadrado de la altura (Kg/m^2). De esta forma, según los criterios de la OMS una persona con un $\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg}/\text{m}^2$ tiene obesidad. La circunferencia de la cintura se determina midiendo la “cintura” localizada entre la última costilla y la cresta suprailíaca (Bray, 2007). De acuerdo con la Secretaría de Salud Pública en México y con los criterios de la IDF ajustados a la población de Centro y Sudamérica, los puntos de corte para hombres y mujeres adultos son $\geq 90 \text{ cm}$ y $\geq 80 \text{ cm}$, respectivamente (Alexánderson-Rosas *et al.*, 2015).

1.2.4. Dislipidemias

Las dislipidemias son trastornos que comprenden función anormal y/o concentraciones anormales de lipoproteínas en sangre. Se detectan por la concentración alterada de lípidos en sangre, la cual puede estar elevada (hiperlipidemia) o disminuida (hipolipidemia) (Wójcik, 2014). La concentración deseable de lipoproteínas de baja densidad (LDL) es menor a 100 mg/dL, mientras que la concentración de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se considera baja cuando es menor de 40 mg/dL en hombres y menor de 50 mg/dL en mujeres. La concentración de triacilglicéridos en sangre después del ayuno de 12 horas es normal si es menor de 150 mg/dL (Wójcik, 2014).

Las dislipidemias presentes en el síndrome metabólico incluyen concentración elevada de triacilglicéridos (TG) en sangre y concentración disminuida de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Han y Lean, 2015). A la vez, las alteraciones de estos componentes están relacionadas con el incremento de las lipoproteínas ricas en apolipoproteína B100 (Apo B100) como las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y las lipoproteínas de baja densidad pequeñas y densas (LDLpd). Estas últimas son una subclase de lipoproteínas de baja densidad (LDL) con elevado poder aterogénico (Grundey, 2006; Han y Lean, 2016).

La resistencia a la insulina en el tejido adiposo visceral y en el hígado es la principal causa de las dislipidemias en el síndrome metabólico (Kaur, 2014). El estado hiperlipolítico debido a la falta de inhibición de la lipasa sensible a hormonas en los adipocitos del tejido adiposo visceral produce flujo excesivo de ácidos grasos libres al hígado vía la circulación por la vena porta (Horton *et al.*, 2002; Uyeda y Repa, 2006; Ibrahim, 2009; Nolan y O’Gorman, 2013). En el hígado, los ácidos grasos libres son esterificados a triacilglicéridos, estimulando la producción de ApoB100 para su empaquetamiento y secreción a la circulación sanguínea en forma de VLDL (Olofsson *et al.*, 2009; Manjunath *et al.*, 2013). En condiciones fisiológicas normales, la insulina inhibe la producción y secreción de VLDL induciendo la degradación de la ApoB100 en las células hepáticas (Lin *et al.*, 1995; Vergés, 2010). Sin embargo, en estados de resistencia a la insulina esta regulación falla, incrementándose la secreción de VLDL a la circulación

sanguínea (Lewis y Steiner, 1996; Eckel *et al.*, 2005; Basaranoglu y Neuschwander-Tetri, 2008; Arca *et al.*, 2012).

Además de incrementar la secreción de VLDL, la resistencia a la insulina disminuye la actividad de la lipoproteína lipasa, enzima limitante de la velocidad de lipólisis de los triacilglicéridos presentes en las VLDL y principal mediador de su eliminación de la sangre (Welty, 2013; Kaur, 2014). Lo anterior resulta en un metabolismo retardado de las VLDL y eliminación lenta de la circulación sanguínea debido también a la disminución de los receptores de LDL hepáticos (Ginsberg *et al.*, 2005; Huang, 2009; Grundy, 2011; Chan *et al.*, 2016). De esta forma, la secreción excesiva de VLDL por el hígado junto a la disminución de su catabolismo, provoca incremento de la concentración de triacilglicéridos en la circulación sanguínea en estado de ayuno y en estado postprandial (Parhofer, 2011).

Las VLDL que circulan en sangre durante tiempo prolongado son un buen sustrato para la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (por sus siglas en inglés CETP: *cholesteryl ester transfer protein*) que intercambia de forma equimolecular ésteres de colesterol de las VLDL por triacilglicéridos de las partículas HDL y LDL (Galeano *et al.*, 1998; Durrington y Soran, 2014; Chan *et al.*, 2016). De esta manera, se forman partículas HDL y LDL enriquecidas con triacilglicéridos y remanentes de VLDL con alto contenido de ésteres de colesterol. Las partículas HDL y LDL enriquecidas de triacilglicéridos son susceptibles a la acción de la lipasa hepática (LH) que hidroliza los triacilglicéridos produciendo HDL y LDL con bajo contenido de ésteres de colesterol, conocidas como pequeñas y densas (Fig. 2) (St-Pierre *et al.*, 2005; Manjunath *et al.*, 2013; Nolan y O’Gorman, 2013; Jung y Choi, 2014; Chan *et al.*, 2016).

Las HDL pequeñas y densas (HDLpd) son eliminadas rápidamente de la circulación a través de su unión al receptor *scavenger* clase B tipo I (SR-BI) localizado en la membrana citoplasmática de las células hepáticas (Rigotti, 2000; Gómez-Coronado, 2010; Miccoli *et al.*, 2017). La unión de la HDLpd al SR-BI provoca la liberación de los ésteres de colesterol restantes, los cuales pueden ser reutilizados en las HDL nacientes o son eliminados vía biliar. Igualmente, la apoA1 libre puede reciclarse para tomar nuevamente colesterol de los tejidos periféricos o es eliminada de la circulación al ser

filtrada por el riñón y degradada por las células del túbulo renal (Frénais *et al.*, 1997; Ginsberg, 2000; Rigotti, 2000; Aguilar-Salinas y Melgarejo-Hernández, 2011; Arca *et al.*, 2012).

Por otra parte, las LDL pequeñas y densas (LDLpd) son eliminadas lentamente de la circulación sanguínea debido a su baja afinidad por el receptor de LDL (Nigon *et al.*, 1991; Galeano *et al.*, 1994; Berneis y Kauss, 2002; Pahofer, 2011; Sharma y Garg, 2012), cuya expresión además puede estar disminuida como consecuencia del estado de resistencia a la insulina. Por consiguiente, se producen niveles elevados de LDLpd que circulan en sangre durante tiempo prolongado (Ginsberg *et al.*, 2005; Chan *et al.*, 2016; Miccoli *et al.*, 2017). Las partículas LDLpd se consideran altamente aterogénicas, pues su mantenimiento prolongado en la circulación sanguínea junto a su mayor capacidad para atravesar el endotelio favorecen su infiltración en el espacio subendotelial (Nigon *et al.*, 1991; Galeano *et al.*, 1994; Berneis y Kauss, 2002; Sharma y Garg, 2012; Welty, 2013). Asimismo, su elevada afinidad por proteoglicanos de la matriz extracelular facilita su retención en la íntima arterial en donde son susceptibles a modificaciones (oxidación, glicación, etc). Las LDLpd modificadas junto a otros factores aterogénicos activan células endoteliales, las cuales promueven la infiltración de monocitos en la íntima arterial. Los monocitos se diferencian a macrófagos, los cuales expresan receptores que median la internalización de las lipoproteínas modificadas convirtiéndose en células espumosas, promoviendo inflamación y desarrollo de placa aterosclerótica (Yoshida y Kisugi, 2010; Pahofer, 2011; Arca *et al.*, 2012; Sharma y Garg, 2012; Manjunath *et al.*, 2013; Welty, 2013; Linton *et al.*, 2015). Esta condición se ve favorecida con la disminución del transporte reverso de colesterol debido a la disminución de las partículas HDL, las cuales además poseen efectos antiinflamatorios, antiapoptóticos y antitrombóticos. (Besler *et al.*, 2012).

En resumen, la resistencia a la insulina conduce al metabolismo alterado de lípidos incrementando la concentración de triacilglicéridos, disminuyendo los niveles de HDL y produciendo subtipos de LDL con elevado poder aterogénico. Esta triada dislipidémica conocida también como “dislipidemia aterogénica” conduce a la acumulación de lípidos en el espacio subendotelial y desarrollo de placa aterosclerótica (Fig. 2) (Ginsberg, 2000;

Olofsson y Borén, 2005; Arca *et al.*, 2012; Sharma y Garg, 2012; Maiolino *et al.*, 2013; Welty, 2013). La placa aterosclerótica es la causa subyacente de la enfermedad coronaria y el accidente cerebrovascular, principales causas de defunción a nivel mundial (De Faire y Frostegard, 2009; Kumar y Singh, 2010; OMS, 2015).

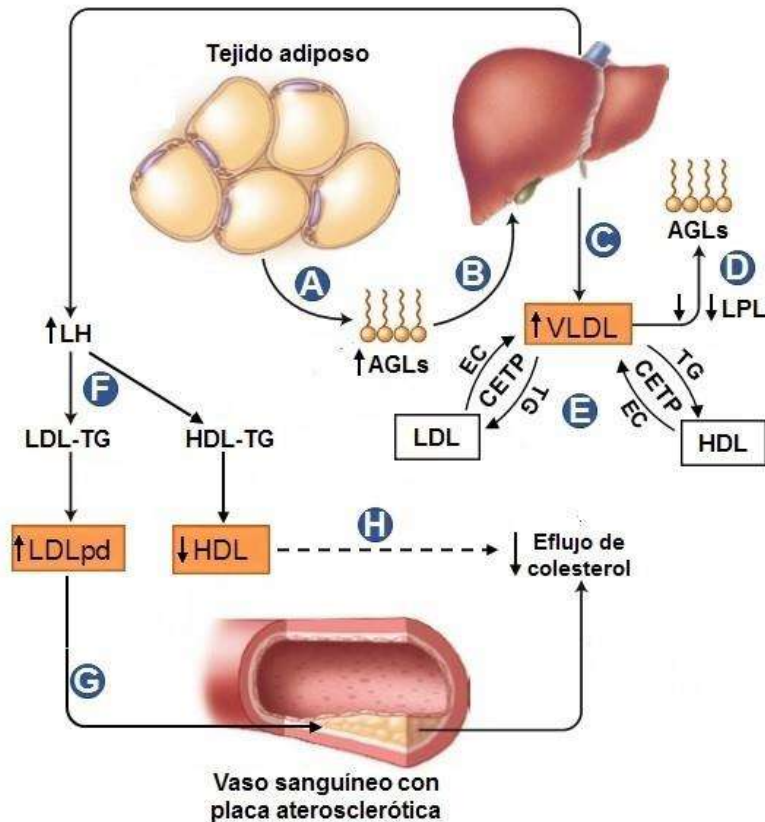


Figura 2. Mecanismos involucrados en las dislipidemias presentes en el síndrome metabólico. La resistencia a la insulina es el principal factor responsable de las dislipidemias en el síndrome metabólico. El estado hiperlipolítico del tejido adiposo visceral (A) conduce al flujo excesivo de ácidos grasos libres (AGL) al hígado (B), estimulando la producción y secreción de VLDL (C). La actividad disminuida de la lipoproteína lipasa (LPL) conduce al metabolismo y eliminación lentos de las VLDL (D). Las VLDL circulantes son buen sustrato para la proteína de transferencia de esteres de colesterol (CETP) que intercambia esteres de colesterol (EC) de las HDL y LDL por triacilglicéridos (TG) de las VLDL (E). Resultando, partículas HDL y LDL enriquecidas son triacilglicéridos y pobres en esteres de colesterol. Ambas partículas ricas en triacilglicéridos son sustrato de la lipasa hepática (LH) que hidroliza los triacilglicéridos (F), conduciendo a la formación de partículas HDL y LDL pequeñas y densas (HDLpd y LDLpd, respectivamente). Las LDLpd permanecen circulando durante un tiempo prolongado debido a su baja afinidad por el receptor de LDL, posibilitando su infiltración en la capa íntima arterial en donde son retenidas a través de su unión a proteoglicanos de la matriz extracelular. Una vez retenidas en la íntima arterial, son oxidadas en el espacio subendotelial e inician una cascada de eventos que conduce la inflamación y la formación de placa aterosclerótica (G). Esta condición se ve favorecida debido a la disminución de las partículas HDL encargadas del transporte reverso de colesterol (H). Modificado de Grundy, 2011.

1.2.5. Presión arterial elevada

La presión arterial es la fuerza que ejerce la sangre sobre la pared de las arterias, en forma perpendicular y que determina una distensión de las mismas. Por otra parte, la tensión arterial es la fuerza de magnitud similar a la presión arterial que se opone en sentido contrario para evitar su exagerada distensión (Argente y Álvarez, 2008). Aunque la presión y la tensión arteriales no son idénticas pues son fuerzas opuestas, debido a que sus magnitudes son iguales al medir una se obtiene el valor de la otra. Este es el principio aplicado en el examen clínico de la presión arterial que en la práctica común se identifica como tensión arterial. Las pocas diferencias observadas entre los valores de tensión (método incruento) y de presión (método cruento) arteriales resultan principalmente de la interposición de tejidos como la piel (Argente y Álvarez, 2008).

La presión arterial óptima es la presión arterial requerida para mantener una circulación sanguínea que permita aportar oxígeno, nutrientes, hormonas, calor a todas las células vivas del cuerpo, etc., así como disponer de los productos metabólicos finales de las células (Lloyd-Jones y Levy, 2013). En la práctica clínica se determina mediante sus valores de presión arterial sistólica y de presión arterial diastólica (Argente y Álvarez, 2008).

La presión arterial sistólica o máxima es la presión arterial que se genera durante la contracción de los ventrículos (sístole ventricular) adquiriendo su valor máximo (aproximadamente 120 mmHg) (Duarte y Dvorkin, 2003). Depende principalmente del volumen de sangre bombeada por el corazón por minuto (gasto cardíaco), de la velocidad de eyección ventricular y de la distensibilidad de las arterias, principalmente la aorta (Argente y Álvarez, 2008).

La presión arterial diastólica o mínima es la presión arterial que se puede medir justo antes del volumen sistólico ejercida contra la pared de las arterias cuando los ventrículos se encuentran relajados (Duarte y Dvorkin, 2003). Depende principalmente, de la resistencia periférica es decir, la resistencia que oponen los vasos arteriales periféricos al flujo de sangre a su través, la cual se encuentra en función del diámetro

interno del vaso, su longitud y la viscosidad de la sangre (Duarte y Dvorkin, 2003; Argente y Álvarez, 2008).

La medición de la presión arterial es una de las variables hemodinámicas que más se monitoriza, pues permite identificar a las personas con presión sanguínea elevada o hipertensión que generalmente permanecen asintomáticas. De acuerdo a sus valores de presión arterial sistólica y de presión arterial diastólica, las personas se pueden clasificar en diferentes estadios (Tabla 3). De esta forma, la hipertensión arterial se define como la elevación crónica y no fisiológica de la presión arterial (Lloyd-Jones y Levy, 2013). De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-030SSA2-2009 se define por una presión arterial sistólica en reposo ≥ 140 mmHg o una presión arterial diastólica en reposo ≥ 90 mmHg.

Estadio de presión arterial (JNC7)	Intervalo de presión arterial
Normal	PAS <120 y PAD < 80 mmHg
Prehipertensión	PAS 120-139 o PAD 80-89 mmHg
Hipertensión en estadio 1	PAS 140-150 o PAD 90-99 mmHg
Hipertensión en estadio 2	PAS ≥ 160 o PAD ≥ 100 mmHg

Tabla 3. Valores de presión arterial de acuerdo al Séptimo Informe del Comité Nacional Conjunto de Estados Unidos. De acuerdo al séptimo informe del *Joint National Committee* (JNC) para la Prevención, Detección, Evaluación y Tratamiento de la Hipertensión las personas son clasificadas dependiendo de sus estadios de presión arterial sistólica y presión arterial diastólica. Tomado de Lloyd-Jones y Levy, 2013.

1.3. Epidemiología del síndrome metabólico

La prevalencia mundial de síndrome metabólico varía dependiendo de la definición clínica utilizada para su diagnóstico, así como de las características de la población en estudio como edad, género y raza (Kassi *et al.*, 2011). Debido a que la prevalencia de hiperglucemia, dislipidemias, hipertensión y obesidad incrementan con la edad, la prevalencia de síndrome metabólico incrementa dramáticamente con la edad (Byrne y Wild, 2011; Grundy, 2011).

Con respecto al género la prevalencia de síndrome metabólico en adultos varía en diferentes países. Mientras que en algunos países europeos se ha reportado mayor prevalencia de síndrome metabólico en hombres que en mujeres (Hu *et al.*, 2004; Grundy, 2008), en países como India, Irán y Turquía se reportó prevalencia mayor de síndrome metabólico en mujeres que en hombres (Cameron *et al.*, 2004; Grundy, 2011).

En otros países la prevalencia de síndrome metabólico reportada es similar en ambos géneros por ejemplo en Estados Unidos (Cameron *et al.*, 2004; Ervin, 2009). Los expertos atribuyen estas variaciones en parte a la prevalencia de obesidad a nivel mundial (Ahima, 2016a). La obesidad y en particular la obesidad central es uno de los factores incluidos en las definiciones actuales de síndrome metabólico. De tal manera que en poblaciones donde la obesidad es más común en hombres que en mujeres, la prevalencia de síndrome metabólico es mayor en hombres que en mujeres y viceversa (Byrne y Wild, 2011).

La prevalencia de síndrome metabólico es mayor en algunas razas o etnias. Varios estudios han demostrado que las personas originarias de países surasiáticos como India, Pakistán, Bangladesh y Sri Lanka en comparación con los europeos tienen mayor prevalencia de diabetes mellitus tipo 2, concentraciones elevadas de insulina y de triacilglicéridos en sangre (Byrne y Wild, 2011). Por otro lado, en Estados Unidos la prevalencia de síndrome metabólico es mayor en la población México-americana comparada con otros grupos de la población estadounidense (Cornier *et al.*, 2008). De acuerdo al reporte de *The National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES),

entre el año 2009 y 2010 la prevalencia de síndrome metabólico fue mayor en los México-americanos (34.76%) y México-americanas (28.50%) de 20 años o más (Beltrán-Sánchez *et al.*, 2013; Lam y LeRoith, 2015).

Aunque la falta de una definición universal dificulta la estimación precisa de la prevalencia de síndrome metabólico a nivel mundial, la prevalencia de síndrome metabólico es elevada (O'Neill y O'Driscoll, 2015). De acuerdo con la Fundación Internacional de la Diabetes, en general 25% de la población mundial de adultos tiene síndrome metabólico y parece incrementar a la par con la creciente epidemia de obesidad (Grundy, 2007; Cornier *et al.*, 2008; O'Neill y O'Driscoll, 2015).

En México, la prevalencia de cada uno de los componentes individuales del síndrome metabólico en hombres y mujeres adultos es alta. De acuerdo a la encuesta nacional de salud y nutrición (ENSANUT) en 2012 la prevalencia de diabetes mellitus fue de 9.2%. Mientras que la prevalencia de hipertensión fue de 31.5% y la prevalencia de obesidad de acuerdo al índice de masa corporal fue de 69.4% (Gutiérrez *et al.*, 2012). Además, la población mexicana presenta elevada prevalencia de dislipidemias, principalmente disminución del colesterol HDL y concentraciones elevadas de triacilglicéridos en sangre (Alexanderson-Rosas *et al.*, 2015). De acuerdo al reporte de la ENSANUT en 2006, las mujeres tenían mayor disminución del colesterol HDL que los hombres con prevalencia de 61%, mientras que los hombres presentaron concentraciones mayores de triacilglicéridos en sangre con prevalencia de 35% (Alexanderson-Rosas *et al.*, 2015).

La prevalencia elevada de los componentes del síndrome metabólico en la población mexicana incrementa la prevalencia de síndrome metabólico. De esta manera, en el año 2004 la prevalencia de síndrome metabólico en hombres y mujeres de entre 20-69 años era de 26.6% de acuerdo a la definición de la NCEP-ATP III (Aguilar-Salinas *et al.*, 2004). Posteriormente, en 2006, la prevalencia de síndrome metabólico incrementó a 36.8% de acuerdo a la definición de la NCEP-ATP III y a 49.8% de acuerdo a la definición de la IDF (Alexanderson-Rosas *et al.*, 2015).

1.4. Fisiopatología del síndrome metabólico

El desarrollo de síndrome metabólico involucra la interacción compleja de factores genéticos y de factores ambientales (p. ej., estilo de vida sedentario acoplado al consumo de dietas hipercalóricas) (Kolovou *et al.*, 2007). De acuerdo con la mayoría de expertos la resistencia a la insulina es la característica central del síndrome metabólico y una vez adquirida, aquellos individuos con predisposición genética pueden desarrollar los demás componentes del síndrome metabólico (Rask-Madsen y Kahn, 2012; Roberts *et al.*, 2013).

Inicialmente para compensar la resistencia a la insulina, las células β -pancreáticas incrementan la secreción de insulina, resultando así hiperinsulinemia compensatoria (Bremer *et al.*, 2012). Sin embargo, la actividad incrementada de la insulina en tejidos con sensibilidad normal a la insulina acoplada a la resistencia a otras acciones de la insulina conduce al desarrollo de los padecimientos del síndrome metabólico (Kaur, 2014). Molecularmente, la resistencia a la insulina se caracteriza por la alteración de la vía de señalización PI3K/Akt que conduce a la sensibilidad inadecuada a la insulina y la coexistencia de la vía MAPK/ERK reforzada debido a la hiperinsulinemia compensatoria. Las diferencias en la actividad de ambas rutas son las responsables de los diversos efectos de la resistencia a la insulina en diferentes órganos (Janus *et al.*, 2016).

1.4.1. Mecanismos de acción de la insulina

La insulina es una hormona polipeptídica secretada por las células β pancreáticas de los islotes de Langerhans en respuesta a diferentes estímulos, mayormente concentraciones elevadas de glucosa en sangre (Wilcox, 2005). La función principal de la insulina es mantener la concentración de glucosa en sangre dentro del rango normal (70-100 mg/dL en ayuno), dicho proceso se conoce como homeostasis de glucosa (Ruan y Lodish, 2003). La homeostasis de glucosa se logra mediante la regulación de la producción hepática de glucosa, así como por la absorción de glucosa en tejidos como el músculo esquelético, el tejido adiposo y en menor parte el hígado (Roberts *et al.*, 2013).

La insulina estimula la entrada de glucosa en las células mediante la activación de la vía de señalización PI3K/Akt y de la vía de señalización Cbl/CAP/TC10 (Chang *et al.*, 2004). La activación de ambas vías de señalización conduce a la translocación del transportador de glucosa (GLUT4) localizado en vesículas citoplasmáticas hacia la membrana plasmática de las células (Fig. 3) (Leto y Saltiel, 2012; Olson, 2012).

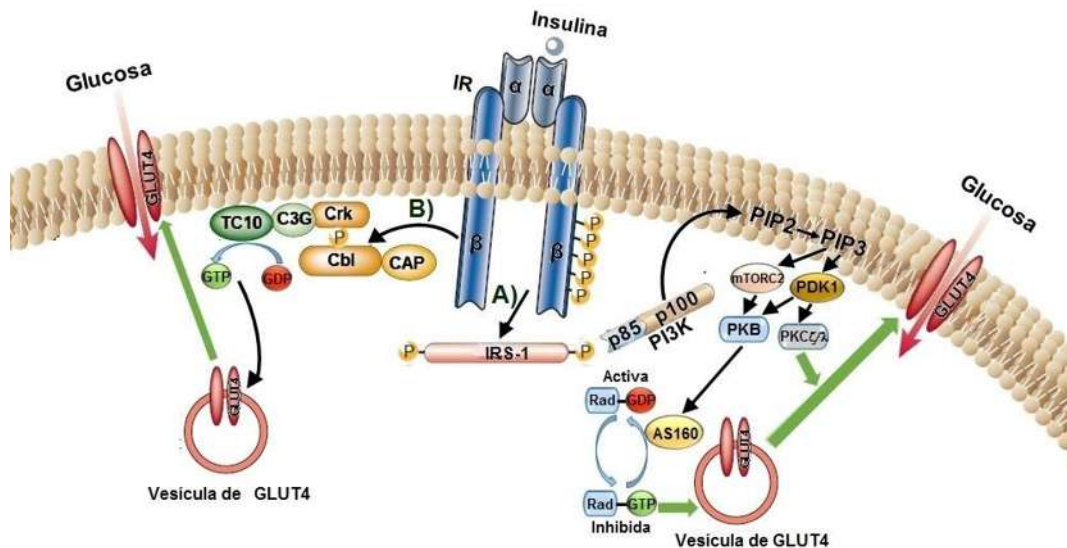


Figura 3. Esquema de las vías de señalización activadas por la insulina para el transporte de glucosa en las células. La unión de la insulina a la subunidad α localizada extracelularmente, produce un cambio conformacional del receptor de insulina (del inglés insulin receptor, IR) que induce su autofosforilación en residuos de tirosina de la porción intracelular de la subunidad β . De esta manera, el dominio con actividad cinasa del IR se activa y puede fosforilar residuos de tirosina de sustratos intracelulares. (A) Activación de la vía de señalización canónica IRS/PI3K. Tras su fosforilación, el IR recluta al sustrato del receptor de insulina tipo 1 (IRS1), el cual reconoce los residuos de tirosina fosforilados del IR y se asocia establemente a él. Esta asociación permite que el IR fosforile residuos de tirosina del IRS. Una vez fosforilado el IRS recluta y activa a la fosfatidilinositol-3 cinasa (PI3K), la cual fosforila al lípido de membrana fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP2) produciendo fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3). A su vez, PIP3 recluta en la membrana a la proteína cinasa B (PKB o Akt), la cual requiere dos fosforilaciones para su activación completa. La cinasa dependiente de fosfoinositidos-1 (PDK1) fosforila la treonina 308 y la cinasa dependiente de fosfoinositidos-2 (PDK2 o mTORC2) fosforila la serina 473. Tras su completa activación, Akt fosforila varios residuos de la proteína AS160, la cual en estado no fosforilado (activo) regula negativamente la actividad de Rad inhibiendo el tráfico vesicular de GLUT4. Cuando AS160 es fosforilada por Akt se inhibe y por lo tanto incrementa el tráfico dependiente de Rad del transportador GLUT4. PDK1 también puede fosforilar y activar a las isoenzimas de la proteína quinasa C (PKC ζ , PKC λ) que contribuyen también a la translocación de GLUT4 a la membrana plasmática. (B) Activación de la vía de señalización Cbl/CAP/TC10 asociada a balsas lipídicas presentes en microdominios de la membrana plasmática. Esta vía de señalización involucra a la proteína Cbl y sus proteínas adaptadoras: la proteína asociada a Cbl (CAP) y la proteína adaptadora (APS). Una vez activo el IR recluta dos proteínas APS que posteriormente son fosforiladas por dicho receptor. Las proteínas APS enganchan a la proteína Cbl, la cual es fosforilada en varios residuos de tirosina. Cbl fosforilada une a CAP formándose el complejo APS/CAP/Cbl. Posteriormente, el complejo CAP/Cbl se disocia del IR y mediante CAP interactúa con la proteína flotilina reclutando al complejo Crk/C3G el cual activa a TC10 una GTPasa de la familia Rho que induce la translocación de GLUT4. Tomado de Alessi y Cohen, 1998; Saltiel y Kahn, 2001; Cai *et al.*, 2003; Chang *et al.*, 2004; Jornayvaz *et al.*, 2010; Olson, 2012; Roberts *et al.*, 2013; Guo, 2014.

La activación de la vía de señalización PI3K/PKB no solo estimula la entrada de glucosa a las células sino también es el principal mecanismo por el cual, la insulina regula proteínas involucradas en el metabolismo de carbohidratos y lípidos (Fig 4) (Saltiel y Kahn, 2001; Guo, 2014).

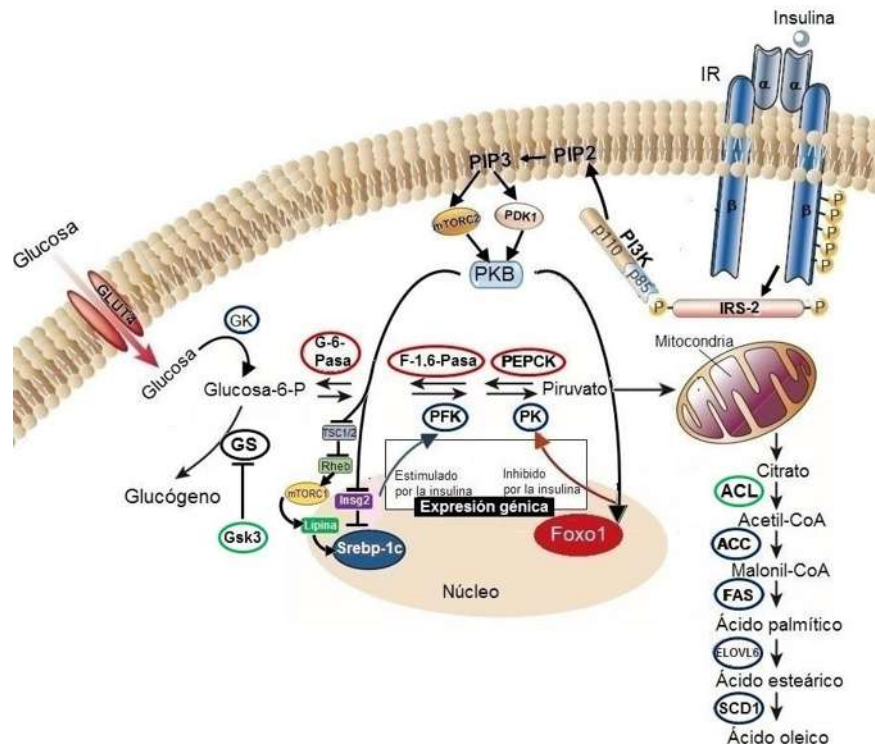


Figura 4. Esquema de la vía de señalización PI3K/PKB activada por la insulina para regular el metabolismo de la glucosa y de lípidos. La activación del IR inicia una cascada de señalización que comienza con la fosforilación de residuos de tirosina del IRS2, seguida de la fosforilación de la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K) y la activación completa de PKB. Una vez que PKB se encuentra completamente activa fosforila proteínas involucradas en el metabolismo anabólico de la glucosa y de los lípidos. Primeramente, PKB inhibe la producción y liberación de glucosa hepática mediante la interrupción de la glucogenólisis y la gluconeogénesis. PKB fosforila a la glucógeno sintasa cinasa 3 (Gsk3), dicha fosforilación elimina el efecto represivo que ejerce la Gsk3 sobre la glucógeno sintasa (GS) promoviendo la forma activa de la enzima y por lo tanto, la síntesis de glucógeno. Simultáneamente, en el núcleo PKB fosforila e inhibe al factor transcripcional Foxo1 que promueve la expresión de genes gluconeogénicos (óvalos rojos). Por otra parte, PKB fosforila y activa a la ATP citrato liasa (ACL), enzima que cataliza la conversión de citrato a acetil-CoA, el cual proporciona los carbonos para la síntesis de ácidos grasos. PKB regula la transcripción de proteínas involucradas en la glucólisis y lipogénesis (óvalos azules) mediante la activación del factor transcripcional Srebp-1c. La activación de Srebp-1c resulta de la activación del complejo mTORC1 y de la inhibición de la proteína Insig2. PKB fosforila e inhibe el complejo TSC1/2 activando así a la RhebGTPasa (Rheb), la cual activa a mTORC1, a su vez mTORC1 fosforila e inhibe la acción represora de la lipina1 sobre Srebp-1c. Por otro lado, PKB suprime a Insig2, una proteína del retículo endoplásmico que bloquea la activación de Srebp-1c. GK, glucocinasa; Glucosa-6-P, glucosa-6-fosfato; G-6-Pasa, glucosa-6-fosfatasa; F-1,6-Pasa, fructosa-1,6-bisfosfatasa; PEPCK, fosfoenolpiruvato carboxicinas; PFK, fosfofructocinasa; PK, piruvato cinasa; ACC, acetil-CoA carboxilasa; FAS, sintasa de ácidos grasos, ELOVL6, elongasa de ácidos grasos de cadena muy larga; SD1, estearoilCoA desaturasa 1. Tomado de Saltiel y Kahn, 2001; Kim *et al.*, 2004; Guo, 2014.

1.4.2. Mecanismos involucrados en la inhibición de la señal de insulina

La duración y propagación de la señal de insulina son controladas por mecanismos de autorregulación o desensibilización homóloga en los cuales, enzimas de la misma vía que fueron activadas por acción de la insulina inhiben proteínas clave en dicha señalización. Adicionalmente, elementos no relacionados aparentemente con la vía pueden inhibir la señalización mediante mecanismos de desensibilización heteróloga. El receptor de insulina, los sustratos del receptor de insulina, así como las cinasas PKB (Akt) y PKC, se encuentran sujetos a este intrincado proceso de regulación (Olivares-Reyes y Areyano-Plancarte, 2008). En condiciones fisiopatológicas la desregulación de éstos mecanismos promueve el desarrollo de resistencia a la insulina y diabetes tipo 2 (Boucher *et al.*, 2014).

Un mecanismo común de regulación de la señal de insulina es la modulación de la actividad del receptor de insulina y de los sustratos del receptor de insulina por proteínas fosfatasa de tirosina (PTPasas). Está evidenciado que la proteína fosfatasa de tirosina 1B (PTP1B), SHP-2 y otras PTPasas defosforilan residuos fosfotirosina en el asa de activación del receptor de insulina y/o en el dominio de unión a fosfotirosina de los sustratos del receptor de insulina, disminuyendo así la actividad catalítica de estas proteínas (Fig. 5) (Saltiel y Kahn, 2001; Boucher *et al.*, 2014). Así mismo, la actividad del receptor de insulina es regulada negativamente por proteínas adaptadoras que interaccionan con residuos fosfotirosina en el asa de activación del receptor de insulina, disminuyendo su actividad e impidiendo la unión de los sustratos del receptor de insulina (Langlais *et al.*, 2015). Entre éstas se incluyen, las proteínas adaptadoras SOC1 y SOC3 pertenecientes a la familia de proteínas supresoras de la señalización de citocinas o SOCs y las proteínas adaptadoras citoplasmáticas Grb10 y Grb14 (Fig. 5) (Boucher *et al.*, 2014).

Otro mecanismo de regulación de la señal de insulina a nivel receptor es la fosforilación de residuos serina/treonina que ocurre en respuesta a la propia insulina o como resultado de la comunicación cruzada (en inglés *cross talk*) de otras rutas de

señalización. La fosforilación incrementada de serina/treonina en el receptor de insulina por la proteína cinasa C (PKC) se ha asociado con la disminución de su actividad tirosina cinasa observada en estados de resistencia a la insulina tanto en roedores modelo de resistencia a la insulina como en humanos (Fig. 5) (Strack *et al.*, 2000; Siddle, 2005; Youngren, 2007; Boucher *et al.*, 2014). A nivel del receptor de insulina se ha evidenciado también que la glicoproteína PC-1 de membrana inhibe su actividad tirosina cinasa y la sobreexpresión de esta proteína en músculo de personas con diabetes y obesidad se ha relacionado con la resistencia a la insulina (Fig. 5) (Langlais *et al.*, 2015).

Por otra parte, la fosforilación en serina/treonina de los sustratos del receptor de insulina es uno de los principales mecanismos de regulación negativa de la señal de insulina, tanto en condiciones fisiológicas como fisiopatológicas (Marchand-Brustel *et al.*, 2003; Siddle, 2005; Sun y Liu, 2009). La fosforilación de residuos específicos de serina en los sustratos del receptor de insulina inhibe su función, pues afecta su capacidad para acoplarse al receptor de insulina y ser fosforilados en residuos de tirosina, disminuyendo su actividad y la consecuente activación de PI3K (Siddle, 2005; Langlais *et al.*, 2015). Además se ha mostrado que la fosforilación de un residuo específico de serina en el IRS1 actúa como una señal que promueve su ubiquitinación y degradación proteosomal (Marchand-Brustel *et al.*, 2003; Siddle, 2005; Basaranoglu y Neuschwander-Tetri, 2008; Sun y Liu, 2009).

La estimulación prolongada de la insulina induce la fosforilación los residuos de serina en el IRS1 mediante la activación de cinasas serina/treonina como la proteína cinasa C (PKC), la proteína cinasa B (PKB), la MAP cinasa ERK, la cinasa aminoterminal de c-Jun (JNK) y el complejo mTORC1 a través de su efector S6K (Shah *et al.*, 2004; Harrington *et al.*, 2005; Boucher *et al.*, 2014). El TNF α induce la fosforilación de los mismos residuos de serina que la insulina mediante la activación de ambas cinasas, la cinasa aminoterminal de c-Jun (JNK) y la cinasa del inhibidor del factor nuclear kappa beta (IKK β) (Marchand-Brustel *et al.*, 2003; Basaranoglu y Neuschwander-Tetri, 2008).

Además de la regulación a nivel del receptor de insulina y de los sustratos del receptor de insulina, existen elementos que modulan la señal de la insulina más abajo de la cascada de señalización. En este caso fosfatasa de lípidos como la proteína homóloga

de la fosfatasa y tensina (PTEN) y de la fosfatasa 2 del inositol en posición 5' con un dominio SH2 (SHIP2). Ambas fosfatasas de lípidos modulan los niveles de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3) y de esta forma inhiben la señalización de la insulina vía PI3K/Akt. Por otra parte, proteínas fosfatasas de serina/treonina como la proteína fosfatasa 2A (PP2A) y la proteína fosfatasa 2B (PP2B) desfosforilan e inhiben a las cinasas Akt y PKC (Fig. 5) (Boucher *et al.*, 2014).

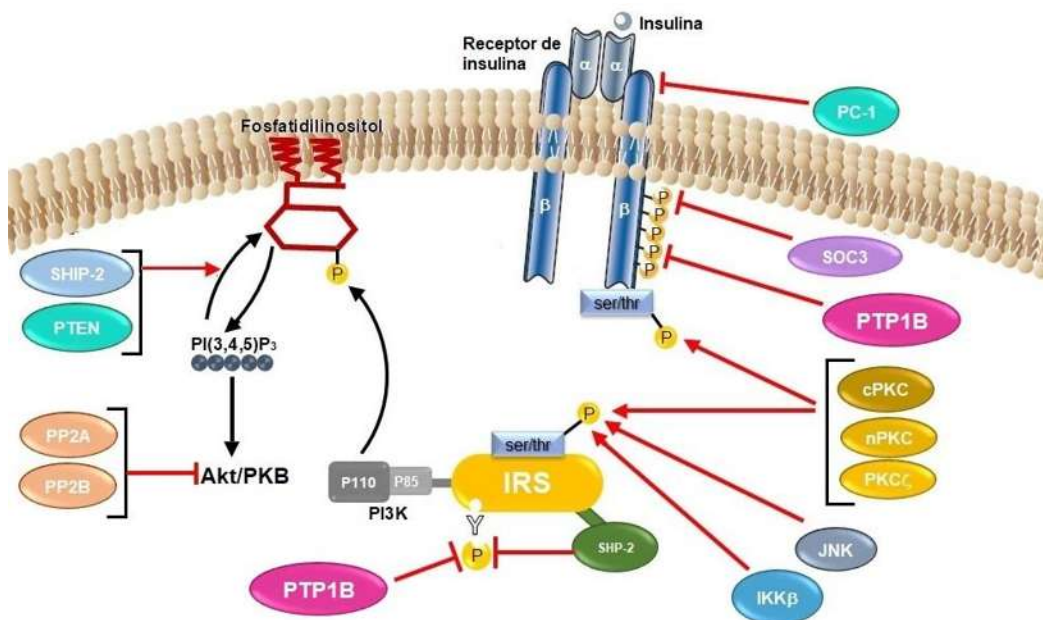


Figura 5. Mecanismos de regulación negativa de la señalización de insulina. El esquema muestra las vías que producen desensibilización de la transducción de la señal de insulina, incluyendo la fosforilación en serina/treonina del receptor de insulina o de los IRS por PKC, IKK- β o JNK; inhibición de la actividad tirosina cinasa del receptor de insulina por PC-1; interferencia con la unión de los IRS a la subunidad del receptor de insulina por SOC3; desfosforilación de residuos fosfotirosina por las fosfatasas PTP1B y SHP-2; catabolismo de los grupos 3' fosfoinositidos por las fosfatasas de lípidos SHIP-2 o PTEN; desfosforilación de las cinasas Akt y PKC por proteínas fosfatasas 2A (PP2A) y 2B (PP2B). PC-1, glicoproteína de membrana celular; SOC3, proteína supresora de la señalización por citocinas 3; PTP1B, proteína tirosina fosfatasa 1B; cPKC, proteína cinasa C clásica; nPKC, proteína cinasa C nueva; PKC ζ , proteína cinasa C ζ ; JNK, cinasa aminoterminal de c-Jun; IKK β , cinasa del inhibidor del factor nuclear kappa beta; IRS, sustrato del receptor de insulina; SHP-2, tirosina fosfatasa con un dominio de homología Src 2 (SH2); PI3K, fosfatidilinositol-3 cinasa; PKB, proteína cinasa B o Akt; SHIP-2, fosfatasa 2 del inositol en posición 5' con un dominio SH2; PTEN, proteína homóloga de la fosfatasa y tensina; PP2A, proteína fosfatasa 2A; PP2B, proteína fosfatasa 2B. Tomado de Boucher *et al.*, 2014; Langlais *et al.*, 2015.

1.4.3. Moduladores negativos de la señal de insulina

La fosforilación de residuos de serina/treonina en el receptor de insulina o en los sustratos del receptor de insulina es el principal mecanismo involucrado en la disminución de la señal de insulina (Boucher *et al.*, 2014). En el contexto de obesidad visceral, la expansión del tejido adiposo tiene función importante en la resistencia a la insulina a nivel postreceptor, pues produce liberación incrementada de ácidos grasos libres y secreción elevada de adipocinas proinflamatorias, principalmente TNF α e IL-6. Dichos productos del tejido adiposo actúan a nivel local y a nivel sistémico, activando cinasas serina/treonina que fosforilan residuos de serina en los sustratos del receptor de insulina, disminuyendo su actividad (Roberts *et al.*, 2013; Perry, 2014; Samuel y Shulman, 2016).

Los ácidos grasos libres son captados por el músculo esquelético y el hígado, promoviendo la acumulación de metabolitos intermediarios como el diacilglicerol (DAG). La acumulación de DAG en las células promueve la activación de las isoformas de PKC (PKC θ en músculo y PKC ϵ en hígado), las cuales pueden fosforilar residuos de serina en los sustratos del receptor de insulina, limitando su fosforilación en residuos de tirosina e inhibiendo la señal de insulina (Guo, 2014; Perry, 2014; Samuel y Shulman, 2016). La hiperglucemia también puede activar a PKC a través de la síntesis de *novo* de ácidos grasos y la subsecuente síntesis de DAG (Boucher *et al.*, 2014).

Los ácidos grasos libres actúan también como ligandos de receptores tipo Toll (TLR), particularmente TLR2 y TLR4 localizados en tejidos como el músculo esquelético, el tejido adiposo y el hígado (Roberts *et al.*, 2013; Tanti *et al.*, 2013). La activación de TLR2 y TLR4 induce la señalización proinflamatoria que conduce a la activación de las cinasas IKK β y JNK, las cuales fosforilan residuos de serina en los sustratos del receptor de insulina, inhibiendo la señalización de insulina (Hirosumi *et al.*, 2002; Arkan *et al.*, 2005). Por otra parte, las adipocinas proinflamatorias como el TNF α y la IL-6 inducen la activación de cinasas serina/treonina como JNK, isoformas de PKC e IKK β , las cuales además de promover la señalización inflamatoria fosforilan residuos serina/treonina en los sustratos del receptor de insulina (Fig. 5) (Qatanani y Lazar, 2007; Muoio y Newgard, 2008; Roberts *et al.*, 2013; Perry, 2014; Samuel y Shulman, 2016).

1.5. Enfermedad hepática no alcohólica

La enfermedad hepática no alcohólica (en inglés *non-alcoholic fatty liver disease*, NAFLD) es la principal manifestación hepática del síndrome metabólico. Se considera un problema de salud pública a nivel mundial con una prevalencia mayor al 30% de la población en general (Liu *et al.*, 2016). La NAFLD se refiere a un espectro de daño hepático que incluye histológicamente desde esteatosis no alcohólica, esteatohepatitis no alcohólica (en inglés *non-alcoholic steatohepatitis*, NASH) y cirrosis (Genel *et al.*, 2015).

El hígado graso no alcohólico se define como la deposición intrahepática de triacilglicéridos mayor a 55 mg/g de hígado (Vacca *et al.*, 2015) en individuos que no tienen enfermedad hepática aparente y cuya ingesta de alcohol es menor a 30 g/día en el caso de los hombres y 20 g/día en mujeres (Softic *et al.*, 2016). Histológicamente se ha estimado que la concentración de lípidos en los hepatocitos normalmente es inferior al 5%, por lo tanto las cantidades que exceden este límite se consideran hígado graso no alcohólico (Softic *et al.*, 2016). La esteatohepatitis no alcohólica (NASH) es la forma más severa de la NAFLD, se caracteriza por la presencia de grasa e inflamación hepática que puede progresar a fibrosis avanzada y finalmente, producir cirrosis y carcinoma hepatocelular (Takaki *et al.*, 2013).

Aunque no se conocen completamente los mecanismos mediante los cuales un paciente con NAFLD desarrolla NASH, en la actualidad se ha planteado la “hipótesis de los múltiples hits” para explicar dicha progresión (Yilmaz, 2012; Takaki *et al.*, 2013; Jung y Choi, 2014). De acuerdo con este modelo, la resistencia a la insulina y sus alteraciones metabólicas asociadas son el primer hit (Jung y Choi, 2014). La resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia conducen a la esteatosis hepática a través de varios mecanismos: flujo excesivo de ácidos grasos libres, lipogénesis de *novo*, alteración del catabolismo intracelular de ácidos grasos libres, secreción alterada de VLDLs (Basaranoglu y Neuschwander-Tetri, 2008; Takaki *et al.*, 2013). Después del desarrollo de la esteatosis hepática, el hígado es más vulnerable a “múltiples hits” entre los que se incluyen toxinas de bacterias entéricas, desbalance de adipocinas, estrés del retículo endoplásmico,

disfunción mitocondrial, apoptosis de hepatocitos, liberación de factores profibrogénicos y mediadores proinflamatorios, activación de lipocitos (células estrelladas) y células de Kuffer. Todos estos factores pueden actuar colectivamente estimulando la inflamación, apoptosis y fibrosis conduciendo a la progresión de la enfermedad hepática (Yilmaz, 2012; Takaki *et al.*, 2013; Jung y Choi, 2014). Dicho lo anterior, la acumulación de triacilglicéridos como vesículas de lípidos en el citoplasma de los hepatocitos es el prerrequisito para la subsecuente aparición de la NASH (Basaranoglu y Neuschwander-Tetri, 2008; Perry, 2014).

1.5.1. Acumulación de lípidos en el hígado

El contenido de lípidos en el hígado está regulado por el balance entre la entrada, síntesis, oxidación y exportación de lípidos en el hígado (Perry, 2014). La alteración de alguno de estos procesos o su combinación, generalmente resulta en la acumulación excesiva de triacilglicéridos en el citoplasma de los hepatocitos (Basaranoglu y Neuschwander-Tetri, 2008). En el contexto de resistencia a la insulina la lipólisis excesiva en el tejido adiposo promueve el flujo incrementado de ácidos grasos libres al hígado (Perry, 2014). Por otro lado, el consumo incrementado de azúcares simples como la glucosa y la fructosa promueve la síntesis de *novo* de ácidos grasos en el hígado (Yki-Järvinen, 2015). La resistencia a la insulina en el músculo esquelético promueve la entrada de glucosa al hígado, contribuyendo también a la síntesis de *novo* de ácidos grasos en el hígado (Bermúdez *et al.*, 2007; Perry, 2014). En cuanto a la oxidación de los ácidos grasos en el hígado, aun no se ha definido si las alteraciones en el flujo oxidativo hepático que presentan los individuos con hígado graso no alcohólico son causa o consecuencia de la acumulación de lípidos en el hígado. Por otra parte, se ha reportado que los individuos con hígado graso presentan secreción incrementada de VLDL, posiblemente como resultado de una respuesta compensatoria a la acumulación de triacilglicéridos intracelulares. Sin embargo, el incremento en la exportación de triacilglicéridos es insuficiente para compensar el contenido elevado de triacilglicéridos hepáticos (Perry, 2014; Arguello *et al.*, 2015).

1.6. Hipertensión arterial

La hipertensión arterial es un componente clave del síndrome metabólico, un síntoma silencioso que puede permanecer sin ser detectado durante un largo tiempo y un importante factor de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares. La hipertensión arterial se asocia frecuentemente con alteraciones metabólicas como obesidad, intolerancia a la glucosa y dislipidemia (Kaur, 2014).

Son muchos los factores que contribuyen a la patogénesis y mantenimiento de la hipertensión, entre éstos se incluyen el incremento en la actividad del sistema nervioso simpático y alteraciones en la funcionalidad de la vasculatura como la disfunción endotelial (Acelajado *et al.*, 2013). Respecto a la actividad incrementada del sistema nervioso, está reportado que las personas hipertensas presentan respuestas vasoconstrictoras mayores a la noradrenalina que las personas normotensas. Esto puede deberse a que en personas normotensas las concentraciones elevadas de noradrenalina circulante suelen disminuir el número de receptores noradrenérgicos. Lo anterior no ocurre en las personas hipertensas produciendo sensibilidad mayor a la noradrenalina, aumento en la resistencia vascular periférica y elevación de la presión arterial (Oparil *et al.*, 2003).

El sistema nervioso simpático regula directamente la presión arterial modulando la liberación de catecolaminas (principalmente adrenalina y noradrenalina). La función de estas catecolaminas requiere su unión específica a receptores simpáticos localizados sobre la membrana de sus células diana (Cruz-Merida *et al.*, 2004). Los receptores simpáticos o adrenérgicos se clasifican en α_1 , α_2 y β , los cuales se clasifican en tres subtipos cada uno: receptores α_{1A} , α_{1B} y α_{1D} ; α_{2A} , α_{2B} y α_{2C} ; β_1 , β_2 y β_3 (López *et al.*, 2008).

Los receptores α_1 predominan en el sistema nervioso central localizados principalmente en células postsinápticas en donde desempeñan función excitatoria. Además, se localizan en células del sistema nervioso periférico donde median la contracción tanto en el músculo liso vascular como en el no vascular. La activación de estos receptores en el músculo liso vascular causa vasoconstricción. Por otra parte, los

receptores α_2 se encuentran en células del sistema nervioso central, células β del páncreas, células del músculo liso vascular y del músculo cardíaco. La activación de éstos receptores en células del músculo liso vascular y cardíaco provoca bradicardia, vasodilatación e hipotensión (López *et al.*, 2008).

Los receptores β_1 son en su mayoría postsinápticos se localizan principalmente en el corazón, su activación provoca incremento de la fuerza y velocidad de contracción del corazón. Los receptores β_2 también son en su mayoría postsinápticos y se encuentran en tejidos como: vasos sanguíneos, músculo esquelético e hígado, su activación provoca vasodilatación, temblor muscular y glucogenólisis hepática. Finalmente, los receptores β_3 se expresan principalmente en el tejido adiposo y su activación está relacionada con la lipólisis inducida por la noradrenalina (López *et al.*, 2008).

1.6.1. Endotelio vascular e hipertensión arterial

La hipertensión se caracteriza por un incremento en la resistencia vascular periférica, la cual puede deberse a la pérdida o disminución del endotelio vascular (Oparil *et al.*, 2003). El endotelio vascular es una monocapa de células que recubre la pared luminal de los vasos sanguíneos, protege la pared arterial frente al desarrollo de lesiones y mantiene la homeostasis vascular (Janus *et al.*, 2016). Las células endoteliales detectan cambios en las fuerzas hemodinámicas que actúan sobre la pared vascular, así como señales químicas transportadas por la sangre y responden a ellas liberando sustancias vasoactivas. Además, el endotelio regula la interacción de las células y las proteínas circulantes con las células residentes en la pared vascular a través de su función como sensor y transmisor de señales (Badimón y Martínez-González, 2006).

El desarrollo de hipertensión se acompaña de alteraciones morfológicas y funcionales del endotelio. Las primeras incluyen la pérdida de la capacidad del endotelio para controlar el tráfico de moléculas hacia el interior de la pared, como el fibrinógeno y las lipoproteínas que contienen apoB como LDL, quilomicrones, VLDL (Badimón y Martínez-González, 2006; Manjunath *et al.*, 2013). Las segundas abarcan regulación del

tono vascular dependiente de endotelio, las cuales incluyen modificaciones en procesos vasodilatadores mediados por el óxido nítrico (NO) y procesos vasoconstrictores mediados por la endotelina-1 (Toledo-López, 2014). La disfunción endotelial se considera una de las primeras manifestaciones de la enfermedad vascular y se puede definir como el desequilibrio en la biodisponibilidad de sustancias activas de origen endotelial que predispone a la inflamación, vasoconstricción e incremento de la permeabilidad vascular (Badimón y Martínez-González, 2006).

La disfunción endotelial se caracteriza por alteraciones que afectan la síntesis, liberación, difusión o degradación de los factores relajantes sintetizados por el endotelio (Cruz-Hernández *et al.*, 2012; Acelajado *et al.*, 2013). Las principales circunstancias que contribuyen ya sea individualmente o asociadas a la disfunción endotelial son: menor biodisponibilidad de NO, alteración en la producción de prostanoides (incluyendo prostaciclina, tromboxano-A2 y/o isoprostanos) y liberación mayor de endotelina-1. Sin embargo, de las tres condiciones antes mencionadas, la biodisponibilidad menor de NO es la característica más importante de la disfunción endotelial (Vittone y Mundiña-Weilenmann, 2008). La biodisponibilidad menor del NO puede ser consecuencia del aumento de la degradación del mismo, así como del desacoplamiento de la isoforma endotelial de la óxido nítrico sintasa (eNOS), que incrementa la producción del radical anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) y disminuye la síntesis neta de NO (Acelajado *et al.*, 2013). Además, el radical $O_2^{\cdot-}$ proveniente de la activación excesiva de la NADPH oxidasa por la PKC y activación aumentada de los receptores AT_1 a angiotensina II puede disminuir la biodisponibilidad del NO mediante su conversión al radical peroxinitrito ($\cdot ONOO$), el cual carece de actividad vasodilatadora (Dikalova *et al.*, 2010)

1.6.1.1. Señalización por óxido nítrico

El NO endógeno se produce a partir de L-arginina por las enzimas NOS. El NO es un mensajero intracelular e intercelular que interviene en una variedad de condiciones fisiológicas y fisiopatológicas en diferentes tipos de células (Brunton, 2012). En los vasos sanguíneos, la liberación basal de NO constituye uno de los principales factores que

determinan el tono vascular en reposo, pues provoca vasodilatación cuando se sintetiza en respuesta a una fuerza de cizallamiento (fuerza de que ejerce el flujo sanguíneo sobre la pared vascular) o diversos vasodilatadores (factores de crecimiento, hormonas, acetilcolina, bradicinina e histamina) (Brunton, 2012; Zhao *et al.*, 2015). La acción vasodilatadora del NO ocurre principalmente mediante la activación de la ruta de señalización NO/GMPc, la cual conduce a la activación de proteína cinasa G (PKG) (Zhao *et al.*, 2015). PKG interviene de manera decisiva en el proceso de vasodilatación, pues induce eventos moleculares que culminan en la reducción de la concentración de calcio intracelular y la disminución de la sensibilidad del sistema contráctil a calcio (Fig. 6) (Carvajal *et al.*, 2000; Sandoo *et al.*, 2010).

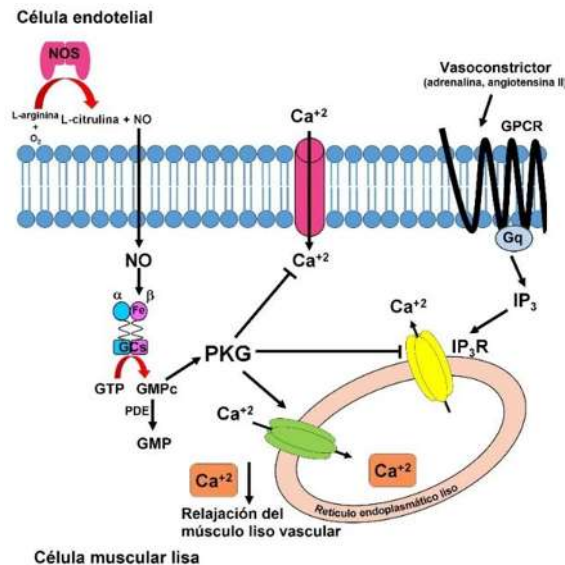


Figura 6. Producción de óxido nítrico y su acción en las células del músculo liso vascular. Una vez sintetizado, el NO difunde a través de las células endoteliales hacia las células del músculo liso adyacentes, en donde se une a la porción hemo de la guanilato ciclasa soluble (GCs). La estimulación de la GCs, incrementa la velocidad de conversión del guanósín trifosfato (GTP) a guanósín monofosfato cíclico (GMPc). El incremento de GMPc activa la proteína cinasa dependiente de GMPc (PKG), la cual reduce la concentración de calcio intracelular a través de varios mecanismos. PKG previene el transporte de calcio extracelular a través de los canales de calcio dependientes de voltaje y la liberación de calcio por el retículo endoplasmático liso mediada por el receptor de fosfatidilinositol trifosfato (IP₃R). PKG promueve también la recaptación de calcio citosólico al actuar sobre la ATPasa de calcio en el retículo endoplasmático liso. La reducción de la concentración de calcio citosólico resulta en la vasorelajación del músculo liso, pues la baja concentración de calcio inactiva a la calmodulina, siendo incapaz de activar a la cinasa de la cadena ligera de miosina. Además la disminución del calcio citosólico incrementa la actividad de la fosfatasa de la cadena ligera de miosina. Finalmente, los niveles de GMPc son regulados por la fosfodiesterasa (PDE) dependiente de GMPc que hidroliza el fosfodiéster unido al GMPc. La activación de la fosfodiesterasa reduce la concentración intracelular de GMPc promoviendo la contracción en respuesta a la señalización inducida por vasoconstrictores a través de la activación del receptor acoplado a proteína G (GPCR) y el consecuente incremento de inositol trifosfato (IP₃). Tomado de Sandoo *et al.*, 2010; Purohit, 2011; Zhao *et al.*, 2015.

1.7. Consumo de fructosa y síndrome metabólico

En el pasado, la ingesta de dietas altas en grasa era el principal factor asociado al desarrollo de obesidad y otras enfermedades metabólicas. Sin embargo, en la actualidad muchos estudios han demostrado que el consumo incrementado de fructosa está relacionado con la elevada prevalencia de obesidad y síndrome metabólico (Lowette *et al.*, 2015; Yamazaki *et al.*, 2016). Durante muchos años, los humanos han consumido fructosa, principalmente de frutas frescas. Sin embargo, el consumo de fructosa ha incrementado notablemente debido a la ingesta de alimentos y bebidas edulcorados con jarabe de maíz de alta fructosa (Basciano *et al.*, 2005; Softic *et al.*, 2016; Lozano *et al.*, 2016).

1.7.1. Fructosa

La fructosa o levulosa es un monosacárido perteneciente al grupo de las hexosas, cuya fórmula condensada ($C_6H_{12}O_6$) es igual a la de la glucosa. Sin embargo, sus fórmulas estructurales son diferentes: la fructosa es una cetosa (posee un grupo cetona en el carbono 2) y la glucosa es una aldosa (posee un grupo aldehído en el carbono 1) (Lowette *et al.*, 2015). La fructosa o “azúcar de la fruta” se encuentra de forma natural en las frutas y la miel, principalmente en forma libre y en menor cantidad unida a glucosa conformando la sacarosa o azúcar común. En cambio, el jarabe de maíz de alta fructosa utilizado como edulcorante es una mezcla que comúnmente contiene 55% fructosa libre y 45% glucosa libre (Fig. 7) (Dekker *et al.*, 2010; Khitan y Kim, 2013; Lowette *et al.*, 2015).

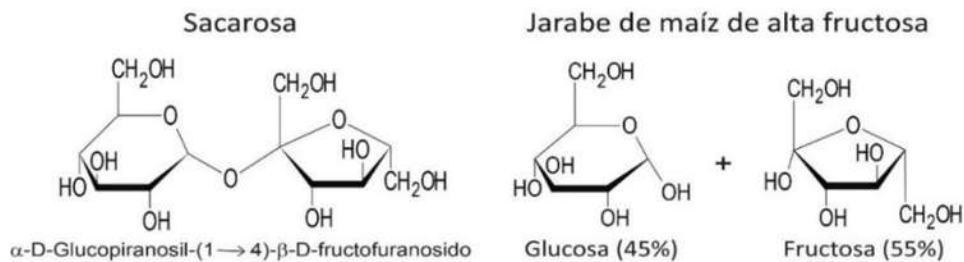


Figura 7. Estructura de la sacarosa y composición del jarabe de maíz de alta fructosa. La sacarosa es un disacárido conformado por una molécula de glucosa y una de fructosa. El jarabe de maíz de alta fructosa es una mezcla que comúnmente contiene 45% glucosa y 55% fructosa.

1.7.2. Absorción intestinal de la fructosa

La forma libre de la fructosa no necesita digestión química, mientras que la forma unida a la glucosa presente en la sacarosa requiere la hidrólisis enzimática catalizada por el complejo sacarasa-isomaltasa situado en las células con borde en cepillo (Gómez-Álvarez *et al.*, 2012). La fructosa libre se absorbe en los enterocitos del duodeno y yeyuno por medio del transportador de glucosa GLUT5, localizado en la membrana apical de los enterocitos (Bray *et al.*, 2004; Tappy y Le, 2010). Después de su absorción, pasa directamente a la circulación en la vena porta, en donde es rápidamente captada por los hepatocitos a través del transportador de glucosa GLUT2 (Tappy *et al.*, 2014).

1.7.3. Metabolismo hepático de la fructosa

A diferencia de la glucosa que es metabolizada por todas las células del cuerpo, la fructosa se metaboliza mayormente en el hígado y no estimula la liberación de insulina, pues su entrada a las células no requiere la señalización de insulina (Farooqui *et al.*, 2010; Mamikutty *et al.*, 2014). Toda la fructosa transportada al citosol de los hepatocitos es inmediatamente convertida a fructosa-1-fosfato por acción de la fructocinasa (Tappy *et al.*, 2014; Lowette *et al.*, 2015).

La ruta de la fructosa-1-fosfato involucra a las enzimas fructocinasa, aldolasa y triocinasa, las cuales conducen a la formación del gliceraldehido-3-fosfato (GA3P) y dihidroxiacetona fosfato (DAP). Estos productos intermediarios del metabolismo de la fructosa entran a la ruta glucolítica a nivel de triosas fosfato, sobrepasando la regulación negativa de la glucólisis mediada por la fosfofructocinasa-1 (Fig. 8) (Lowette *et al.*, 2015). Por medio de la ruta gluconeogénica, el GA3P y la DAP pueden ser convertidos a glucosa, la cual puede ser almacenada en forma de glucógeno. Sin embargo, cuando el almacén de glucógeno hepático se satura, el GA3P y la DAP son convertidos a glicerol-3-fosfato y piruvato respectivamente (Basciano *et al.*, 2005; Tappy y Le, 2010; Lowette *et al.*, 2015).

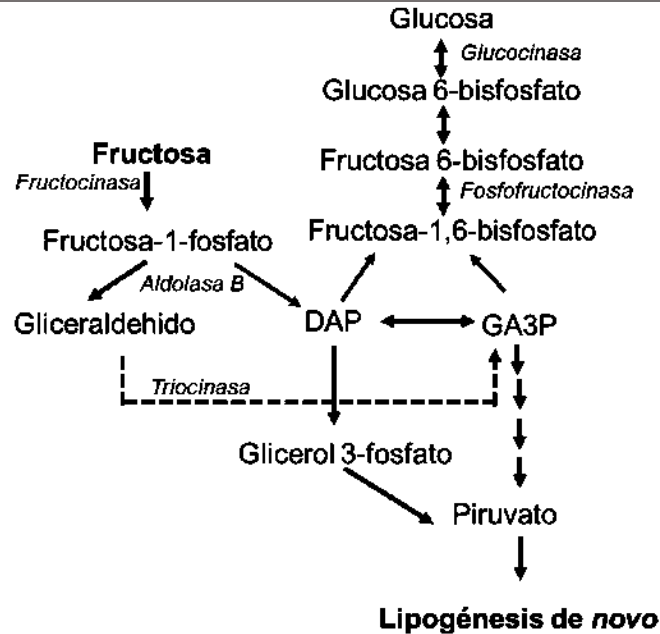


Figura 8. Pasos cruciales del metabolismo hepático de la fructosa y de la glucosa. Tomado de Lowette *et al.*, 2015.

El piruvato puede entrar a la mitocondria y ser convertido a acetil-CoA que puede ser utilizado en el ciclo de Krebs para producir energía. Sin embargo, cuando los niveles de ATP y NADH son altos y los intermediarios del ciclo de Krebs se acumulan, el acetil-CoA es convertido a citrato para ser transportado nuevamente al citosol por el sistema de transporte de tricarboxilatos mitocondrial (Softic *et al.*, 2016).

En el citosol el citrato es convertido a acetil-CoA por la enzima ATP citrato liasa (ACL), además el citrato activa alostéricamente a la acetilCoA carboxilasa (ACC), la cual convierte el acetil-CoA en malonilCoA. El malonil-CoA es la fuente primaria de carbonos para la síntesis de los ácidos grasos. Así, la sintasa de ácidos grasos (FAS) utiliza malonil-CoA para elongar la cadena de acilo graso hasta formar palmitato, principal producto de la síntesis de ácidos grasos (Fig. 9). La ACC cataliza el paso clave en la regulación de la lipogénesis de *novo*, pues las concentraciones elevadas de palmitato inhiben alostéricamente la actividad de la enzima. Además, la ACC puede ser inhibida por la proteína cinasa activada por AMP (AMPK) (Softic *et al.*, 2016).

La síntesis y oxidación de ácidos grasos no ocurre simultáneamente, pues la acumulación de malonil-CoA en el citosol reduce la entrada de ácidos grasos a la

mitocondria mediante la inhibición de la enzima carnitina palmitoiltransferasa 1 (CPT1 α) (Fig. 9) (Softic *et al.*, 2016). De esta forma, la lipogénesis de *novo* inducida por el consumo de fructosa incrementa el contenido de lípidos hepáticos mediante el aporte de ácidos grasos endógenos (Dekker *et al.*, 2010).

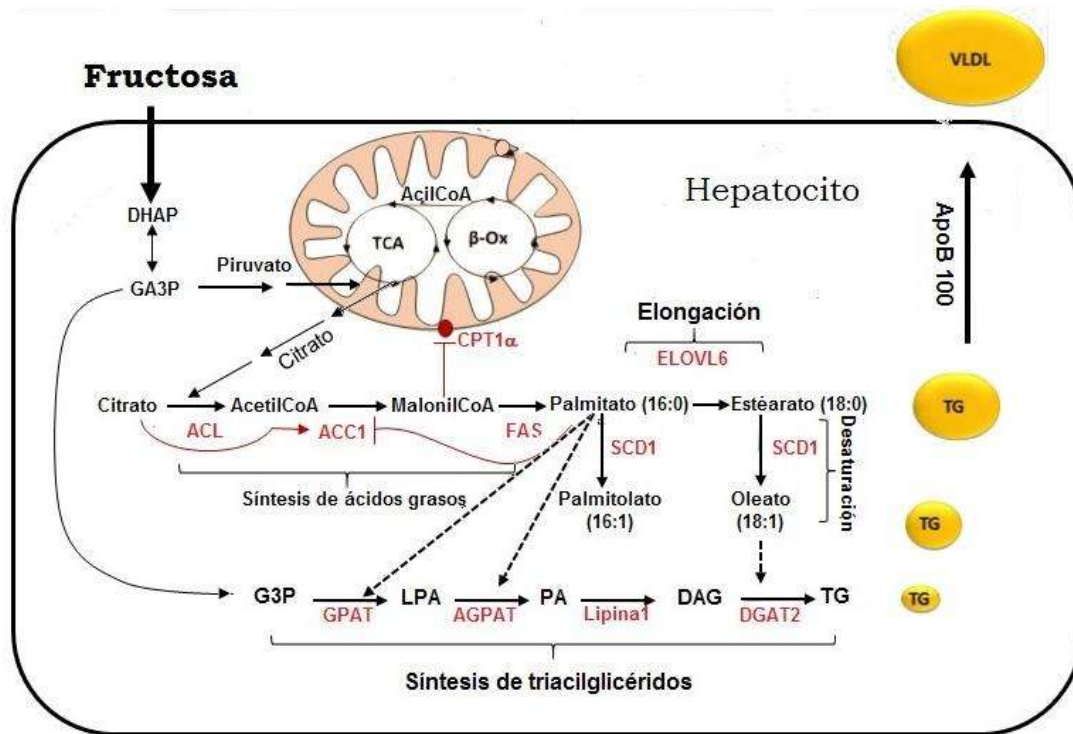


Figura 9. Esquema de la lipogénesis de *novo* hepática. Los carbohidratos son metabolizados a intermediarios de tres carbonos dihidroxiacetona fosfato (DHAP) y gliceraldehído 3 fosfato (GA3P), los cuales a su vez son metabolizados a piruvato. El piruvato entra a la mitocondria y puede ser utilizado para producir energía, pero cuando los niveles de NADH y ATP son altos, el citrato es transportado al citoplasma y es convertido de nuevo a acetil-CoA por acción de la ATP citrato liasa (ACL). La acetilCoA carboxilasa (ACC1) convierte el acetilCoA a malonilCoA. Posteriormente la sintasa de los ácidos grasos une el acetilCoA a la cadena de ácido graso creciente para formar un ácido graso saturado, principalmente palmitato (ácido graso saturado de 16 carbonos). El palmitato puede ser elongado a estearato (ácido graso saturado de 18 carbonos) o a otros ácidos grasos aún más largos por acción de la elongasa de ácidos grasos de cadena muy larga (ELOVL6). Además por acción de la esteroilCoA desaturasa 1 (SCD1) tanto el palmitato como el estearato, pueden ser convertidos a ácidos grasos monoinsaturados como palmitoleato (16:1) y oleato (18:1) respectivamente. Después de que los ácidos grasos son sintetizados, elongados y desaturados son esterificados formando esqueletos glicerofosfato los cuales pueden formar lípidos complejos como los triacilglicéridos. La enzima glicerol 3 fosfato aciltransferasa (GPAT) cataliza la formación del ácido lisofosfatídico (LPA) mediante la adición del acil-CoA al glicerol-3-fosfato. Posteriormente, la enzima 1-acilglicerol-3-fosfatoaciltransferasa (AGPAT) cataliza la adición de un segundo grupo acilCoA para producir ácido fosfatídico, el cual es desfosforilado por acción de la lipina1 para formar diacilglicerol. El paso final de la síntesis de triacilglicéridos es catalizado por la enzima diacilglicerol aciltransferasa (DGAT) que convierte el diacilglicerol (DAG) en triacilglicerol (TG). Tomado de Softic *et al.*, 2016.

1.7.4. Alimentación con fructosa en ratas como modelo de síndrome metabólico

El conocimiento del metabolismo de la fructosa ha revelado la superioridad de la alimentación con fructosa en comparación con otros carbohidratos para inducir síndrome metabólico en roedores. Existen evidencias de que la ingesta crónica de cantidades elevadas de fructosa en roedores produce hipertrigliceridemia, hiperlipidemia, hipertensión, intolerancia a la glucosa y sensibilidad a la insulina disminuida (Wong *et al.*, 2016). Se ha reportado que concentraciones bajas de fructosa en el agua de bebida (10% p/v) son suficientes para inducir síndrome metabólico en roedores. Sin embargo, la severidad con la que se presente el síndrome metabólico depende de la concentración de fructosa administrada a los animales (Wong *et al.*, 2016).

Mamikutty y colaboradores (Mamikutty *et al.*, 2014) reportaron en ratas que el consumo de fructosa en el agua de bebida a concentraciones de 20% y 25% (p/v) incrementó las concentraciones de glucosa y triacilglicéridos en sangre, asimismo la presión arterial sistólica y el contenido de grasa abdominal. En otro estudio (Thirunavukkarasu *et al.*, 2004) se reportó presión arterial incrementada, intolerancia a la glucosa y sensibilidad a la insulina disminuida en ratas alimentadas con una dieta alta en fructosa que aportaba más del 60% de calorías diarias (Thirunavukkarasu *et al.*, 2004).

Se ha evidenciado que la alimentación crónica de fructosa en ratas inhibe la autofosforilación del receptor de insulina y de los sustratos del receptor de insulina 1 y 2 (Bezerra *et al.*, 2000; Ueno *et al.*, 2000) e incluso disminuye la expresión del mismo en el tejido muscular y en el hígado (Catena *et al.*, 2003). En este contexto, se ha demostrado también que la alimentación con fructosa incrementa la cantidad y la actividad de la PTP1B, la cual como se mencionó anteriormente inhibe la señal de insulina a nivel del receptor de insulina o de los IRS (Taghibiglou *et al.*, 2002).

La alimentación crónica con fructosa incrementa la disponibilidad de ácidos grasos de cadena larga necesarios para la síntesis de triacilglicéridos, mediante la regulación positiva del factor transcripcional Srebp-1c. La activación de Srebp-1c promueve la

expresión genes lipogénicos y la consecuente activación de enzimas como la HMG-CoA reductasa, FAS, ACC y SCD (Basciano *et al.*, 2005). Así, la alimentación crónica con fructosa estimula la producción de triacilglicéridos en el hígado, mediante la reesterificación de ácidos grasos resultantes de la lipogénesis de *novo* (Park *et al.*, 1992; Taghibiglou *et al.*, 2000). Este fenómeno se ha relacionado también con la inducción de resistencia a la insulina en el propio hígado y en el tejido muscular, pues la acumulación de metabolitos lipídicos promueve la resistencia a la insulina (Perry, 2014). Por otra parte, la alimentación crónica con fructosa se relaciona con reducción del colesterol HDL que resulta de la disminución de la actividad de la LPL y la lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT). La LCAT cataliza la esterificación de los ácidos grasos libres producidos en la lipólisis periférica de triacilglicéridos mediada por la LPL. De esta forma, la LCAT y la LPL son responsables de la maduración de las HDL y la actividad reducida de estas enzimas durante la alimentación con fructosa reduce los niveles de HDL y altera el metabolismo de triacilglicéridos (Nandhini *et al.*, 2002; Thirunavukkarasu *et al.*, 2004).

Por otro lado, se ha reportado que las dietas altas en fructosa alteran el balance endotelial e incrementan la presión arterial. La resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia resultantes del consumo crónico de fructosa se relacionan con la disminución de la producción de NO a través de la reducción de la actividad de la eNOS y la producción incrementada de ET-1 (Arce-Esquivel y Bunker, 2013; Sena *et al.*, 2013; Janus *et al.*, 2016). Se ha evidenciado también que la hiperinsulinemia está implicada en la activación crónica del sistema nervioso simpático, pues se ha reportado actividad adrenérgica significativamente mayor en ratas alimentadas con fructosa, la cual se comprobó por niveles mayores de norepinefrina en sangre (Tran *et al.*, 2014; Klein y Kiat, 2015).

1.8. Tratamiento farmacológico del síndrome metabólico

La meta del tratamiento farmacológico es reducir el conjunto de factores de riesgo, especialmente la hipertensión, las dislipidemias y la intolerancia a la glucosa para prevenir la diabetes y/o las enfermedades cardiovasculares (Meigs, 2008). La obesidad visceral es un factor de riesgo importante para el desarrollo de síndrome metabólico, desafortunadamente no existe farmacoterapia efectiva y segura para tratar esta enfermedad. Por esta razón, la prevención y el tratamiento del síndrome metabólico consisten primeramente en modificar el estilo de vida, empleando regímenes alimenticios y de actividad física que conduzcan a la pérdida de tejido adiposo (Allison y Sarwer, 2016; Han y Lean, 2016). Se ha observado en estudios clínicos que la restricción calórica moderada junto a la actividad física disminuyen considerablemente la incidencia de síndrome metabólico (Leroith, 2012; Roberts *et al.*, 2013). Sin embargo, a menudo las modificaciones en el estilo de vida no son suficientes y el riesgo residual de enfermedades cardiovasculares persiste (Ilanne-Parikka y Tuomilehto, 2013). Por esta razón, se requiere el tratamiento farmacológico de cada uno de los padecimientos presentes en las personas con síndrome metabólico, sin dejar de lado las modificaciones en el estilo de vida, las cuales son esenciales para mejorar el estado general de salud de los pacientes (Leroith, 2012; Ahima, 2016b).

1.8.1. Metformina

La metformina (dimetilbiguanida) es un fármaco de administración oral ampliamente utilizado en el tratamiento de diabetes tipo 2. Esta biguanida suprime la producción de glucosa hepática y es capaz de mejorar la sensibilidad a la insulina en el hígado. Aunque el efecto reductor de la glucemia es mayor en la hiperglucemia en ayuno, la reducción de la glucemia postprandial es evidente (Bailey, 2013; An y He, 2016). Además de su efecto hipoglucémico, la metformina tiene efectos benéficos en otros

componentes del síndrome metabólico. La terapia con metformina se acompaña de disminución pequeña del colesterol total, LDLs y triacilglicéridos. Aunque no tiene efecto sobre la hipertensión varios estudios han reportado su efecto potencialmente antiaterogénico en individuos con diabetes tipo 2 y la disminución de eventos cardiovasculares (Evans *et al.*, 2006; McAfee *et al.*, 2007; Bailey, 2013). Está reportado que la metformina no produce ganancia de peso, al contrario se ha observado que produce ligera reducción del peso. Dicha pérdida de peso, puede deberse en parte a sus efectos secundarios: anorexia, diarrea, sabor metálico y náuseas (Bailey, 2013).

Aunque no se conocen completamente los mecanismos de acción de la metformina, se ha evidenciado que activa a la proteína cinasa activada por AMP (AMPK) mediante la fosforilación de un residuo específico de treonina presente en la subunidad catalítica de la enzima mediada por la cinasa hepática B1 (LKB1). La activación de AMPK por la metformina conduce al desacoplamiento del complejo coactivador CREB inhibiendo la expresión de genes gluconeogénicos e incrementando la oxidación de ácidos grasos, mediante la fosforilación y la desactivación de la acetil-CoA carboxilasa (Bailey, 2013; An y He, 2016). Además, se ha mostrado en individuos con obesidad que la activación de AMPK por la metformina disminuye la activación de NF- κ B implicado en la resistencia a la insulina sobretodo en individuos con obesidad (An y He, 2016).

1.8.2. Tiazolidinedionas

Las tiazolidinedionas (TZD) son agonistas del receptor activado por proliferadores peroxisomales (PPAR), el cual regula la transcripción de genes sensibles a la insulina que controlan el metabolismo de la glucosa y de los lípidos. Las principales TZD empleadas comúnmente para tratar la resistencia a la insulina y reducir los niveles de glucosa en sangre son la pioglitazona y la rosiglitazona (Wang *et al.*, 2004). La magnitud del efecto de las tiazolidinedionas sobre los niveles de glucosa depende ciertamente de la concentración en sangre de glucosa en ayuno, cuanto mayor sea esta mayor es la reducción observada. Debido a que estos fármacos no estimulan la liberación de insulina

no presentan efecto hipoglucémico cuando se administran solos. Por otro lado, cuando se usan combinadas con otro agente como por ejemplo metformina, presentan mejores efectos benéficos en el control de la glucemia de individuos con diabetes tipo 2 (Suvag *et al.*, 2013)

En modelos animales con hipertensión y resistencia a la insulina, se ha mostrado que el tratamiento con TZD disminuye la presión sanguínea. Asimismo, en pacientes con hipertensión y diabetes mellitus tipo 2 se ha observado que el tratamiento con TZD reduce modestamente la presión arterial. Las TZD presentan efectos benéficos en las dislipidemias, se ha reportado que incrementan los niveles de HDL y disminuyen los triacilglicéridos en sangre. Debido a su efecto mayor sobre el receptor activado por proliferadores peroxisomales α (PPAR α), la pioglitazona más que la rosiglitazona incrementa mayormente las HDL y disminuye los niveles de triacilglicéridos en sangre. Además se ha reportado que las tiazolidinedionas reducen los lípidos hepáticos y disminuyen las alteraciones histológicas en la NAFLD. Sin embargo, presentan reacciones secundarias como retención de líquidos (Suvag *et al.*, 2013).

1.8.3. Estatinas

Las estatinas, son inhibidores de la 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA) reductasa, la cual cataliza el paso limitante de la síntesis de colesterol y de otros isoprenoides. Son fármacos ampliamente usados a nivel mundial para prevenir las enfermedades cardiovasculares. Las estatinas más eficaces incluyen, la rosuvastatina y la atorvastatina, mientras que las más comunes son simvastatina, pravastatina y fluvastatina (Nilsson, 2013).

Los principales efectos de estos fármacos consisten en la reducción de las LDL junto a la reducción modesta de los triacilglicéridos en sangre e incremento modesto de las HDL. Para tener un efecto más pronunciado en el control de los lípidos, las estatinas se pueden usar combinadas con otros fármacos que disminuyen también los lípidos como los fibratos o inhibidores de la captación de colesterol como la ezetimiba (Nilsson, 2013).

En las personas con síndrome metabólico, las estatinas solas o combinadas han mostrado efectos benéficos en los niveles de lípidos, reduciendo el riesgo de eventos cardiovasculares (Nilsson, 2013). Además, varios estudios han mostrado que la terapia con estatinas tiene efecto reductor pequeño pero significativo de la hipertensión arterial. Por otra parte, los efectos adversos asociados con la terapia de estatinas incluyen dolor muscular, elevación de las enzimas hepáticas y en raras ocasiones rabdomiolisis (necrosis muscular que provoca liberación de sustancias de los miocitos como la creatina a la circulación). Sin embargo, el efecto más perjudicial asociado al uso de algunas estatinas (atorvastatina, rosuvastatina, simvastatina) es su efecto en el metabolismo de la glucosa y mayor riesgo de diabetes (Nilsson, 2013).

1.8.4. Antihipertensivos

Aunque los diuréticos como la tiazida son la primera opción para el tratamiento de hipertensión en la población en general, las tiazidas tienden a elevar los niveles de glucosa en sangre y pueden contribuir a la conversión de la prediabetes en diabetes. Por esta razón, el uso de diuréticos no es la mejor opción para el tratamiento de la hipertensión en individuos con síndrome metabólico (Ahima, 2016b). Por otra parte, el uso de los primeros bloqueadores beta para el tratamiento de la hipertensión se ha asociado con el desarrollo de intolerancia a la glucosa, dislipidemia y ganancia de peso. No obstante, los bloqueadores beta más recientes como el carvedilol, labetalol y nevedilol poseen efectos vasodilatadores que conducen a la disminución de la hipertensión y no suelen tener efectos desfavorables sobre el peso corporal comparados con los primeros bloqueadores beta (Mukherjee y Baksi, 2003; Reisin y Owen, 2015). Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) disminuyen la presión arterial elevada, los niveles de glucosa en sangre, la inflamación y la disfunción endotelial. Asimismo, los antagonistas de los receptores de angiotensina II como el valsartán han mostrado efectos benéficos en pacientes con síndrome metabólico (Ahima, 2016b).

1.9. Vitaminas y su uso como coadyuvantes en el tratamiento de enfermedades

Las vitaminas son un grupo de compuestos orgánicos esenciales que presentan estructura variada y forman parte del grupo de los micronutrientes. Son requeridas en pequeñas cantidades, pero necesarias para mantener una correcta actividad bioquímica. Algunas vitaminas funcionan como cofactores enzimáticos, por lo que participan en un gran número de reacciones enzimáticas, las cuales no ocurren en su ausencia (Teijón *et al.*, 2006). Estas moléculas participan prácticamente en las mismas reacciones en todos los seres vivos (Melo y Cuamatzi, 2006). El conocimiento de las funciones bioquímicas y el mecanismo molecular de acción de las vitaminas ha permitido su uso en el tratamiento de afecciones no relacionadas a su función como vitamina. Tal es el caso de las vitaminas liposolubles A, D y E, vitaminas hidrosolubles como la hidroxocobalamina (vitamina B12) y el ácido nicotínico (vitamina B3), este último utilizado como coadyuvante en el tratamiento de dislipidemias (Deimling *et al.*, 2011).

1.9.1. Biotina

La biotina es una vitamina hidrosoluble perteneciente al complejo B conocida también como vitamina B7 o vitamina H (Alban *et al.*, 2000). Se descubrió en 1901 como un factor de crecimiento requerido por algunas cepas de levaduras y en ese entonces se nombró *bios* (Wildiers, 1901). Posteriormente, en la década de los 30's fue purificada de la yema de huevo por Kögl y Tönnis (Kögl y Tönnis, 1936) y en 1949 se publicó la primera evidencia de la función bioquímica de la biotina en las reacciones de carboxilación, usando ensayos de crecimiento de *Lactobacillus arabinosum* en presencia de CO₂ (Lardy *et al.*, 1949; Streit y Entcheva, 2003). A diferencia de otros organismos, los mamíferos no pueden sintetizar biotina y deben obtenerla de la dieta (Zempleni *et al.*, 2009). Aunque la mayoría de los alimentos contienen biotina, el hígado, los productos lácteos, la yema de huevo, así como algunos vegetales son las fuentes más importantes de ésta vitamina.

Además, las bacterias de tracto gastrointestinal biosintetizan biotina, por lo que contribuyen al aporte diario de biotina (Rodríguez-Rivera y Simón-Magro, 2008; Said, 2008).

1.9.1.1. Estructura de la biotina

La molécula de biotina ($C_{10}H_{16}N_2O_3S$) está compuesta por dos anillos fusionados: un anillo imidazol (ureido) y un anillo tetrahidrotiofeno (contiene un grupo sulfuro). Este último está unido a la cadena lateral de un ácido valérico, la cual se encuentra unida al anillo tetrahidrotiofeno en configuración *cis*- respecto al anillo ureido. La biotina presenta una masa molecular de 244.31 g/mol y al cristalizar es ortorrómbica e incolora. Su punto de fusión es de 232°C. La molécula de biotina tiene tres átomos de carbono quirales, resultando ocho posibles estereoisómeros pero, solo la d-biotina posee actividad biológica (Fig. 10) (Streit y Entcheva, 2003).

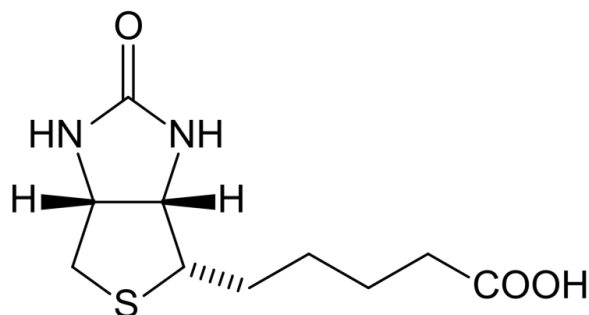


Figura 10. Estructura de la d-biotina. Estereoisómero con actividad biológica.

El nombre químico sistemático (IUPAC) de la biotina es: ácido 5-[(3*a*S,4*S*,6*a*R)-2-oxo-1,3,3*a*,4,6,6*a*-hexahidrotieno[3,4-*d*]imidazol-4-il) pentanoico. El compuesto puro es estable en soluciones moderadamente ácidas, neutras y en soluciones moderadamente alcalinas (hasta pH 9). Es muy poco soluble en agua (22 mg en 100 mL de agua a temperatura ambiente) y es insoluble en algunos solventes orgánicos como el cloroformo (Streit y Entcheva, 2003).

1.9.1.2. Ingesta adecuada de biotina

En humanos no se conocen los requerimientos de biotina, por lo tanto las recomendaciones para una ingesta adecuada están basadas en la ingesta promedio de biotina de la población aparentemente sana. La ingesta diaria recomendada de biotina dependiendo de la etapa de vida se resume en la Tabla 4 (Zempleni *et al.*, 2012).

ETAPAS DE LA VIDA	EDAD	BIOTINA (µg/d)
Infantes	0-6 meses	5
Infantes	7-12 meses	6
Niños	1-3 años	8
Niños	4-8 años	12
Preadolescentes	9-13 años	20
Adolescentes	14-18	25
Hombres, mujeres y embarazadas	>19 años	30
Mujeres en periodo de lactancia	>19 años	35

Tabla 4. Ingesta diaria recomendada de biotina en diferentes etapas de la vida. µg/d: microgramos por día. Tomado de Mock, 2013.

1.9.1.3. Absorción, metabolismo y eliminación de la biotina

En los alimentos la biotina se encuentra en forma libre y mayormente unida a proteínas a través de un enlace amida formado por el carbonilo del ácido valérico de la biotina y el grupo amino de un residuo de lisina en las proteínas (Said, 2008). La forma unida a proteínas es transformada primeramente a la forma libre por acción de proteasas, produciendo residuos de lisina unidos covalentemente a la biotina (biocitina o biotinil-ε-

lisina) y péptidos pequeños unidos a biotina (Wolf *et al.*, 1985). Posteriormente, la biotinidasa pancreática corta el enlace semipeptídico y libera biotina libre de la biocitina y de los péptidos pequeños unidos a biotina (Fig. 11) (Said, 2008).

La biotina libre se absorbe en los enterocitos de la porción distal del duodeno y proximal del yeyuno a través de un transportador múltiple de vitaminas dependiente de sodio (SMVT) localizado en el polo apical del enterocito. El SMVT reconoce la porción de ácido valérico y el anillo ureido de la biotina y en presencia de un gradiente de sodio transporta biotina en contra de un gradiente de concentración (Mock, 2013). La salida de biotina del enterocito se produce a través de la membrana basolateral mediante un mecanismo mediado también por un acarreador, pero éste es independiente de sodio. En la circulación sanguínea, la biotina se puede encontrar libre disuelta en la fase acuosa de la sangre o unida a proteínas (Mock, 2013)

La entrada de biotina a las células es mediada por el SMVT como se mencionó anteriormente. Dentro de las células la biotina funciona como un cofactor esencial de carboxilasas, las cuales son sintetizadas en el citosol como apocarboxilasas, sin actividad enzimática. La unión covalente de la biotina a las apocarboxilasas (biotinilación) produce su activación (Vilches-Flores y Fernández-Mejía, 2005). La enzima holocarboxilasa sintetasa (HCLS) cataliza la biotinilación de las carboxilasas a través de dos pasos. Primeramente, la biotina es activada mediante la hidrólisis de ATP produciéndose el compuesto biotinil-5'-AMP (B-AMP) y enseguida, el B-AMP es utilizado para transferir la biotina a un residuo de lisina específico localizado en una región altamente conservada en las carboxilasas (León-del-Río, 2003). De esta manera se forma un enlace covalente ϵ amida entre el grupo carboxílico del ácido valérico y el grupo amino de un residuo específico de lisina altamente conservado en todas las apocarboxilasas (Vilches-Flores y Fernández-Mejía, 2005). La HCLS se encuentra presente también en núcleo y en cantidades grandes en la mitocondria. Varios estudios indican que la HCLS actúa catalizando también la biotinilación de proteínas histonas (Mock, 2013).

Una vez que las carboxilasas no son requeridas sufren proteólisis liberándose biocitina y posteriormente, la biotinidasa rompe el enlace covalente ϵ amida liberando

biotina. La biotina libre puede ser reciclada y utilizada por nuevas apocarboxilasas o se puede degradar formando productos derivados inactivos y excretarse. Se han identificado dos rutas catabólicas de biotina en mamíferos. En la primera ruta, la cadena de ácido valérico es degradada mediante la β -oxidación de ácidos grasos, produciendo entre otros compuestos bisnorbiotina y bisnorbiotina metil cetona, los cuales se eliminan en la orina (Mock, 2013). En la segunda ruta, el azufre del anillo tieno puede ser oxidado mediante un proceso dependiente de NADPH produciendo biotina-L-sulfóxido, biotina-D-sulfóxido y biotina sulfona. La oxidación combinada del anillo sulfuro y el ácido valérico produce metabolitos como la bisnorbiotina sulfona (Fig. 11) (Mock, 2013). En conjunto la síntesis de holocarboxilasas y su catabolismo se denomina ciclo de la biotina (Vilches-Flores y Fernández-Mejía, 2005).

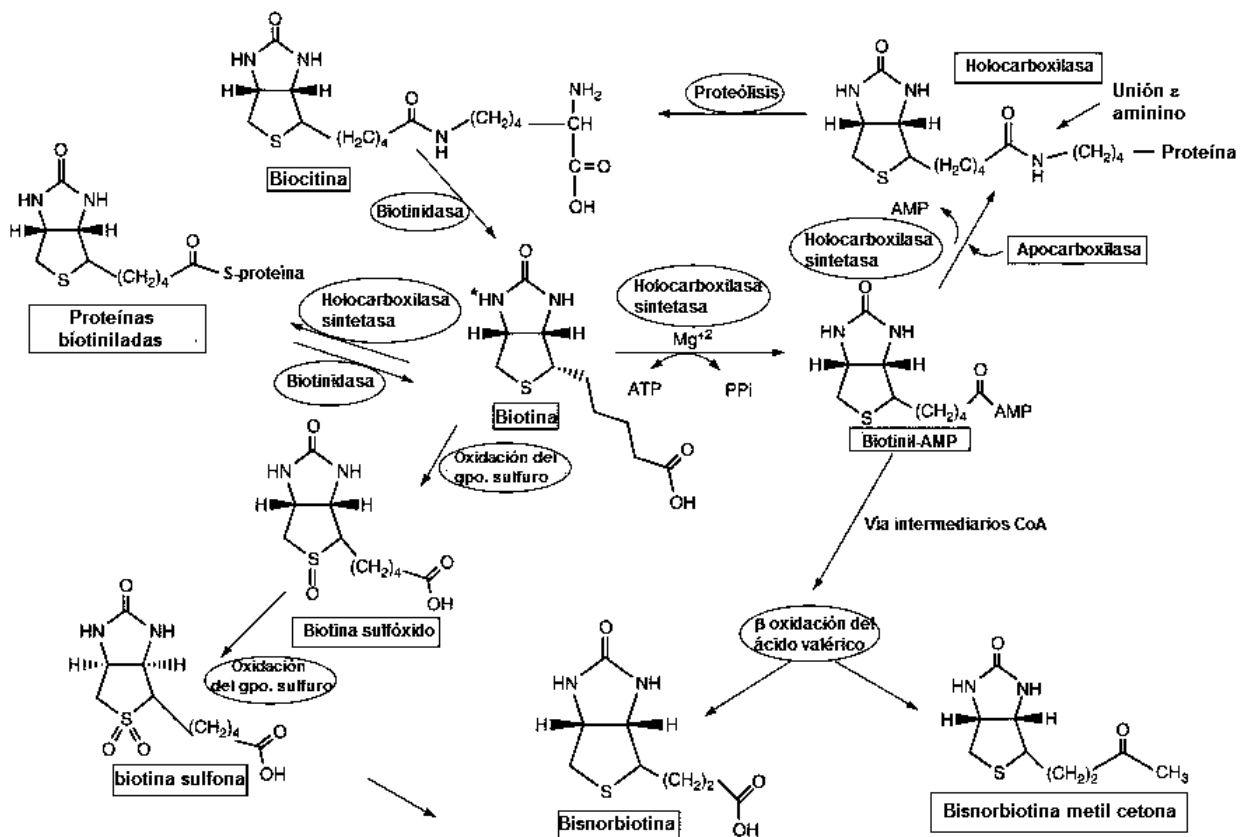
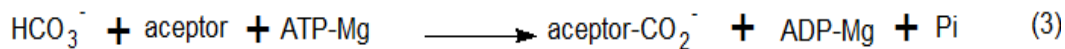
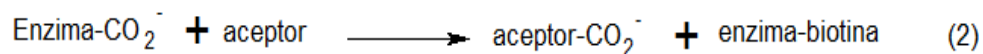
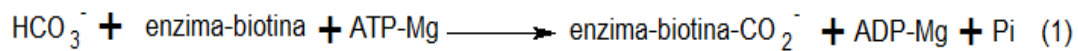


Figura 11. Metabolismo, función, degradación y reciclamiento de biotina en mamíferos. Los óvalos denotan enzimas o sistemas enzimáticos, mientras que los rectángulos denotan la biotina y sus compuestos derivados así como sustratos de las diferentes rutas. ATP, adenosín trifosfato; AMP, adenosín monofosfato; PPI, pirofosfato inorgánico. Tomado de Mock, 2013.

1.9.1.4. Función de la biotina como cofactor enzimático

En todos los organismos, la biotina actúa como coenzima de carboxilasas, las cuales tienen función crucial en el mantenimiento celular y son esenciales en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos. La característica común de las reacciones catalizadas por las carboxilasas dependientes de biotina es la transferencia de un grupo carboxilo proveniente del bicarbonato a un sustrato aceptor, utilizando biotina como acarreador del grupo funcional carboxilo (Alban *et al.*, 2000). Las reacciones catalizadas por las carboxilasas dependientes de biotina tienen lugar en dos pasos discretos (1) y (2), que resultan en la catálisis conjunta (3) (Alban *et al.*, 2000):



Las carboxilasas dependientes de biotina en mamíferos son la propionil-CoA carboxilasa (PCC), la metilcrotonil-CoA carboxilasa (MCC), la piruvato carboxilasa (PC) la acetil-CoA carboxilasa 1 (ACC1) y la acetil-CoA carboxilasa 2 (ACC2) (Mock, 2013). ACC1 y ACC2 catalizan la incorporación de bicarbonato al acetil-CoA para formar malonil-CoA. ACC1 se localiza en el citosol y produce el malonil-CoA que es el sustrato limitante de la velocidad de la lipogénesis de *novo* (Fig. 12). La ACC2 se localiza en la membrana mitocondrial externa y controla la oxidación de ácidos grasos en la mitocondria a través del efecto inhibitor del malonil-CoA en el transporte de ácidos grasos a la mitocondria (Mock, 2013). La piruvato carboxilasa cataliza la incorporación de bicarbonato al piruvato para formar oxalacetato, un intermediario del ciclo de Krebs que puede ser convertido a glucosa a través de la gluconeogénesis en el hígado (Fig. 12). Por su parte, la MCC cataliza un paso esencial en la degradación del aminoácido ramificado leucina. Finalmente, la PCC cataliza la incorporación del bicarbonato al propionil-CoA para formar metilmalonilCoA, el cual puede ser convertido en succinil-CoA un intermediario del ciclo de Krebs (Fig. 12) (Mock, 2013).

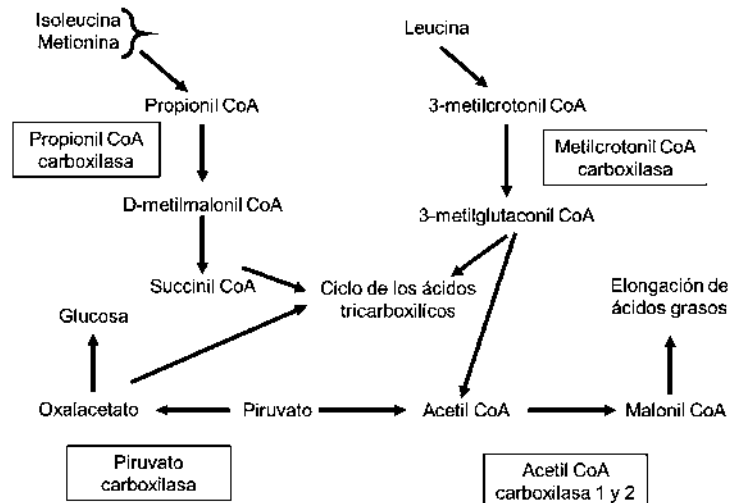


Figura 12. Esquema de la interrelación de las reacciones catalizadas por las carboxilasas dependientes de biotina. Las carboxilasas dependientes de biotina catalizan reacciones involucradas en el metabolismo intermedio de carbohidratos, proteínas y lípidos. Tomado de Mock, 2013.

1.9.1.5. Función de la biotina en la regulación de la expresión de genes

Varios estudios en mamíferos han demostrado que aparte de su función como cofactor de carboxilasas, la biotina a concentración farmacológica modifica funciones biológicas entre las que se incluyen, el metabolismo de carbohidratos y lípidos (Aguilera-Méndez y Fernández-Mejía, 2012). Además, estos estudios han evidenciado que el efecto de la biotina podría ser resultado de su acción en la regulación de la expresión génica (Fernández-Mejía y Lazo-de-la-Vega, 2011). Se han propuesto dos mecanismos para explicar el efecto de la biotina sobre la expresión génica: a través de la vía de señalización de la guanilato ciclasa soluble/proteína cinasa dependiente de GMPc (GCs/PKG) y a través de la biotilación de las histonas (Rodríguez-Melendez y Zemleni, 2003; Vlches-Flores y Fernández-Mejía, 2005; Zemleni, 2005).

1.9.1.5.1. Señalización a través de la guanilato ciclasa soluble

Hasta la fecha diferentes estudios han permitido identificar como denominadores comunes del efecto de la biotina, el incremento en la actividad de la GCs (Vesely, 1982),

la elevación de la concentración de GMPc (Spence y Kouldelka, 1984) y la participación de PKG (Stockert y Morell, 1992; De-la-Vega y Stockert, 2000; Solorzano-Vargas *et al.*, 2002). Adicionalmente, Solórzano-Vargas y colaboradores propusieron que el biotinil-5'-AMP, producto catalítico de la holocarboxilasa sintetasa prodría incrementar la actividad de la GCs a través de un mecanismo desconocido. La activación de la GCs conduce al incremento de los niveles de GMPc y la consecuente activación de PKG, la cual puede fosforilar diversos sustratos (Fig. 13) (Solórzano-Vargas *et al.*, 2002).

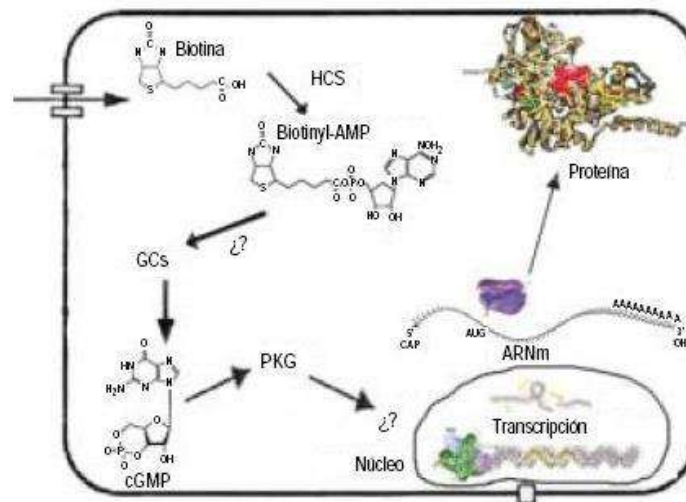


Figura 13. Mecanismo propuesto de señalización de biotina a través de la vía de la GC/GMPc/PKG. La holocarboxilasa sintetasa (HCS) participa en la síntesis del intermediario biotinil-AMP, este por un mecanismo desconocido aumenta la actividad de la guanilato ciclasa soluble (GCs). El incremento de la concentración de GMPc intracelular activa a la proteína cinasa dependiente de GMPc (PKG), la cual puede fosforilar diferentes proteínas que participan en la regulación de la expresión génica (Tomado de Vilches-Flores y Fernández-Mejía, 2005).

1.9.1.5.2. Biotinilación de histonas

La biotinilación de histonas es la unión covalente de la biotina a las proteínas estructurales que permiten el empaquetamiento del ADN en los nucleosomas. Varios estudios en diversos tipos celulares han demostrado que la biotina se une a diferentes residuos de lisina en las histonas (Hymes *et al.*, 1995; Peters *et al.*, 2002; Crisp *et al.*, 2004). De esta manera, se ha sugerido que podría modificar la expresión génica a nivel epigenético (Vilches-Flores y Fernández-Mejía, 2005; Hassan y Zemleni, 2006).

2.-ANTECEDENTES

Independientemente de su función como cofactor de enzimas carboxilasas, se ha evidenciado que la biotina a concentraciones farmacológicas modifica el metabolismo de carbohidratos y lípidos. En relación con el metabolismo de carbohidratos, varios estudios en modelos animales y en humanos han demostrado que la biotina mejora el metabolismo y/o utilización de la glucosa en condiciones fisiopatológicas (Fernández-Mejía y Lazo-de-la-Vega, 2011).

Se ha reportado que la administración de concentraciones farmacológicas de biotina mejoró significativamente la tolerancia a la glucosa y disminuyó la resistencia a la insulina en ratones de la cepa KK (modelo de diabetes tipo 2 con obesidad moderada) (Reddi *et al.*, 1988). La administración oral de 2 mg/kg de peso corporal de biotina durante 14 días disminuyó significativamente la glucemia postprandial, pero no la glucemia en ayuno en los ratones KK tratados con biotina. Además, la administración de 4 mg/Kg de peso corporal de biotina durante 8 semanas disminuyó la resistencia a la insulina en los ratones KK tratados con biotina (Reddi *et al.*, 1988). El mismo efecto benéfico de la biotina fue observado en ratas de la cepa OLETF (del inglés, *Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rat*) modelo de diabetes tipo 2 con obesidad aguda. Zhang y colaboradores (Zhang *et al.*, 1996) reportaron que la administración de una dieta suplementada con niveles elevados de biotina corrigió la tolerancia a la glucosa alterada y disminuyó la hiperinsulinemia, ambas manifestaciones clínicas típicas en las ratas OLETF. En otro estudio Zhang y colaboradores mostraron que la administración de una dosis pequeña de biotina (100 µg/rata/día) vía intraperitoneal durante 15 días disminuyó la hiperglucemia en ratas diabéticas por estreptozotocina (modelo experimental de diabetes tipo 1). Además reportaron incremento en la actividad de la glucocinasa hepática y pancreática en las ratas diabéticas tratadas con biotina (Zhang *et al.*, 1997).

El efecto hipoglucémico de la biotina ya se había observado en pacientes con diabetes tipo 1 a quienes se les reemplazó la terapia con insulina durante una semana por una dosis diaria de 16 mg de biotina o de placebo. Los pacientes tratados con biotina

mostraron disminución significativa de la glucosa en sangre en ayuno, mientras que la glucemia en ayuno de los pacientes tratados con placebo incrementó (Coggeshall *et al.*, 1985). Los mismos efectos de la biotina fueron observados en pacientes japoneses con diabetes tipo 2, cuyas concentraciones de glucosa en sangre en ayuno disminuyeron cerca de un 45% después de recibir dosis orales de 9 mg/día de biotina durante un mes (Maebashi *et al.*, 1993).

Por otra parte, varios estudios han demostrado que la biotina disminuye los niveles de lípidos en sangre. Un estudio en hombres y mujeres sanos mostró que la administración de 0.9 mg/día de biotina durante 2 semanas disminuyeron escasa pero significativamente los niveles de lípidos totales en sangre, mientras que al final del tratamiento (71 días) los niveles de éstos lípidos se encontraron por debajo o igual que al inicio del tratamiento (Marshall *et al.*, 1980). Además los investigadores observaron mejor efecto benéfico de la biotina en los lípidos totales en sangre de pacientes que presentaban niveles mayores de éstos al comienzo del estudio. Así mismo, determinaron los niveles de biotina en sangre y observaron correlación negativa entre los niveles de biotina y lípidos totales (Marshall *et al.*, 1980). En pacientes diabéticos tipo 2 y no diabéticos con hipertrigliceridemia, la administración de 5 mg de biotina tres veces al día durante 28 días disminuyó significativamente las concentraciones de triacilglicéridos y VLDLs, no así el colesterol total en sangre (Revilla-Monsalve *et al.*, 2006).

El efecto de la biotina en los niveles de lípidos está documentado también en modelos murinos experimentales. Sugita y colaboradores (Sugita *et al.*, 2008) reportaron en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina que una sola administración de 1 mg/Kg de peso corporal de biotina disminuyó los niveles de triacilglicéridos y de colesterol total a las 3 horas posteriores de la administración. Estudios en ratones normales demostraron que la administración de una dieta suplementada con concentraciones farmacológicas de biotina (55 veces mayor que el control) durante 8 semanas disminuyó los niveles de triacilglicéridos en sangre aproximadamente un 35% (Larrieta *et al.*, 2010; Aguilera-Méndez y Fernández-Mejía, 2012). Asimismo la administración de la dieta suplementada con niveles elevados de biotina en ratones normales redujo la concentración de triacilglicéridos hepáticos (Aguilera-Méndez y Fernández-Mejía, 2012).

Además de los efectos benéficos de la biotina a concentraciones farmacológicas en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos, existe un estudio que evidencia su efecto antihipertensivo. Watanabe y colaboradores (Watanabe-Kamiyama *et al.*, 2008) reportaron que la administración oral de 1.2 mg/Kg de peso corporal de biotina disminuyó la presión arterial sistólica y la incidencia de accidente cerebrovascular en ratas hipertensas de la cepa SHR-SP (del inglés, *Spontaneously Hypertensive Rats - Stroke Prone*) desde la dos primeras semanas de tratamiento. Los investigadores reportaron también que la administración de dosis únicas de 0.5 y 5 mg de biotina vía intraperitoneal disminuyeron la presión arterial sistólica (Watanabe-Kamiyama *et al.*, 2008).

3.-JUSTIFICACIÓN

El síndrome metabólico y sus comorbilidades como el hígado graso no alcohólico son un problema de salud pública que incrementan el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, las cuales constituyen la principal causa de morbimortalidad en la población adulta mexicana y mundial. Lo anterior hace que el desarrollo de nuevos fármacos y/o estrategias para su prevención o tratamiento sea apremiante. La biotina es una vitamina que podría ser usada con estos fines, ya que se ha evidenciado a dosis farmacológicas tiene efecto hipoglucémico, hipotriglicéridémico y antihipertensivo. Sin embargo, hasta el momento no existen estudios de sus efectos en un modelo experimental de síndrome metabólico.

4.-HIPÓTESIS

El tratamiento farmacológico con biotina tiene efecto benéfico sobre el síndrome metabólico en un modelo experimental.

5.-OBJETIVOS

5.1. General

Estudiar el efecto de la biotina a dosis farmacológica sobre el síndrome metabólico en un modelo experimental inducido por suplementación con fructosa en el agua de beber.

5.2. Específicos

1. Evaluar el efecto de la biotina sobre la homeostasis de glucosa *in vivo* en ratas modelo experimental de síndrome metabólico.
2. Analizar el efecto de la biotina sobre las dislipidemias presentes en el síndrome metabólico en ratas modelo experimental de síndrome metabólico.
3. Explorar el efecto de la biotina en la NAFLD en ratas modelo experimental de síndrome metabólico
4. Evaluar el efecto cardiovascular de la biotina en ratas modelo experimental de síndrome metabólico.

6.-MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Preparación de la solución de biotina inyectable y de fructosa 30% (p/V)

Para el tratamiento vía intraperitoneal de biotina (Sigma-Aldrich Química, S. L.) primeramente se preparó buffer fosfato salino (PBS) pH 7.4 siguiendo el protocolo de Sambrook y Russell (Sambrook y Russell, 2001). Posteriormente, se pesó la cantidad de biotina necesaria para preparar solución a una concentración de 2 mg/ml de biotina en PBS y se disolvió poco a poco ajustando el pH a 7.4 de la solución PBS. Finalmente, ambas soluciones PBS (vehículo) y biotina (2 mg/ml en PBS) se esterilizaron mediante filtración por membrana en campana estéril. Tanto el PBS como la solución de biotina se prepararon cada semana. La solución de fructosa al 30% (p/V) se preparó cada tercer día pesando 300 g de fructosa y disolviéndola en 1000 ml de agua. Una parte de la fructosa fue obtenida de Meyer Química Suastes y otra parte fue obtenida de un distribuidor independiente.

6.2. Animales experimentales, inducción de síndrome metabólico y tratamientos

Los experimentos se realizaron en 24 ratas macho jóvenes (5 semanas de edad) pertenecientes a la cepa Wistar. Los animales fueron manipulados siguiendo los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación de México, para el uso y cuidado de animales de laboratorio. Durante todo el periodo experimental, los animales se mantuvieron en condiciones medioambientales estándar (temperatura: 25 ± 2 °C, ciclo de luz/oscuridad: 12-12 h). Al nacer, los animales fueron seleccionados y sobrealimentados por reducción de camada durante el periodo de lactancia. Después del

periodo de lactancia, los animales se sometieron durante 14 días a un periodo de adaptación. Todos los animales fueron alimentados con dieta estándar para roedores y agua *ad libitum*. Después del periodo de adaptación las ratas fueron divididas al azar en cuatro grupos (control, biotina, fructosa y fructosa-biotina) de 6 individuos cada uno y se alojaron 2 ratas por jaula. Durante 14 semanas que duró el periodo experimental el grupo control y el grupo biotina fueron alimentados con dieta estándar y agua *ad libitum*. Asimismo, el grupo fructosa y el grupo fructosa-biotina fueron alimentados durante todo el periodo experimental con dieta estándar y fructosa al 30% en el agua de beber *ad libitum*. Durante la semana 11, 12, 13 y 14, las ratas del grupo biotina y del grupo fructosa-biotina fueron tratadas diariamente con dosis farmacológicas de biotina (2 mg/kg de peso corporal). De la misma manera, las ratas del grupo control y del grupo fructosa fueron tratadas diariamente con vehículo (PBS).

6.3. Prueba de tolerancia intraperitoneal a la glucosa

Para determinar la homeostasis de glucosa *in vivo*, se realizó la prueba de tolerancia a la glucosa. Los animales se dejaron en ayuno durante 16 horas tres días antes de comenzar el sacrificio (se retiró el alimento y se sustituyó la solución de fructosa por agua) y posteriormente se les administró una carga de glucosa vía intraperitoneal (2 g/Kg de peso corporal). Se determinaron las concentraciones de glucosa con el glucómetro Accu-Chek Performa (ROCHE) en sangre de la vena caudal a los 0, 30, 60 y 120 minutos posteriores a la administración de glucosa.

6.4. Prueba de tolerancia intraperitoneal a la insulina

El análisis detallado de la homeostasis de glucosa *in vivo* debe incluir alguna medida de la resistencia a la insulina. En roedores la resistencia a la insulina generalmente se determina mediante la prueba de tolerancia a la insulina (Bowe *et al.*, 2014). La prueba de tolerancia a la insulina se realizó en animales alimentados para evitar hipoglucemia dos días antes del sacrificio de los animales. Se les administró vía

intraperitoneal 1UI/Kg de peso corporal de insulina regular humana (Humulin, Laboratorios Eli Lilly) a ratas con síndrome metabólico tratadas con biotina y PBS. Se determinaron las concentraciones de glucosa con el glucómetro Accu-Chek Performa (ROCHE) en sangre de la vena caudal a los 0, 30, 60 y 120 minutos posteriores a la administración de insulina.

6.5. Medición de la presión arterial

La presión sanguínea se midió de la arteria caudal de la cola mediante un método pletismográfico no invasivo. Dos semanas antes de comenzar el tratamiento con biotina y PBS las ratas fueron precondicionadas para medirles la presión sanguínea de la cola. Previo a medir la presión sanguínea, los animales se introdujeron en una incubadora durante 30 minutos para dilatar la arteria de la cola y posteriormente se midió la presión sanguínea sistólica con un sistema no invasivo CODA monitor (Kent Scientific Co). Se registraron seis lecturas seguidas de presión arterial sistólica de cada rata, eliminando la más alta y la más baja para promediar las cuatro restantes.

6.6. Medición de colesterol y triacilglicéridos en sangre

Al final de los tratamientos con biotina (2 mg/Kg de peso corporal) y vehículo (PBS), las ratas modelo de síndrome metabólico y ratas controles se dejaron en ayuno durante 16 horas. Previo al sacrificio de los animales se midieron las concentraciones de colesterol y triacilglicéridos con el medidor multiparametros Accutrend Plus (ROCHE) de muestras de sangre de la vena caudal.

6.7. Recolección de las muestras

Previo al sacrificio las ratas se dejaron en ayuno durante 16 horas y se anestesiaron vía intraperitoneal con pentobarbital sódico (55 mg/kg de peso corporal). Se

realizó una toracotomía y se obtuvieron muestras de sangre de la arteria aorta. La sangre se dejó a temperatura ambiente aproximadamente 30 minutos para permitir la formación del coagulo y posteriormente obtener el suero, el cual se almacenó a -80°C para posteriormente analizar colesterol LDL y HDL. Se aisló el lóbulo lateral izquierdo del hígado y se sumergió en solución salina para retirar la sangre. Posteriormente, se cortó una muestra transversalmente y se fijó en paraformaldehído 4% para realizar posteriormente las histologías pertinentes, la otra parte del lóbulo hepático se almacenó a -80°C hasta el momento de la determinación de triacilglicéridos hepáticos. Inmediatamente, se aisló la arteria aorta torácica y se limpió retirando el tejido adiposo para realizar los estudios de reactividad vascular.

6.8. Estudios de reactividad vascular

Los estudios de reactividad vascular se realizaron en anillos aórticos con y sin endotelio para lo cual, la aorta torácica descendente se cortó en dos anillos de 3-4 mm de longitud, un anillo se dejó intacto y al otro anillo se le retiró el endotelio frotando suavemente la superficie interna del vaso con un estilete metálico de superficie rugosa. Ambos anillos se colocaron en ganchos de nicrom y se trasladaron a las cámaras para tejido aislado que contenían solución Krebs-Henseleit (composición en mM: NaCl: 118; KCl: 4.7; KH_2PO_4 : 1.2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 1.2; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 2.5; NaHCO_3 : 20; glucosa: 11.7 y EDTA: 0.026). Durante el experimento los tejidos se mantuvieron a 37°C con burbujeo constante de carbógeno (95% O_2 y 5% CO_2) en la solución. Con ayuda del gancho de nicrom, cada anillo arterial se fijó a una parte de la cámara y a un transductor de fuerza Grass FT03 (Astro-Med, Inc., West Warwick, RI, EE.UU.), el cual estaba conectado a un sistema de adquisición de datos MP100 (Biopac Systems Inc., Santa Barbara, California, EE.UU).

Una vez montados los anillos se mantuvo una tensión inicial de 3 g (previamente determinada para optimizar la respuesta del tejido) y se permitió un periodo de estabilización de 30 minutos. Antes de comenzar con el estudio de vasoconstricción se sensibilizó el tejido a responder a un estímulo externo mediante un proceso de

sensibilización. Dicho proceso consistió en inducir tres veces la contracción de los anillos aórticos con fenilefrina (1×10^{-6} M) en intervalos de 30 minutos lavando al final de cada sensibilización con solución Krebs. Para comprobar la presencia de anillos con endotelio, antes de lavar en la tercera sensibilización se indujo la relajación dependiente de endotelio con carbacol (1×10^{-6} M). El carbacol es un agonista de los receptores muscarínicos M3, cuya activación en las células endoteliales conduce a la producción de óxido nítrico, causando vasorrelajación en los anillos aórticos con endotelio funcional (Hardman *et al.*, 2001). La relajación mayor al 60% indicó la presencia de células endoteliales intactas. Después de las tres sensibilizaciones y la comprobación de la presencia de anillos con endotelio, se dejaron estabilizar los tejidos durante 30 minutos y una vez que la tensión de los tejidos llegó a cifras basales estables, se realizaron curvas concentración respuesta a fenilefrina (1×10^{-9} - 1×10^{-5} M).

6.9. Cuantificación de colesterol LDL y HDL

Las concentraciones de colesterol LDL y HDL en suero se determinaron mediante un método enzimático-colorimétrico utilizando el kits comerciales de Spinreact (Sant Esteve de Bas, Spain) siguiendo las instrucciones del fabricante.

6.10. Contenido de triacilglicéridos hepáticos

La concentración de triacilglicéridos hepáticos se determinó siguiendo el protocolo reportado por Aguilera-Méndez y Fernández-Mejía en 2012 (Aguilera-Méndez y Fernández-Mejía, 2012). De las muestras de lóbulo lateral izquierdo almacenadas a -80 °C se pesaron aproximadamente 100 mg de tejido por muestra y se registraron los pesos. Después, a cada muestra se le agrego 1 ml de solución PBS que contenía Triton-X100 al 5% y se homogenizaron utilizando Polytron. Posteriormente, para solubilizar los triacilglicéridos las muestras se colocaron 2 veces en baño de agua a 55 °C durante 5 minutos dejando enfriar a temperatura ambiente después de cada baño de agua. Finalmente, las muestras se centrifugaron a 14,000 rpm durante 15 minutos y se separó

el sobrenadante para posteriormente determinar los triacilglicéridos. Para determinar la concentración de triacilglicéridos del sobrenadante, primeramente se diluyó 1:3 con agua destilada y de esta dilución se cuantificaron los triacilglicéridos mediante espectrofotometría. Los triacilglicéridos hepáticos se determinaron mediante un ensayo enzimático-colorimétrico utilizando el kit comercial de Spinreact (Sant Esteve de Bas, Spain) y siguiendo las instrucciones del fabricante.

6.11. Tinción histopatológica

El rojo oleoso es un lisocromo, es decir un colorante soluble en grasas neutras que permite detectar lípidos hepáticos neutros (principalmente triacilglicéridos) en secciones de tejido hepático congeladas (Zemanova *et al.*, 2009; Patel *et al.*, 2015). Para teñir con rojo oleoso (Sigma-Aldrich Química, S. L.), una vez fijado el tejido hepático se retiró el fijador y se embebió en sacarosa 30% durante toda la noche. Posteriormente, se obtuvieron cortes (6 μm) transversales del lóbulo lateral izquierdo con el criostato (Microm). Una vez secos los cortes se sumergieron en agua destilada durante 3 minutos y se tiñeron durante 30 minutos con solución de trabajo de rojo oleoso (se diluyó 3:2 un stock 0.5% de rojo oleoso en isopropanol previamente preparado). Posteriormente, se lavaron durante 3 minutos y se tiñeron los núcleos con Hematoxilina de Harris (Sigma-Aldrich Química, S. L.) durante 15 segundos. Finalmente, se lavó durante 3 minutos y se montaron permanentemente los tejidos en glicerol 10% en PBS (Koopman *et al.*, 2001). Las microfotografías se tomaron con ayuda de una cámara adaptada a un microscopio óptico (LEICA DM3000) con aumento de 40x.

6.12. Análisis estadístico

Los datos experimentales se analizaron estadísticamente con el programa SigmaPlot® 11.0 mediante ANOVA seguida de una prueba Tukey de múltiple rango. En las gráficas se muestran las medias \pm el error estándar y los símbolos que indican las medias que difieren significativamente ($P < 0.05$).

7.-RESULTADOS

7.1. Parámetros fisiológicos

Con la finalidad de determinar que los animales se encontraban en condiciones fisiológicas normales se midió el consumo de agua y alimento una vez a la semana durante las 14 semanas del periodo experimental. En la figura 14 se muestra el efecto fisiológico en las ratas producido por el consumo de fructosa al 30% en el agua de beber. Como se observa en la figura 14A a una semana de suplementación con fructosa, las ratas disminuyeron su consumo de agua aproximadamente 50% comparado con las ratas control. En promedio, el agua consumida por las ratas suplementadas con fructosa durante las 14 semanas del periodo experimental fue 48% menor que el control.

En cuanto al consumo de alimento, a la semana de suplementación con fructosa las ratas consumieron aproximadamente 21% menos alimento que las ratas control, estimándose en promedio durante las 14 semanas una disminución aproximada del 40% comparada con el control (Fig. 14B). Por otra parte, no se observó diferencia en el peso corporal de las ratas alimentadas con fructosa con respecto al control (Fig. 14C). Finalmente, durante las últimas cuatro semanas del periodo experimental, es decir durante el tratamiento con biotina no se observaron efectos adversos ni diferencias significativas en el consumo de agua, alimento y en el peso corporal de las ratas tratadas con biotina con respecto a las ratas control (Fig. 14).

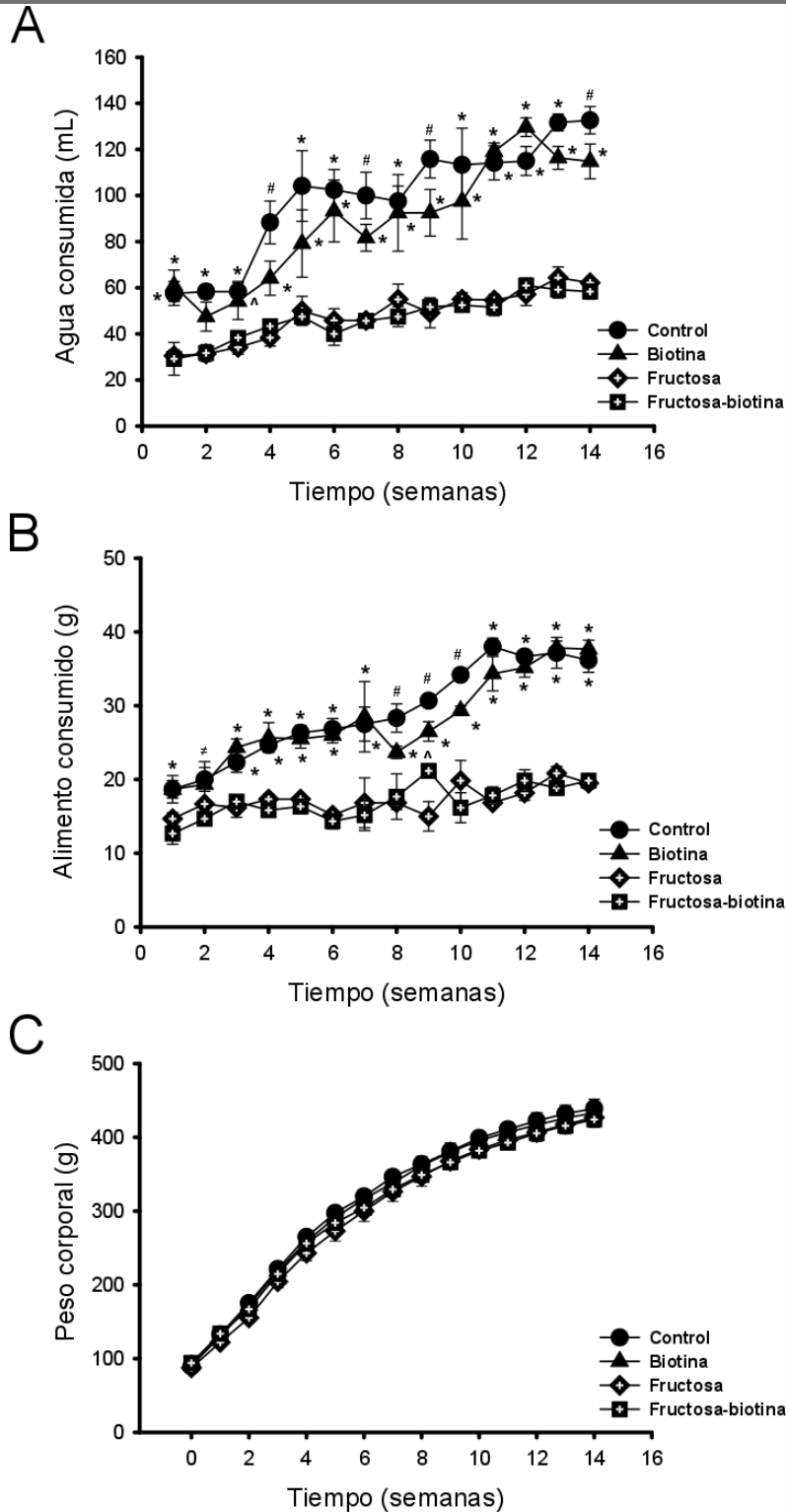


Figura 14. Efectos del consumo de fructosa y del tratamiento con biotina sobre algunas variables fisiológicas. Agua (A) y alimento (B) consumidos por las ratas alimentadas con fructosa 30% (p/V) en el agua de beber y tratadas con biotina. Asimismo se muestra el peso corporal de las mismas (C). Los valores representan las medias ($n = 6$) \pm el error estándar. * $P < 0.05$ vs. fructosa, fructosa-biotina. # $P < 0.05$ vs. biotina, fructosa, fructosa-biotina. ^ $P < 0.05$ vs. fructosa. ANOVA seguida de una prueba de Tukey.

7.2. Efecto de la biotina sobre la tolerancia a la glucosa

Después de las cuatro semanas de tratamiento con biotina, los niveles de glucosa en sangre en los grupos tratados con biotina revelaron diferencias estadísticamente significativas con respecto de los grupos control y fructosa. El consumo crónico de fructosa durante 14 semanas incrementó significativamente el promedio de los niveles de glucosa en sangre en ayuno del grupo fructosa (Fig. 15A). Por otro lado, las concentraciones de glucosa en sangre en ayuno de los grupos biotina y fructosa-biotina fueron similares y ambos mostraron disminución significativa ($P < 0.05$) de la glucosa en ayuno con respecto del control y del grupo fructosa (Fig. 15A). En consecuencia, el tratamiento con biotina durante las últimas cuatro semanas del periodo experimental disminuyó significativamente los niveles de glucosa en sangre en ayuno en las ratas alimentadas con fructosa que presentaban ligera hiperglucemia. Además, el promedio de los niveles de glucosa en ayuno del grupo fructosa-biotina fue similar al promedio del grupo biotina, lo que muestra que la biotina redujo en este modelo experimental la glucosa en ayuno a niveles considerados normales en ratas.

Acorde con lo anterior, el consumo crónico de fructosa durante 14 semanas produjo intolerancia a la glucosa en las ratas del grupo fructosa. Durante la prueba de tolerancia a la glucosa, los picos de glucosa en sangre del grupo fructosa a los 30 y 60 minutos posteriores a la carga de glucosa (2 g/Kg de peso corporal) fueron significativamente mayores comparados con el control (Fig. 15B). Por otra parte, los picos de glucosa de las ratas del grupo biotina y del grupo fructosa-biotina a los 30, 60 y 120 minutos en respuesta a la carga de glucosa fueron significativamente menores comparados con los picos de glucosa del grupo fructosa (Fig. 15B). En resumen el tratamiento con biotina durante las últimas cuatro semanas del periodo experimental mejoró la tolerancia a la glucosa en las ratas alimentadas con fructosa durante 14 semanas.

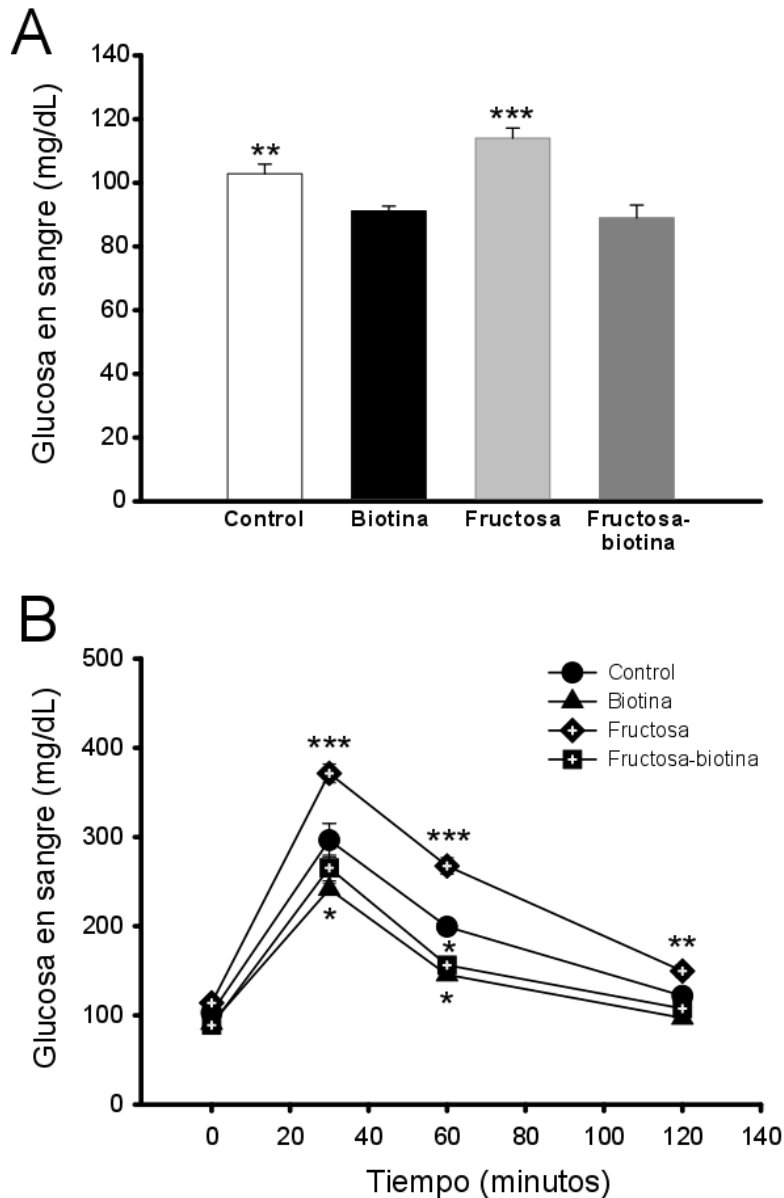


Figura 15. Efecto del tratamiento con biotina sobre los niveles de glucosa en ayuno y la tolerancia a la glucosa en ratas con suplementación con fructosa al 30% como agua de beber durante 14 semanas. Niveles de glucosa en sangre en ayuno (A) y curvas de glucosa en sangre después de una carga de glucosa intraperitoneal en ratas alimentadas con fructosa y tratadas con biotina (B). Los valores representan las medias ($n = 6$) de la concentración de glucosa en sangre \pm el error estándar. * $P < 0.05$ vs. control. ** $P < 0.05$ vs. biotina, fructosa-biotina. *** $P < 0.05$ vs. control, biotina, fructosa-biotina. ANOVA seguida de una prueba de Tukey.

El análisis detallado de la homeostasis de glucosa *in vivo* debe incluir alguna medida de resistencia a la insulina. Por esta razón, se evaluó también el efecto de la biotina en la resistencia a la insulina utilizando la prueba de tolerancia a la insulina.

Dos días después de realizar la prueba de tolerancia a la glucosa se midieron los niveles de glucosa en sangre en las ratas y posteriormente se les administró vía intraperitoneal insulina (1 UI/Kg). Aunque la insulina disminuyó los niveles de glucosa en sangre de las ratas de todos los grupos, la magnitud del efecto de la insulina sobre la glucosa en sangre en los diferentes tratamientos fue diferente. Como se muestra en la figura 16 los picos de glucosa del grupo fructosa no se redujeron a nivel del grupo control, al contrario fueron mayores a los 60 y 120 minutos posteriores a la administración de insulina comparados con el control y los grupos tratados con biotina. Por otra parte, el grupo fructosa-biotina mostró la mayor reducción de los niveles de glucosa después de la administración del bolo de insulina, dicha reducción persistió hasta el final de la prueba y fue estadísticamente significativa comparada con el grupo fructosa (Fig. 16). En síntesis, el consumo crónico de fructosa durante 14 semanas promovió la resistencia a la insulina en las ratas, mientras que el tratamiento con biotina durante las últimas 4 semanas del periodo experimental disminuyó la resistencia a la insulina.

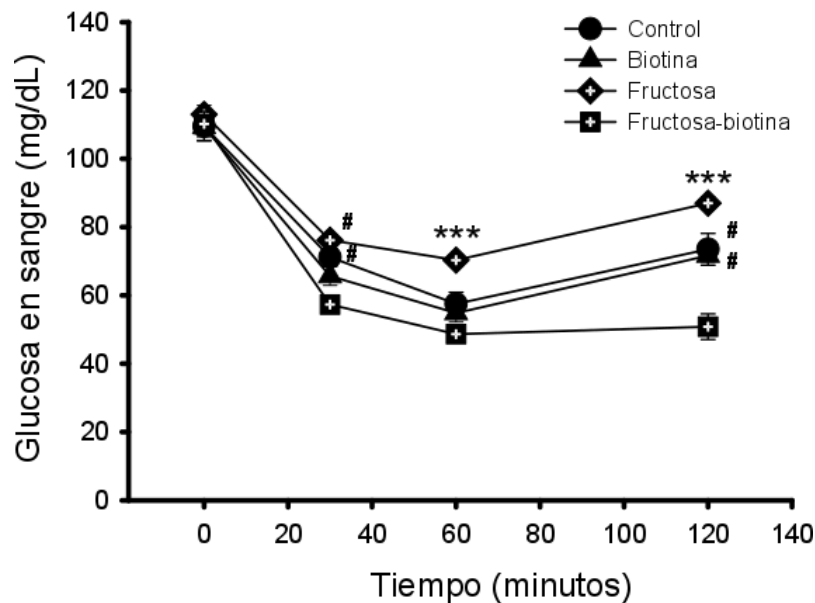


Figura 16. Efecto del tratamiento con biotina sobre la sensibilidad a la insulina en ratas con suplementación con fructosa al 30% como agua de beber durante 14 semanas. Los valores representan la concentración de glucosa en sangre posterior a la administración exógena de insulina (1 UI/Kg de peso corporal). Los datos representan la media ($n = 6$) \pm el error estándar. # $P < 0.05$ vs. fructosa-biotina. *** $P < 0.05$ vs. control, biotina, fructosa-biotina. ANOVA seguida de una prueba de Tukey.

7.3. Efecto de la biotina sobre las dislipidemias

La figura 17 muestra los niveles de triacilglicéridos, colesterol total, colesterol LDL y colesterol HDL al final del tratamiento con biotina en las ratas alimentadas con fructosa. Con respecto a los niveles de triacilglicéridos, el promedio de los niveles de éstos en las ratas del grupo biotina fue menor que el control. Por el contrario, el promedio de los niveles de triacilglicéridos del grupo fructosa fue mayor que el control incrementando más del 20%. A su vez, el promedio de los niveles de triacilglicéridos del grupo fructosa-biotina resultó 15% menor comparado con el grupo fructosa (Fig. 17A).

En relación con los niveles de colesterol, el promedio del grupo biotina no mostró diferencias significativas con respecto al control. Sin embargo, el promedio de las concentraciones de colesterol del grupo fructosa-biotina se redujo a nivel del grupo biotina siendo menor que el grupo fructosa (Fig. 17B).

Por lo que se refiere a los niveles de colesterol LDL no se observaron cambios en los promedios de cada uno de los tratamientos (Fig. 17C). Asimismo, no hubo diferencias en los niveles de colesterol HDL del grupo control, biotina y fructosa. Sin embargo, el promedio de los niveles de colesterol HDL del grupo fructosa-biotina fue mayor con respecto del control y del grupo fructosa (Fig. 17D).

En resumen, el tratamiento con biotina durante las últimas cuatro semanas del periodo experimental disminuyó significativamente los niveles de triacilglicéridos en sangre en ratas suplementadas con fructosa y sin suplementar. Asimismo, el tratamiento con biotina redujo poco los niveles de colesterol en las ratas tratadas con fructosa. Por último, el tratamiento con biotina no mostró efecto en los niveles de colesterol LDL, pero incrementó los niveles de colesterol HDL en las ratas suplementadas con fructosa.

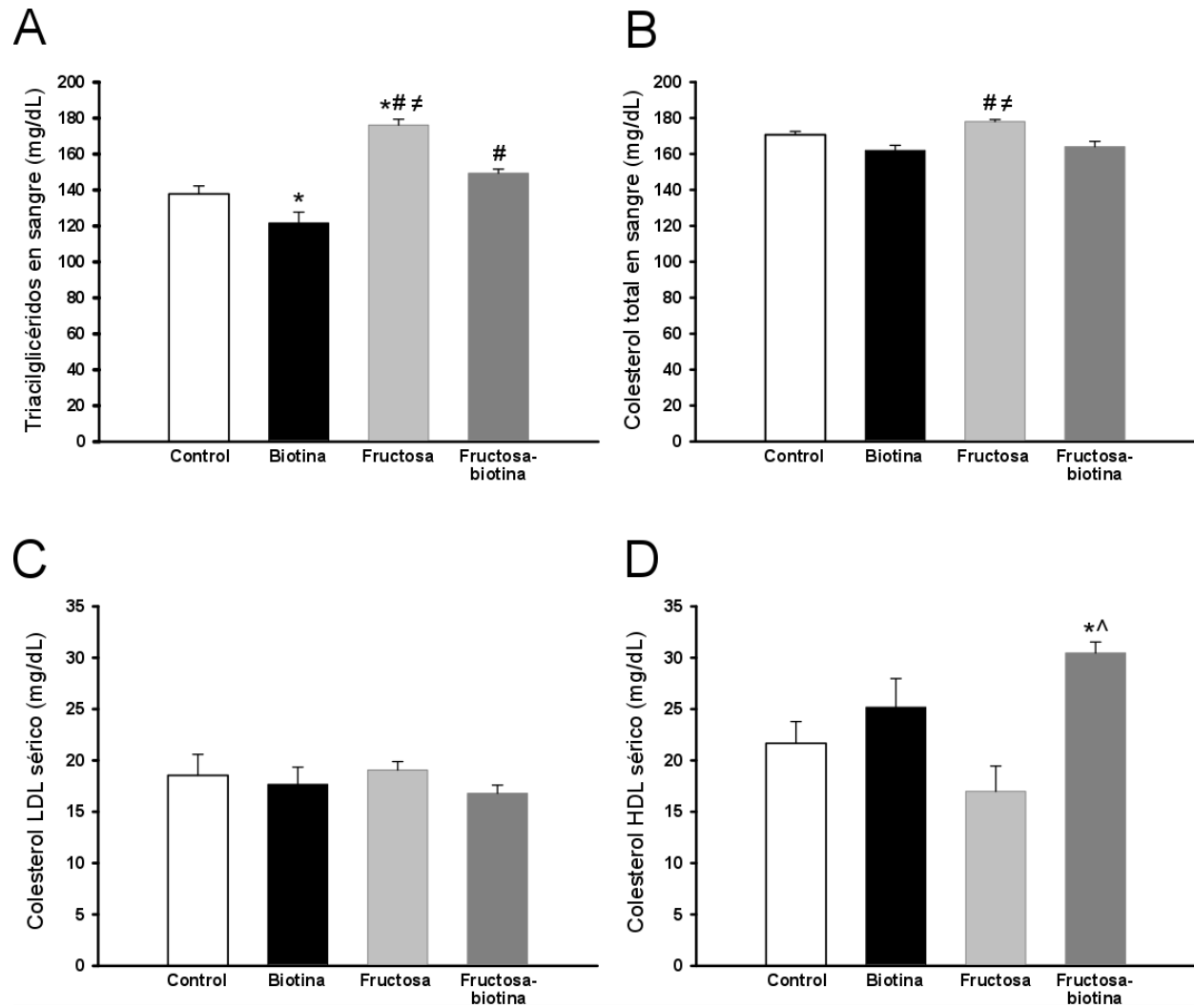


Figura 17. Efecto del tratamiento con biotina sobre las dislipidemias en ratas con suplementación con fructosa al 30% como agua de beber durante 14 semanas. Concentraciones de triacilglicéridos (A), colesterol total (B), colesterol LDL (C) y colesterol HDL (D) al final del tratamiento con biotina. Los valores representan la media ($n = 6$) \pm el error estándar. * $P < 0.05$ vs. control, # $P < 0.05$ vs. biotina, ^ $P < 0.05$ vs. fructosa y $^{\#}P < 0.05$ vs. fructosa-biotina. ANOVA seguida de una prueba de Tukey.

7.4. Efecto de la biotina en el hígado graso no alcohólico

Para explorar el efecto de la biotina en la NAFLD se cuantificó la concentración de triacilglicéridos en el hígado. No hubo diferencia en la concentración de triacilglicéridos hepáticos en el grupo biotina con respecto del control. Por otra parte, se encontró un incremento del 93% en el promedio de la concentración de triacilglicéridos del grupo fructosa en comparación con el control. Así, el tratamiento con fructosa durante 14 semanas incrementó casi el doble la concentración de triacilglicéridos hepáticos. Por el contrario, el tratamiento con biotina durante las últimas 4 semanas del periodo experimental disminuyó un 62% la concentración de triacilglicéridos hepáticos con respecto al grupo fructosa. De esta manera, el tratamiento con biotina revirtió el efecto producido por el consumo de fructosa, reduciendo los niveles de triacilglicéridos hepáticos a niveles incluso ligeramente menores que el control del grupo biotina (Fig. 18).

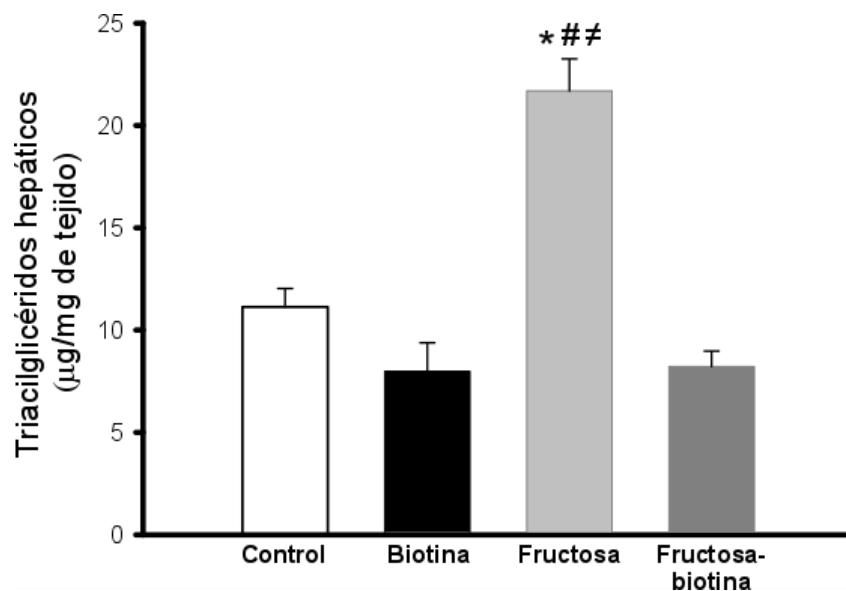


Figura 18. Efecto del tratamiento con biotina en la concentración de triacilglicéridos hepáticos en ratas con suplementación con fructosa al 30% como agua de beber durante 14 semanas. Los valores representan la media ($n = 6$) \pm el error estándar. $*P < 0.05$ vs. control, $\#P < 0.05$ vs. biotina, y $^{\neq}P < 0.05$ vs. fructosa-biotina. ANOVA seguida de una prueba de Tukey.

Posteriormente, se analizó histológicamente el efecto de la biotina en el hígado graso no alcohólico mediante la tinción. Posteriormente, se analizó histológicamente el efecto de la biotina en el hígado graso no alcohólico mediante la tinción con rojo oleoso. Como se muestra en la figura 19 la tinción indicó una mayor acumulación de vesículas de triacilglicéridos en el citosol de los hepatocitos de las ratas alimentadas con fructosa durante 14 semanas comparadas con las ratas control. En cambio, el tratamiento con biotina durante las últimas 4 semanas de alimentación con fructosa redujo el número de vacuolas de triacilglicéridos comparadas con el grupo fructosa.

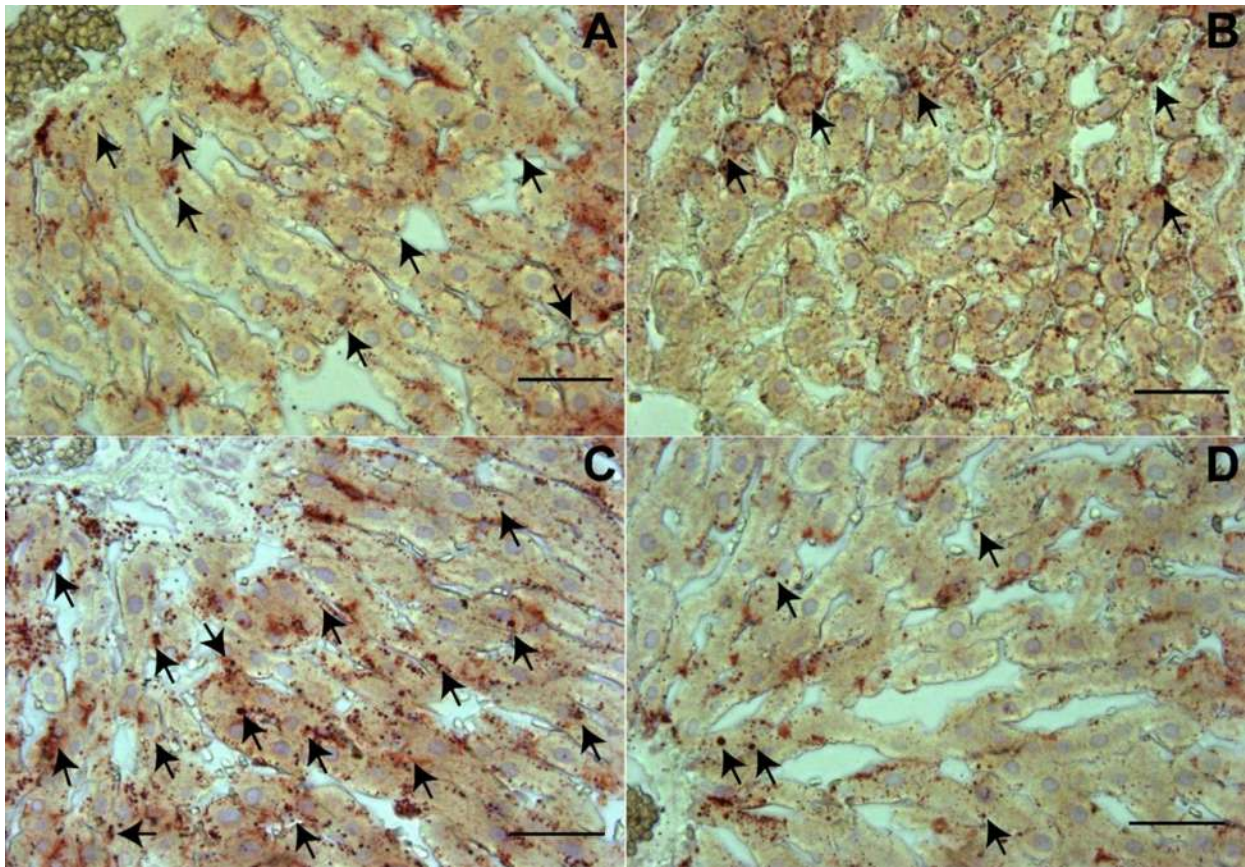


Figura 19. Secciones hepáticas de ratas alimentadas con fructosa y tratadas con biotina teñidas con rojo oleoso. Las vesículas de color rojo intenso indicadas con flechas señalan la presencia de lípidos neutros, principalmente triacilglicéridos en el citosol de los hepatocitos. (A) Control, (B) Biotina, (C) Fructosa y (D) Fructosa-biotina. Imágenes representativas de $n = 6$. Barra de escala: $50 \mu\text{m}$.

7.5. Efecto cardiovascular de la biotina en ratas alimentadas con fructosa

Con la finalidad de evaluar el efecto cardiovascular del tratamiento con biotina en las ratas alimentadas con fructosa, se midió la presión arterial sistólica durante el tratamiento con biotina y se analizó la contracción vascular *in vitro* en anillos de aorta de todas las ratas de los 4 grupos al final del tratamiento con biotina.

Previo al tratamiento con biotina se midió la presión arterial sistólica en las ratas precondicionadas para medirles la presión arterial de la cola. Se observó un incremento de 20 mmHg en la PAS de las ratas tratadas con fructosa durante 10 semanas comparado con la PAS promedio del grupo control. Posteriormente, a las 2 semanas de tratamiento con biotina la PAS promedio del grupo fructosa-biotina disminuyó y se mantuvo por debajo de la PAS del grupo fructosa, la cual fue mayor hasta el final del periodo experimental (Fig. 20).

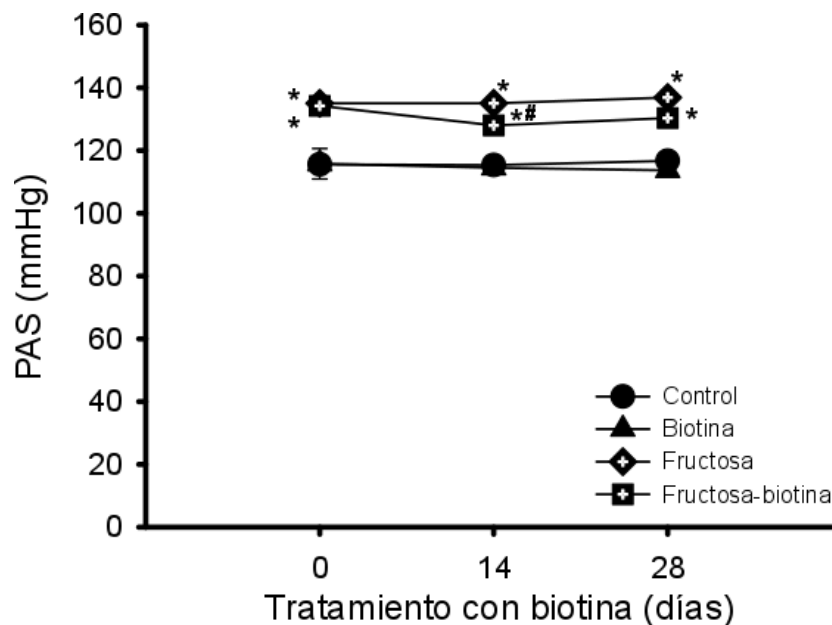


Figura 20. Efecto del tratamiento con biotina sobre la presión arterial sistólica en ratas con suplementación con fructosa al 30% como agua de beber. Los valores representan la media ($n = 6$) \pm el error estándar. * $P < 0.05$ vs. control, biotina. # $P < 0.05$ vs. fructosa-biotina. ANOVA seguida de una prueba de Tukey.

Para evaluar el efecto de la biotina en la contracción vascular *in vitro* de las ratas alimentadas con fructosa se realizaron curvas concentración-respuesta a fenilefrina (agonista selectivo por los receptores α_1) en anillos de aorta con y sin endotelio de ratas tratadas con biotina durante las últimas 4 semanas del periodo experimental. La funcionalidad del endotelio se ensayó agregando carbacol (1×10^{-6} M) en los anillos precontraídos con fenilefrina (1×10^{-6} M).

En la figura 21A se muestra el efecto del tratamiento con biotina sobre la respuesta contráctil a fenilefrina en aorta con endotelio de ratas suplementadas con fructosa durante 14 semanas. La contracción inducida por la fenilefrina en los anillos de aorta con endotelio de las ratas tratadas con fructosa fue mayor comparado con el control. Por otra parte, la contracción en respuesta a fenilefrina en los anillos de aorta con endotelio de las ratas suplementadas con fructosa y tratadas con biotina fue menor que el grupo fructosa. En resumen el tratamiento con biotina en las ratas alimentadas con fructosa revirtió a niveles del control la contracción de los anillos de aorta con endotelio en respuesta a fenilefrina.

De manera semejante, la respuesta contráctil a la fenilefrina en los anillos de aorta sin endotelio de las ratas alimentadas con fructosa fue mayor comparada con el control. Finalmente, el tratamiento con biotina redujo la contracción en respuesta a fenilefrina en los anillos de aorta sin endotelio de las ratas suplementadas con fructosa (Fig. 21B). De esta forma, al igual que en los anillos con endotelio, el tratamiento con biotina restableció la respuesta contráctil a fenilefrina a niveles del control.

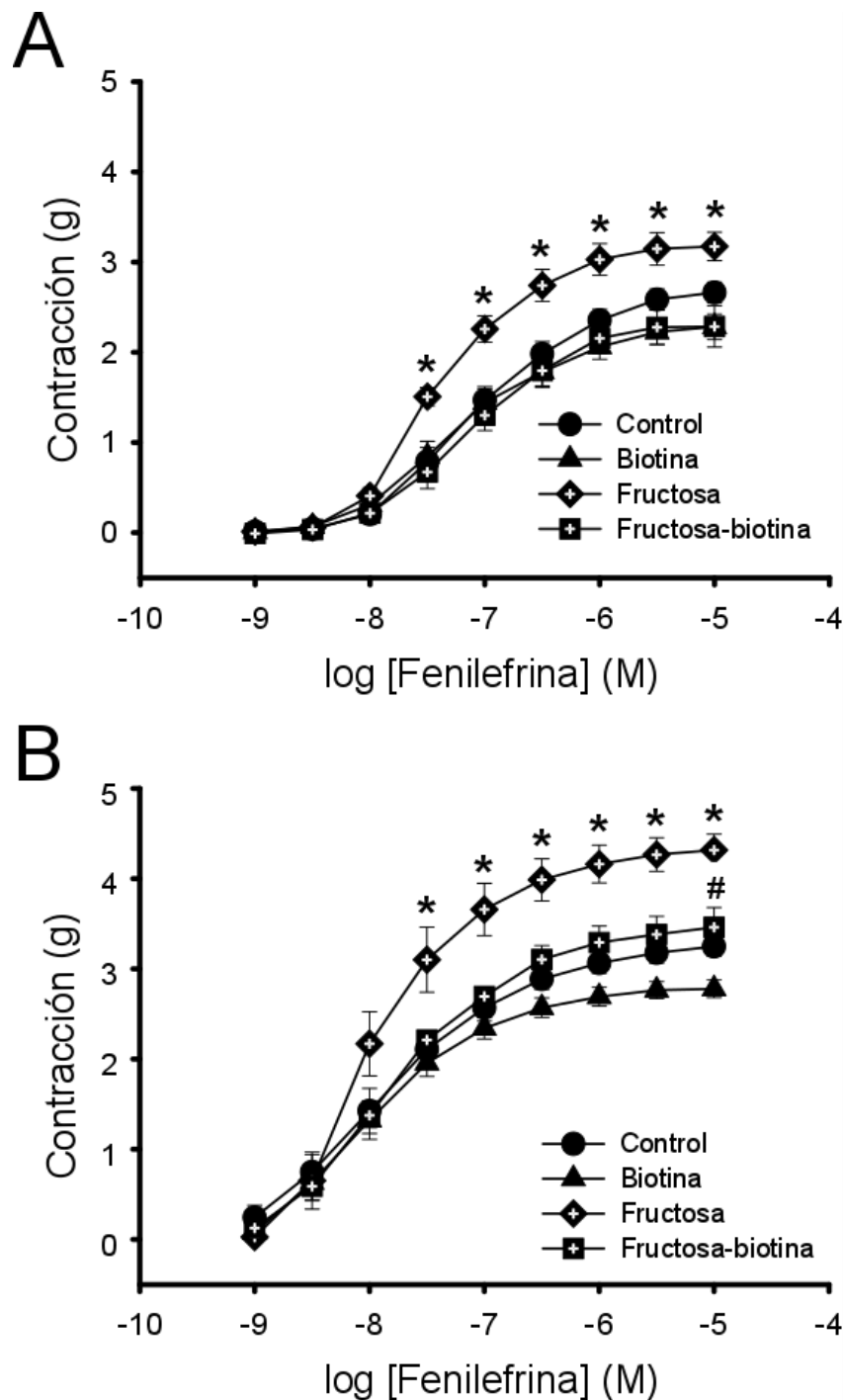


Figura 21. Efecto del tratamiento con biotina sobre la contracción vascular *in vitro* en aorta torácica de ratas con suplementación con fructosa al 30% como agua de beber. Curva de concentración-respuesta a fenilefrina en anillos de aorta con endotelio (A) y sin endotelio (B) de ratas alimentadas con fructosa durante 14 semanas y tratadas con biotina durante las últimas 4 semanas de la alimentación con fructosa. Los valores representan la media ($n = 6$) \pm error estándar. * $P < 0.05$ vs. control, biotina y fructosa-biotina. # $P < 0.05$ vs. biotina. ANOVA seguida de una prueba de Tukey.

8.-DISCUSIÓN

El consumo elevado de fructosa añadida a los alimentos procesados y bebidas dulces (jugos, refrescos, etc.) está fuertemente relacionado con el desarrollo de síndrome metabólico (Bantle, 2009; Kelishadi *et al.*, 2014; Lozano *et al.*, 2016). Diversos estudios en roedores han evidenciado que la suplementación de fructosa en el agua de beber promueve la aparición de obesidad (Zubiría *et al.*, 2013; Mamikutty *et al.*, 2014), resistencia a la insulina (Mahmoud y Elshazly, 2014; Ibrahim *et al.*, 2015), tolerancia a la glucosa alterada o hiperglucemia (Mahmoud y Elshazly, 2014; Ibrahim *et al.*, 2015), hipertrigliceridemia (Atanasovska *et al.*, 2009; Mahmoud y Elshazly, 2014; Ibrahim *et al.*, 2015), reducción del colesterol HDL (Atanasovska *et al.*, 2009; Ibrahim *et al.*, 2015), presión arterial elevada (Atanasovska *et al.*, 2009; Mahmoud y Elshazly, 2014) e hígado graso no alcohólico (Lírio *et al.*, 2015). En el presente estudio se observó que la suplementación con fructosa durante 14 semanas incrementó los niveles de glucosa, colesterol total y triacilglicéridos en sangre. Asimismo, redujo los niveles de colesterol HDL y disminuyó la tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina. A diferencia de algunos estudios donde se reportó incremento de peso corporal y en consonancia con algunos otros (Atanasovska *et al.*, 2009; Francisqueti *et al.*, 2017) no observamos diferencias significativas en el peso corporal de las ratas alimentadas con fructosa comparadas con las ratas control (Fig. 14C). Cabe mencionar que consistente con estudios previos (Mamikutty *et al.*, 2014), se observó reducción significativa en el consumo de agua (Fig. 14A) y alimento (Fig. 14B) en las ratas alimentadas con fructosa.

En conjunto, los parámetros fisiológicos de las ratas alimentadas con fructosa reportados en el presente estudio, refuerzan la idea de que la dieta alta en fructosa estimula el centro de la saciedad en ratas disminuyendo el consumo de alimento (Mamikutty *et al.*, 2014). Asimismo, se ha reportado que la ingesta de fructosa puede suprimir la ingesta de alimentos sólidos a niveles necesarios para mantener el equilibrio energético (Francisqueti *et al.*, 2017).

Respecto al efecto de la biotina sobre el síndrome metabólico, los resultados obtenidos muestran que la administración de biotina a dosis farmacológica (2 mg/Kg de

peso corporal/día) durante las semanas 11, 12, 13 y 14 del periodo experimental atenuó el síndrome metabólico en ratas alimentadas crónicamente con fructosa. Se observó que la severidad de la intolerancia a la glucosa, la resistencia a la insulina, las dislipidemias, la esteatosis hepática y la hipertensión arterial fueron disminuidas por el tratamiento con biotina. Asimismo, la respuesta contráctil a fenilefrina en las ratas del grupo fructosa-biotina fue reducida por el tratamiento con biotina. No se observaron diferencias significativas en los parámetros fisiológicos de los grupos tratados con biotina respecto a los controles (Fig. 14).

La intolerancia a la glucosa es uno de los principales componentes del síndrome metabólico, resulta del desbalance en el control glucémico y se relaciona con la progresión de la diabetes tipo 2 (Morakinyo *et al.*, 2013). Los cambios en los niveles de glucosa en sangre después de la administración de un bolo de glucosa durante la prueba de tolerancia a la glucosa proveen información sobre la captación de glucosa por tejidos periféricos y la función endocrina del páncreas (Tschritter, 2003; Morakinyo *et al.*, 2013). Una respuesta mayor en los niveles de glucosa comparada con una normal durante la prueba de tolerancia a la glucosa es un marcador de función pancreática reducida o de resistencia a la insulina (Ralston, 2002; Morakinyo *et al.*, 2013). La suplementación con fructosa durante 14 semanas incrementó la glucosa en sangre en ayuno de las ratas del grupo fructosa y disminuyó la tolerancia a la glucosa. Por el contrario, el tratamiento con biotina redujo significativamente los niveles de glucosa en ayuno y mejoró la tolerancia a la glucosa en las ratas alimentadas con fructosa (Fig. 15). Estos resultados son apoyados por estudios previos realizados en ratas (Zhang *et al.*, 1997; Sugita *et al.*, 2008; Aldahmash *et al.*, 2015), ratones (Reddi *et al.*, 1988) y en humanos (Coggeshall *et al.*, 1985; Maebashi *et al.*, 1993) que mostraron también que la biotina reduce la glucosa en ayuno y que mejora la tolerancia a la glucosa (Zhang *et al.*, 1996; Maebashi *et al.*, 1993). Este efecto de la biotina a dosis farmacológica se relaciona con la actividad incrementada de la glucocinasa (Zhang *et al.*, 1997) y la inhibición de la ruta gluconeogénica mediante un mecanismo independiente de la señal de insulina (Sugita *et al.*, 2008). Previamente se ha reportado en ratas diabéticas por estreptozotocina que el tratamiento con biotina incrementa la expresión de la glucocinasa en el hígado (Zhang *et al.*, 1997; Sugita *et al.*,

2008) y en el páncreas (Zhang *et al.*, 1997). La glucocinasa es una enzima clave en el catabolismo de la glucosa. A nivel hepático y pancreático actúa como un “sensor” de glucosa involucrado en la inhibición de la producción de glucosa en el hígado y la secreción de insulina en el páncreas. Por otra parte, la administración de biotina a dosis farmacológica inhibe la expresión de la fosfoenolpiruvato carboxicinas y la glucosa-6-fosfatasa, ambas enzimas involucradas en la ruta gluconeogénica (Sugita *et al.*, 2008).

En estado postprandial el incremento de glucosa en sangre estimula la secreción pancreática de insulina, la cual promueve la entrada, metabolismo y almacenamiento de glucosa en tejidos periféricos. La insulina inhibe también la secreción pancreática de glucagón y reduce la concentración de ácidos grasos libres, contribuyendo a la reducción de la producción de glucosa en el hígado. Una forma fácil para determinar la sensibilidad a la insulina *in vivo* en roedores es la prueba de tolerancia a la insulina. En el presente estudio, comparados con las ratas control los niveles de glucosa en sangre de las ratas suplementadas con fructosa fueron mayores después de la administración de insulina. En cambio, los niveles de glucosa en sangre de las ratas suplementadas con fructosa tratadas con biotina se redujeron a niveles incluso por debajo del control (Fig. 16). Estos resultados son consistentes con estudios previos en humanos (Fernández-Mejía *et al.*, 2003) y en ratones (Reddi *et al.*, 1988) que evidenciaron también que la biotina reduce la resistencia a la insulina.

En conjunto, estos resultados contribuyen con reportes previos sugiriendo que la biotina a dosis farmacológicas promueve la sensibilidad a la insulina, aunque el mecanismo exacto no se conoce. Sin embargo, este efecto de la biotina podría ser consecuencia de la modificación del metabolismo de lípidos producida por el tratamiento farmacológico con biotina. En otras palabras, el efecto hipotriglicéridémico de la biotina puede beneficiar de forma independiente la acción de la insulina. Además, se ha demostrado en estudios en roedores (Aguilera-Méndez y Fernández-Mejía, 2012) y en una línea celular L6 de músculo esquelético humano (Deshmukh *et al.*, 2010) que la suplementación con biotina incrementa los niveles de la proteína cinasa dependiente de AMP (AMPK) activa. Se sabe que AMPK activa puede fosforilar la serina⁷⁸⁹ en el sustrato del receptor de insulina de rata (serina⁷⁹⁴ en humano), dicha fosforilación regula

positivamente la fosforilación de tirosinas por el receptor de insulina y por lo tanto, la señal de insulina (Jakobsen *et al.*, 2001; Siddle, 2005; Sun y Liu, 2009).

Las dislipidemias son un componente característico del síndrome metabólico, comprenden principalmente niveles elevados de triacilglicéridos y niveles reducidos de HDL en sangre (Han y Lean, 2016). Se ha demostrado previamente en varios estudios que la ingesta crónica de fructosa promueve la lipogénesis de *ново* hepática y la síntesis de triacilglicéridos, incrementando tanto la acumulación de triacilglicéridos en el hígado así como la secreción triacilglicéridos en forma de VLDL (Lim *et al.*, 2010; Basaranoglu *et al.*, 2013). En este trabajo, la suplementación con fructosa durante 14 semanas incrementó 93% la concentración de triacilglicéridos en hígado, indicando aumento de la lipogénesis de *ново*. En consecuencia, fue evidente la acumulación de lípidos hepáticos determinada por la tinción de rojo oleoso en las ratas alimentadas con fructosa crónicamente (Fig. 19). Asimismo, la fructosa incrementó significativamente los niveles de triacilglicéridos en sangre. Por el contrario, el tratamiento con biotina redujo significativamente los niveles de triacilglicéridos en sangre (Fig. 17A). Igualmente, redujo a nivel del grupo control la concentración de triacilglicéridos hepáticos (Fig. 18), evitando su acumulación en el hígado y la posible progresión de la enfermedad de hígado graso no alcohólico (Fig. 19). Al igual que un estudio realizado en ratones normales (Aguilera-Méndez y Fernández-Mejía, 2012) estos resultados demuestran que el tratamiento farmacológico con biotina inhibe la lipogénesis de *ново* en el hígado.

El incremento de los triacilglicéridos en sangre es un factor constante en la dieta alta en fructosa que resulta de la sobreproducción de triacilglicéridos hepática combinada con su escasa eliminación de la circulación (Thirunavukkarasu *et al.*, 2004; Ferreira-de-Moura *et al.*, 2009; Mamikutty *et al.*, 2014). En este contexto, la reducción del colesterol HDL observada en las ratas alimentadas crónicamente con fructosa (Fig. 17D) fue consistente con los resultados reportados en estudios previos (Nandhini *et al.*, 2002; Thirunavukkarasu *et al.*, 2004; Bao *et al.*, 2016). Además, se cuantificaron los niveles de colesterol total y colesterol LDL en los diferentes tratamientos. Se observó incremento en los niveles de colesterol total en el grupo fructosa (Fig. 17B) pero no así en los niveles de colesterol LDL comparados con el control (Fig. 17C). Por otra parte, el tratamiento con

biotina no mostró efecto en los niveles de colesterol LDL (Fig. 17C), sin embargo redujo los niveles de colesterol total (Fig. 17B). En estudios previos realizados en ratas (Suchy y Wolf, 1986) y en humanos (Revilla-Monsalve *et al.*, 2006) no se observó efecto de la biotina en los niveles de colesterol total. Además, en este estudio la administración de biotina a dosis farmacológica incrementó significativamente los niveles de colesterol HDL en las ratas alimentadas con fructosa (Fig. 17D). Dicho incremento del colesterol HDL, puede estar relacionado con la eliminación de colesterol en sangre verificado mediante la reducción del colesterol total. Hasta el momento este efecto de la biotina a dosis farmacológica no se había reportado en estudios en roedores.

Aunque no se conoce completamente el mecanismo modulador de la biotina sobre la homeostasis de lípidos, este efecto de la biotina a concentración farmacológica se atribuye principalmente a la activación de la cinasa AMPK (Deshmukh *et al.*, 2010; Aguilera-Méndez y Fernández-Mejía, 2012). AMPK es un sensor energético que controla la homeostasis de la glucosa y lípidos en el hígado, inhibiendo enzimas clave a corto plazo y modificando su expresión génica a largo plazo (Viollet *et al.*, 2006). Previamente, se reportó que la administración de biotina a concentración farmacológica incrementa la actividad de AMPK en hígado mediante un mecanismo que involucra la activación de la GCs y el incremento de GMPc. La activación de AMPK inducida por la biotina resulta en la fosforilación inhibitoria de la acetil-CoA carboxilasa 1 y en la expresión reducida de la misma y de la sintasa de ácidos grasos, ambas enzimas relacionadas íntimamente con la velocidad de lipogénesis de *novo* (Aguilera-Méndez y Fernández-Mejía, 2012). La acetil-CoA carboxilasa 1 es imprescindible para la conversión del acetil-CoA a malonil-CoA, el cual es convertido a ácido graso de cadena larga por la sintasa de ácidos grasos (Jones *et al.*, 2017). De esta manera, el tratamiento farmacológico con biotina frena la ruta lipogénica en el hígado y en consecuencia también, la síntesis y acumulación de triacilglicéridos hepáticos inducidas por la alimentación crónica con fructosa.

La hipertensión arterial es otro componente clave del síndrome metabólico. Está ampliamente establecido que la alimentación crónica con fructosa induce hipertensión arterial de forma persistente (Takagawa *et al.*, 2001; Abdulla *et al.*, 2011). Dicho incremento de la presión arterial puede ser progresivo sin embargo, por cuestiones

técnicas únicamente se midió la presión arterial previa al tratamiento con biotina (10 semanas de suplementación con fructosa) a las dos semanas de tratamiento con biotina (12 semanas de suplementación con fructosa) y al final del tratamiento con biotina (14 semanas de suplementación con fructosa). En este estudio la alimentación con fructosa durante 10 semanas y hasta el final del protocolo, incrementó la presión arterial sistólica significativamente en el grupo fructosa respecto al control (Fig. 20). En contraste, la administración con biotina en las ratas suplementadas con fructosa redujo la presión arterial sistólica a las 2 semanas de tratamiento y hasta el final del protocolo (Fig. 20). Estos resultados contribuyen al conocimiento del efecto hipotensor de la biotina observado en un estudio en ratas hipertensas de la cepa SHR-SP en el que se reportó que el tratamiento con biotina redujo la presión arterial sistólica (Watanabe-Kamiyama *et al.*, 2007).

El desarrollo de hipertensión se atribuye a la coocurrencia de varios factores que conducen en última instancia al incremento de la resistencia vascular periférica, es decir, la fuerza que oponen los vasos sanguíneos al flujo de sangre (Mayet y Hughes, 2003; Sena *et al.*, 2013). El incremento de la resistencia vascular periférica resulta de la disminución de las respuestas vasodilatadoras o del aumento de la actividad vasoconstrictora (Abdulla *et al.*, 2011). Reportes previos en ratas han mostrado que la alimentación crónica con fructosa disminuye la vasodilatación dependiente de endotelio mediada por óxido nítrico (Miatello *et al.*, 2001; Gun *et al.*, 2016) e incrementa la respuesta contráctil a agonistas adrenérgicos (Iyer y Katovich, 1996; Akar *et al.*, 2012). En el presente estudio, la respuesta contráctil a fenilefrina (agonista selectivo para los receptores adrenérgicos α_1) en anillos de aorta torácica con y sin endotelio obtenidos de ratas alimentadas con fructosa, fue significativamente mayor comparada con el control (Fig. 21). Por el contrario, el tratamiento con biotina redujo significativamente la respuesta contráctil a fenilefrina en anillos de aorta torácica con endotelio y sin endotelio obtenidos de ratas alimentadas con fructosa (Fig. 21). Estos resultados indican que el efecto antivasoconstrictor de la biotina es independiente de la presencia de endotelio y por lo tanto, de la formación de óxido nítrico. Así, estos resultados son concordantes con el reporte previo de Watanabe-Kamiyama y colaboradores, el cual mostró que el efecto

hipotensor de la biotina es independiente de la formación de óxido nítrico (Watanabe-Kamiyama *et al.*, 2007). En conjunto, estas observaciones sugieren que la biotina surte efecto incluso cuando se presenta daño endotelial y/o disfunción endotelial. Sin embargo, en el presente estudio el efecto antivasoconstrictor de la biotina en las ratas alimentadas con fructosa fue mayor en anillos aórticos con endotelio que en anillos aórticos sin endotelio (Fig. 21). Estos resultados sugieren que el tratamiento con biotina mejoró la función endotelial y por lo tanto, restableció la vasodilatación dependiente de endotelio en las ratas alimentadas con fructosa. La corrección de la función endotelial por el tratamiento con biotina se relaciona con la reducción de los factores de riesgo (resistencia a la insulina, niveles elevados de triacilglicéridos y niveles reducidos de colesterol HDL) que contribuyen directamente a la disfunción endotelial.

Varios estudios han evidenciado que la hipertrigliceridemia y la disminución de los niveles de HDL contribuyen a la disfunción endotelial (Kusterer *et al.*, 1999; Spieker *et al.*, 2002; Yunoki *et al.*, 2011). Así que, la reducción de los niveles de triacilglicéridos y el incremento de los niveles de HDL por la biotina pueden conducir al mejoramiento de la función endotelial. Especialmente, se ha reportado que las partículas HDL actúan como factores protectores del endotelio, pues inducen la activación de la sintasa de óxido nítrico endotelial, atenúan la expresión de moléculas de adhesión endoteliales y previenen la apoptosis endotelial (Dimayuga *et al.*, 1999; Yuhanna *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2002; Assmann y Gotto, 2004). Por otra parte, se ha demostrado que la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia en células endoteliales conducen a la disminución del vasodilatador óxido nítrico y el incremento del vasoconstrictor endotelina-1 en estados de resistencia a la insulina (Kamata y Yamashita, 1999; Li *et al.*, 2010; Kubota *et al.*, 2011; Eckel, 2015). Este desbalance de factores liberados por el endotelio contribuye a la resistencia vascular periférica y al incremento de la presión arterial (Takagawa *et al.*, 2001; Groop *et al.*, 2005; Potenza *et al.*, 2009). Considerando que la biotina mostró efecto correctivo de la resistencia a la insulina, posiblemente éste contribuyó a la atenuación de la disfunción endotelial y a la reducción de la presión arterial en las ratas alimentadas con fructosa. Cabe mencionar que, el mejoramiento de la sensibilidad a la insulina periférica con fármacos antidiabéticos como las biguanidas (metformina) o tiazolidinedionas

(troglitazona, pioglitazona) resulta también en el mejoría de la función endotelial y la reducción de la presión arterial (Katakam *et al.*, 2000; Pistrosch *et al.*, 2004; Horio *et al.*, 2005; Davis *et al.*, 2006; Janus *et al.*, 2016). Finalmente, el efecto antivasoconstrictor de la biotina se ha relacionado con la disminución de los niveles de calcio intracelular, aunque el mecanismo no se ha esclarecido (Toledo-López, 2014).

9. CONCLUSIONES

- La suplementación con fructosa al 30% como agua de beber durante 14 semanas indujo signos similares de síndrome metabólico en ratas.
- La administración diaria de 2 mg/Kg de peso corporal de biotina durante las últimas 4 semanas de suplementación con fructosa redujo la glucosa en ayuno, mejoró la tolerancia de la misma y redujo la resistencia a la insulina en las ratas modelo experimental de síndrome metabólico.
- La administración de biotina redujo los niveles de triacilglicéridos, colesterol total e incrementó los niveles de HDL en las ratas modelo experimental de síndrome metabólico.
- El tratamiento farmacológico con biotina evitó la acumulación de triacilglicéridos en el hígado inducida por la ingesta de fructosa y previno la progresión de la esteatosis no alcohólica.
- El tratamiento con biotina disminuyó la presión arterial sistólica y redujo la respuesta contráctil a fenilefrina en aorta torácica de ratas modelo experimental de síndrome metabólico.
- El tratamiento farmacológico con biotina atenúo el síndrome metabólico en las ratas inducido por la ingesta de fructosa en el agua de beber.

10. REFERENCIAS

- ABDULLA M. H., SATTAR M. A., JOHNS E. J. (2011).** The relation between fructose-induced metabolic syndrome and altered renal haemodynamic and excretory function in the rat. *Int J Nephrol*, 2011: 1-17
- ACELAJADO M. C., OPARIL S. (2013).** Hypertension and cardiovascular risk. En: SCHIFFRIN E. L., TOUYZ R. M. *Hypertension. Future Medicine*, pp. 183-194
- AGUILAR-SALINAS C. A., ROJAS R., GÓMEZ-PÉREZ F. J., VALLES V., RÍOS-TORRES J. M., FRANCO A., OLAIZ G., RULL J.A., SEPÚLVEDA J. (2004).** High prevalence of the metabolic syndrome in Mexico. *Arch Med Res*, 35:76-81
- AGUILAR-SALINAS C., MELGAREJO-HERNÁNDEZ M. A. (2011).** Análisis de la composición y de la función de las HDL, ¿un estudio para el clínico del futuro? *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 19: 113-122
- AGUILERA-MÉNDEZ A, FERNÁNDEZ-MEJÍA C. (2012).** The hypotriglyceridemic effect of biotin supplementation involves increased levels of cGMP and AMPK activation. *BioFactors*, 38: 387-394
- AHIMA R. S. (2016a).** Overview of metabolic syndrome. En: AHIMA R. S. *Metabolic syndrome. A comprehensive textbook*. Switzerland. Springer International Publishing Switzerland, pp. 3-12
- AHIMA R. S. (2016b).** Pharmacotherapy of obesity and metabolic syndrome. En: AHIMA R. S. *Metabolic syndrome. A comprehensive textbook*. Switzerland. Springer International Publishing Switzerland, pp. 797-810
- AKAR F. N., ULUDAG O., AYDIN A., AYTEKIN Y. A., ELBEG S., TUZCU M., SAHIN K. (2012).** High-fructose corn syrup causes vascular dysfunction associated with metabolic disturbance in rats: Protective effect of resveratrol. *Food Chem Toxicol*, 50: 2135-2141
- ALBAN C., JOB D., DOUCE R. (2000).** Biotin metabolism in plants. *Annu Rev Plant Biol*, 51, 17-47
- ALBERTI K. G. M. M., ECKEL R. H., GRUNDY S. M., ZIMMET P. Z., CLEEMAN J. I., DONATO K. A., FRUCHART J. C., JAMES W. P. T., LORIA C. M., SMITH S. C. (2009).** Harmonizing the Metabolic Syndrome. *Circulation*, 120: 1640-1645
- ALBERTI K. G. M. M., ZIMMET P. Z. (1998).** 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*, 15: 539-553
- ALDAHMAH B. A., EL-NAGAR D. M., IBRAHIM K. E. (2015).** Attenuation of hepatotoxicity and oxidative stress in diabetes STZ-induced type 1 by biotin in Swiss albino mice. *Saudi J Biol Sci*, 23: 311-317
- ALESSI D. R., COHEN P. (1998).** Mechanism of activation and function of protein kinase B. *Curr Opin Genet Dev*, 8:55-62
- ALEXANDERSON-ROSAS E., CRUZ-MENDOZA J. R., GUINTO-NISHIMURA G. Y., GUÍZAR-SÁNCHEZ C. A., HERNÁNDEZ-SANDOVAL S., BARRERO-MIER A. F., DE LA FUENTE-MANCERA J. C., OROPEZA-AGUILAR M., CANALES-ALBARRÁN S. J., GONZÁLEZ-PADILLA C., MONROY-GONZÁLEZ A., MARTÍNEZ-TAPIA R., MEAVE-GONZÁLEZ A. (2015).** An increasing mexican population with metabolic syndrome emerging role of hybrid SPECT/CT and PET/CT in cardiovascular disease detection. *Curr Cardiovasc Imaging Rep*, 8:32

- ALLISON K. C., SARWER D. B. (2016).** Diet, exercise, and behavior therapy in the treatment of obesity and metabolic syndrome. En AHIMA R. S. ed. *Metabolic syndrome. A comprehensive textbook*. Switzerland. Springer International Publishing Switzerland, pp. 783-795
- AN H., HE L. (2016).** Current understanding of metformin effect on the control of hyperglycemia in diabetes. *J Endocrinol*, 228: 97-106
- ARCA M., PIGNA G., FAVOCCIA C. (2012).** Mechanisms of diabetic dyslipidemia: relevance for atherogenesis. *Curr Vasc Pharmacol*, 10: 684-686
- ARCE-ESQUIVEL A. A., BUNKER A. K., MIKUS C. R., LAUGHLIN M. H. (2013).** Insulin resistance and endothelial dysfunction: macro and microangiopathy. En: MASUO K. ed. *Type 2 Diabetes*. INTECH. pp. 3-28
- ARGENTE H. A., ALVAREZ M. E. (2008).** *Semiología médica: fisiopatología, semiotecnia y propedéutica: enseñanza basada en el paciente*. Buenos Aires, Argentina. Panamericana. p. 353
- ARGUELLO G., BALBOA E., ARRESE M., ZANLUNGO S. (2015).** Recent insights on the role of cholesterol in non-alcoholic fatty liver disease. *Biochim Biophys Acta*, 1852: 1765-1778
- ARKAN M. C., HEVENER A. L., GRETEN F. R., MAEDA S., LI Z. W., LONG J. M., WYNSHAW-BORIS A., POLI G., OLEFSKY J., KARIN M. (2005).** IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance. *Nat Med*, 11: 191-19
- ARNER P., HELLSTROM L., WAHRENBERG H., BRONNEGARD M. (1990).** Beta-adrenoceptor expression in human fat cells from different regions. *J Clin Invest*, 86: 1595-1600
- ASSMANN G., GOTTO A. M. (2004).** HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation*, 109: III-8-III-14
- ATANASOVSKA E., JAKOVSKI K., KOSTOVA E., PETLICHKOVSKI A., DIMITROVSKI C., BITOVSKA I., KIKERKOV I., PETROVSKI O., LABACHEVSKI N. (2009).** Effects of rosiglitazone on metabolic parameters and adiponectin levels in fructose-fed rats. *Maced J Med Sci*, 2: 22-29
- AVOGARO P., CREPALDI G. (1965).** Essential hyperlipidemia, obesity and diabetes. *Diabetologia*, 1: 137
- BADIMÓM L., MARTÍNEZ-GONZÁLEZ J. (2006).** Disfunción endotelial. *Rev Esp Cardiol Supl*, 6:21-30
- BAILEY C. J. (2013).** Treatment with Metformin. En: BECK-NIELSEN H. *The metabolic syndrome. Pharmacology and clinical aspects*. New York, USA. Springer-Verlag Wien. pp. 99-116
- BALKAU B., VALENSI P., ESCHWÉGE E., SLAMA G. (2007).** A review of the metabolic syndrome. *Diabetes and Metabolism*, 33: 405-413
- BANTLE J. P. (2009).** Dietary fructose and metabolic syndrome and diabetes. *J Nutr*, 139, 1263-1268
- BAO L., HU L., ZHANG Y., WANG Y. (2016).** Hypolipidemic effects of flavonoids extracted from *Lomatogonium rotatum*. *Exp Ther Med*, 11: 1417-1424
- BASARANOGLU M., BASARANOGLU G., SABUNCU T., SENTÜRK H. (2013).** Fructose as a key player in the development of fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, 19: 1166-1172
- BASARANOGLU M., NEUSCHWANDER-TETRI B. A. (2008).** Pathophysiology of NASH. En: Schattner A., Knobler H. *Metabolic Aspects of Chronic Liver Disease*. New York, USA. Nova Science Publishers, Inc. pp. 1-70
- BASCIANO H., FEDERICO L., ADELI K. (2005).** Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. *Nutr Metab*. 2:5

- BECK-NIELSEN H. (2013).** Introduction and definition of the metabolic syndrome. En: BECK-NIELSEN H. *The metabolic syndrome. Pharmacology and clinical aspects.* New York, USA. Springer-Verlag Wien. pp. 1-6
- BELTRÁN-SÁNCHEZ H., HARHAY M. O., HARHAY M. M., MCELLIGOTT S. (2013).** Prevalence and trends of metabolic syndrome in the adult US population, 1999–2010. *J Am Coll Cardiol*, 62: 697-703
- BERMUDEZ V., BERMUDEZ F., ARRAÍZ N., LEAL E., LINARES S., MENGUAL E., VALDELAMAR L., RODRÍGUEZ M., SEYFI H., AMELL A., CARRILLO M., SILVA C., ACOSTA A., AÑEZ J., ANDARA C., ANGULO V., MARTINS G. (2007).** Biología molecular de los transportadores de glucosa: clasificación, estructura y distribución. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 26: 76-86
- BERNEIS K. K., KRAUSS R. M. (2002).** Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res*, 43: 1363-1379
- BESLER C., LÜSCHER T., LANDMESSER U. (2012).** Molecular mechanisms of vascular effects of high-density lipoprotein: alterations in cardiovascular disease. *EMBO Mol Med*, 4: 251-268
- BEZERRA R., UENO M., SILVA M., TAVARES D., CARVALHO C., SAAD M. (2000).** A high fructose diet affects the early steps of insulin action in muscle and liver of rats. *J Nutr*, 130: 1531-1535
- BOUCHER J., KLEINRIDERS A., KAHN R. (2014).** Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 1-23
- BOWE J. E., FRANKLIN Z. J., HAUGE-EVANS A. C., KING A. J., PERSAUD S. J., JONES P M. (2014).** Assessing glucose homeostasis in rodent models. *Journal of Endocrinology*, 222: G13-G25
- BRAY G. A. (2007).** *The metabolic syndrome and obesity.* New Jersey, USA: Human Press Inc, pp. 3-93
- BRAY G. A., NIELSEN S. J., POPKIN B. M. (2004).** Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *AM J CLIN NUTR*, 79: 537-543
- BREMER A. A., MIETUS-SNYDER M., LUSTIG L. H. (2011).** Toward a unifying hypothesis of metabolic syndrome. *PEDIATRICS*, 129:557–570
- BRUNTON L. L. (2012).** *Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica.* (2012). D.F., México. McGrawHill, pp. 558-559
- BYRNE C. D., WILD S. H. (2011).** *The Metabolic Syndrome.* New Jersey, USA: Blackwell Publishing Ltd, pp. 1-60
- CAI D., DHE-PAGANON S., MELENDEZ P. A., LEE J., SHOELSON E. (2003).** Two new substrates in insulin signaling, IRS5/DOK4 and IRS6/DOK5. *J Biol Chem*, 151-161
- CAMERON A. J., SHAW J. E., ZIMMET P. Z. (2004).** The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin N Am*, 33: 351-375
- CARVAJAL J. A., GERMAIN A. M., HUIDOBRO-TORO J. P., WEINER C. P. (2000).** Molecular mechanism of cGMP-mediated smooth muscle relaxation. *J Cell Physiol*, 184: 409-420
- CATENA C., GIACCHETTI G., NOVELLO M., COLUSSI G., CAVARAPE A., SECHI L. A. (2003).** Cellular mechanisms of insulin resistance in rats with fructose-induced hypertension. *Am J Hypertens*, 16: 973-978
- CHAIKEN R. L., BANERJI M. A. (2006).** Metabolic syndrome. En: MANTZOROS C. S. *Contemporary Diabetes: Obesity and Diabetes.* New Jersey, USA. Humana Press Inc. pp. 155-168

- CHAN D. C., PANG J., WATTS G. F. (2016).** Dyslipidemia in obesity. En: Ahima R. S. ed. *Metabolic Syndrome*, Switzerland. Springer International Publishing Switzerland, pp. 525-540
- CHAN R. S. M., WOO J. (2010).** Prevention of overweight and obesity: how effective is the current public health approach. *Int J Environ Res Public Health*, 7: 765-783
- CHANG L., CHIANG S., SALTIEL A. R. (2004).** Insulin signaling and the regulation of glucose transport, *Mol Med*, 10: 65-71
- COELHO M., OLIVEIRA T., FERNANDES R. (2013).** Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Arch Med Sci*, 2: 191-20
- COGGESHALL J. C., HEGGERS J. P., ROBSON M. C., BAKER H. (1985).** Biotin status and plasma glucose in diabetics. *Ann NY Acad Sci*, 447: 389-392
- COLTUC R. V., STOICA V. (2016).** Metabolic syndrome - cardiovascular and metabolic, complex, difficult to quantify risk factor. *Mod Med*, 1: 54-59
- CORNIER M. A., DABELEA D., HERNÁNDEZ T. E., LINDSTROM R. C., STEIG A. J., STOB N. R., VAN PELT R. L., WANG H., AND ECKEL R. H. (2008).** The metabolic syndrome. *Endocrine Reviews*, 29: 777-822
- CRISP S. E., GRIFFIN J. B., WHITE B. R., TOOMBS C. F., CAMPOREALE G., SAID H. M., ZEMPLENI J. (2004).** Biotin supply affects rates of cell proliferation, biotinylation of carboxylases and histones, and expression of the gene encoding the sodium-dependent multivitamin transporter in JAR choriocarcinoma cells. *Eur J Nutr*, 43: 23-31
- CRUZ HERNÁNDEZ J., LICEA-PUIG M. E., HERNÁNDEZ-GARCÍA P., YANES-QUESADA M., SALVATO-DUEÑAS A. (2012).** Disfunción endotelial y diabetes mellitus. *Revista Cubana de Endocrinología*, 23:166-185
- CRUZ-MÉRIDA A., LEÓN-HERNÁNDEZ F. J., HERNÁNDEZ-Y-HERNÁNDEZ E. (2004).** Regulación normal de la presión arterial sistémica. *Revista Mexicana de Cardiología*, 15: 30-41
- DAVIS B. J., XIE Z., VIOLLET B., ZOU M. H. (2006).** Activation of the AMP-activated kinase by antidiabetes drug metformin stimulates nitric oxide synthesis in vivo by promoting the association of heat shock protein 90 and endothelial nitric oxide synthase. *Diabetes*, 55: 496-505
- DE FAIRE U., FROSTEGARD J. (2009).** Natural antibodies against phosphorylcholine in cardiovascular disease. En: SHOENFELD Y., GERSHWIN M. E. eds. *Contemporary challenges in autoimmunity*. Massachusetts, USA. New York Academy of Sciences. pp. 292-300
- DEFRONZO R. A., TOBIN J. D., ANDRES R. (1979).** Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol*, 237: E214-E223
- DEFRONZO R. A., TRIPATHY D. (2009).** Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 32:S157-S163
- DEIMLING M. J., FARUK-KHAN M. O., ORTEGA G. R. (2011).** En: BEALE J. M., BLOCK J. H. eds. *Organic medicinal and pharmaceutical chemistry*. Philadelphia, USA. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business, pp. 915-960
- DEKKER M. K., SU C., BAKER C., RUTLEDGE A. C., ADELI K. (2010).** Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 299: E685-E694

- DE LA VEGA L. A., STOCKERT R. J. (2000).** Regulation of the insulin and asialoglycoprotein receptors via GMPc-dependent protein kinase. *Am J Physiol Cell Physiol*, 279: C2037-C2042
- DESHMUKH A. S., LONG Y. C., DE-CASTRO-BARBOSA T., KARLSSON H. K., GLUND S., ZAVADOSKI W. J., GIBBS E. M., KOISTINEN H. A., WALLBERG-HENRIKSSON H., ZIERATH J. R. (2010).** Nitric oxide increases cyclic GMP levels, AMP activated protein kinase (AMPK) α 1-specific activity and glucose transport in human skeletal muscle. *Diabetologia*, 53: 1142–1150
- DESPRÉS J. P., LEMIUX I. (2006).** Abdominal obesity and metabolic syndrome. *NATURE*, 444: 881-887
- DESPRÉS J. P., LEMIEUX I., BERGERON J., PIBAROT P., MATHIEU P., LAROSE E., RODÉS-CABAU J., BERTRAND O. F., POIRIER P. (2008).** Abdominal obesity and the metabolic syndrome: contribution to global cardiometabolic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 28: 1039-1049
- DIKALOVA A. E., BIKINEYEVA A. T., BUDZYN K., NAZAREWICZ R. R., MCCANN L., LEWIS W., HARRISON D. G., DIKALOV S. I. (2010).** Therapeutic targeting of mitochondrial superoxide in hypertension. *Circ Res*, 107: 106-116
- DIMAYUGA P., ZHU J, OGUCHI S., CHYU K. Y., XU X. O., YANO J., SHAH P. K., NILSSON J., CERCEK B. (1999).** Reconstituted HDL containing human apolipoprotein A-1 reduces VCAM-1 expression and neointima formation following periadventitial cuff-induced carotid injury in apoE null mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 264: 465-468
- DUARTE M., DVORKIN M. A. (2003).** Presión arterial. En: DVORKIN M. A., CARDINALI D. P. *Bases fisiológicas de la práctica médica*. D.F., México. Panamericana, pp. 241-262
- DURRINGTON P., SORAN H. (2014).** Hyperlipidemia. En: Lammert E., Zeeb M. eds. *Metabolism of human diseases*. New York, USA. Springer-Verlag Wien, pp. 295-302
- ECKEL R. H. (2015).** The metabolic syndrome. En: KASPER D. L., HAUSER S. L., JAMESON J. L., FAUCI A. S., LONGO D. L., LOSCALZO J. *Harrison's principles of internal medicine*. New York, USA. McGrawHill, pp. 2449-2454
- ECKEL R. H., GRUNDY S. M., ZIMMET P. Z. (2005).** The metabolic syndrome. *Lancet*, 365: 1415-1428
- ERVIN R. B. (2009).** Prevalence of metabolic syndrome among adults 20 years of age and over, by sex, age, race and ethnicity, and body mass index: United States, 2003–2006. *National Health Statistics Report*, 13: 1-8
- EVANS J. M., OGSTON S. A., EMSLIE-SMITH A., MORRISA D. (2006).** Risk of mortality and adverse cardiovascular outcomes in type 2 diabetes: a comparison of patients treated with sulphonylureas and metformin. *Diabetologia*, 49: 930-936
- FAROOQUI A. A. (2013).** *Metabolic syndrome. An important risk factor for stroke, alzheimer disease, and depression*. New York, USA: Springer Science+Business Media, pp. 7-56
- FERRANNINI E., HAFFNER S. M., MITCHELL B. D., STERN M. P. (1991).** Hyperinsulinaemia: The key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. *Diabetologia*, 34: 416-422
- FERNÁNDEZ-MEJÍA C., ZENDEJAS-RUIZ I., REVILLA-MONSALVE C., ISLAS-ANDREDE S. (2003).** Biotin treatment increases insulin sensitivity in type 2 diabetics (T2D). *Diabetes*, 52(suppl 1): A459-A1987
- FERNÁNDEZ-MEJÍA C., LAZO-DE-LA-VEGA M. L. (2011).** Biological effects of pharmacological concentrations of biotin. *J Evid Based Complementary Altern Med*, 16: 40-48

- FERREIRA-DE-MOURA R., RIBEIRO C., APARECIDA-DE-OLIVEIRA J., STEVANATO E., ROSTOM-DE-MELLO M. A. (2009).** Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocol. *Br J Nutr*, 101: 1178–118
- FRANCISQUETI F. V., SANTOS K. C., FERRON A. J. T., LO A. T. C., MINATEL I. O., CAMPOS D. H. S., FERREIRA A. L. A. CORRÊA C. R. (2017).** Fructose: toxic effect on cardiorenal risk factors and redox state. *SAGE Open Med*, 4: 1-6
- FRÉNAIS R., OUGUERRAM K., MAUGEAIS C., MAHOT P., MAUGÈRE P., KREMPF M., MAGOT T. (1997).** High density lipoprotein apolipoprotein AI kinetics in NIDDM: a stable isotope study. *Diabetologia*, 40: 578-83
- GALEANO N. F., MILNE R., MARCEL Y. L., WALSH M. T, LEVY E., NGU'YEN T., GLEESON A., ARAD Y., WITTE L., AL-HAIDERI M., RUMSEY S. C., DECKELBAUM R. J. (1994).** Apoprotein B structure and receptor recognition of triglyceride-rich low density lipoprotein (LDL) is modified in small LDL but not in triglyceride-rich LDL of normal size. *J Biol Chem*, 269: 511-619
- GALEANO N. F., AL-HAIDERI M., KEYSERMAN F., RUMSEY S. C., DECKELBAUM R. J. (1998).** Small dense low density lipoprotein has increased affinity for LDL receptor-independent cell surface binding sites: a potential mechanism for increased atherogenicity. *J Lipid Res*, 39; 1263-1273
- GENEL S., AURELIA C., DONCA V., EMANUELA F. (2015).** Is the non-alcoholic fatty liver disease part of metabolic syndrome? *J Diabetes Metab*, 6: 526
- GINSBERG H. N. (2000).** Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest*, 4: 453-458
- GINSBERG H. N., ZHANG Y. L., HERNÁNDEZ-ONO A. (2005).** Regulation of plasma triglycerides in insulin resistance and diabetes. *Arch Med Res*, 36: 232-2
- GOLDENBERG R., PUNTHAKEE Z. (2013).** Definition, classification and diagnosis of diabetes, prediabetes and metabolic syndrome. *Can J Diabetes*, 37: S8-S11
- GÓMEZ-ÁLVAREZ A. M., CARDELLÁ-ROSALES L., PITA-RODRÍGUEZ G., HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ M. (2012).** Consumo elevado de fructosa y su posible influencia sobre el metabolismo lipídico. *Rev Cubana Aliment Nutr*, 22: 287-300
- GÓMEZ-CORONADO C. (2010).** Salida celular y transporte reverso de colesterol. *Clin Invest Arterioscl*, 22: 12-16
- GROOP P. H., FORSBLOM C., THOMAS M. C. (2005).** Mechanisms of Disease: pathway-selective insulin resistance and microvascular complications of diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 1: 100-110
- GRUNDY S. M. (2006).** Atherogenic dyslipidemia associated with metabolic syndrome and insulin resistance. *Clin Cornerstone*, 7: 27-35
- GRUNDY S. M. (2007).** Metabolic syndrome: a multiplex cardiovascular risk factor. *J Clin Endocrinol Metab*, 92: 399-404
- GRUNDY S. M. (2008).** Metabolic syndrome pandemic. *Arterioscler Thromb Vas Biol*, 28: 629-636
- GRUNDY S. M. (2011).** *Atlas of atherosclerosis and metabolic syndrome*. Springer Science+Business Media, pp. 1-113
- GRUNDY S. M. (2015).** Metabolic syndrome update. *TRENDS CARDIOVAS MED*, 26: 364-373
- GUN A., OZER M. K., BILGIC S., KOCAMAN N., OZAN G. (2016).** Effect of caffeic acid phenethyl ester on vascular damage caused by consumption of high fructose corn syrup in rats. *Oxid Med Cell Longev*, 2016: 1-8

- GUO S. (2014).** Insulin signaling, resistance, and the metabolic syndrome: insights from mouse models into disease mechanisms. *J Endocrinol*, 20: T1-T23
- GUTIÉRREZ J. P., RIVERA-DOMMARCO J., SHAMAH-LEVY T., VILLALPANDO-HERNÁNDEZ S., FRANCO A., CUEVAS-NASU L., ROMERO-MARTÍNEZ M., HERNÁNDEZ-ÁVILA M. (2012).** Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX), 2012:1-200
- HAFFNER S. M., VALDEZ R. A., HAZUDA H. P., MITCHELL B. D., MORALES PA, STERN M. P. (1992).** Prospective analysis of the insulin-resistance syndrome (syndrome X). *Diabetes*, 41:715-722
- HALLER H., HANEFELD M. (1975).** Synoptische Betrachtung metabolischer Risikofaktoren. En: Haller H, Hanefeld M, Jaross W. *Lipidstoffwechselstörungen*. Jena, Gustav Fischer Verlag, pp. 254-264
- HALLER H. (1977).** "Epidemiology and associated risk factors of hyperlipo-proteinemia". *Zeitschrift fur die gesamte innere Medizin und ihre Grenzgebiete*, 32: 124-128
- HAN T. S., LEAN M. E. (2015).** Metabolic syndrome. *MEDICINE*, 43: 80-87
- HAN T. S., LEAN M. E. (2016).** A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *JRSM Cardiovascular Disease*, 5: 1-13
- HARDY O. T., CZECHA M. P., CORVERA S. (2012).** What causes the insulin resistance underlying obesity? *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 19: 81-87
- HARDMAN J., LIMBIRD L., GILMAN A. 2001.** The pharmacological basic of therapeutics. 10thed., McGraw-Hill. New York. United States of America
- HASSAN Y. I., ZEMPLENI J. (2006).** Epigenetic regulation of chromatin structure and gene function by biotin. *J Nutr*, 136: 1763-1765
- HELLMÉR J., MARCUS C., SONNENFELD T., ARNER P. (1992).** Mechanisms for differences in lipolysis between human subcutaneous and omental fat cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 75: 15-20
- HIMSWORTH H. P. (1936).** Diabetes mellitus. A differentiation into insulin-sensitive and insulin-insensitive types. *Lancet* 1: 127-130
- HIROSUMI J., TUNCMAN G., CHANG L., GORGUN C. Z., UYSAL K. T., MAEDA K., KARIN M., HOTAMISLIGIL G. S. (2002).** A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*, 420: 333-33
- HORIO T., SUZUKI M., TAKAMISAWA I., SUZUKI K., HIUGE A., YOSHIMASA Y., KAWANO Y. (2005).** Pioglitazone-induced insulin sensitization improves vascular endothelial function in nondiabetic patients with essential hypertension. *Am J Hypertens*, 18: 1626-1630
- HORTON J. D., GOLDSTEIN J. L., BROWN M. S. (2002).** SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest*, 109:1125-1131
- HU G., QIAO Q., TUOMILEHTO J., BALKAU B., BORCH-JOHNSEN K., PYORALA K. (2004).** Prevalence of the metabolic syndrome and its relation to all-cause and cardiovascular mortality in nondiabetic european men and women. *ARCH INTERN MED*, 164: 1066-1076
- HUANG P. L. (2009).** A comprehensive definition for metabolic syndrome. *Disease Models and Mechanisms*, 2: 231-237

- HYMES J., FLEISCHHAUER K., WOLF B. (1995).** Biotinylation of histones by human serum biotinidase: assessment of biotinyl-transferase activity in sera from normal individuals and children with biotinidase deficiency. *Biochem Mol Med*, 56: 76-83
- IBRAHIM M. M. (2009).** Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obesity Reviews*, 11: 11-18
- IBRAHIM S. M., EL-DENSHARY E. S., ABDALLAH D. M. (2015).** Geraniol, alone and in combination with pioglitazone, ameliorates fructose-induced metabolic syndrome in rats via the modulation of both inflammatory and oxidative stress status. *PLOS ONE*, 10: 1-17
- ILANNE-PARIKKA P., TUOMILEHTO J. (2013).** Lifestyle Intervention: Prevention of Complications to the Metabolic Syndrome. En: Beck-Nielsen H. ed. *The Metabolic Syndrome*. New York, USA. Springer Science+Business Media. pp. 63-85
- IYER S. N., KATOVICH M. J. (1996).** Vascular reactivity to phenylephrine and angiotensin II in hypertensive rats associated with insulin resistance. *Clin Exp Hypertens*, 18: 227-242
- JAKOBSEN S. N., HARDIE D. G., MORRICE N., TORNQVIST H. E. (2001).** AMPK phosphorylates IRS-1 on Ser789 in mouse C2C12 myotubes in response to 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside. *J Biol Chem*, 276: 46912-46916
- JANUS A., SZAHIDEWICZ-KRUPSKA E., MAZUR G., DOROSZKO A. (2016).** Insulin resistance and endothelial dysfunction constitute a common therapeutic target in cardiometabolic disorders. *Mediators Inflamm*, vol. 2016
- JONES J. E. C., ESLER W. P., PATEL R., LANBA A., VERA N. V., PFEFFERKORN J. A., VERNOCHET C. (2017).** Inhibition of acetyl-coa carboxylase 1 (ACC1) and 2 (ACC2) reduces proliferation and de novo lipogenesis of egrfviii human glioblastoma cells. *PLOS ONE*, 12: 1-20
- JORNAYVAZ F. R., SAMUEL V. T., AND SHULMAN G. I. (2010).** The role of muscle insulin resistance in the pathogenesis of atherogenic dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease associated with the metabolic syndrome. *Annu Rev Nutr*, 30: 273–290
- JUNG U. J., CHOI M. S. (2014).** Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci*, 2014, 15; 6184-6223
- KAHN S. E., HUL R. L., UTZSCHNEIDER K. M. (2006).** Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *NATURE*, 444: 840-846
- KAMATA K., YAMASHITA K. (1999).** Insulin resistance and impaired endothelium-dependent renal vasodilatation in fructose-fed hypertensive rats. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol*, 103: 195-210
- KAPLAN N. M. (1989).** The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med*, 149:1514-1520
- KASSI E., PERVANIDOU P., KALTSAS G., CHROUSOS G. (2011).** Metabolic syndrome: definitions and controversies. *BMC Medicine*, 9: 1-13
- KATAKAM P. V. G., UJHELYI M. R., HOENIG M., MILLER A. W. (2000).** Metformin improves vascular function in insulin-resistant rats. *Hypertension*, 35: 108-112
- KATZ A., NAMBI S. S., MATHER K., BARON A. D., FOLLMANN D. A., SULLIVAN G., QUON M. J. (2000).** Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 85: 2402-2410

- KAUR J. (2014).** A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract*, 2014: 1-21
- KELISHADI R., MANSOURIAN M., HEIDARI-BENI M. (2014).** Association of fructose consumption and components of metabolic syndrome in human studies: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition*, 30: 503-510
- KHITAN Z., KIM D. H. (2013).** Fructose: a key factor in the development of metabolic syndrome and hypertension. *J Nutr Metab*, 2013: 1-12
- KIM K. H., SONG J. J., YOO E. J., CHOE S. S., PARK S. D., KIM J. B. (2004).** Regulatory role of glycogen synthase kinase 3 for criptional activity of ADD1/SREBP1c. *J Biol Chem*, 279: 51999-52006
- KLEIN A. V., KIAT H. (2015).** The mechanisms underlying fructose-induced hypertension: a review. *J Hypertens*, 33: 912-920
- KLÖTING N., BLÜHER M. (2014).** Adipocyte dysfunction, inflammation and metabolic syndrome. *Rev Endocr Metab Disord*, 15: 277-287
- KÖGL F., TÖNNIS B. (1936).** Über des bios-problem. Darstellung von krystallisierten biotin aus eigelb. *Z Physiol Chem*, 242, 43-73
- KOLOVOU G., ANAGNOSTOPOULOU K. K., SALPEA K. D., MIKHAILIDIS D. P. (2007).** The prevalence of metabolic syndrome in various populations. *Am J Med Sci*, 333: 362-371
- KOOPMAN R., SCHAART G., HESSELINK M. K. (2001).** Optimization of oil red O staining permits combination with immunofluorescence and automated quantification of lipids. *Histochem Cell Biol*, 116: 63-68
- KUBOTA T., KUBOTA N., KUMAGAI H., YAMAGUCHI S., KOZONO H., TAKAHASHI T., INOUE M., ITOH S., TAKAMOTO I., SASAKO T., KUMAGAI K., KAWAI T., HASHIMOTO S., KOBAYASHI T., SATO M., TOKUYAMA K., NISHIMURA S., TSUNODA M., IDE T., MURAKAMI K., YAMAZAKI T., EZAKI O., KAWAMURA K., MASUDA H., MOROI M., SUGI K., OIKE Y., SHIMOKAWA H., YANAGIHARA N., TSUTSUI M., TERAUCHI Y., TOBE K., NAGAI R., KAMATA K., INOUE K., KODAMA T., UEKI K., KADOWAKI T. (2011).** Impaired insulin signaling in endothelial cells reduces insulin-induced glucose uptake by skeletal muscle. *Cell Metab*, 13: 294-307
- KUMAR A., SINGH V. (2010).** Atherogenic dyslipidemia and diabetes mellitus: what's new in the management arena? *Vasc Health Risk Manag*, 6: 665-669
- KUSTERER K., POHL T., FORTMEYER H. P. MÉRZ W., SCHARNAGL H., OLDENBURG A., ANGERMÜLLER S., FLEMING I., USADEL K. H., BUSSE R. (1999).** Chronic selective hypertriglyceridemia impairs endothelium-dependent vasodilatation in rats. *Cardiovasc Res*, 42: 783-793
- KYLIN E. (1923).** Studien ueber das hypertonie-hyperglyca miehyperurika miesyndrom. *Zentralblatt fuer Innere Medizin*, 44: 105-127
- LAM W. D, LEROITHD. (2015).** Endotext [Internet] [en linea]. MDText.com, Inc. Massachusetts, USA: De Groot L, J., Chrousos G., Dungan K., Feingold K. R., Grossman A., Hershman J. M., Koch C., Korbonits M., McLachlan R., New M., Purnell J., Rebar R., Singer F., Vinik A., Mayo 2015 [fecha de consulta: 10 Octubre 2016]. Síndrome metabólico. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278936/>
- LANGLAIS P. R., MANDARINO L. J., GARVEY W. T. (2015).** Mechanisms of insulin signal transduction. En: DeFronzo R. A., Ferrannini E., Zimmet P., Alberti G. M. M. *International Textbook of Diabetes Mellitus*. John Wiley and Sons, Ltd. pp. 163-192

- LARDY H. A., POTTER R. L., BURRIS R. H. (1949).** Metabolic functions of biotin I. The role of biotin in bicarbonate utilization by *Lactobacillus arabinosus* studied with ¹⁴C. *J Biol Chem*, 179, 721-731
- LARRIETA E., VELASCO F., VITAL P., LÓPEZ-ACEVES T., LAZO-DE-LA-VEGA-MONRROY M. L., ROJAS A., FERNÁNDEZ-MEJIA C. (2010).** Pharmacological concentrations of biotin reduce serum triglycerides and the expression of lipogenic genes. *Eur J Pharmacol*, 644: 263-268
- LAURENCIKIENE J., SKURK T., KULYTÉ A., HEDÉN P., ASTRÖM G., SJÖLIN E., RYDÉN M., HAUNER H., ARNER P. (2011).** Regulation of lipolysis in small and large fat cells of the same subject. *J Clin Endocrinol Metab*, 96: E2045–E2049
- LEÓN-DEL-RÍO A. (2003).** La vitamina biotina modifica los patrones de expresión genética en células humanas: evidencia de un sistema de regulación transcripcional multisistémica que protege el metabolismo cerebral durante el ayuno. *Mensaje Bioquímico*, 27: 221-241
- LEROITH D. (2012).** Pathophysiology of the metabolic syndrome: implications for the cardiometabolic risks associated with type 2 diabetes. *Am J Med Sci*, 343: 13-16
- LETO D., SALTIEL A. R. (2012).** Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT. *NATURE REVIEWS*, 13: 383-396
- LEWIS G. F., STEINER G. (1996).** Acute effects of insulin in the control of VLDL production in humans. Implications for the insulin-resistant state. *Diabetes Care*, 19: 390-393
- LI R., LAU W. B., MA X. L. (2010).** Adiponectin resistance and vascular dysfunction in the hyperlipidemic state. *Acta Pharmacol Sin*, 31: 1258-1266
- LI XA, TITLOW W. B., JACKSON B. A., GILTIAY N., NIKOLOVA-KARAKASHIAN M., UITTENBOGAARD A., SMART E. J. (2002).** High density lipoprotein binding to scavenger receptor, Class B, type I activates endothelial nitric-oxide synthase in a ceramide-dependent manner. *J Biol Chem*, 277: 11058-11063
- LIM J. S., MIETUS-SNYDER M., VALENTE A., SCHWARZ J. M., LUSTIG R. H. (2010).** The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 7: 251-264
- LIN M. C., GORDON D., WETTERAU J. R. (1995).** Microsomal triglyceride transfer protein (MTP) regulation in HepG2 cells: insulin negatively regulates MTP gene expression. *J Lipid Res*, 36: 1073-81
- LINTON M. F., YANCEY P. G., DAVIES S. S., JEROME W. G., LINTON E. F., VICKERS K. C. (2015).** The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. En: DE GROOT L. J., CHROUSOS G., DUNGAN K., FEINGOLD K. R., GROSSMAN A., HERSHMAN J. M., KOCH C., KORBONITS M., MCLACHLAN R., NEW M., PURNELL J., REBAR R., SINGER F., VINIK A. eds. *Diagnosis and Treatment of Diseases of Lipid and Lipoprotein Metabolism*. Endotext [Internet]. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK343489/>
- LÍRIO L. M., FORECHI L., ZANARDO-CALIMAN T., MARTINS-BATISTA H., FRIZERA-MEIRA E., VALENTIM-NOGUEIRA B., MILL J. G., PERIM BALDO M. (2016).** Chronic fructose intake accelerates non-alcoholic fatty liver disease in the presence of essential hypertension. *J Diabetes Complications*, 30: 85-92
- LIU J., HAN L., ZHU L., YU Y. (2016).** Free fatty acids, not triglycerides, are associated with non-alcoholic liver injury progression in high fat diet induced obese rat. *Lipids Health Dis*, 15: 1-9

- LLOYD-JONES D. M., LEVY D. (2013).** Epidemiología de la hipertensión. En: Black H. R., Elliott W. J. Hipertensión complemento de Braunwald. Tratado de cardiología. Barcelona, España. Elsevier España, S.L. pp. 1-12
- LÓPEZ A. G., VILLARROYA M., GARCÍA A. G. (2008).** Neurotransmisión adrenérgica. Sistema nervioso simpático: fármacos simpaticomiméticos. En Lorenzo P., MORENO A., LIZASOAIN I., LEZA J. C., MORO M. A., PORTOLÉS A. Velázquez. *Farmacología Básica y Clínica*. China, MEDICA PANAMERICANA, pp. 145-163
- LOWETTE K., ROOSEN L., JAN TACK J., VAN-DEN-BERGHE P. (2015).** Effects of high-fructose diets on central appetite signaling and cognitive function. *Front Nutr*, 2: 1-5
- LOZANO I., VAN-DER-WERF R., BIETIGER W., SEYFRITZ E., PERONET C., PINGET M., JEANDIDIER N., MAILLARD E., MARCHIONI E., SIGRIST S., DAL S. (2016).** High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. *Nutr Metab*, 13: 1-13
- LUSIS A. J., ATTIE A. D., REVE K. (2008).** Metabolic syndrome: from epidemiology to systems biology. *Nature Reviews*, 9: 819-830
- MAEBASHI M., MAKINO Y., FURUKAWA Y., OHINATA K., KIMURA S., SAT T. (1993).** Therapeutic evaluation of the effect of biotin on hyperglycemia in patients with noninsulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Biochem Nutr*, 14: 211-218
- MAHMOUD A. A., ELSHAZLY S. M. (2014).** Ursodeoxycholic acid ameliorates fructose-induced metabolic syndrome in rats. *PLOS ONE*, 9: 1-8
- MAIOLINO G., ROSSITTO G., CAIELLI P., BISOGNI V., ROSSI G. P., CALO L. A. (2013).** The role of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerosis: the myths and the fact. *Mediators Inflamm*, 2013: 1-13
- MAMIKUTTY N., THENT Z. H., SAPRI S. R., SAHRUDDIN N. N., YUSOF M. R. M., SUHAIMI F. H. (2014).** The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male wistar rats. *Biomed Res Int*, 2014: 1-8
- MANJUNATH C. N., RAWAL J. R., IRANI P. M., MADHU K. (2013).** Atherogenic dyslipidemia. *Indian J Endocrinol Metab*, 17: 969-976
- MARAÑÓN G. (1927).** "Prädiabetische zustände". Abhandlungen aus den grenzgebiete der inneren secretion. Wissenschaftliche Verlags Buchhandlung Rudolf Novak and C. Budapest Leipzig. pp. 12-42
- MARCHAND-BRUSTEL Y, L., GUAL P., GRÉMEAUX T., GONZALEZ T., BARRÈS R., TANTI J. F (2003).** Fatty acid-induced insulin resistance: role of insulin receptor substrate 1 serine phosphorylation in the retroregulation of insulin signaling. *Biochem Soc Trans*, 31: 1152-1156
- MARSHALL M. W., KLIMAN P. G., WASHINGTON V. A., MACKIN J. F., WEINLAND B. T. (1980).** Effects of biotin on lipids and other constituents of plasma of healthy men and women. *Artery*. 7: 330-351
- MAYET J., HUGHES A. (2003).** Cardiac and vascular pathophysiology in hypertension. *Heart*, 89: 1104-1109
- MCAFFEE A. T., KORO C., LANDON J., ZIYADEH N., WALKER A. M. (2007).** Coronary heart disease outcomes in patients receiving antidiabetic agents. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 16: 711-725.
- MEIGS J. B. (2008).** The role of obesity in insulin resistance epidemiological and metabolic aspects. En: CALEEN-HANSEN B., BRAY G. A. *The metabolic syndrome*. New Jersey, USA. Human Press, pp. 37-55

- MELO R. V., CUAMATZI T. O. (2007).** *Bioquímica de los procesos metabólicos*. Distrito Federal: Reverté. 321-322
- MESHKANI R., ADELI K. (2009).** Hepatic insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Clin Biochem*, 42: 1331-1346
- MIATELLO R., RISLER N., CASTRO C., GONZÁLEZ S., RÜTTLER M., CRUZADO M. (2001).** Aortic smooth muscle cell proliferation and endothelial nitric oxide synthase activity in fructose-fed rats. *Am J Hypertens*, 14: 1135-1141
- MICCOLI R., BIANCHI C., PENNO G., DEL PRATO S. (2017).** Insulin resistance and lipid disorders. *Future Lipidol*, 3: 651-664
- MITTELMAN S. D., VAN CITTERS G. W., KIRKMAN E. L., BERGMAN R. N. (2002).** Extreme insulin resistance of the central adipose depot *in vivo*. *Diabetes*, 51: 755-761
- MOCK D. M. (2013).** Biotin. Physiology, dietary sources and requirements. En ALLEN L. H., PRENTICE A. eds. *Encyclopedia of Human Nutrition*. USA, Academic Press. pp. 182-190
- MODAN M., HALKIN H., ALMOG S., LUSKY A., ESHKIL A., SHEFI M., SHITRIT A., FUCHS Z. (1985).** Hyperinsulinemia: a link between hypertension, obesity and glucose intolerance. *J Clin Invest*, 75: 809-817
- MORAKINYO A. O., ADEKUNBI D. A., DADA K. A., ADEGOKE O. A. (2013).** Coffee consumption attenuates insulin resistance and glucose intolerance in rats fed on high-sucrose die. *Niger J Physiol Sci*, 28: 179-185
- MUKHERJEE S., BAKSI S. (2003).** Blockers with vasodilatory actions. *CHEST*, 124: 1621
- MUNIYAPPA, R, MADAN R., QUON M. J. (2015).** Endotext [Internet] [en línea]. MDText.com, Inc. Massachusetts, USA: De Groot L, J., Chrousos G., Dungan K., Feingold K. R., Grossman A., Hershman J. M., Koch C., Korbonits M., McLachlan R., New M., Purnell J., Rebar R., Singer F., Vinik A., Febrero 2015 [fecha de consulta: 7 Noviembre 2016]. Assessing insulin sensitivity and resistance in humans. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278954/>
- MUOIO D. M., NEWGARD C. B. (2008).** Molecular and metabolic mechanisms of insulin resistance and β -cell failure in type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 9: 193-205
- NANDHINI A. T. A., BALAKRISHNAN S. D., ANURADHA C. V. (2002).** Taurine improves lipid profile in rats fed a high fructose-diet. *Nutr Res*, 22: 343-354
- NIGON F., LESNIK P., ROUIS M., CHAPMAN M. J. (1991).** Discrete subspecies of human low density lipoproteins are heterogeneous in their interaction with the cellular LDL receptor. *J Lipid Res*, 32: 1741-53
- NILSSON P. M. (2013).** The role of statins in the metabolic syndrome. En: Beck-Nielsen H. ed. *The Metabolic Syndrome. Pharmacology and Clinical Aspects*. New York, USA. Springer-Verlag Wien, pp. 147-154
- NOLAN J. J., O'GORMAN D. J. (2013).** Pathophysiology of the Metabolic Syndrome. En: Beck-Nielsen H. ed. *The Metabolic Syndrome*. New York, USA. Springer Science+Business Media. pp 17-42
- O'NEILL S., O'DRISCOLL L. (2015).** Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obesity reviews*, 16; 1-12
- OLIVARES-REYES J. A., ARELLANO-PLANCARTE A. (2008).** Bases moleculares de las acciones de la insulina. *REB*, 27: 9-18

- OLOFSSON S., BORÉN J. (2005).** Apolipoprotein B: a clinically important apolipoprotein which assembles atherogenic lipoproteins and promotes the development of atherosclerosis. *J Intern Med*, 258: 395-410
- OLOFSSON S., BOSTRÖM P., LAGERSTEDT J., ANDERSSON L., ADIELS M., PERMAN J., RUTBERG M., LI L., BORÉN J. (2009).** The lipid droplet: a dynamic organelle, not only involved in the storage and turnover of lipid. En: Ehnholm C. ed. *Cellular Lipid Metabolism*, Helsinki, Finlandia. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp. 1-19
- OLSON A. L. (2012).** Regulation of GLUT4 and insulin-dependent glucose flux. *ISRN Mol Biol*, 2012: 1-12
- OMS:** Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles 2014
- OMS:** Las 10 principales causas de defunción
- OPARIL S., ZAMAN M. A., CALHOUN D. A. (2003).** Pathogenesis of hypertension. *Ann Intern Med*, 139: 761-776
- PARHOFER K. G. (2011).** Pathophysiology of diabetic dyslipidemia: implications for atherogenesis and treatment. *Clin Lipidol*, 6: 401-411
- PARIKH R. M., MOHAN V. (2012).** Changing definitions of metabolic syndrome. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16: 7-12
- PARK O. J., CESAR D., FAIX D., WU K., SHACKLETON C. H., HELLERSTEIN M. K. (1992).** Mechanisms of fructose-induced hypertriglyceridaemia in the rat. Activation of hepatic pyruvate dehydrogenase through inhibition of pyruvate dehydrogenase kinase. *Biochem J*, 282: 753-757
- PATEL R., DADIDA C., SARKER K., SEN D. J. (2015).** Sudan dyes as lipid soluble aryl-azo naphthols for microbial staining. *ejpmr*, 2: 417-425
- PÉREZ-MARAVER M., MONTANYA-MIAS E. (2001).** Técnicas para el estudio de la resistencia insulínica. Una valoración crítica. *AV DIABETOL*, 17: 179-186
- PERRY R. J., SAMUEL V. T., PETERSEN K. F., SHULMA G. I. (2014).** The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 510: 84-91
- PETERS D. M., GRIFFIN J. B., STANLEY J. S., BECK M. M., ZEMPLENI J. (2002).** Exposure to UV light causes increased biotinylation of histones in Jurkat cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 283: C878-C884
- PISTROSCH F., PASSAUER J., FISCHER S., FUECKER K., HANEFELD M., GROSS P. (2004).** In type 2 diabetes, rosiglitazone therapy for insulin resistance ameliorates endothelial dysfunction independent of glucose control. *Diabetes Care*, 27: 484-490
- POTENZA M. A., MARASCIULO F. L., MITOLO-CHIEPPA D., SIRO-BRIGIANI G., FORMOSO G., QUON M. J., MONTAGNANI M. (2005).** Insulin resistance in spontaneously hypertensive rats is associated with endothelial dysfunction characterized by imbalance between NO and ET-1 production. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 289: H813-H822
- PUROHIT R. (2014).** *The mechanism of allosteric regulation in soluble guanylate cyclase. Tesis de doctorado.* Department of chemistry and biochemistry, University of Arizona. Arizona USA.
- QATANAMI M., LAZAR M. A. (2007).** Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. *Genes Dev*, 21:1443-1455
- RALSTON S. L. (2002).** Insulin and glucose regulation. *Vet Clin N Amer Equine Pract*, 18: 295-300
- RASK-MADSEN C., KAHN C. R. (2012).** Tissue-specific insulin signaling, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 32: 2052-2059

- REAVEN G. (1988).** Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 37: 1595-1607
- REAVEN G. (1995).** The fourth musketeer—from Alexandre Dumas to Claude Bernard. *Diabetologia*, 38: 3-13
- REAVEN G. (2006).** The metabolic syndrome: what's in a name? Reply to: Meisinger et al. metabolic syndrome: older than usually assumed, but still too young to die. *Clin Chem*, 52: 898-899
- REAVEN G. (2008).** Metabolic syndrome. To be or not to be? En: HANSEN B. C., BRAY G. A. *Contemporary Endocrinology: The Metabolic Syndrome: Epidemiology, Clinical Treatment, and Underlying Mechanisms*. New Jersey, USA. Human Press, a part of Springer Science+Business Media. pp. 11-36
- REDDI A., DEANGELIS B., FRANK O., LASKER N., BERKER H. (1988).** Biotin supplementation improves glucose and insulin tolerance in genetically diabetic KK mice. *Life sciences*, 42: 1323-1330
- REISIN E., OWEN J. (2015).** Treatment: special conditions. Metabolic syndrome: obesity and the hypertension connection. *J Am Soc Hypertens*, 9: 156-159
- REVILLA-MONSALVE C., ZENDEJAS-RUIZ I., ISLAS-ANDRADE S., BÁEZ-SALDAÑA A., PALOMINO-GARIBAY M. A., HERNÁNDEZ-QUIRÓZ P. M., FERNANDEZ-MEJIA C. (2006).** Biotin supplementation reduces plasma triacylglycerol and VLDL in type 2 diabetic patients and in nondiabetic subjects with hypertriglyceridemia. *Biomed Pharmacother*, 60: 182-185
- RHEE S. Y., PARK S. Y., HWANG J. K., SON J., CHIN S. O., KIM Y. S., WOO J. (2014).** Metabolic syndrome as an indicator of high cardiovascular risk in patients with diabetes: Analyses based on Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES) 2008. *Diabetol Metab Syndr*, 6: 98
- RIGOTTI A. (2000).** Importancia del receptor scavenger clase B, tipo I (SR-BI) en el metabolismo de las HDL y en la aterosclerosis. *Clin Invest Arterioscl*, 12: 219-231
- ROBERTS C. K., HEVENER A. L., BARNARD R. J. (2013).** Metabolic syndrome and insulin resistance: Underlying causes and modification by exercise training. *Compr Physiol*, 3: 1-58
- RODRIGUEZ-MELENDEZ R, ZEMPLENI J. (2003).** Regulation of gene expression by biotin (review). *J Nutr Biochem*, 14: 680-69
- RODRIGUEZ-RIVERA V. M., SIMÓN-MAGRO E. (2008).** *Bases de la alimentación humana*. La Coruña, España. Netbiblo, S. L. pp. 234-235
- ROSS R., ARU J., FREEMAN J., HUDSON R., JANSSEN I. (2002).** Abdominal adiposity and insulin resistance in obese men. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 282: E657–E663
- ROSSI S., YAKSH T., BENTLEY H., BRANDE G., GRANT I., ELLIS R. (2006).** Metabolic syndrome: older than usually assumed, but still too young to die. *Clinical Chemistry*, 5: 897-898
- RUAN H., LODISH H. F. (2003).** Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor- α . *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 14: 447-455
- RUTKOWSKI J. M., STERN J. H., SCHERER F. E. (2015).** The cell biology of fat expansion. *J Cell Biol*, 208: 501-512
- SAID H. M. (2009).** Cell and Molecular aspects of human intestinal biotin absorption. *J Nutr*, 139: 154-162
- SALTIEL A. R., KAHN C. R. (2001).** Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414: 799-806

- SAMBROOK J. B., RUSSELL D. W. (2001).** *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. New York, USA. Cold Spring Harbor Laboratory Press, pp. A1.7
- SAMUEL V, T., SHULMAN G. (2016).** The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. *J Clin Invest*, 126: 12-22
- SANDOO A., VELDHUIJZEN-VAN-ZANTEN J. J. C. S., METSIOS G. S., CARROLL D., KITAS G. D. (2010).** The endothelium and its role in regulating vascular tone. *Open Cardiovasc Med J*, 4: 302-312
- SENA C. M., PEREIRA A. M., SEICA R. (2013).** Endothelial dysfunction - a major mediator of diabetic vascular disease. *Biochim Biophys Acta*, 1832: 2216-2231
- SHARMA S., GARG S. (2012).** Small dense LDL: risk factor for coronary artery disease (CAD) and its therapeutic modulation. *Indian J Biochem Biophys*, 49: 77-85
- SHARMA S., BEHERA R., AGRAWAL D., KUMAR S. (2015).** Metabolic syndrome: evolution, etiopathogenesis and recent trends in its management. *Res J Pharm Biol Chem Sci*, 3: 377-410
- SHRESTHA O. K., SHRESTHA O. K. (2014).** Visceral fat versus subcutaneous fat: comparison of their association with type 2 diabetes mellitus. *JCMC*, 4: 9-12
- SIDDLE K. (2005).** The insulin receptor and downstream signalling. En: Kumar S., O'Rahilly S. eds. *Insulin resistance. Insulin action and its disturbances in disease*. New Jersey, USA. John Wiley & Sons Ltd. pp. 1-62
- SOFTIC S., COHEN D. E., KAHN C. R. (2016).** Role of dietary fructose and hepatic de novo lipogenesis in fatty liver disease. *Dig Dis Sci*, 61: 1282-1293
- SOLORZANO-VARGAS S., PACHECO-ALVAREZ D., LEÓN-DEL-RÍO A. (2002).** Holocarboxylase synthetase is an obligate participant in biotin mediated-regulation of its own expression and of biotin-depend carboxylases mRNA levels in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99: 5325-5330
- SPENCE J. T. KOUDELKA A. P. (1984).** Effects of biotin upon the intracellular level of cGMP and the activity of glucokinase in cultured rat hepatocytes. *J Biol Chem*, 259: 6393-6
- SPIEKER L. E., SUDANO I., HÜRLIMANN D., LERCH P. G., LANG M. G., BINGGELI C., CORTI R., RUSCHITZKA F., LÜSCHER T. F., NOLL G. (2002).** High-density lipoprotein restores endothelial function in hypercholesterolemic men. *Circulation*, 105: 1399-1402
- STOCKERT R. J., MORELL A. (1990).** Second messenger modulation of the asialoglycoprotein receptor. *J Biol Chem*, 265: 1841-1846
- ST-PIERRE A, CANTIN B, DAGENAIS G., MAURIÈGE P, BERNARD P. M., DESPRÉS J. P., LAMARCHE B. (2005).** Low-density lipoprotein subfractions and the long-term risk of ischemic heart disease in men: 13-year follow-up data from the Québec cardiovascular study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25: 553-59
- STRACK V., HENNIGE A. M., KRUTZFELDT J., BOSSENMAIERS B., LEIN H. H., KELLERER M., LAMMERS R. HARING H. U. (2000).** Serine residues 994 and 1023/25 are important for insulin receptor kinase inhibition by protein kinase C isoforms beta2 and theta. *Diabetologia* 43; 443-449
- STREIT W. R., ENTCHEVA P. (2003).** Biotin in microbes, the genes involved in its biosynthesis, its biochemical role and perspectives for biotechnological production. *Appl Microbiol Biotechnol*, 61; 21-31
- SUCHY S. F., WOLF B. (1986).** Effect of biotin deficiency and supplementation on lipid metabolism in rats: cholesterol and lipoproteins. *Am J Clin Nutr*, 43: 831-838

- SUGITA Y., SHIRAKAWA H., SUGIMOTO R., FURUKAWA Y., KOMAI M. (2008).** Effect of biotin treatment on hepatic gene expression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, 72: 1290-129
- SUN X. J., LIU F. (2009).** Phosphorylation of IRS proteins: yin-yang regulation of insulin signaling. En: Litwack G. ed. *Vitamins and Hormones*. USA. Academic Press. pp. 353-387
- SUVAG S., UTZSCHNEIDER K. M., KAHN S. E. (2013).** Treatment with thiazolidinediones. En: Beck-Nielsen H. ed. *The Metabolic Syndrome*. New York, USA. Springer-Verlag Wien. pp. 117-146
- TAGHIBIGLOU C., CARPENTIER A., VAN-IDERSTINE S. C., CHEN B., RUDY D., AITON A., LEWIS G. F., ADELI K. (2000).** Mechanisms of hepatic very low-density lipoprotein overproduction in insulin resistance. *J Biol Chem*, 275: 8416-25
- TAGHIBIGLOU C., RASHID-KOLVEAR F., VAN IDERSTINE S. C., LE-TIEN H., FANTUS I. G., LEWIS G. F., ADELI K. (2002).** Hepatic very low density lipoprotein-ApoB overproduction is associated with attenuated hepatic insulin signaling and overexpression of protein-tyrosine phosphatase 1B in a fructose-fed hamster model of insulin resistance. *J Biol Chem*, 277: 793-803
- TAKAGAWA Y., BERGER M. E., HORI M. T., TUCK M. L., GOLUB M. S. (2001).** Long-term fructose feeding impairs vascular relaxation in rat mesenteric arteries. *Am J Hypertens*, 14: 811-817
- TAKAKI A., KAWAI D., YAMAMOTO K. (2013).** Multiple hits, including oxidative stress, as pathogenesis and treatment target in non-alcoholic steatohepatitis (NASH). *Int J Mol Sci*, 14: 20704-20728
- TANTI J., CEPPO F., JAGER J., BERTHOU F. (2013).** Implication of inflammatory signaling pathways in obesity-induced insulin resistance. *Front Endocrinol*, 3: 1-15
- TAPPY L., EGLI L., TRAN C. (2014).** Metabolism of nutritive sweeteners in humans. En: Rippe J. M. ed. *Fructose, High Fructose Corn Syrup, Sucrose and Health, Nutrition and Health*. New York, USA. Springer Science + Business Media New York, pp. 35-50
- TAPPY L., LE K. (2010).** Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. *Physiol Rev*, 90: 23-46
- TEIJÓN-RIVERA J. M., GARRIDO-PERTIERRA A. BLANCO-GAITÁN D., VILLAVERDE-GUTIÉRREZ C., MENDOZA-OLTRAS C., RAMÍREZ-RODRIGO J. (2006)** Fundamentos de bioquímica metabólica. Madrid, España: Tébar S.L. pp. 157-158
- THIRUNAVUKKARASU V., NANDHINI A. T., ANURADHA C. V. (2004).** Lipoic acid attenuates hypertension and improves insulin sensitivity, kallikrein activity and nitrite levels in high fructose-fed rats. *J Comp Physiol B*. 174: 587-92
- TOLEDO-LÓPEZ Z. (2014).** *Estudio del efecto hipotensor de la biotina en la contracción arterial*. Tesis de Licenciatura de químico farmacobiología. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, UMSNH. Morelia, Michoacán
- TRAN L. T., MACLEOD K. M., MCNEILL J. H. (2014).** Selective alpha1-adrenoceptor blockade prevents fructose-induced hypertension. *Mol Cell Biochem*, 392: 205-211
- TSCHITTER, FRITSCHÉ A., SHIRKAVAND F., FRITSCHÉ A., SHIRKAVAND F., MACHICAO F., HÄRING, H., STUMVOLL M. (2003).** Assessing the shape of the glucose curve during an oral glucose tolerance test. *Diabetes Care*, 26: 1026-1033
- UENO M., BEZERRA R. M., SILVA M. S., TAVARES D. Q., CARVALHO C. R., SAAD M. J. (2000).** A high-fructose diet induces changes in pp185 phosphorylation in muscle and liver of rats. *Braz J Med Biol Res*, 33: 1421-1427

- UYEDA K., REPA J. J. (2006).** Carbohydrate response element binding protein, ChREBP, a transcription factor coupling hepatic glucose utilization and lipid synthesis. *Cell Metab*, 4:107-110
- VACCA M., ALLISON M., GRIFFIN J. L., VIDAL-PUIG A. (2015).** Fatty acid and glucose sensors in hepatic lipid metabolism: implications in NAFLD. *F Med Sci*, 35:250-261
- VAGUE J. (1947).** Sexual differentiation. A factor affecting the forms of obesity. *Presse Medicale*, 30: S39-S40
- VERGÉS B. (2010).** Abnormal hepatic apolipoprotein B metabolism in type 2 diabetes. *Atherosclerosis*, 211: 353-60
- VESELY D. L. (1982).** Biotin enhances guanylate cyclase activity. *Science*, 216: 1329-1330
- VILCHES-FLORES A., FERNÁNDEZ-MEJÍA C. (2005).** Efecto de la biotina sobre la expresión genética y el metabolismo. *Revista de Investigación Clínica*, 57: 716-724
- VIOLLET B., FORETZ M., GUIGAS B., HORMAN S., DENTIN R., BERTRAND L., HUE L., ANDREELLI F. (2006).** Activation of AMP-activated protein kinase in the liver: a new strategy for the management of metabolic hepatic disorders. *J Physiol*, 574: 41-53
- VITTONI L., MUNDIÑA-WEILENMANN (2008).** Endotelio vascular e hipertensión. En De-la-Serna, F., Cingolani H. *Tratado de Cardiología de la Federación Argentina de Cardiología*. [En Línea]. (27 de enero de 2009) <http://www.fac.org.ar/1/publicaciones/libros/tratfac/hta_01/endoteliO2.pdf> (Accesado el 17 de julio de 2016)
- WANG T. D., CHEN W. J., LIN J. W., CHEN M. F., LEE Y.T. (2004).** Effects of rosiglitazone on endothelial function, c-reactive protein, and components of the metabolic syndrome in nondiabetic patients with the metabolic syndrome. *Am J Cardiol*. 93: 362-5
- WATANABE-KAMIYAMA M., KAMIYAMA S., HORIUCHI K.,** Antihypertensive effect of biotin in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Br J Nutr*, 2008; 99:756-763
- WELTY F. K. (2013).** How do elevated triglycerides and low HDL-cholesterol affect inflammation and atherothrombosis? *Curr Cardiol Rep*, 15: 1-22
- WILCOX G. (2005).** Insulin and insulin resistance. *Clin Biochem Rev*, 26: 19-39
- WILDIERS E. (1901).** Nouvelle substance indispensable au developpement de la levure. *La Cellule*, 18: 313-332
- WÓJCIK C. (2014).** Dyslipidemias. En: PAULMAN P., TAYLOR R., eds. *Family Medicine*. New York, USA, pp. 1-11
- WOLF B., GRIER R. E., MCVOY J. R., HEARD G. S. (1985).** Biotinidase deficiency: A novel vitamin recycling defect. *J Inherit Metab Dis*, 8: 53-58
- WONG S. K., CHIN K. Y., SUHAIMI F. H., FAIRUS A., IMA-NIRWANA S. (2016).** Animal models of metabolic syndrome: a review. *Nutr Metab (Lond)*, 13: 1-12
- YAMAZAKI M., MUNETSUNA E., HIROYA Y., YOSHITAKA A., GENKI M., YURI M., KANAKO K., HIROAKI I., RYOJI T., KOJI S., KOJI O. (2016).** Fructose consumption induces hypomethylation of hepatic mitochondrial DNA in rats, *Life Sci*, 149: 146-52
- YILMAZ Y. (2012).** Review article: is non-alcoholic fatty liver disease a spectrum, or are steatosis and non-alcoholic steatohepatitis distinct conditions? *Aliment Pharmacol Ther*, 36: 815-823

- YKI-JÄRVINEN H. (2015).** Nutritional modulation of non-alcoholic fatty liver disease and insulin resistance. *Nutrients*, 7: 9127-9138
- YOSHIDA H., KISUGI R. (2010).** Mechanisms of LDL oxidation. *Clin Chim Acta*, 411: 1875-882
- YOUNGREN J. (2007).** Regulation of insulin receptor function. *Cell Mol Life Sci*, 64: 873-9
- YUHANNA I. S., ZHU Y., COX B. E., HAHNER L. D., OSBORNE-LAWRENCE S., LU P., MARCEL Y. L., ANDERSON R. G., MENDELSON M. E., HOBBS H. H., SHAUL P. W. (2001).** High-density lipoprotein binding to scavenger receptor-BI activates endothelial nitric oxide synthase. *Nat Med*, 7:853-857
- YUNOKI K., NAKAMURA K., MIYOSHI T., ENKO K., KUBO M., MURAKAMI M., HATA Y., KOHNO K., MORITA H., KUSANO K. F., ITO H. (2011).** Impact of hypertriglyceridemia on endothelial dysfunction during statin ± ezetimibe therapy in patients with coronary heart disease. *Am J Cardiol*, 108: 333-339
- ZEMANOVA Z., STRNADOVA M., JIRSOVA Z., KLUSONOVA P. (2009).** Occurrence of lipids in the liver of the hypertriglyceridemic rats. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 153: 37-40
- ZEMPLENI J. (2005).** Uptake, localization, and noncarboxylase roles of biotin. *Annu Rev Nutr*, 25: 175-196
- ZEMPLENI J., WIJERATNE S. S., HASSAN Y. I. (2009).** Biotin. *Biofactors*, 35: 36-46
- ZEMPLENI J., WIJERATNE S. S., KUROISHI T. (2012).** Biotin. En ERDMAN J. W., MACDONALD I. H., ZEISEL S. H. eds. *Present Knowledge in Nutrition*. Iowa, USA, pp. 359-374
- ZHANG H., OSADA K., SONE H., FURUKAWA Y. (1996).** A high biotin diet improves the impaired glucose tolerance of long-term spontaneously hyperglycemic rats with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 42: 517-526
- ZHANG H., OSADA K., SONE H., FURUKAWA Y. (1997).** Biotin administration improves the impaired glucose tolerance of streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*, 43: 271-280
- ZHAO Y., VANHOUTTE P. M., LEUNG S. W. S. (2015).** Vascular nitric oxide: beyond eNOS, *J Pharmacol Sci*, 2: 83-94
- ZIMMET P., ALBERTI G., SHAW J. (2005).** Nueva definición mundial de la FID del síndrome metabólico: argumentos y resultados. *Diabetes Voice*, 50: 31-33
- ZUBIRÍA M. G., FARIÑA J. P., MORENO G., GAGLIARDINO J. J., SPINEDI E., GIOVAMBATTISTA A. (2013).** Excess fructose intake-induced hypertrophic visceral adipose tissue results from unbalanced precursor cell adipogenic signals. *FEBS J*. 280: 5864-587