



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE BIOLOGIA



**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA  
EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ÁREA TEMÁTICA: BIOTECNOLOGÍA ALIMENTARIA**

**“EFECTO DE DIETAS RICAS EN GRASA Y AZÚCAR SOBRE EL PERFIL LIPÍDICO Y  
EL SISTEMA ANTIOXIDANTE EN EL HÍGADO Y CORAZÓN DE RATAS”**

**Tesis para obtener el grado de Maestro en  
Ciencias Biológicas**

Presenta:

**BIÓL. MIGUEL TLACAELEL CANDELARIO DOMÍNGUEZ**

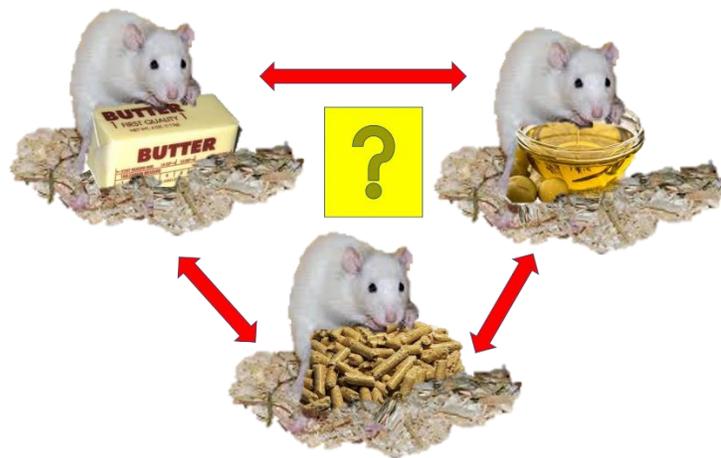
Asesor de Tesis:

**D.C. PATRICIA RÍOS CHÁVEZ**



Morelia, Michoacán, México, febrero 2024

**EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL LABORATORIO DE FITOBIOQUÍMICA (B4) DE LA FACULTAD DE BIOLOGÍA (U.M.S.N.H) BAJO LA DIRECCIÓN DE LA D.C. PATRICIA RÍOS CHÁVEZ**



## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo durante la realización de este trabajo para la culminación de mi maestría.

También agradecer a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y la Facultad de Biología por el privilegio de tener una buena formación en el nivel profesional y como ahora en mis estudios de maestría en el Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas.

Agradezco principalmente a mi asesora de tesis, la Dra. Patricia Ríos Chávez por la paciencia, orientación al desarrollo de este trabajo que fue un apoyo para mi crecimiento como profesional.

También mi más sincero agradecimiento a mis sinodales Dr. Asdrubal Aguilera Méndez, a la Dra. Berenice Yahuaca Juárez, al Dr. Daniel Godínez Hernández y al Dr. Pedro Antonio García Saucedo, los cuales apoyaron con sus observaciones y conocimiento.

Por último y no menos importante, agradezco a mi familia que siempre estuvo a mi lado, también a mis compañeros y amigos de laboratorio por la motivación y la orientación que en su momento aportaron.

## ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS.....	1
ÍNDICE DE TABLAS.....	2
RESUMEN.....	3
ABSTRACT.....	4
1. INTRODUCCION.....	5
2. ANTECEDENTES.....	7
2.1. Obesidad y consecuencias .....	7
2.2. Sistemas antioxidantes y radicales libres.....	9
3. JUSTIFICACION .....	15
4. HIPOTESIS .....	16
5. Objetivo General.....	17
5.1. Objetivos Específicos.....	17
6. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL .....	18
7. MATERIALES Y METODOS.....	19
7.1. Organismos.....	19
7.2. Inducción de la obesidad.....	19
7.3. Tratamientos.....	19
7. 4. Determinación del índice de estrés oxidativo (OSI) .....	20
7.5. Determinación del sistema antioxidante enzimático.....	20
7.5.1 catalasa (CAT).....	20
7.5.2 Superóxido dismutasa (SOD).....	20
7.5.3 Glutatión peroxidasa (GPx).....	21
7.6. Técnica de glutatión reducido (GSH).....	21
7.7. Determinación de la Paraoxonasa (PON1).....	21
7.8. Productos de proteína de oxidación avanzada (AOPP) .....	21

<b>7.9. Determinación de malondialdehído (MDA) y hidroxinonenal (HNE).....</b>	<b>22</b>
<b>7.10. Extracción de lípidos.....</b>	<b>22</b>
<b>7.11. Determinación de la concentración de ácidos grasos.....</b>	<b>22</b>
<b>7.11.1. Extracción de ácidos grasos de órganos de rata.....</b>	<b>22</b>
<b>7.11.2. Metil-esterificación.....</b>	<b>22</b>
<b>7.12. Análisis estadístico.....</b>	<b>23</b>
<b>8. RESULTADOS.....</b>	<b>24</b>
<b>8.1. Estado antioxidante total (TAS).....</b>	<b>24</b>
<b>8.2. Estado oxidante total (TOS).....</b>	<b>24</b>
<b>8.3. Índice de estrés oxidativo (OSI) .....</b>	<b>25</b>
<b>8.4. Sistema antioxidante enzimático.....</b>	<b>26</b>
<b>8.4.1. Catalasa (CAT).....</b>	<b>26</b>
<b>8.4.2. Superóxido dismutasa (SOD).....</b>	<b>26</b>
<b>8.4.3. Glutación peroxidasa (GPx).....</b>	<b>27</b>
<b>8.5. MDA y HNE.....</b>	<b>28</b>
<b>8.6. Productos proteicos de oxidación avanzada (AOPP).....</b>	<b>29</b>
<b>8.7. Glutación reducido (GSH).....</b>	<b>30</b>
<b>8.8. Paraoxonasa (PON1).....</b>	<b>31</b>
<b>8.9. Composición en ácidos grasos.....</b>	<b>31</b>
<b>9. DISCUSION.....</b>	<b>35</b>
<b>10. CONCLUSIÓN.....</b>	<b>37</b>
<b>11. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>38</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estrategia experimental utilizada en este trabajo.....	18
<b>Figura 2.</b> Niveles del estado antioxidante total (TAS) de hígado y corazón.....	24
<b>Figura 3.</b> Niveles de estado oxidativo (TOS) en hígado y corazón.....	25
<b>Figura 4.</b> Niveles del índice de estrés oxidativo (OSI) en hígado y corazón.....	25
<b>Figura 5.</b> Actividad de CAT en hígado y corazón.....	26
<b>Figura 6.</b> Actividad de SOD en hígado y corazón.....	27
<b>Figura 7.</b> Actividad de GPX en hígado y corazón.....	27
<b>Figura 8.</b> Niveles de MDA en hígado y corazón.....	28
<b>Figura 9.</b> Niveles de HNE en hígado y corazón.....	29
<b>Figura 10.</b> Niveles de AOPP en hígado y corazón.....	29
<b>Figura 11.</b> Niveles de GSH en hígado y corazón.....	30
<b>Figura 12.</b> Actividad de la enzima PON 1 en hígado y corazón.....	31

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Porcentaje de ácidos grasos que componen la margarina.....	32
<b>Tabla 2.</b> Porcentaje de ácidos grasos que componen la manteca de cerdo.....	32
<b>Tabla 3.</b> Porcentaje de ácidos grasos que componen la grasa vegetal.....	33
<b>Tabla 4</b> Porcentaje de ácidos grasos en el corazón con diferentes dietas .....	33
<b>Tabla 5.</b> Porcentaje de ácidos grasos en el hígado con diferentes dietas.....	34

## RESUMEN

**Antecedentes:** El aumento de la ingestión de alimentos con grasas y carbohidratos durante un período prolongado conduce a la dislipidemia que contribuye a varias complicaciones como la obesidad, la diabetes, la aterosclerosis y la hipertensión. Estas dietas aumentan la deposición de grasa en los tejidos adiposo, hepático y cardíaco, causando especies reactivas de oxígeno (ROS) y daño oxidativo. Los antioxidantes dentro de las células pueden regularse y movilizarse para neutralizar la formación de ROS. El estrés oxidativo (OS) produce un mayor número de productos de oxidación de lípidos y proteínas y una disminución en la actividad de las enzimas antioxidantes, así como un aumento en los marcadores de estrés oxidativo. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el estado oxidante total (TOS), el estado antioxidante total (TAS) y las actividades de las enzimas antioxidantes en el hígado y el corazón de ratas Wistar macho alimentadas con tres dietas diferentes:

**Métodos:** Control (ratas alimentadas con una dieta normal), Dieta 1: 41.6 % grasa (manteca de cerdo y vegetal 1:1) y 20.0 % fructosa Dieta 2: 41.6% grasa (manteca de cerdo y vegetal 1:1) y 16.6 % sacarosa y Dieta 3: 40% grasa (margarina) y 20% sacarosa durante 12 semanas. Se midieron los parámetros del estado oxidante (TOS y TAS), así como las enzimas antioxidantes y los biomarcadores de estrés oxidativo. Por último, se analizaron el perfil de ácidos grasos en el hígado y corazón.

**Resultados:** Las tres dietas mostraron un aumento de TOS y disminución de TAS en el hígado y el corazón de ratas, dando por resultado un índice de estrés oxidativo (OSI) significativamente mayor que en el grupo control. La dieta 1 mostró un mayor efecto sobre la actividad del sistema antioxidante en el hígado produciendo un incremento en el estrés oxidativo a diferencia de las otras dietas. Sin embargo, las dietas 2 y 3 presentaron un mayor efecto sobre el sistema antioxidante en el corazón. Finalmente, el perfil lipídico se modificó tanto en el hígado como en el corazón a consecuencias de las dietas, siendo la dieta 3 la que presentó una disminución de los ácidos grasos saturados e insaturados a diferencia de las otras dietas y el control.

**Conclusión:** El estrés oxidativo que se genera durante la obesidad depende del tipo de grasas y azúcares que se consuman.

**Palabras claves:** Obesidad, Estrés oxidativo, Biomarcadores, Enzimas Antioxidantes, Ácidos grasos.

## **ABSTRACT**

**Background:** Increased intake of fatty and carbohydrate foods over a prolonged period leads to dyslipidemia which contributes to several complications such as obesity, diabetes, atherosclerosis and hypertension. These diets increase fat deposition in adipose, liver and heart tissues, causing reactive oxygen species (ROS) and oxidative damage. Antioxidants within cells can be regulated and mobilized to neutralize ROS formation. Oxidative stress (OS) produces an increased number of lipid and protein oxidation products and a decrease in the activity of antioxidant enzymes, as well as an increase in oxidative stress markers. The present study aimed to evaluate total oxidant status (TOS), total antioxidant status (TAS) and antioxidant enzyme activities in the liver and heart of male Wistar rats fed three different diets:

**Methods:** Control (rats fed a normal diet), Diet 1: 41.6% fat (lard and vegetable 1:1) and 20.0% fructose Diet 2: 41.6% fat (lard and vegetable 1:1) and 16.6 % sucrose and Diet 3: 40% fat (margarine) and 20% sucrose for 12 weeks. Oxidant status parameters (TOS and TAS), as well as antioxidant enzymes and oxidative stress biomarkers, were measured. Finally, the fatty acid profile in the liver and heart was analyzed.

**Results:** The three diets showed an increase in TOS and a decrease in SBP in the liver and heart of rats, resulting in a significantly higher oxidative stress index (OSI) than in the control group. Diet 1 showed a greater effect on the activity of the antioxidant system in the liver, producing an increase in oxidative stress unlike the other diets. However, diets 2 and 3 had a greater effect on the antioxidant system in the heart. Finally, the lipid profile was modified in both the liver and the heart as a result of the diets, with diet 3 being the one that presented a decrease in saturated and unsaturated fatty acids unlike the other diets and the control.

**Conclusion:** The oxidative stress generated during obesity depends on the type of fats and sugars consumed.

**Keywords:** Obesity, Oxidative stress, Biomarkers, Antioxidant Enzymes, Fatty acids.

## INTRODUCCIÓN

Los factores ambientales y la nutrición pueden afectar la aparición de enfermedades como la diabetes mellitus, cardio-vasculares y obesidad por mencionar algunas. El contenido de grasa y su composición en la dieta es un factor importante en estas enfermedades. De las 35 dietas más mencionadas en la literatura, las de mayor interés son la mediterránea, la occidental y la estadounidense.

La dieta estilo mediterráneo tiene menos grasas y carbohidratos que una dieta occidental típica, ayuda a llevar los niveles de azúcar en sangre más estables, colesterol y triglicéridos más bajos, y conduce a un riesgo menor de desarrollar enfermedades cardíacas y otros problemas de salud (Carbajal, 2001). En cambio, la dieta estadounidense se caracteriza por un consumo excesivo de carnes rojas, alimentos procesados, grasas saturadas, azúcares refinados y muy poca ingesta de fibra y vitaminas, favoreciendo la obesidad (Balcárcel, 2017).

La excesiva cantidad de grasas y azúcares genera una alta producción de moléculas dañinas, llamadas especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden ser radicales y no radicales; como, por ejemplo, el anión superóxido, hidroxilo y peróxido de hidrógeno.

Las ROS son neutralizadas por otras moléculas llamadas antioxidantes. Algunos antioxidantes se pueden obtener de la dieta, como las vitaminas E y C, y otros son sintetizados por la célula, como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPx).

El estrés oxidativo se manifiesta como el incremento de las ROS de forma excesiva, sobrepasando los niveles de antioxidantes, encargados de neutralizar las ROS. Por ello, estas moléculas dañinas quedan libres reaccionando con otras moléculas (ADN, proteínas y lípidos), modificándolas y alterando su funcionamiento. Una consecuencia de este tipo de estrés es el aumento de productos tóxicos de la lipoperoxidación, como lo son el malondialdehído (MDA) y 4-hidroxinonenal (HNE) y productos avanzados de oxidación de proteínas (AOPP), conjuntamente con bajos niveles de glutatión reducido (GSH) en hígado y corazón. Además, este estrés modifica el estatus antioxidante del organismo.

El estatus antioxidante del plasma es el resultado concomitante de muchos compuestos e interacciones metabólicas sistémicas. La medición de esta capacidad antioxidante combinada puede ser más relevante que la determinación individual de los antioxidantes presentes en la sangre (Avello, 2006). Se puede obtener el índice de estrés oxidativo (ISO), por medio del estatus antioxidante total (TAS) con relación al estatus oxidante total (TOS). Los órganos mayormente afectados en la obesidad son el hígado y el corazón. El hígado graso es común en la obesidad, así como la

aterosclerosis y las afectaciones cardíacas (Musaad y Haynes, 2007; Alaminos-Castillo *et al.*, 2019).

Es evidente que la ingesta excesiva de azúcares y grasas aumenta la producción de las ROS y por consiguiente modifica el estatus antioxidante total. Sin embargo, la intensidad de este efecto puede depender del tipo de grasa y azúcar.

Las diferencias entre el metabolismo hepático de la glucosa y el de la fructosa, está en que una alta proporción de fructosa, promueve una mayor generación de triosas fosfatos, para la síntesis de triacilglicérols (TAG), acetil Co-A entra al ciclo de los ácidos tricarbónicos y una intensa lipogénesis de *novo*. Los TAG sintetizados pueden ser derivados al plasma o permanecer como depósito intrahepático, dependiendo del lapso en el que se han estado ingiriendo altos niveles de fructosa (Esquivel-Solís y Gómez-Salas, 2007).

La grasa animal, en comparación de la vegetal, tiene una composición diferente de ácidos grasos (monoinsaturados, poliinsaturados y saturados), modifica el efecto sobre el perfil lipídico y niveles de colesterol, HDL, LDL y triglicéridos, así como también el índice de estrés oxidativo del organismo (Alfonso y Ariza, 2008).

Dietas ricas en grasa saturadas a largo plazo actúan como inductores del estrés oxidativo, ya que disminuyen el sistema antioxidante en el hígado e incrementan los productos de la lipoperoxidación.

Para conocer la importancia de la fuente y la composición de las grasas y azúcares que están presentes en nuestra dieta, el objetivo del presente trabajo, fue comparar el efecto de una dieta con grasa animal y vegetal y una dieta con grasa vegetal así con dos tipos diferentes de azúcar sobre el estatus oxidante y el perfil lipídico.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Obesidad y consecuencias

La obesidad se refiere a una proporción alta de grasa corporal, causada por un desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas (Latha *et al.*, 2010). La Organización Mundial de la Salud (OMS) (2021) define el sobrepeso si el índice de masa corporal (IMC) es igual o superior a 25 y obesidad igual o superior a 30.

El IMC es un indicador simple de la relación entre el peso y la talla que se utiliza frecuentemente para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos. Se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )

La obesidad puede considerarse una enfermedad crónica recidivante, progresiva (Kopelman, 2000) y un importante factor de riesgo de muerte a nivel mundial. Para resaltar la amenaza que supone para la salud pública, la OMS declaró la obesidad como una epidemia mundial, destacando además que en muchos casos sigue siendo un problema poco reconocido de la agenda de salud pública (James, 2008).

Se ha descubierto que la obesidad está asociada a diversos trastornos, como la artrosis (Azimi *et al.*, 2013), las cardiopatías isquémicas (Kyrou *et al.*, 2018), la aterosclerosis, la diabetes y la hipertensión (Pi-Sunyer, 2009).

México ocupa el segundo lugar mundial de obesidad en la población adulta, la cual es diez veces mayor que la de países como Japón y Corea (Dávila-Torres, 2015). A nivel nacional, en 2018, el porcentaje de adultos de 20 años y más con sobrepeso y obesidad es de 75.2% (39.1% sobrepeso y 36.1% obesidad). Mientras que de 5 a 11 años 35.6% y en la población 12 a 19 años de 38.4% de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (2018-19).

La obesidad se caracteriza por un exceso de tejido adiposo, el cual se acumula debido a un desbalance entre la toma de energía y el gasto de esta. La grasa en la obesidad se acompaña de una hipertrofia e hiperplasia de los adipocitos. Los cambios de los adipocitos dependen del número de preadipocitos, a este proceso se le llama adipogénesis

La acumulación excesiva de grasas en el cuerpo, a partir del sobrepeso hasta la obesidad, aumenta el riesgo de padecer enfermedades crónicas, por lo cual, es el sexto factor de muerte en el mundo. La primera causa de muerte por el exceso de peso son las enfermedades cardiovasculares, seguido de la diabetes y, por último, los riesgos de padecer cáncer (de endometrio, de mama, de ovarios, de próstata, de hígado, entre otros).

La dieta estilo mediterráneo tiene menos carnes y carbohidratos que una dieta occidental. También tiene más alimentos a base de vegetales y grasas monoinsaturadas. Las personas que viven en Italia, España y otros países en la región mediterránea han comido de esta manera durante siglos. Seguir la dieta mediterránea puede llevar a niveles de azúcar en sangre más estables, colesterol y triglicéridos más bajos y a un menor riesgo de desarrollar enfermedades cardíacas y otros problemas de salud (Carbajal, 2001).

En cambio, la dieta occidental se caracteriza por el consumo excesivo de carnes rojas, alimentos procesados, grasas saturadas, azúcares refinados y muy poca ingesta de fibra y vitaminas. Esta dieta rica en calorías debilita la salud y el sistema inmune, además de que favorece la obesidad, una de las principales epidemias de nuestro tiempo.

La dieta estadounidense es similar a la occidental, con la diferencia que la proporción de grasas es de 40% o más. Por desgracia la dieta occidental y la estadounidense cada vez son más adoptadas por la población del mundo siendo esto un gran factor de riesgo (Balcárcel, 2017).

Desde 1975, la obesidad se ha casi triplicado en todo el mundo. De acuerdo a la última información de la OMS en 2016, para ese año el 39% de las personas adultas de 18 o más años tenían sobrepeso y el 13% eran obesas. La mayoría de la población mundial vive en países donde el sobrepeso y la obesidad cobran más vidas de personas que la insuficiencia ponderal (OMS, 2021).

Existen dos fuentes de ácidos grasos en los animales: la exógena que proviene de los ácidos grasos de la dieta y la endógena que es la síntesis de ácidos grasos. La biosíntesis (lipogénesis) es un proceso regulado por varias enzimas. La sintasa de ácidos grasos (FAS) y la acetil-CoA carboxilasa (ACC) constituyen las enzimas en la síntesis de los lípidos. La FAS es un complejo multienzimático de 250 kDa que contiene siete dominios funcionales; es la enzima clave en la síntesis de *novo* de los ácidos grasos de cadena larga, que comienza con la condensación del acetil-CoA y una molécula de malonil-CoA, usando NADPH como cofactor hasta llevar a la formación de palmitato. Esta se expresa fuertemente en los tejidos lipogénicos como son el hígado, en el busto, cuando se está en lactancia, en los pulmones en la etapa fetal y en el tejido adiposo (Abdel-Magid 2015).

Su regulación está sujeta a un control hormonal y nutricional. Se sabe que cambios en la actividad de la FAS se deben principalmente a alteraciones en la velocidad de transcripción del gen FAS. La ACC por otro lado, cataliza la formación del malonil-CoA, el cual es el sustrato de la FAS y del sistema de elongación de los ácidos grasos (Ortega et al, 2009). A la ACC y FAS se les ha llamado agentes anti-obesidad debido a varios reportes donde demuestran que la modulación en la síntesis de los

ácidos grasos mediante un inhibidor puede reducir la toma de alimentos, incrementar la beta-oxidación de los ácidos grasos, produciendo una rápida pérdida de peso (Waldrop y Stephens, 2003; Liang et al., 2013).

## **2.2. Sistemas antioxidantes y radicales libres**

El estrés oxidativo es la exposición de los seres vivos a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes (Venereo-Gutiérrez, 2002). La importancia de los antioxidantes radica en el papel fisiológico que desempeñan, ya que los antioxidantes ayudan a prevenir algún daño de los componentes celulares como consecuencia de las reacciones químicas que implican a los radicales libres (Young y Woodside, 2001).

Los radicales libres (RL) participan en funciones de diversos procesos homeostáticos como intermediarios en reacciones de oxidación-reducción y se producen por diferentes mecanismos, en los que se encuentra la cadena transportadora de electrones en la mitocondria (Chihuilaf et al., 2002). Los RL son átomos, moléculas o iones con un electrón no apareado en su último nivel orbital y son altamente inestables y activos por lo que intervienen en reacciones químicas con biomoléculas.

Se derivan específicamente de tres elementos: oxígeno, nitrógeno y azufre, creando así especies reactivas de oxígeno (ROS), nitrógeno y azufre (Carocho y Ferreira, 2013). Las consecuencias del daño celular difieren y dependen del nivel y lugar de la generación de las ROS, eficiencia de los sistemas antioxidantes y los componentes celulares con los que interactúan (Lushchak, 2014). En circunstancias de estrés oxidativo se produce un daño en las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos principalmente, modificando su función y, por lo tanto, la formación excesiva de radicales libres en la célula puede llevar a una sobreexpresión de genes oncogénicos, generación de compuestos mutágenos, promoción de actividad aterogénica y aparición de placa senil o inflamación (Pisoschi y Pop, 2015).

De esta forma, los RL están directamente involucrados en el daño celular y el envejecimiento, lo cual afecta una amplia variedad de funciones fisiológicas contribuyendo a la iniciación de enfermedades en distintos órganos, tales como: enfermedades cardiovasculares, cáncer, Parkinson, Alzheimer, cataratas, entre otras (Lachance et al., 2001; Rathod et al., 2016). La obesidad afecta a varios órganos en el cuerpo, como el hígado y el corazón, ya que estos órganos son mayormente afectados y presentan mayor número de complicaciones entre las personas obesas. El hígado graso es común en la obesidad, así como la aterosclerosis y las afectaciones cardíacas (Pi-Sunyer, 2002; Musaad y Haynes, 2007; Alaminos-Castillo et al., 2019).

Las células cuentan con una serie de mecanismos enzimáticos de defensa, como son la enzima superóxido dismutasa, la catalasa y la enzima glutatión peroxidasa y

sistemas de naturaleza no enzimática como el glutatión reducido, vitamina C y vitamina E presentes en el propio organismo, así como los antioxidantes que provienen de la dieta (Bhattacharyya et al., 2014).

Las enzimas antioxidantes, como la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y las peroxidasas y los eliminadores de radicales libres no enzimáticos (GSH) convierten las especies reactivas de oxígeno en agua y oxígeno, las moléculas estables. Se sabe que estos sistemas antioxidantes protegen las células y los tejidos contra el daño oxidativo causado por especies reactivas de oxígeno (Uttara et al., 2009). En la obesidad se incrementan las ROS, lo cual puede afectar a la actividad de la SOD, CAT y GPx (Noeman et al., 2011).

Alternativamente, se sabe que varios sistemas enzimáticos oxidan, reducen o hidrolizan (reacción de fase 1) y luego conjugan o neutralizan de otro modo (reacción de fase 2) fármacos, metabolitos, carcinógenos y otros productos químicos tóxicos, aumentando así su polaridad y excretabilidad. De este modo a las enzimas de fase 2 se les relaciona con la detoxificación (Khanum et al., 2004). La glutatión-S-transferasa (GST) es una enzima de fase 2 involucrada en el metabolismo de ROS y compuestos xenobióticos durante la obesidad (Schwartz et al., 2005). La GST funciona con GSH como sustrato para estabilizar y descomponer las sustancias tóxicas y electrofílicas generadas en el organismo vivo (Kang et al., 2010).

Por otro lado, en la obesidad se dan posibles eventos aterogénicos, por lo cual, la paraoxonasa o arilesterasa (PON1) posee un papel destacado como enzima antiaterogénica. La PON1 participa en regulación del estrés oxidativo, esta podría desempeñar un papel importante como antioxidante y detoxificante (Alaminos-Castillo et al., 2019). Se sintetiza principalmente en el hígado y aparece principalmente en suero y está muy relacionada con las lipoproteínas de alta densidad, es una esterasa dependiente de calcio, la cual detoxifica los lípidos oxidados, esta enzima se encuentra ampliamente distribuida en el hígado, corazón, riñón, intestino pequeño, cerebro y pulmones.

La PON es multifuncional en diversas vías bioquímicas, ya que participa en la protección contra el daño oxidativo y la peroxidación lipídica; la contribución a la inmunidad innata; la desintoxicación de moléculas reactivas y la regulación de la proliferación y apoptosis celular (Ceron et al., 2014; Alaminos-Castillo et al., 2019). Entonces las enzimas son biocatalizadores cruciales en el metabolismo. Por lo tanto, todas las sustancias tomadas en el cuerpo pueden interactuar con varias enzimas, de ahí la importancia en una adecuada actividad enzimática dentro del funcionamiento celular, motivo por el que algunas enzimas se denominan objetivo farmacológico (Demir et al., 2016). Además, los antioxidantes se usan para minimizar muchas enfermedades y los antioxidantes son bien conocidos por actuar como reservas frente al estrés oxidativo.

La alimentación tiene un impacto sobre la salud, ya que puede influir en las enfermedades. Ingredientes como las grasas se sabe que incrementan las enfermedades cardiovasculares, así como afectan otros órganos como el hígado y

los riñones. Dietas ricas en grasas causan dislipidemia, con lo cual hay un incremento en la deposición de lípidos en los tejidos, como es en el hígado dando origen a la esteatosis, y a los riñones causando una excesiva generación de especies reactivas de oxígeno.

Las ROS se producen durante los procesos metabólicos y fisiológicos. Bajo ciertas condiciones, el incremento de oxidante y disminución de los antioxidantes no se puede revertir y el balance oxidante/antioxidante se va al estado oxidativo. La lipoperoxidación es un proceso que ocurre por el aumento de especies reactivas, y se le ha asociado con la progresión de ciertas enfermedades, entre ellas la obesidad. Una dieta rica en ácidos grasos saturados, como el palmítico, incrementa un estrés oxidativo en el hígado, reduciendo los ácidos grasos EPA, DHA y el ácido araquidónico (AA), en diferentes tejidos como el corazón y el riñón.

Los radicales libres (RL) son átomos, moléculas o iones altamente inestables debido a que presentan un electrón no apareado en su último nivel de energía, y por ello reaccionan de manera indeseable con biomoléculas en diferentes procesos químicos. Las especies reactivas pueden ser de oxígeno, nitrógeno y azufre (Carocho y Ferreira, 2013). También participan en procesos homeostáticos como intermediarios en reacciones de oxidación-reducción y se producen por diferentes mecanismos, entre los que se encuentran, la cadena transportadora de electrones en la mitocondria (Chihuilaf et al., 2002). Últimamente se prefiere agrupar en ROS, algunos compuestos como el peróxido de hidrógeno, no constituyen un verdadero radical (Cisneros Prego, et al., 1997).

Un antioxidante es una molécula que inhibe la oxidación de radicales libres y ayuda a prevenir algún daño de los componentes celulares, como consecuencia de sus reacciones químicas (Young y Woodside, 2001).

La sangre contiene muchas moléculas antioxidantes que pueden prevenir o inhibir radicales libres. Se sabe que estos sistemas antioxidantes protegen las células y los tejidos contra el daño oxidativo causado por especies reactivas de oxígeno (Uttara et al., 2009).

Las superóxido dismutasas (SODs -superóxido oxidorreductasas), son un grupo de metaloenzimas presentes frecuentemente en organismos aeróbicos, aerotolerantes y algunos anaerobios obligados. Son esenciales para su defensa contra la toxicidad producida por los metabolitos parcialmente reducidos, generados durante la reducción biológica normal del oxígeno molecular y catalizan la conversión del radical superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ) en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y oxígeno molecular ( $O_2$ ).

La SOD dentro de este sistema de defensa, tiene una función fundamental que consiste en eliminar el radical superóxido antes de que éste reaccione con moléculas biológicas susceptibles y origine otros agentes tóxicos. El peróxido de hidrógeno generado por la acción de la enzima, es eliminado por la catalasa y/o la glutatión peroxidasa. En eucariotas existen tres tipos de SODs de diferente localización, que en su conjunto contribuyen a la regulación de las concentraciones

de este radical. Ellas son: Mn-SOD mitocondrial, CuZn-SOD citosólica y CuZn-SOD extracelular. En estudios realizados en hepatocitos de rata se encontró que el 20% de los  $O_2^-$  formados en la mitocondria pueden pasar al citosol, mientras el 80% restante puede ser neutralizado por la enzima mitocondrial (García Triana *et al.*, 1995).

La catalasa, también llamada hidropoxidasa es una enzima, presente en gran cantidad de seres vivos. Su principal función es descomponer el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua para proteger a la célula de los efectos tóxicos del peróxido de hidrógeno. Por ello está presente en todas las células aeróbicas y su capacidad antioxidante la lleva a estar presente en numerosos procesos fisiológicos (Tasset, 2018).

El glutatión, también conocido como GSH, es un péptido de origen natural que protege a todas las células, tejidos y órganos de los radicales libres tóxicos, y de diversas enfermedades. Se trata de una molécula formada por la asociación de tres aminoácidos: ácido glutámico, cisteína y glicina. Es el principal antioxidante con presencia en todas las células y ayuda a protegerlas de los radicales libres y los tóxicos celulares en general.

Todas las células de nuestro organismo tienen glutatión, pero la síntesis de glutatión en el hígado se ha demostrado que es esencial. En estudios de laboratorio se observa cómo los ratones que no pueden disponer de glutatión en el hígado mueren al cabo de poco tiempo. Cuando la proporción entre glutatión reducido (el dispuesto a actuar) y el oxidado (el ya gastado) se altera, quiere decir que la célula tiene un problema de estrés oxidativo (Cisneros Prego, *et al.*, 1997).

La concentración de los antioxidantes puede medirse por separado, sin embargo, el efecto antioxidante de los componentes de la sangre es aditivo por lo que se ve reflejado en el estado antioxidante total (TAS) del plasma. Por otro lado, con la relación de TOS y TAS se puede obtener el índice de estrés oxidativo (OSI), que es un parámetro más preciso para ver el estado de estrés oxidativo que tiene el organismo (Wu *et al.*, 2016).

El estrés oxidativo se puede definir como el desequilibrio entre las sustancias prooxidantes y los mecanismos antioxidantes debido al contacto con otros compuestos (Venereo-Gutiérrez, 2002). Cuando hay un consumo excesivo de calorías, órganos como el hígado y el corazón mantienen sus niveles energéticos gracias a las vías metabólicas como la  $\beta$ -oxidación mitocondrial y peroxisomal de los ácidos grasos, pero estas vías metabólicas aumentan la producción de ROS e inducen el estrés oxidativo (Houten y Wanders, 2010; Begriche *et al.*, 2013).

Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) provenientes de la dieta en especialmente los  $\omega$ -3, tiene un efecto positivo en el índice aterogénico y el perfil del metabolismo de los lípidos, como el colesterol y las lipoproteínas en el plasma. Los ácidos grasos proveniente del aceite de pescado, como el ácido

eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) son los que presentan mejor efecto anti-aterogénico.

Sin embargo, los PUFA pueden causar deterioro del estatus antioxidante, debido a su fácil oxidación. Se ha visto que una alta ingesta de PUFA incrementa la formación de radicales lipídicos y por consiguiente agotan el sistema antioxidante endógeno. Existen plantas con altos contenidos de ácido  $\alpha$ -linolénico (ALA) que puede ser convertido a EPA y DHA, por lo que se puede presentar nuevamente un desequilibrio del estatus antioxidante (Vecera et al., 2002).

Se ha demostrado que si se cambia una dieta de grasa animal (manteca) por una dieta con aceite vegetal se atenúan los cambios de lipoproteínas en ratas. La manteca contiene en su mayoría ácidos grasos saturados y monoinsaturados los cuales tienen un efecto en el incremento de colesterol y triacilglicerol (TAG) en el suero (Higashi et al., 1997). Sin embargo, hay reportes que el consumo de aceite también tiene un efecto negativo en el estatus antioxidante (Vecera et al., 2002).

Los ácidos grasos (FA) se encuentran en todos los tejidos. La composición de los FA en los fosfolípidos junto con el colesterol tiene un papel importante en la fluidez de la membrana de las células. El estado adecuado de la membrana permite llevar a cabo ciertos procesos metabólicos. El perfil de los FA en los tejidos no solo refleja la grasa que proviene de la dieta sino también el metabolismo de los FA en el cuerpo. Un órgano clave en la síntesis y el metabolismo de los fosfolípidos es el hígado.

Los fosfolípidos son los componentes principales de la membrana celular. Son moléculas anfipáticas compuestas por una región hidrofílica o cabeza polar y una región hidrofóbica compuesta por dos cadenas hidrocarbonadas de ácidos grasos, que constituyen la región apolar o colas apolares. Las colas apolares presentan cierto grado de movilidad debido a su estructura y a la posible presencia de dobles enlaces; estos dobles enlaces las hacen más susceptibles a ser atacadas por las ROS produciendo la lipoperoxidación (De San Román, 1987).

Los modelos animales se han utilizado ampliamente para tener una mejor comprensión sobre la obesidad alimentaria. Los efectos de la dieta dependen no solo de la composición de la dieta, sino también del tipo de roedor. Una gran cantidad de estudios realizados en obesidad utilizan ratas Wistar, lo que las convierte en los roedores ideales para este tipo de experimento (Reuter, 2007; Young y Kirkland, 2007; Hariri y Thibault, 2010; Román et al., 2013).

El desbalance entre la producción de ROS y la defensa antioxidante, provoca un daño orgánico conocido como estrés oxidativo, que lleva a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos, que ocasionan el deterioro y muerte celular. El daño se puede medir mediante métodos directos e indirectos. Entre los primeros se usa la medición de agentes oxidantes, lo cual es poco usado por su corta vida media y lo caro de los equipos, lo que obliga a medirlos indirectamente, mediante la determinación de los productos terminales de la acción oxidante sobre

biomoléculas, como son los productos de la lipoperoxidación (MDA y HNE). Otro es la medición de la concentración de antioxidante que se realiza con la técnica de HPLC (cromatografía líquida de alta resolución), sobre material biológico como plasma, orina o tejido. Para fines prácticos solo se determinan niveles plasmáticos de los antioxidantes siguientes: vitaminas E, C, coenzima Q (ubiquinol) y glutatión. Y por último por la medición del estado oxidativo que refleja el balance entre el sistema oxidante y pro-oxidante y es beneficioso en muchas enfermedades (Cisneros Prego, et al., 1997). No todas las grasas son obesogénicas y el perfil de ácidos grasos en la dieta, en lugar de la cantidad de energía de las grasas, es una variable importante en el desarrollo de la obesidad (Ghibaudi et al., 2002; Kien et al., 2005).

El consumo de aceites vegetales es recomendado por encima de las grasas animales, como la de cerdo, pero los aceites son mucho más inestables debido a sus dobles enlaces que los hacen más susceptibles a la oxidación.

Con base en su metabolismo esplácnico específico (predominantemente hepático), en su potencial lipogénico y en su alto consumo en las dietas modernas, la fructosa aparece como un factor principal no solo del inicio de la esteatosis hepática, sino también de su progresión a EHNA y enfermedades más graves (Jegatheesan, P. et al., 2017).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Existen reportes que concluyen que la cantidad de grasa que se ingiere en la dieta no es la variable que más contribuye al sobrepeso y enfermedades relacionadas. Se menciona que lo más importante es el tipo de grasa y el total de calorías ingeridas. El presente trabajo analizará el efecto que tienen diferentes composiciones de grasas y azúcar en la dieta, sobre la composición de lípidos y su estado antioxidante en ratas Wistar tratadas por 12 semanas.

#### **4. HIPÓTESIS**

El tipo de grasa y azúcar de la dieta diaria, influye en la composición de lípidos y en índice de estrés oxidativo del organismo.

## **5. OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto de diferentes dietas ricas en grasas y azúcar sobre el sistema antioxidante y la composición de ácidos grasos en el hígado y corazón de ratas.

### **5.1. Objetivos específicos**

- 1.- Analizar el efecto de tres dietas diferentes sobre el índice de estrés oxidativo en el hígado y corazón de ratas tratadas durante 12 semanas.
- 2.- Determinar el efecto de tres dietas diferentes sobre las enzimas antioxidantes en el hígado y corazón de ratas tratadas durante 12 semanas.
- 3.- Cuantificar el efecto de tres dietas diferentes sobre la composición de los ácidos grasos en el hígado y corazón de las ratas tratadas durante 12 semanas.

## 6. EXTRATEGIA EXPERIMENTAL

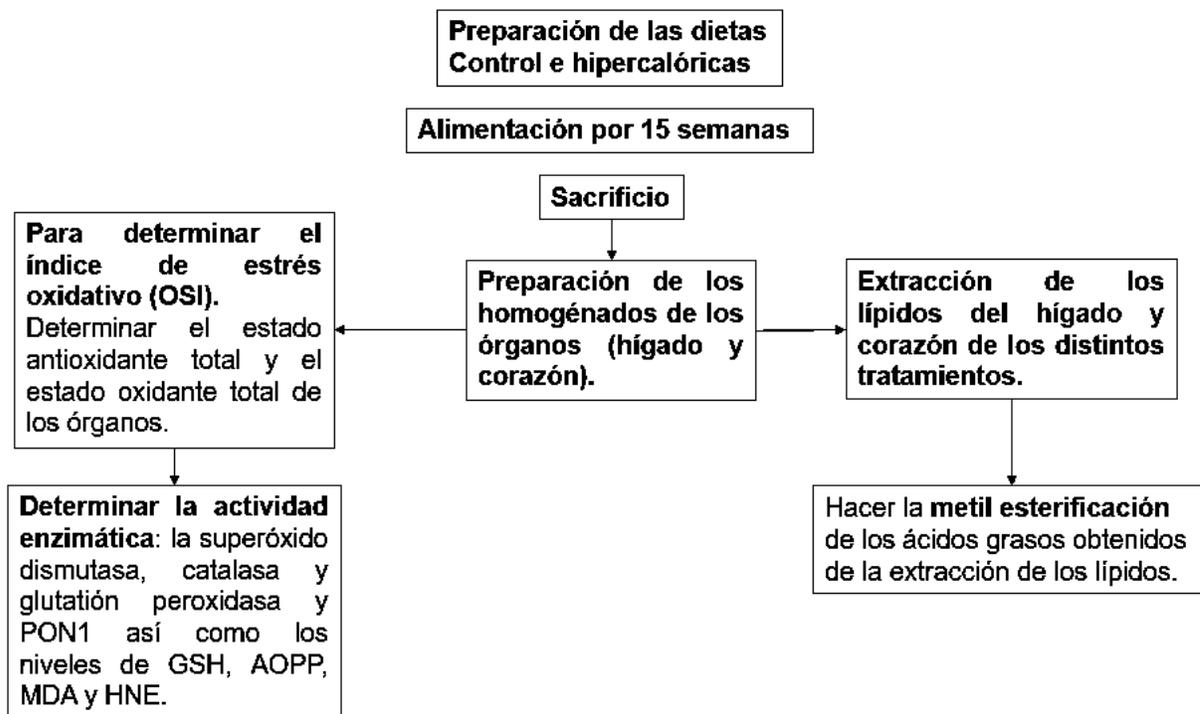


Figura 1. Estrategia experimental utilizada en este trabajo.

## 7. Materiales y Métodos

### 7.1. Organismos

Se utilizarán ratas blancas de la cepa Wistar, todos machos, criados y mantenidos en condiciones estándar: 12 horas de luz/12 horas oscuridad, humedad relativa 60-70 %, temperatura promedio de 20°C, con libre acceso a comida y agua. Los animales serán mantenidos en el Bioterio del Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. La atención de los animales y el proceso experimental se llevará a cabo de acuerdo a la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio, de la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999).

### 7.2. Inducción de la obesidad

Se emplearán el hígado y el corazón de ratas previamente alimentadas (en otro estudio) con tres dietas hipercalóricas. Estas dietas fueron utilizadas por ser muy apetecibles e inducir la obesidad (Von Diemen *et al.*, 2006).

### 7.3. Tratamientos

- **Dieta Control (AN-CONTROL)**  
100% de alimento normal (comida de rata marca *Rodent diet*®) con un aporte calórico de 4.35 kcal/g.
- **Dieta 1 (1AN/GV/MC/F)**  
50.4% de alimento normal (comida de rata marca *Rodent diet*®), 14.8% de manteca de cerdo y 14.8% de grasa vegetal de maíz y fructosa al 20.0% con un aporte calórico de 5.65 kcal/g.
- **Dieta 2 (2AN/GV/MC/SC)**  
41.66% de alimento normal (comida de rata marca *Rodent diet*®), 20.84% de manteca de cerdo y 20.84% de grasa vegetal y sacarosa al 16.66% con un aporte calórico de 5.77 kcal/g.
- **Dieta 3 (3AN/MR/SC)**  
40% de alimento normal (comida de rata marca *Rodent diet*®), 40% margarina y 20% sacarosa con un aporte calórico total de 5.37kcal/g.

#### **7.4. Determinación del índice de estrés oxidativo (OSI)**

Para estimar el índice de estrés oxidativo se necesita obtener el estado antioxidante total TAS (total antioxidant status) y el estado oxidante total (TOS) (total oxidant status).

Se usará la técnica FRAP (Benzie et al., 1996) con modificaciones, para obtener el TAS. El FRAP se basa en el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup>. El complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) incoloro es reducido al complejo ferroso coloreado. A 10 µl de los homogenados de los diferentes órganos se le agregó 90 µl de agua destilada y 1.5 ml de la solución FRAP, se mezcló en un vortex y se dejó reposar en oscuridad durante 20 minutos. Las lecturas se tomaron a 520 nm. Se utilizó una curva patrón de Trolox. Los resultados fueron expresados en mM equivalentes de Trolox/mg de muestra.

Para estimar el estado oxidante total TOS (total oxidant status) se realizó el ensayo de naranja férrico-xilenol (Erel, 2005) en la cual, se agregó 50 µL de muestra de prueba a 950 µL de reactivo FOX1 (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 25 mM, naranja de xilenol 150 µM, sorbitol 100 mM y ion ferroso 250 µM, (pH de 1.8 ± 0.5), seguido de agitación y luego incubación a temperatura ambiente durante 30 min. La absorbancia se leyó a 560 nm después de eliminar el material floculado por centrifugación. La curva estándar se realiza con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y los resultados se expresan como µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/L.

#### **7.5 Determinación del sistema antioxidante enzimático**

##### **7.5.1. Catalasa (CAT)**

La actividad enzimática de la CAT se determinó usando el método de Aebi (1984). En celdas de cuarzo se agregó 900 µL de buffer fosfato (50 mM, pH 7), 50 o 10 µL de muestra de homogenado de los órganos, se adicionó 50 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 mM), esto se mezcló ligeramente en la tapa de la propia celda, y de inmediato se midió la absorbancia a una longitud de onda de 240 nm, se registrará la disminución durante 3 minutos a intervalos de 30 segundos.

##### **7.5.2. Superóxido dismutasa (SOD)**

La actividad de la SOD se determinó de acuerdo con el método de Giannopolitis y Ries (1977). La superóxido dismutasa (SOD) cataliza la dismutación del radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) en peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y oxígeno molecular (O<sub>2</sub>). Inicialmente, en microtubos eppendorf se añadió 40 µL de ácido tetraacético (etilenodinitrilo) (EDTA) (0.1 M), 20 µL de cloruro de nitrotetrazolio azul (NTB) (1.5 mM) y 641 µL de buffer fosfato (0.067 M, pH: 7), posteriormente se agregó 10 µL del homogenado de los órganos y 9 µL de riboflavina (10 mM), se mezcló suavemente en el agitador vórtex durante 3 segundos, se prosiguió a iluminar los microtubos eppendorf a 15 cm de distancia con una lámpara de 40 wátios, éstos se

pusieron por 10 minutos y una vez transcurrido el tiempo se midió la absorbancia a 560 nm. Para la preparación de un blanco se agregará todo lo anterior incluyendo la muestra del respectivo órgano y no se iluminará y un segundo blanco que llevará todo a excepción de la muestra que de igual manera se iluminó.

### **7.5.3 Glutación peroxidasa (GPx)**

La enzima glutación peroxidasa se determinó siguiendo una modificación del método establecido por Prabhu et al., (2001): En un volumen de 1 mL se colocó NADPH (0.5mM), glutación reducido (100mM), 1 U de la enzima glutación reductasa, buffer de fosfatos 50 mM pH 7, cucumeno 30 mM y el homogenado de los órganos (en un volumen no mayor a 100 µL). Se midió la absorbancia a 340 nm cada 30 segundos por 5 minutos.

### **7.6. Técnica de glutación reducido (GSH)**

Mediante la técnica de Sedlak y Lindsay (1968) se determinó el contenido de glutación reducido (GSH) en hígado y corazón de la siguiente forma: en eppendorf se agregaron 62.5 µL de homogenado del tejido, 187.5 µL de Tris buffer (0.2 M, pH 8.2) y 12.5 µL de ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico) (DNTB) (0.01 M), se mezcló y posteriormente se adicionaron 987.5 µL de metanol absoluto, luego se colocaron en un mezclador de laboratorio (shaker) a 240 rpm durante 15 minutos, después las muestras se centrifugaron a 3000 rpm a temperatura ambiente durante 15 min. Finalmente, se desarrolló el color amarillo de la reacción y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro a 412 nm. Las unidades fueron expresadas como mM GSH/g de tejido.

### **7.7. Determinación de la Paraoxonasa (PON1)**

La actividad de la arilesterasa o PON1 se determinó según el método de Dantoine *et al.*, (1998). Para cada homogenado se tomaron 5 µL de hígado y corazón y 1 mL de solución de trabajo que contenía: buffer Tris-HCl 25 mM pH 8.0, CaCl<sub>2</sub> 10 mM y acetato de 4-nitrofenilo 1 mM como sustrato y se mezclaron los componentes. Se registró el aumento de la absorbancia debido a la hidrólisis del sustrato para formar p-nitrofenol y se midió a 402 nm cada 30 s durante 3 minutos, el blanco tenía agua para corregir la hidrólisis no enzimática. La actividad de la PON1 se basó en 1 µM de fenol formado por minuto por mg de proteína, utilizando el coeficiente de extinción molar 14.000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>.

### **7.8. Productos de proteína de oxidación avanzada (AOPP)**

El AOPP se cuantificó utilizando el método de Witko-Sarsat et al. 1996. Se añadieron 50 µL de homogeneizado de hígado a 1 mL de tampón 3fosfato 20 mM pH 7,4 y se mezclaron con 50 µL de yoduro de potasio 1,16 M y 100 µL de ácido acético. Después de 2 min, se midió la absorbancia a 340 nm. Se utilizó cloramina-T por curva estándar (0-100 µmol/mL). La concentración de AOPP se expresó como µmol/mL de equivalentes de cloramina-T.

## **7.9. Determinación de MDA y HNE**

Para la determinación de malondialdehidos (MDA) y el 4-hidroxinonenal (HNE) se utilizó la técnica colorimétrica de evaluación del 1-metil-2-fenilindol siguiendo el protocolo de Johnston et al. (2007) para la cual se inicia tomando 0.5 gr de tejido al cual se le agregaron 10  $\mu$ l de BHT (mM) y 2 mL de buffer de fosfatos con un pH de 7.4 (10mM) para machacarse en frio con mortero, después se centrifugo por 13 min a 13 000 rfc (gs) y se recuperó el sobrenadante. Se tomaron 200  $\mu$ l de la técnica anterior se colocaron en un tubo eppendorf se le agregaron 650  $\mu$ l de 1-metil-2-fenilindol (10 mM) disuelto en una mezcla de acetonitrilo/metanol 3:1 (se hizo por duplicado cada muestra), a una de las muestras se le agregaron 150  $\mu$ l de HCL al 37 % (v/v) y al otro se le agregaron 150  $\mu$ l de ácido metasulfónico, se agitaron bien y se llevaron a incubación por 60 min a 45 °C, pasado el tiempo de incubación se colocan en hielo por 5 min y se llevaron a centrifugar por 10 min a 13 000 rfc (gs) posteriormente se recuperó el sobrenadante en celdas de vidrio para leer a 586 nm, como blanco se sustituyó la solución de 1-metil-2-fenilindol por solo la mezcla de acetonitrilo/metanol 3:1 (un blanco para cada acido).

## **7.10. Extracción de Lípidos**

Los lípidos de los dos órganos se extrajeron usando un sistema de solventes cloroformo-metanol, 1:2 (v/v), después cloroformo-metanol, 1:1 (v/v) y se añadió 0.9% de cloruro de sodio hasta completar la separación de las fases.

## **7.11. Determinación de la concentración de ácidos grasos**

### **7.11.1 Extracción de ácidos grasos de órganos de rata**

Para la determinar el perfil de ácidos grasos en los órganos mencionados se siguió el protocolo de Ríos-Chávez (2003). En el cual se coloca 0.1 g de tejido en un mortero, se agregó 1 mL cloroformo-metanol (2:1), se homogenizo el tejido usando un mortero y se recuperó el mismo con otro mililitro de cloroformo-metanol (2:1), se centrifugo a 6000 rpm (revoluciones por minuto) por 10 minutos a 4°C, se recuperó el sobrenadante y se le añadió 100  $\mu$ L de agua. Posterior a esto, se mezcló totalmente y de nuevo se centrifuga a 3 000 rpm durante 20 minutos a 4°C. Una vez centrifugado se recuperó la fase inferior y se prosiguió a realizar la técnica de metil esterificación.

### **7.11.2 Metil-esterificación**

Se tomó 100  $\mu$ L de sobrenadante de la técnica anterior y se colocó en reactívalas, a los cuales se les añadió 1 mL de NaOH 0.5 N (disuelto en metanol), posteriormente se incubó en termoblock durante 60 minutos a 100°C, al término de esto se dejó enfriar y se le agrego 1 mL de trifluoruro de boro (TFB) disuelto en metanol para después incubar durante 20 minutos a 100°C, al finalizar se dejó

enfriar para pasar la muestra a un tubo de ensaye al cual se le agregó 2 mL de agua y 3 mL de hexano. Posteriormente se mezcló por 20 segundos y se dejó reposar para que se formen 2 fases; se recuperó la superior (orgánica) y se coloca en un segundo tubo de ensayo y de nuevo se agregó 3 mL de hexano y se mezcla por 20 segundos para dejar reposar de nuevo y que se formen las 2 fases, se recuperó la fase superior colocándola en nuestro segundo tubo. Posteriormente, se evapora a sequedad con nitrógeno y se resuspende la muestra con 200  $\mu$ L de iso-octano para ser analizado en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectro de masas (GC/MS).

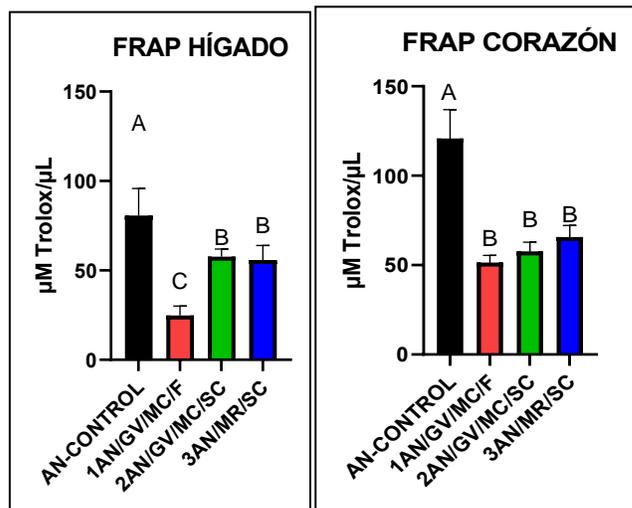
### **7.12. Análisis estadístico**

Los valores obtenidos se expresarán como media y error estándar (SEM). Los datos se analizarán utilizando JMP mediante un análisis de varianza (ANOVA) de una vía seguida de una prueba de Tukey con valores indicativos de significancia estadística \* $P \leq 0.05$ .

## 8. RESULTADOS

### 8.1. Estado antioxidante total (TAS)

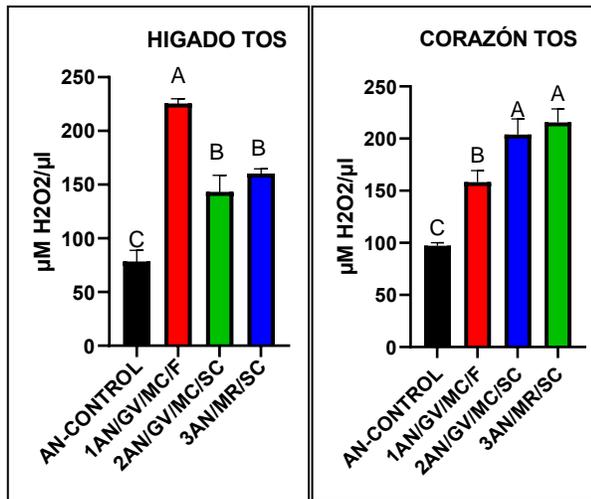
Valores bajos de FRAP señalan que existe un deterioro del sistema antioxidante lo cual se debe a un proceso por radicales libres a causa de una ingesta alta de grasas y azúcares (Mejía *et al.*, 2018). Los resultados de la técnica FRAP en hígado y corazón mostraron el deterioro significativo del sistema antioxidante en ambos órganos con las tres dietas. El hígado se vio principalmente afectado por la dieta 1 en comparación a las demás dietas, esto debido probablemente a su contenido en fructosa, ya que la fructosa es metabolizada por el hígado (Riveros *et al.*, 2014). En corazón las tres dietas hipercalóricas redujeron significativamente el estado antioxidante con respecto al control y entre ellas no hubo diferencia (Fig. 2).



**Figura 2.** Efecto de tres dietas altas en calorías sobre el estado antioxidante total (TAS) en el hígado y corazón de ratas Wistar.

### 8.2. Estado oxidante total (TOS)

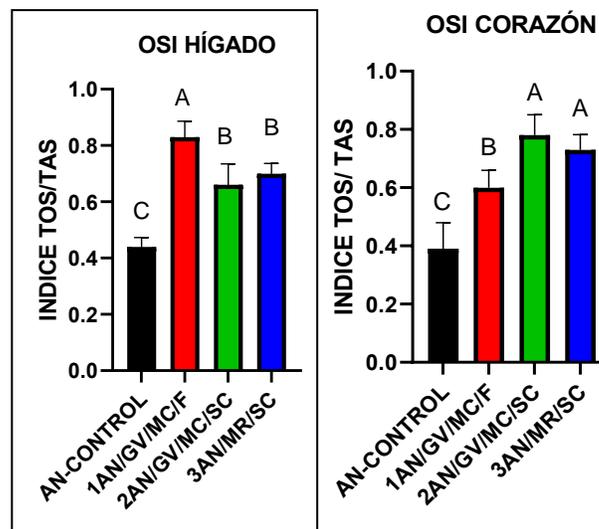
El aumento de los niveles del TOS señala un aumento de especies reactivas, como se observan en la figura 3, las tres dietas hipercalóricas incrementaron los valores de TOS, este resultado concuerda con lo encontrado en TAS ya que ambos parámetros son inversamente proporcionales. Cabe resaltar que las dietas 2 y 3 tuvieron un comportamiento semejante tanto en el hígado como en el corazón, estas dos dietas tienen un mayor porcentaje de grasa que la dieta 1, esto concuerda con lo reportado por Mujica Valenzuela (2020).



**Figura 3.** Efecto de tres dietas altas en calorías sobre el estado oxidante total (TOS) en el hígado y corazón de ratas Wistar.

### 8.3. Índice de estrés oxidativo (OSI)

Como se observa en la figura 4, el OSI se encuentra significativamente mayor en las 3 dietas hipercalóricas en ambos órganos, demostrando que el consumir dietas hipercalóricas sin importar la fuente de grasa y de azúcares tiene un efecto sobre el estrés oxidativo en el organismo.

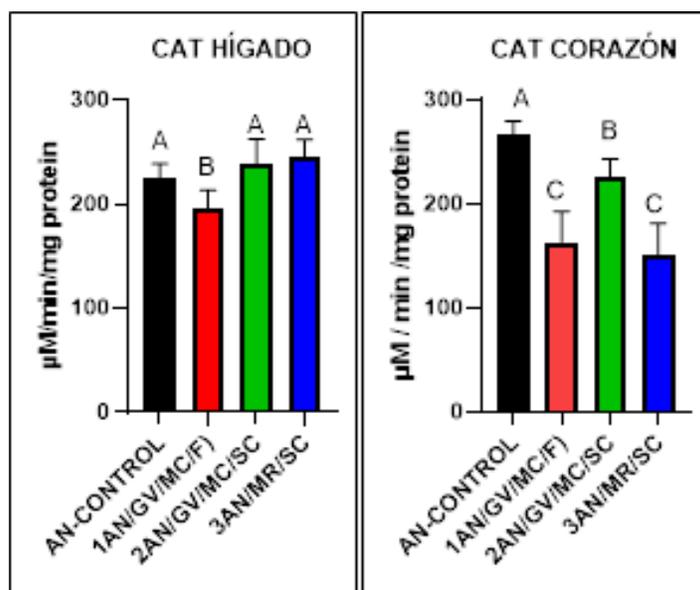


**Figura 4.** Efecto de tres dietas altas en calorías sobre el índice de estrés oxidativo (OSI) en el hígado y corazón de ratas Wistar.

## 8.4. Determinación de actividad enzimática

### 8.4.1. Catalasa (CAT)

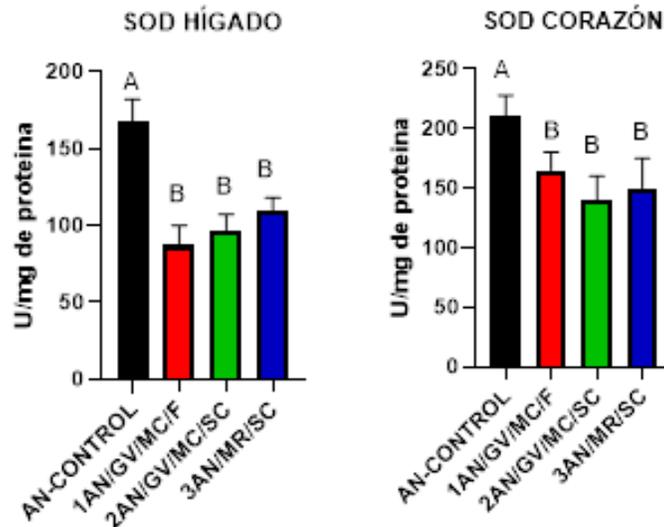
El efecto de las tres dietas alta en grasa y azúcares sobre la actividad de la catalasa se muestra en la figura 5, en el hígado de las ratas administradas con la dieta 1, presento un decremento de la actividad de la CAT a diferencia de las dietas 2 y 3. En corazón las tres dietas produjeron una disminución significativamente en comparación con el grupo control.



**Figura 5.** Efecto de tres dietas altas en calorías sobre la actividad de la catalasa (CAT) el hígado y corazón de ratas Wistar.

### 8.4.2. Superóxido Dismutasa (SOD)

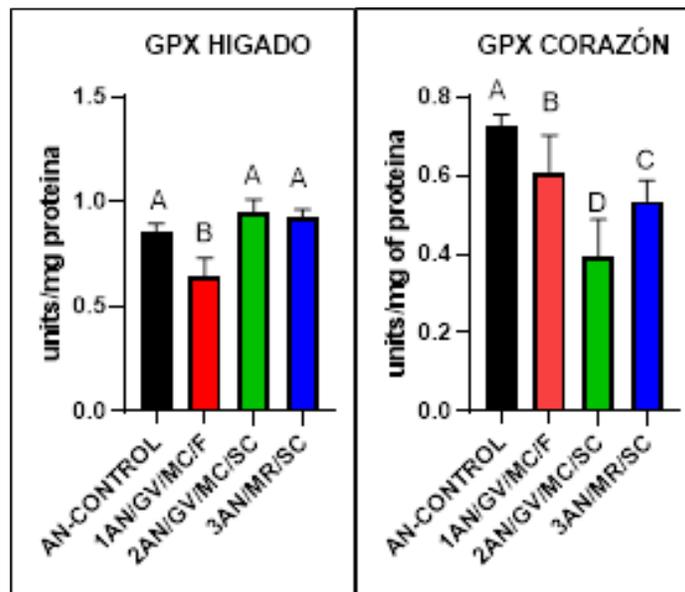
Las 3 dietas hipercalóricas disminuyeron significativamente la actividad de la SOD en ambos órganos con respecto al control (fig. 6). Resultados similares son reportados por Quintana (2013).



**Figura 6.** Efecto de tres dietas altas en calorías sobre la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) en el hígado y corazón de ratas Wistar.

#### 8.4.3. Glutación Peroxidasa (GPX)

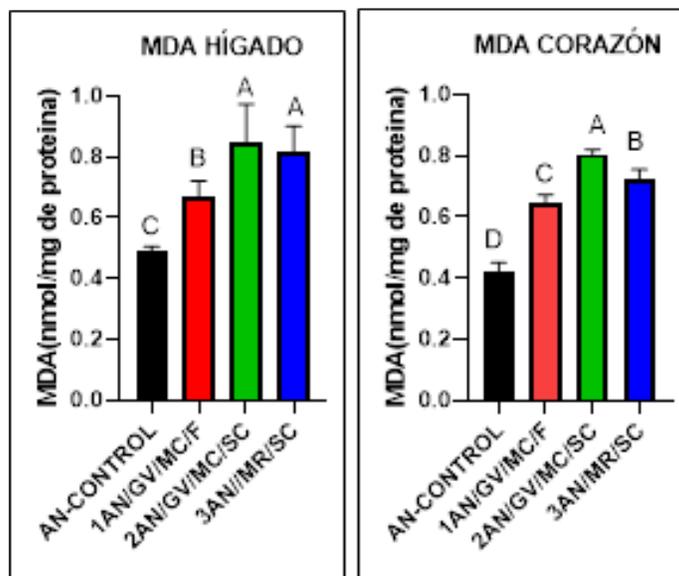
Con respecto a la actividad de la GPX en el hígado dieta 2 presento una disminución de la actividad, siendo semejante a la CAT. Sin embargo, la actividad de la GPX en el corazón presento una disminución en las tres dietas siendo mayor en la dieta 2



**Figura 7.** Efecto de tres dietas altas en calorías sobre la actividad de la glutatión peroxidasa (GPX) en el hígado y corazón de ratas Wistar.

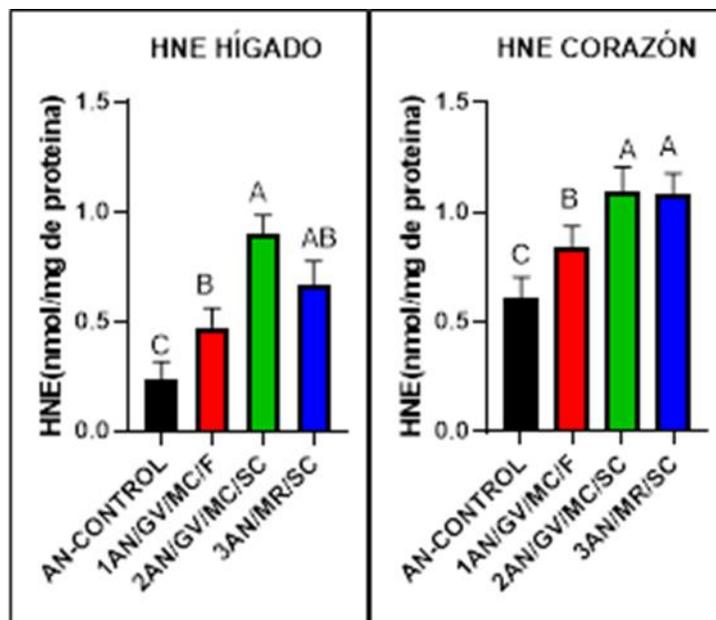
## 8.5. MDA y HNE

El MDA es el producto mutagénico del proceso de la lipoperoxidación de los ácidos grasos w-3 y w-6 (Ayala *et al.*, 2014), como se muestra en la figura 8, las tres dietas presentaron un incremento del MDA en ambos órganos, estos resultados son semejantes a lo encontrado por Flores (2016).



**Figura 8.** Efecto de tres dietas altas en calorías sobre los niveles de MDA en el hígado y corazón de ratas Wistar.

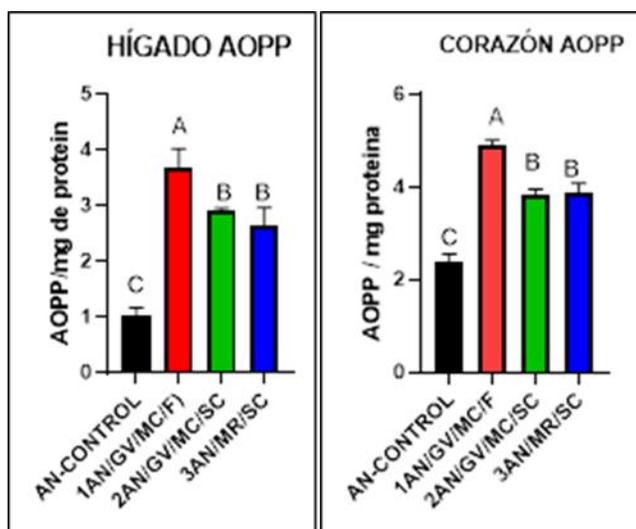
El HNE es el producto de la lipoperoxidación considerado el más tóxico, por reaccionar rápidamente con los grupos tiolos y amino (Ayala *et al.*, 2014). Como se observa en la figura 9, se encontraron niveles mayores que el MDA en las tres dietas diferentes en ambos órganos.



**Figura 9.** Efecto de tres dietas altas en calorías sobre los niveles de HNE en el hígado y corazón de ratas Wistar.

### 8.6. Productos proteicos de oxidación avanzada (AOPP)

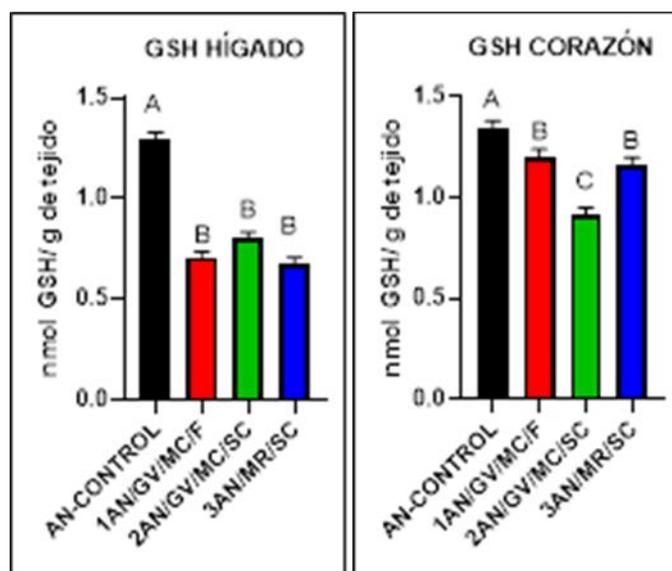
Los AOPP son un biomarcador del estrés oxidativo que demuestra el daño en las proteínas, como se observa en la figura 10, en ambos órganos las tres dietas presentaros altos niveles de las AOPP.



**Figura 10.** Efecto de tres dietas altas en calorías sobre los niveles de productos proteicos de oxidación avanzadas (AOPP) en el hígado y corazón de ratas Wistar.

### 8.7. Glutación reducido (GSH)

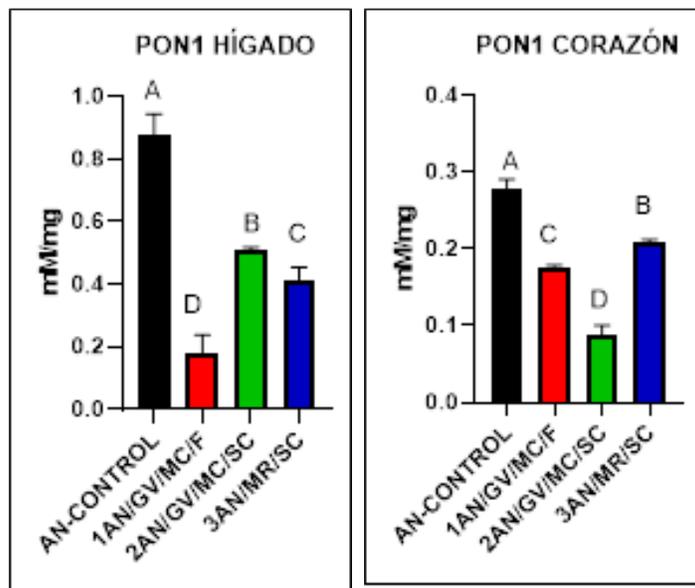
El GSH es un indicador de muchas patologías valores bajos de esta molécula significan estrés oxidativo. Como se muestra en la figura 11, en el hígado existen un estrés oxidativo mayor y las tres dietas tuvieron el mismo comportamiento, mientras, en el corazón existe una disminución del GSH pero solo la dieta 2 presento niveles menores.



**Figura 11.** Efecto de tres dietas altas en calorías sobre los niveles del glutatión reducido (GSH) en el hígado y corazón de ratas Wistar.

### 8.8. Paraxonasa (PON 1)

Finalmente, la PON1 es una enzima que refleja el estado antioxidante del organismo como se observa en la figura 12, las tres dietas presentaron una disminución significativa de la actividad de la PON1 en ambos órganos.



**Figura 12.** Efecto de tres dietas altas en calorías sobre la actividad de la paraxonasa (PON1) en el hígado y corazón de ratas Wistar.

### 8.9. Composición en ácidos grasos

Los ácidos grasos mayoritarios y que se encuentran en los diferentes tipos de grasas utilizadas en este trabajo se pueden observar en las tablas 1,2 y 3. Se encontró que la margarina posee un 48% de grasas saturadas mientras que en la manteca de cerdo como en la vegetal el porcentaje es 40 y 42 % respectivamente, Con relación a los ácidos grasos insaturados la manteca vegetal presentó 51% de estos, mientras que la manteca de cerdo y la margarina fueron de 42 y 46 %. Cabe resaltar que en la margarina se presentan el mayor porcentaje de ácidos grasos insaturados *trans*. Sin embargo, el mayor porcentaje de ácidos grasos insaturados *cis* estuvo presente en la manteca de cerdo.

<b>Tabla 1. Porcentaje de ácidos grasos en la margarina marca</b>		
Ácidos grasos	Tiempo de retención (min)	%
Tetradecanoico	16.665	2.76
9-Hexadecenoico (Z)	21.065	0.53
<b>Hexadecanoico</b>	21.603	<b>32.51</b>
Heptadecanoico	23.949	0.35
<b>9-Octadecenoico (E)</b>	25.591	<b>44.85</b>
13-Octadecenoico (E)	27.245	0.23
<b>Octadecenoico</b>	26.209	<b>8.67</b>
Eicosanoico	30.644	1.47
9,12-Octadecadienoico (Z Z)	33.064	0.23
Docosanoico	34.523	1.44

<b>Tabla 2. Porcentaje de ácidos grasos que componen la manteca de cerdo</b>		
Ácidos grasos	Tiempo de retención (min)	%
Tetradecanoico	16.665	2.59
9-Hexadecenoico (Z)	21.065	5.07
<b>Hexadecanoico</b>	21.603	<b>22.72</b>
Heptadecanoico	23.949	0
9-Octadecenoico (E )	25.591	2.78
<b>9-Octadecenoico (Z)</b>	26.089	<b>30.31</b>
<b>Octadecenoico</b>	26.209	<b>13.90</b>
cis-11,14-Eicosadienoico	29.929	1.26
cis-11-Eicosenoico	30.112	1.88
Eicosanoico	30.644	0.69
9,12-Octadecadienoico (Z Z)	33.064	0.25
Docosanoico	34.523	0.15

<b>Tabla 3.</b> Porcentaje de ácidos grasos que componen la grasa vegetal		
Ácidos grasos	Tiempo de retención (min)	%
Tetradecanoico	16.665	5.48
Pentadecanoico	19.308	1.54
9-Hexadecenoico (Z)	21.065	3.9
<b>Hexadecanoico</b>	21.603	<b>26.69</b>
Heptadecanoico	23.949	5.73
9-Octadecenoico (E)	25.591	14.0
<b>9-Octadecenoico (Z)</b>	26.089	<b>22.03</b>
<b>Octadecenoico</b>	26.209	<b>7.94</b>
cis-11,14-Eicosadienoico	29.929	0.24
cis-13-Eicosenoico	30.329	1.04
Eicosanoico	30.644	0.64
9,12-Octadecadienoico Z Z	33.064	1.74
Docosanoico	34.523	0.09

Como se muestra en la tabla 4, las tres dietas presentaron una disminución de los ácidos grasos saturados (ácido hexadecanoico y octadecenoico) con relación al grupo control. Mientras que los ácidos grasos insaturados se incrementaron a diferencia del grupo control, estos cambios demuestran que efectivamente la dieta si influye en la composición de los ácidos grasos de los órganos.

<b>Tabla 4.</b> Porcentaje de ácidos grasos en el corazón de ratas tratadas con diferentes dietas				
Ácido graso	AN-CONTROL	1AN/GV/MC/F	2AN/GV/MC/SC	3AN/MG/SC
2,4-Decadienoico (E,Z)	4.40	9.04	11.23	8.82
Cis-5,8,11,14-Eicosatetraenoico	2.23	2.70	13.06	10.64
Tetradecanoico	1.82	0.89	1.18	1.61
Hexadecanoico	20.29	13.86	16.35	18.14
10-Octadecenoico (Z)	5.44	18.28	15.28	16.47
Octadecenoico	20.10	15.08	17.39	16.31
9,12-Octadecadienoico (ZZ)	5.01	8.01	7.72	6.20

Por último, el perfil de los ácidos grasos de los hígados de las diferentes dietas (tabla 5) tuvo un comportamiento distinto entre ellas. El ácido octadecanoico presento una disminución del doble en las tres dietas a diferencia del control. Sin embargo, con el hexadecanoico tuvo un incremento solo en la dieta 3, a diferencia de los otros grupos. Con respecto a los ácidos insaturados cada dieta presento diferente concentración de los ácidos grasos, esto a consecuencia de la composición de las dietas.

<b>Tabla 5. Porcentaje de ácidos grasos en el hígado de ratas tratadas con diferentes dietas</b>				
Ácido graso	AN-CONTROL	1AN/GV/MC/F	2AN/GV/MC/SC	3AN/MG/SC
Cis-5,8,11,14-Eicosatetraenoico	2.44	4.72	4.72	3.16
Tetradecanoico	0.78	0.84	0.84	0.49
9-Hexadecenoico (Z)	0.57	1.15	2.19	1.60
Hexadecanoico	26.84	25.18	24.16	32.88
Heptadecanoico	1.13	0.75	0.81	0.99
10-Octadecenoico (Z)	11.76	19.95	40.12	38.43
Octadecenoico	24.77	12.82	10.56	17.19
9,12-Octadecadienoico (Z Z)	3.47	6.46	7.32	6.64

## 9. DISCUSIÓN

El índice de estrés oxidativo nos da un valor general de estado de estrés oxidativo del organismo en diversos estudios donde se ha implementado con dietas compuestas de fructosa, sacarosa y lípidos se ha comprobado el aumento de este índice siendo las dietas compuestas principalmente con carbohidratos las que presentan más este efecto con respecto a los lípidos (Núñez-Musa, 2019). Los resultados de este trabajo muestran que efectivamente la dieta 1 que tiene fructosa presentó un índice de estrés oxidativo mayor en el hígado que las 2 y 3. Sin embargo las dietas 2 y 3 que tiene un mayor contenido de grasas el índice de estrés oxidativo se observa en el corazón, esto principalmente debido a que el corazón utiliza como sustrato los ácidos grasos, mientras que el hígado metaboliza para mantenerse carbohidratos en este caso glucógeno que puede ser derivado de fructosa (Marín-García *et al.*, 2002).

Con respecto al sistema antioxidante un aumento de la actividad de la SOD, CAT y GPx está asociado a una mayor protección para evitar el estrés oxidativo una disminución de estas actividades indica un daño en este sistema (López-Mejía, 2018).

Dietas altas en azúcares y grasas disminuyen la actividad de estas enzimas protectoras del sistema antioxidante, estudios anteriores muestran que dietas altas en fructosa disminuyen los valores de la actividad del sistema antioxidante de manera más intensa que los lípidos (López-Mejía, 2018) los valores de este estudio indican que solo en hígado la fructosa tienen un efecto negativo mayor comparado con la combinación de grasas vegetal, manteca de cerdo y margarina, en corazón la actividad de estas enzimas es muy similar con excepción de la SOD donde no hubo diferencia entre las tres dietas.

Los bajos niveles de GSH indican daños en el sistema antioxidante, señal de un grado de estrés oxidativo. Dietas en carbohidratos como en lípidos tienden a bajar sus niveles, estudios anteriores demuestran que la fructosa es uno de los principales causantes de esta disminución en comparación a lípidos de tipo saturado e insaturado (Houten y Wanders, 2010; Begriche *et al.*, 2013). De acuerdo a los resultados se aprecia que las combinaciones de las tres dietas afectan el nivel de esta molécula, pero no son diferentes las dietas entre ellas con respecto a la disminución de GSH en hígado.

Estudios señalan que una dieta con exceso en grasas y azúcares puede producir un incremento de especies reactivas que estas a su vez pueden producir un desequilibrio de las proporciones de ROS con respecto a los antioxidantes del organismo desencadenando un desarrollo de estrés oxidativo. Cuando existe un proceso de estrés oxidativo las ROS reaccionan con los ácidos grasos de los lípidos produciendo MDA y HNE de esta manera de acuerdo a los resultados encontrados en las tres dietas, las dietas 2 y 3 compuestas con una proporción mayor de grasas presentaron una mayor cantidad de MDA y HNE (Fang *et al.*, 2002; Frankel, 2005).

Las grasas están compuestas de ácidos grasos saturados e insaturados, siendo los insaturados más susceptibles a oxidarse y generar estos compuestos (Lecumberri *et al.*, 2007), se encontró que la dieta 2 con grasa de cerdo y manteca vegetal que presentan una mayor cantidad de ácidos grasos insaturados aumentan la proporción de estos ácidos grasos en los órganos lo que explica el aumento del MDA y HNE en ambos órganos con la combinación de manteca de cerdo y grasa vegetal.

Una dieta rica en azúcares presentan altos niveles de AOPP que las dietas ricas en grasa, es mediante el proceso que se da por la glicosilación de proteínas, se puede originar también por el contacto con los tóxicos de la lipoperoxidación como lo es el MDA y HNE aun así el efecto de los carbohidratos es mayor (Piwowar, 2010). En este estudio se pudo observar que en efecto la dieta con fructosa elevo los niveles de AOPP en ambos órganos.

Estudios anteriores, demuestran que los bajos niveles de actividad de la PON 1 es promovido por un estado de estrés oxidativo específicamente lipoperoxidación, se sabe que las grasas y azúcares promueven este proceso siendo las grasas las de mayor efecto en hígado y corazón (Houten y Wanders, 2010; Begriche *et al.*, 2013). De acuerdo a los resultados en este estudio, no importa el tipo de grasas sino el tipo de azúcar ya que la dieta 1 que tenía fructosa presento un decremento significativo de la actividad de la PON 1 en el hígado. Mientras que en el corazón cada dieta se comporta de manera independiente teniendo un mayor efecto la dieta 2 con mayor porcentaje de grasa.

Finalmente, las dietas 2 y 3 a pesar de tener una composición de grasa diferente, pero tener en común la sacarosa presentaron un comportamiento semejante sobre las enzimas antioxidantes y los biomarcadores a diferencia de la dieta 1 que presenta la misma composición de grasa con la dieta 2 pero diferente azúcar. Presentándose en esta dieta el mayor índice de estrés oxidativo, este resultado se puede explicar por lo reportado por Rupérez (2011) donde menciona que en ratas de laboratorio alimentadas con dietas ricas en ácidos grasos de tipo insaturado modifican el perfil lipídico aumentando los niveles de ácidos grasos insaturados en la composición de los órganos, los ácidos grasos insaturados son más susceptibles al ataque de radicales libres.

## **10. CONCLUSION**

La fructosa fue la que desarrollo un mayor estrés oxidativo en el hígado (dieta 1) mientras que en el corazón el porcentaje de grasa es la que origina el estrés oxidativo (dietas 2 y 3).

Las tres dietas disminuyeron las actividades de las enzimas del sistema antioxidante mientras que los biomarcadores se incrementaron. Sin embargo, las dietas 2 y 3 que tiene en común la sacarosa tuvieron el mismo comportamiento en cada uno de los parámetros a diferencia de la dieta 1 que tiene fructosa.

La composición de los ácidos grasos de las diferentes dietas si tuvieron un efecto sobre la composición de los ácidos grasos en el hígado y corazón.

## 11. LITERATURA CITADA

1. Abdel-Magid, A.F. 2011. Fatty acid synthase (FASN) inhibitor as potential treatment for cancer, obesity and liver related disorders. *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 6:838-839
2. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol. Science Direct Journals*. 105:121-126.
3. Erel, O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical biochemistry*, 38(12), 1103-1111.
4. Al-Dwairi, A., Brown, A.R., Pabona, J.M.P., Van, T.H., Hamdan, H., Mercado, Ch. P., Quick, Ch., Wight, P.A., Simmen, R.C.M. Simmen, F.A. 2014. Enhanced gastrointestinal expression of cytosolic malic enzyme (ME1) induces intestinal and liver lipogenic gene expression and intestinal cell proliferation in mice. *PLOS* 9(11):e113058.
5. Alfonso, J. E. F., & Ariza, I. D. S. (2008). Elevando el colesterol HDL: ¿Cuál es la mejor estrategia?. *Revista da associação médica brasileira*, 54, 369-376.
6. Arnao, M. B., Cano, A., Acosta, M., 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry* 73, 239 – 244.
7. Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, (494), 161-172.
8. Balcárcel, T. (2017). *La dieta Occidental: Un problema global*. Entretextos, 2018.
9. Bhattacharyya, A., Chattopadhyay, R., Mitra, S., Crowe, S. E. 2014. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiological reviews*. 94(2): 329-354.
10. Benzie, I. F. F. y J. J. Strain. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1): 70–76.
11. Berndt, J., Kovacs, P., Ruschke, K., Kloting, N., Fasshauer, M., Schon, M.R., Korner, A., Stumvoll, M., Bluher, M. 2007. Fatty acid synthase gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia* 50:1472-1480
12. Carbajal, A., & Ortega, R. 2001. La dieta mediterránea como modelo de dieta prudente y saludable. *Rev Chil Nutr*, 28(2), 224-36.
13. Carochi, M., Ferreira, I. C. 2013. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*. 51: 15-25.

14. Chihuailaf, R. H., Contreras, P. A., Wittwer, F. G. 2002. Patogénesis del estrés oxidativo: consecuencias y evaluación en salud animal. *Veterinaria México*. 33(3): 265-283.
15. Cid-Estrada, E. 2014. Determinación de la capacidad antioxidante en *Callistemon citrinus*, *Hibiscus rosa-sinensis* y *Plumbago auriculata*. Tesis de licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. 62 pp.
16. Cisneros Prego, E., Pupo Balboa, J., & Céspedes Miranda, E. 1997. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: III. Glutatión peroxidasa. *Revista cubana de investigaciones biomédicas*, 16(1), 10-15.
17. De San Román, I. M. (1987). Regulación por fosforización de la enzima fosfolípido metiltransferasa en hígado de rata (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
18. Dror, Y., Sassoon, H.F., Watson, J.J., Johnson, B.C. 1970. Glucose 6-phosphatedehydrogenase assay in liver and blood. *Clin. Chim. Acta* 28: 291-298.
19. García Triana, B., García Morales, O., Clapes Hernández, S., Rodes Fernández, L., & García Piñeiro, J. C. (1995). Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: I. Superóxido dismutasas. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 14(1), 0-0.
20. Ghibaudi, L., Cook, J., Farley, C., Van Heek, M., Hwa, J. J. 2002. Fat intake affects adiposity, comorbidity factors, and energy metabolism of sprague-dawley rats. *Obesity research*. 10(9): 956-963.
21. Giannopolitis C.N, Reis S.K. (1997) Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol*. 59:309-314.
22. Glund, S., Schoelch, C., Thomas, L., Niessen, H.G., Stiller, D., Roth, G.J., Neubauer, H. 2012. Inhibition of acetyl-CoA carboxylase 2 enhances skeletal muscle fatty acid oxidation and improves whole-body glucose homeostasis in db/db mice. *Diabetologia*. 55; 2044-2053.
23. Hao, G., Chen, H., Wang, L., Gu, Z., Song, Y., Zhang H., Chen, W., Chen Y.Q. 2014. Role of malic enzyme during fatty acid synthesis in the oleaginous fungus *Mortierella alpina*. *Journal Applied and Environmental Microbiology* 80(9):2672-2678.
24. Higashi, K., Ishikawa, T., Shige, H., Tomiyasu, K., Yoshida, H., Ito, T., Nakajima, K., Yonemura, A., Sawada, S., Nakamura, H. 1997. Olive oil increase the magnitude of postprandial chylomicron remnants compared to milk fat and safflower oil. *J of the American College of Nutrition*. 16(5): 429-434.

25. Houten, S. M., Wanders, R. J. 2010. A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid  $\beta$ -oxidation. *Journal of inherited metabolic disease*. 33(5): 469-477.
26. Jegatheesan, P., & De Bandt, J. P. (2017). Fructose and NAFLD: the multifaceted aspects of fructose metabolism. *Nutrients*.
27. Kien, C. L., Bunn, J. Y., Ugrasbul, F. 2005. Increasing dietary palmitic acid decreases fat oxidation and daily energy expenditure. *The American journal of clinical nutrition*.
28. Lambert, R.J. 2001. High-oil corn hybrids. En: HALLAUER, A.R. (Ed.). *Specialty corns*. 2da ed. CRC Press Boca Raton, FL, EUA. 479 p.
29. Liang, Y., Tian, W., Ma, X. 2013. Inhibitory effects of grape skin extract and resveratrol on fatty acid synthase. *BMC complementary & Alternative Medicine*. 13:361-369.
30. (Marín-García, J., & Goldenthal, M. J. (2002). La mitocondria y el corazón. *Revista Española de Cardiología*, 55(12), 1293-1310.
31. Mejía, S. C., López, H. H. D., Meza, M. N., Rosas, I. X., De la Peña, S., & Helguera, O. A. (2018). Body mass index is associated with interleukin-1, adiponectin, oxidative stress and ioduria levels in healthy adults. *Nutrición hospitalaria: Organo oficial de la Sociedad española de nutrición parenteral y enteral*, 35(4), 841-846.
32. Mujica Valenzuela, I. A. (2020). Efecto de la obesidad producida por una dieta alta en grasa sobre el balance óxido reducción celular en el corazón.
33. Musaad, S., Haynes, E. N. 2007. Biomarkers of obesity and subsequent cardiovascular events. *Epidemiologic reviews*. 29(1): 98-114.
34. Nephlokroeff, C.M., Lakshmanan, M.R., Poater, J.W. 1975. Fatty acid synthase from rat liver. *Methods enzymol*. 1:37-44.
35. Olguin, M. C., Posadas, M. D., Revelant, G. C., Labourdette, V., Marinozzi, D. O., Venezia, M. R., & Zingale, M. I. (2015). Efectos del consumo elevado de fructosa y sacarosa sobre parámetros metabólicos en ratas obesas y diabéticas. *Revista chilena de nutrición*, 42(2), 151-156.
36. Ortega, F.J., Mayas, D., Moreno-Navarrete, J.m., Catalan, V., Gomez-Ambrosi, J., Esteve, E., Rodriguez-Hermosa, J.I., Ruiz, B., Ricart, W., Peral, B., Fruhbeck, G., Tinahones, F.J., Fernande-Real, J.M. 2009. The gene expression of the main lipogenic enzymes is downregulated in visceral adipose tissue of obese subjects. *Integrative Physiology*. 18;13-20
37. Ortega Pérez, L. G. (2020). Efecto del extracto de *Callistemon citrinus* sobre el estrés oxidativo en ratas alimentadas con una dieta hipercalórica.
38. Pongratz, R.L., Kibbey, R.G., Cline, G.W. 2009. Investigating the roles of mitochondrial and cytosolic malic enzyme in insulin secretion. *Methods enzymol*. 457:425-450.

39. Piwowar, A. (2010). Productos proteicos de oxidación avanzada. Parte I. Mecanismo de la formación, características y propiedad. *Polski merkuriusz lekarski: órgano Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 28 (164), 166-169.
40. Prabhu, K.S., Reddy, P.V., Gmpricht, G., Hildenbrandt, G.R., Scholz, R.W., Sordillo, L.M., Reddy, C.C. (2001) Microsomal glutathione S-transferase A1-1 with glutathione peroxidase activity from sheep liver: molecular cloning, expression and characterization. *Biochem J* 360: 345-354.
41. Organización Mundial de la salud. 2017. Obesidad y sobrepeso. Sitio web: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/index.html>. 1 de junio de 2021.
42. Rani, V., Deep, G., Singh, R. K., Palle, K., Yadav, U. C. 2016. Oxidative stress and metabolic disorders: Pathogenesis and therapeutic strategies. *Life sciences*, vol. 148: 183-193.
43. Ríos-Chávez P. 2003. Estudio de la relación entre la síntesis de afininina y el metabolismo de los ácidos grasos insaturados. Tesis Doctoral. CINVESTAV-IPN. Irapuato, Guanajuato, México.
44. Riveros, M. J., Parada, A., & Pettinelli, P. (2014). Consumo de fructosa y sus implicaciones para la salud: malabsorción de fructosa e hígado graso no alcohólico. *Nutrición Hospitalaria*, 29(3), 491-499.
45. Rodríguez Perón, J. M., Menéndez López, J. R., & Trujillo López, Y. (2001). Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Revista cubana de medicina militar*, 30(1), 15-20.
46. Ruiz, R., Jideonwo, V., Ahn, M., Surendran, S., Tagliabracci, V. S., Hou, Y., y Morral, N. 2014. Sterol regulatory element-binding protein-1 (SREBP-1) is required to regulate glycogen synthesis and gluconeogenic gene expression in mouse liver. *Journal of Biological Chemistry*, 289(9), 5510-5517.
47. Rupérez Pascualena, J., Barbas Arribas, C., & Herrera Castellón, E. (2011). Influencia de cambios en la composición de ácidos grasos de la dieta, la gestación y la diabetes en los niveles tisulares y circulantes de vitamina e en la rata.
48. Shimokawa, T., Kumar, M.V., Lane, M.D. 2002. Effect of a fatty acid synthase inhibitor on food intake and expression of hypothalamic neuropeptides. *Proc Natl Acad sci* 99:1921-1925.
49. Tasset, C. S. (2018). Base de datos de proteínas: Catalasa. *MoleQla: revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide*, (30), 7-11.
50. Uttara, B., Singh, A. V., Zamboni, P., Mahajan, R. T. 2009. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant
51. therapeutic options. *Current neuropharmacology*. 7(1): 65-74.
52. Vecera, R., Skottova, N., Vana, P., Kazdova, L., Chmela, Z., Svagera, Z., Walterova, D., Ulrichova, J., Simanek, V. 2003. Antioxidant status,

- lipoprotein profile and liver lipids in rats fed on high-cholesterol diet containing currant oil rich in n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *Physiol. Res.* 52: 177-187.
53. Von-Diemen, V., Trindade, E. N., Trindade, M. R. M. 2006. Experimental model to induce obesity in rats. *Acta Cirurgica Brasileira.* 21(6): 425-429.
54. Waldrop, G.L., Stephens, J.M. 2003. Targeting Acetyl-CoA carboxylase for anti-obesity therapy. *Current Medicinal Chemistry* 3:1-3.
55. Weber, E.J. 1983. Variation in corn (*Zea mays* L.) for fatty acid compositions of triglycerides and phospholipids. *Biochemical Genetics*, 21, 1-13.
56. Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Capeillère-Blandin, C., Nguyen-Khoa, T., Nguyen, A. T., Zingraff, J., ... & Descamps-Latscha, B. (1996). Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney international*, 49(5), 1304-1313.
57. Wu, R., Feng, J., Yang, Y., Dai, Ch., Lu, A., Li, J., Liao, Y., Xiang, M., Huang, Q., Wang, D., Du, X-B. 2016. Significance of serum total oxidant/antioxidant status in patients with colorectal cancer. *PLOS One.* 12(1):1-13.
58. Yui, K., Kiyofuji, A., Osada. K. 2013. Effect of xanthohumol-rich extract from the hop on fatty acid metabolism in rats fed a high-fat diet. 63 (2): 159-168.
59. Young, I. S., Woodside, J. V. 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology.* 54(3): 176-186.
60. Zhukova, N.V., Novgorodtseva, T.P. Denisenko, Y.k. 2014. Effect of the prolonged high-fat diet on the fatty acid metabolism in rat blood and liver. *Lipid in Health and Disease.* 13 (49): 1-8